

微囊化包被技术在饲用益生菌上应用的研究进展

唐仁龙¹, 王 翀¹, 汪海峰^{1,2*}

(1. 浙江农林大学动物科技学院, 浙江杭州 311300; 2. 浙江大学动物科学学院, 浙江杭州 310058)

摘要: 益生菌广泛应用于畜禽养殖, 但益生菌在保存及使用中会受到外界逆境条件影响, 导致其活性降低甚至死亡。微囊化包被技术已经被应用于对益生菌的保护中。本文综述了益生菌微囊化包被的蛋白类、多糖类、改性淀粉和纳米壁材, 分析了挤压法、喷雾干燥法、冷冻干燥法、乳化法、复凝聚法等益生菌微囊化包被的方法, 阐述了微胶囊化包被对益生菌耐酸、耐高温、耐湿等抗逆特性和耐贮存的作用效果, 最后对微囊化包被技术在饲用益生菌上的应用前景进行了展望。

关键词: 微囊化; 益生菌; 抗逆性

中图分类号: S816

文献标识码: A

DOI 编号: 10.19556/j.0258-7033.2018-11-005

近年来, 畜牧养殖中抗生素残留与耐药性问题形势严峻, 抗生素替代物的研发是当前热点, 饲用益生菌为替代抗生素的一种有效手段。益生菌定义为具有活性的微生物, 只有在摄入活菌数达到一定数量时, 才能给寄主带来多元的益生效果^[1]。农业部发布的《饲料添加剂目录(2013)》可应用于养殖动物的饲用微生物有30余种, 包括各类芽孢杆菌属、双歧杆菌属、肠球菌属、乳杆菌属等^[2]。随着对益生菌研究的深入, 越来越多的益生菌功效已经被人们所探知, 益生菌在促进人或动物健康^[3]与疾病治疗^[4]方面都被证实了具有一定的益生效果, 因此, 在食品行业和医学领域中益生菌应用也成为了热点。

微囊化技术是利用一些可以成膜的物质, 将芯材(固体、液体和气体)包埋在微小封闭的微胶囊内的技术, 微胶囊能保护芯材不受环境中各种严酷因子的压迫^[5], 增加芯材的保存时间, 必要时对芯材进行可控的释放。目前, 微囊化技术已经在医学、畜牧、食品、印染等各个领域广泛应用。为了更好地将益生菌应用到各个领域, 需要在生产和应用过程中对益生菌进行充分的保护。本

文综述了不同微囊化材料和微囊化技术、微囊化包被改进益生菌对各种不利环境的抗逆性作用, 为提高饲用益生菌的抗逆性提供一定借鉴和启示。

1 益生菌抗逆特性及其改进技术

饲用益生菌在保存及使用中, 往往会受到来自外界环境与动物体内各种不利条件的影响, 包括氧气、高温、胃酸、胆汁盐、抗生素和其他细菌等, 大多数益生菌对这些不利因素的抗逆性较差, 导致自身活性降低甚至死亡。氧气是影响益生菌储存能力的一大关键因素, 特别是厌氧型益生菌, 这类益生菌在有氧条件下生长缓慢并死亡^[6]。以口服形式进入活体肠道内的益生菌必须经过胃肠环境, 胃酸、胆汁、胃蛋白酶等导致许多益生菌不能活着到达小肠后端^[7], 多种乳酸菌在模拟胃液的处理过程中存活能力不断降低, 存活率不足几万甚至几亿分之一^[8]。

为了提高益生菌在不利环境中的存活能力, 对其进行保护等技术改进: ①微囊化法, 包裹或固定益生菌, 起到保护作用; ②抗性诱导法^[9], 通过条件刺激产生抗性菌株; ③添加保护剂^[10], 在益生菌中添加保护剂提高其抗逆性。

2 益生菌微囊化的壁材

针对不同益生菌的性状选择合适的壁材至关重要。目前, 大多数益生菌选择的微囊化壁材主要是蛋白质、

收稿日期: 2018-09-03; 修回日期: 2018-09-26

资助项目: 国家自然科学基金面上项目(31672430)

作者简介: 唐仁龙(1992-), 男, 浙江安吉人, 硕士研究生, 主要从事饲用益生菌开发利用研究, E-mail: 310034487@qq.com

* 通讯作者: 汪海峰, 博士, 研究员, 博士生导师, E-mail:

haifengwang@zju.edu.cn

多糖类或淀粉类物质,不同类型的微胶囊材料的理化性质不同,制作的微胶囊的性质也有所区别。

2.1 蛋白类 蛋白质由于其营养价值和良好的乳化性能而常被作为微囊化壁材,常用的蛋白质壁材有乳清蛋白、酪蛋白、牛血清白蛋白、卵白蛋白、明胶等。在益生菌微囊化的应用中,蛋白制作的益生菌微胶囊具有良好的稳定性,能够极好地控制益生菌在肠道内的释放^[11]。乳清蛋白溶性极佳,乳化性优良,但是热敏感性高;酪蛋白表面活性较高,对低pH环境具有较强的缓冲能力。已有一些技术通过乳清蛋白和酪蛋白来包裹几种乳酸菌和双歧杆菌,提高它们的抗逆性^[12]。明胶具有良好的水溶性、乳化性和降解性^[13],经常与海藻酸钠相结合用于益生菌的包被^[14-15]。

2.2 多糖类 益生菌微囊化的多糖类壁材的种类很多,可分为碳水化合物类、植物胶类和细菌多糖类等,由于大多数多糖具有良好的生物相容性、合适的粘稠度与一定的溶解性,并能在生物中降解,所以许多研究者选择用多糖作为主要的微囊化材料。常见的多糖类微囊化壁材及其特点见表1。

2.3 改性淀粉 近年来,以淀粉为基质的微囊化产品在食品行业中日益增加。淀粉具有安全无毒、材料成本低、不致敏且味道平淡的特点。淀粉常常通过物理法、化学法和酶改法变成改性淀粉,以达到微囊化材料所需的性质^[16]。微孔淀粉吸附能力强,增加微孔淀粉浓度可以提高细胞的存活率,微孔淀粉在模拟胃肠道内能保护益生菌^[17]。Cortés等^[18]提出,改性过的苜蓿淀粉和玉米淀粉都能提高储存期益生菌的存活能力,其中琥珀酰化淀粉使益生菌对模拟胃肠道环境产生更强的抗逆性。双歧杆菌和乳酸杆菌也都能以辛烯基琥珀酸酐改性淀粉(OSA淀粉)作材料通过喷雾干燥法制成微胶囊。与

海藻酸钠作为壁材相比,聚丙烯酸钠改性海藻酸钠显著提高了微胶囊中乳酸菌的抗逆性^[19]。

2.4 纳米材料 “纳米技术”在近20年得到广泛应用,纳米材料的大小通常在1~100 nm^[20]。材料微型化导致了纳米颗粒的比表面积显著增加,提高其整体性能。纳米材料聚合物非常适合应用于食物的储存,因其微小的结构降低了气体的渗透能力,将纳米颗粒涂层在食品外能避免氧气与其他物质的侵蚀^[21]。一种纳米颗粒涂层益生菌微胶囊的技术已获得专利,经过蛋白质、多糖与纳米颗粒的3层包被,使得益生菌具有优良的耐热性、耐酸性和耐胆汁性^[22]。Alireza等^[23]使用生物纳米复合材料对芽孢杆菌微囊化,发现果胶、纳米甲壳素和纳米木质纤维素以2:1:1复合使用对胃肠道环境具有良好的抗逆作用,这是由于纳米纤维的非水溶性抵抗了微胶囊在胃肠道内的消化降解。

3 益生菌微囊化包被的方法

益生菌常用挤压法、乳化法、喷雾干燥法等微囊化技术进行包囊^[24],在此基础上选用合适的包囊材料进行封装,提高益生菌的包埋率以及对不利因素的耐受能力。

3.1 挤压法 挤压法是一种很早就存在的微囊化技术^[25],是将芯材与壁材混合的过程,并通过一系列模孔,用压力将混合悬浮溶液挤入凝固液中,当混合物接触凝固液时,壁材析出将芯材包裹并发生硬化的过程。挤压法加工过程条件温和,操作简单,但微胶囊粒径较大。Chen等^[26]将乳酸菌与黄原胶混合,逐滴滴入壳聚糖溶液形成微胶囊,通过单因素试验提高了包埋率,进一步优化了嗜酸性乳酸菌微胶囊的制作。Arain^[27]在使用挤压法包埋乳酸片球菌的过程中发现微胶囊的结构随着壳聚糖

表1 常用益生菌微囊化的多糖类壁材^[11]

名称	应用特点
海藻酸钠	阴离子多糖,多与Ca ²⁺ 形成凝胶,反应温和,成膜简单,但形成的凝胶多孔
壳聚糖	阳离子多糖,粘附性好,无毒,易降解,可加强海藻酸钠多孔凝胶
卡拉胶	阴离子多糖,难溶,形成凝胶耐压性低,可通过降温凝胶,也可与K ⁺ 和Ga ²⁺ 反应凝胶
阿拉伯胶	阴离子多糖,粘稠性强,高浓度下形成凝胶
黄原胶	阴离子多糖,凝胶强度低,多与其他凝胶材料共同使用,高浓度下形成凝胶
果胶	阴离子多糖,凝聚性强,稳定性高,高甲氧基果胶(HM)在高糖高温下凝胶;低甲氧基果胶(LM)在Ca ²⁺ 条件下凝胶
淀粉	抗性淀粉不能在小肠中消化,却能在结肠被微生物发酵利用,微孔淀粉具有极佳的吸附功能

pH与黄原胶浓度的改变发生变化。Seth等^[28]在挤压法的基础上加入喷雾手段,使微囊化后嗜热链球菌与保加利亚乳杆菌的存活率分别达到24.8%与72.6%。

3.2 喷雾干燥法 喷雾干燥法是将液体通过喷雾干燥器喷成雾滴形态,并且依靠干燥介质与雾滴的均匀混合,进行热交换和质交换,最后使溶剂气化或溶解物固化形成微胶囊。喷雾干燥法具有干燥速度快、产品纯度高、生产简单利于连续化生产等优点,但由于干燥温度较高,较适用于热敏性物质^[29]。Ying等^[30]使用氢化棕榈仁硬脂、水解乳清蛋白和糊精化的木薯淀粉作为微囊化壁材,与冻干的鼠李糖乳杆菌(LGG)混合通过喷雾干燥机制成LGG微胶囊,并考察了壁材中加入抗氧化剂抗坏血酸钠和生育酚对微胶囊中LGG存活能力的影响,结果表明抗坏血酸钠对微胶囊中LGG的存活有不利影响,生育酚则有利于LGG的存活。Mahsa等^[31]采用喷雾干燥法将LGG与壁材乳清蛋白(WPI)、菊粉(IN)、波斯胶(PG)混合,调整喷雾干燥机进口温度100℃、出口温度60℃制作微胶囊,该微胶囊在模拟胃液、肠液作用下以及储存过程中都提高了乳酸菌的存活率,且粒径分布均匀。Yao等^[32-33]通过喷雾干燥法成功制作了戊糖片球菌和乳酸杆菌微胶囊,使益生菌长期储存,降低了益生菌在胃传递过程中的损失,同时发现微胶囊中加入MgO对益生菌的储存、耐热与耐酸等各方面都具有提高作用。

3.3 冷冻干燥法 冷冻干燥法是一种传统的保存细菌的方法。益生菌与壁材混合后在-90~-40℃被冷冻,然后在低压较高温下直接升华,最后得到多孔微胶囊^[34]。因为在冷冻干燥时容易对细胞造成伤害,所以往往需要加入各种低温保护剂^[35]。Mahsa等^[31]在-80℃冷凝,0.02 mbar真空压下将LGG与壁材(乳清蛋白、菊粉、波斯胶)混合液在单室冷冻干燥机中冷冻干燥24 h以上制得微胶囊,该冻干微胶囊有利于乳酸菌在消化系统环境中存活。冷冻干燥法并不是一种温和的微囊化技术,现在更多研究者往往将这种方法与其他微囊化技术结合以充分发挥其干燥功能。如将嗜热链球菌的壳聚糖/海藻酸钠微胶囊冷冻干燥后,其微胶囊在以海藻糖和脱脂牛奶作为冻干保护剂时,冻干存活率可高达82.54%^[36]。Shoji等^[37]对嗜酸性乳酸菌先采用复凝聚法后采用冷冻干燥法制备了微胶囊,提高了乳酸菌各方面的耐受能力,同时微囊化乳酸菌在长达120 d的冷藏

条件下活菌数依然高于 10^7 CFU/g。

3.4 乳化法 乳化法是将细胞与载体混合,形成油包水或水包油的均匀乳液体系,加入稳定剂后,在液滴表面形成保护层,得到微胶囊^[38]。与挤压法一样,乳化法也不需要复杂的设备,更易于工业化生产,微胶囊粒径较小。乳化法制备海藻酸钠微胶囊又可分为内源乳化和外源乳化法^[39-40]。阳晖^[41]在制备肠溶性嗜酸乳杆菌的过程中发现,内源乳化法制备的微胶囊包埋率更高,可达72.5%。赵萌等^[42]采用内源乳化法制备嗜酸乳杆菌微胶囊,发现海藻酸钠与魔芋葡甘糖作为壁材提高了微胶囊对乳酸菌的保护作用,且保护效果与魔芋葡甘糖的分子量大小有关。Zhang等^[43]在喷雾干燥微粒的基础上采用乳化的方法将唾液乳杆菌进行了多层微囊化,认为S/O/W乳化系统可以对益生菌起到良好的保护作用。

3.5 复凝聚法 凝聚法是将芯材稳定地乳化分散在壁材溶液中,通过加入某一物质或调节溶液pH和温度,或采取某些特殊方法,降低壁材的溶解度,使壁材析出凝聚包裹在芯材周围,形成微胶囊。复凝聚法则是2种壁材由于相反电荷的相互作用使溶解度降低形成微胶囊的过程。该方法的操作过程较为温和,微胶囊产品制作速度快^[44]。贺红军等^[45]以明胶和阿拉伯胶作为壁材,采用复凝聚法对嗜酸乳杆菌进行微囊化,找到了微胶囊制备的最佳工艺条件,提高了嗜酸乳杆菌的储藏稳定性、包埋率、耐酸性等方面抗逆性。Ribeiro等^[46]提出与其他微胶囊技术相比,复凝聚法制作的微胶囊对益生菌的保护效果更佳。选用乳清蛋白/果胶对嗜酸性乳酸菌进行复凝胶微胶囊制备,证明了复凝聚微囊化对乳酸菌起到了保护作用^[47]。将复凝聚法同其他干燥方法结合可以提高益生菌氧化稳定性和存活能力^[48]。

4 微胶囊化对益生菌抗逆特性的作用效果

4.1 耐酸性能 一般来说,抵抗胃酸保护益生菌安全地进入肠道是所有微胶囊都需具备的能力^[49]。Mahsa等^[31]选用3种微囊化干燥技术(电子喷雾、冷冻干燥、喷雾干燥)对LGG进行包被,结果显示3种干燥方法对乳酸菌微胶囊的耐酸能力差异显著,其中冷冻干燥和喷雾干燥的微胶囊对乳酸菌更具保护作用。Yao等^[33]认为,在微胶囊中加入MgO提高了微胶囊的耐酸性可能是由于MgO中和了酸性环境中的 H^+ ,从而减轻了细胞承受

的酸性压力。Gebara 等^[47]研究发现,复凝聚法制备的微胶囊壁材乳清蛋白/果胶并没有在胃酸环境中对嗜酸性乳酸菌起到额外的保护作用,而 Gerez 等^[50]提出乳清蛋白/果胶的双层微胶囊在胃酸环境中提高了乳酸菌的存活能力。当将保加利亚乳杆菌微胶囊与菌液同时冻干后,经模拟胃液处理 2 h 后,检测到冻干微胶囊与冻干粉活菌数分别为 1.24×10^9 、 4.3×10^4 CFU/g^[51]。大多数的微胶囊能增强益生菌的耐酸能力,这对口服的益生菌产品意义重大。

4.2 耐高温性能 众所周知,高温会对大多数的益生菌造成伤害,甚至直接导致益生菌死亡。在各种食品和饮料加工过程中,巴氏消毒法作为一种重要的消毒手段,虽然加热温度只到达 60~82°C,但对许多益生菌来说仍是致命的。Yao 等^[32]将微胶囊进行 15 min 和 30 min 的 63°C 加热处理后,使用共聚焦显微镜观察乳酸菌的活菌数,结果证实微囊化确实显著提高了乳酸菌的热稳定性,而含海藻酸钠/明胶的微胶囊较单独的海藻酸钠微胶囊对乳酸菌的保护更佳。张琳等^[52]使用乳化法制作的粪肠球菌微胶囊能在 110、130°C 高温下存活,耐热性能较菌粉显著提高。周奕先等^[51]进行高温试验确定冻干过程可以提高菌体的耐高温能力,且微胶囊冻干后的效果优于冻干粉。通过挤压技术,选用淀粉、海藻酸钠与壳聚糖对乳酸菌和双歧杆菌微囊化,在热处理试验中发现在 55°C 和 60°C 条件下的微胶囊保护效果显著优于游离乳酸菌,而在 65°C 加热 30 min 后,微胶囊只对封装的双歧杆菌具有保护作用^[53],说明同样的微囊化处理对不同益生菌作用不同,这需要研究者根据需求与益生菌的个体差异性,对不同益生菌进行特定的微囊化处理。

4.3 耐湿性能 环境中的相对湿度可能是影响益生菌微胶囊理化性质的一大因素。在恒定温度下,Ying 等^[30]制作的微胶囊中 LGG 的存活能力随着相对湿度的升高而降低,25°C 条件下在相对湿度分别为 32%、57%、70% 环境下壁材中加入生育酚对微囊的耐湿性能有所提高。以脱脂乳/虫胶/脂质为壁材的 3 壳层包裹 LGG 微胶囊在 25°C、70% 相对湿度条件下储存 56 d,检测到微囊内 LGG 菌数为 $4.3 \log_{10}$ CFU/g,比单层脱脂乳包裹的 LGG 微胶囊提高了 1.3 个 log 值^[54]。张玉华等^[55]制备双歧杆菌和嗜酸乳杆菌二联活菌微胶囊,在相对湿度 60%~65% 下保存 3 个月后,加有保护剂的微胶囊内

活菌存活率为 13.28%,而无保护剂的微胶囊内活菌存活率仅为 0.38%。

4.4 储存性能 功能性食品需要益生菌在长时间的保存期内仍然具有活性效益,在微囊化过程中会发生细胞损伤和蛋白质失活,但在储存过程中的脱水、氧化同样会对微胶囊中的益生菌产生伤害,从而影响益生菌的储存性能^[37]。乳酸菌在储存期间的大量死亡主要是由于膜脂质的氧化,所以储存过程中的温度和湿度是影响乳酸菌储存性能的重要因素^[56]。Ying 等^[30]的喷雾干燥微胶囊在保存过程中(4°C 和 25°C; 32%、57% 和 70% 相对湿度),所有壁材配比制得的微胶囊在 4°C 和 32% 相对湿度条件下储存性能最佳。Shoji 等^[40]通过复凝聚法制得微胶囊,再进行冷冻干燥,分别在 7°C 和 37°C 下储存,结果显示在最初含有 $9.70 \log_{10}$ CFU/g 乳酸菌的微胶囊中,7°C 条件下存储 120 d 活菌数仍有 $7.23 \log_{10}$ CFU/g;而在 37°C 条件下,随着储存时间的增加,活菌数显著降低,30 d 时只有 $6.47 \log_{10}$ CFU/g。与大多数研究的数据一致,低温更利于益生菌微胶囊的储存。除了储存条件,微胶囊的制作方法与壁材的选择配比同样影响着微胶囊的储存性能。Mahsa 等^[31]试验得出冷冻干燥能提高乳酸菌的储存稳定性。Yao 等^[33]通过 SEM 图像观察到,MgO 可能是通过填充微胶囊内的孔隙来抑制氧离子和氢离子进入微胶囊,从而延长益生菌的储存时间。朱守创^[54]研究发现,葡萄糖能保护 LGG 细胞膜,从而提高了 LGG 的储存性能。

4.5 其他因子 除了以上几种环境压力,如胆汁、酶以及其他物质都有可能对微胶囊中的益生菌造成损害。Mahsa 等^[31]将制备的乳酸菌微胶囊分别置于 4%NaCl、2%NaCl、胆汁、青霉素 G 和溶菌酶中,结果显示冷冻干燥与喷雾干燥法制得微胶囊中乳酸菌的死亡率相对较低,电子喷雾微胶囊中乳酸菌死亡率最高;同时,壁材中加入波斯胶对乳酸菌抵抗这些不利因子具有显著性效果。杨柳等^[57]制作了免疫乳与双歧杆菌复合微胶囊,发现胆汁盐浓度越高对微胶囊中的双歧杆菌伤害越大,但是复合微囊化确实能保护双歧杆菌,在高浓度胆汁盐处理 3 h 后,活菌数可达到 67.7%。

5 国内饲用益生菌微囊化的应用

目前,微囊化技术在各领域都已成为重点,其在饲料工业领域虽被看好,但仍处于起步阶段,微囊化给益

生菌带来了极大的保护作用,这必然引起饲料领域研究者的兴趣。张慧等^[58]在育肥猪的基础日粮中添加微胶囊益生菌,发现0.5 kg/t的益生菌显著提高了育肥猪的日增重,降低了耗料增重比,同时增加了猪肠道内乳酸杆菌和双歧杆菌数,减少了大肠杆菌数。为了克服植物乳杆菌与泰山松花粉多糖(TPPPS)受胃酸与酶的压力,马宁等^[59]通过制备微胶囊再饲喂老鼠,制得的微胶囊包埋率达到了81.6%,并且饲喂微胶囊能提高老鼠小肠中的乳酸菌数量,减少大肠杆菌数,促进老鼠体重增加。张琳^[38]采用乳化法制备的布拉迪酵母菌和粪肠球菌微胶囊,都显著改善了肉鸡的生产性能、免疫功能与肠道黏膜形态,也能很好地缓解小鼠的急性溃疡性结肠炎。

6 展望

微囊化技术由于能提高益生菌多方面的耐受性能,已经被广泛应用于各行业,但技术尚不成熟。首先,微囊化选择的材料比较局限,种类较少,同样的微囊化技术不能对所有的益生菌达到一致的保护效果;其次,微囊化方法有待进一步提高,与原先单一的微囊化方法不同,现在越来越多的研究者会选择多种微囊化方法结合使用,最大化提高微囊化质量。目前,我国的畜牧养殖依然存在着布局不合理、环境不舒适等问题,益生菌添加剂在使用和储存环境中也将受到各种影响,需要为饲用益生菌提供更多的保护。

在微囊化领域内,将纳米技术与微囊化技术相结合已成为一大热门,纳米微粒的使用可大大提高其对益生菌的保护作用,发挥更大益生效果。如何引入更多的纳米材料,使用更高效的纳米封装技术并应用于益生菌中还需要研究者更多努力。另一方面,每一种益生菌都有其独特的性质,在微囊化过程中,不同的操作方法、不同的参数条件都可能影响微胶囊对益生菌的保护效益。因此,每一种微囊化技术都需要不断进行深入研究,针对不同种类益生菌构建相应适宜的微囊化包被方法,创新微囊化技术运用于益生菌产品生产。

参考文献:

- [1] Cook M T, Tzortzis G, Charalampopoulos D, et al. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery[J]. *J Cont Rel*, 2012, 162(1): 56-67.
- [2] 中华人民共和国农业部. 中华人民共和国农业部公告第2045号-饲料添加剂品种目录(2013)[EB/OL]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/XMYS/201401/t20140103_3730193.htm, 2013-12-30/2018-08-23.
- [3] 汪孟娟,徐海燕,辛国芹,等. 人体益生菌种类及其功能的最新研究[J]. *畜牧与饲料科学*, 2013, 34(1): 62-66.
- [4] Leslie M. Microbes aid cancer drugs[J]. *Science*, 2015, 350(6261): 614-615.
- [5] Bakry A M, Abbas S, Ali B, et al. Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications[J]. *Comp Rev Food Sci Food Safety*, 2016, 15(1): 143-182.
- [6] Talwalkar A, Kailasapathy K, Peiris P, et al. Application of RBGR-a simple way for screening of oxygen tolerance in probiotic bacteria[J]. *Int J Food Microbiol*, 2001, 71(3): 245-248.
- [7] Desai A R. Strain identification, viability and probiotics properties of lactobacillus Casei[D]. Melbourne Australian: Victoria University, 2008.
- [8] Chan E S, Lee P P, Ravindra P, et al. A standard quantitative method to measure acid tolerance of probiotic cells[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2010, 86(1): 385-391.
- [9] Collado M C, Sanz Y. Induction of acid resistance in Bifidobacterium: a mechanism for improving desirable traits of potentially probiotic strains[J]. *J Appl Microbiol*, 2007, 103(4): 1147-1157.
- [10] Karlsson J O, Toner M. Long-term storage of tissues by cryopreservation: critical issues[J]. *Biomaterials*, 1996, 17(3): 243.
- [11] Doherty S B, Gee V L, Ross R P, et al. Development and characterisation of whey protein micro-beads as potential matrices for probiotic protection[J]. *Food Hydrocolloid*, 2011, 25(6): 1604-1617.
- [12] El-Salam M H A, El-Shibiny S. Preparation and properties of milk proteins-based encapsulated probiotics: a review[J]. *Dairy Sci Technol*, 2015, 95(4): 393-412.
- [13] Mclements D J. Designing biopolymer microgels to encapsulate, protect and deliver bioactive components: Physicochemical aspects[J]. *Adv Colloid Interface Sci*, 2016, 240: 31.
- [14] Xiao Y L, Xi G C, Dong S C, et al. Microencapsulation of a probiotic in alginate-gelatin and its properties[J]. *J Microencapsul*, 2008, 26(4): 315-324.
- [15] Xiao Y L, Chen D X G, Dong S C, et al. Microencapsulation of a probiotic bacteria with alginate-gelatin and its properties[J]. *J Microencapsul*, 2009, 26(4): 315-324.
- [16] Fathi M, Mozafari M R, Mohebbi M. Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems[J]. *Trends Food Sci Technol*, 2014, 23(1): 13-27.
- [17] Xing Y, Xu Q, Ma Y, et al. Effect of porous starch concentrations on the microbiological characteristics of microencapsulated Lactobacillus acidophilus[J]. *Food Function*, 2014, 5(5): 972-983.
- [18] Cortés R N F, Martínez M G, Guzmán I V, et al. Evaluation of modified amaranth starch as shell material for encapsulation of probiotics[J]. *Cereal Chem*, 2014, 91(3): 300-308.
- [19] 孙也. 改性海藻酸钠乳酸菌微胶囊的制备及其性质的研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2016.
- [20] Rao M A. The nanoscale food science, engineering, and technology section[J]. *J Food Sci*, 2008, 73(3): 7.
- [21] Sonkaria S, Ahn S H, Khare V. Nanotechnology and its impact on food and nutrition: a review[J]. *Recent Patents Food Nutr Agric*, 2012, 4(1): 8-18.
- [22] Chung M J, Kim D M, Kim J E, et al. Method of preparing triple-coating lactic acid bacteria and nano particle coating

- method, triple-coating lactic acid bacteria prepared thereby and article comprising the same[P]. EP:2235158B1, 2013.
- [23] Khorasani A C, Shojaosadati S A. Improvement of probiotic survival in fruit juice and under gastrointestinal conditions using pectin-nanochitin-nanolignocellulose as a novel prebiotic gastrointestinal-resistant matrix[J]. *Appl Food Biotechnol*, 2017, 4 (3):179-191.
- [24] Champagne C P, Fustier P, Saarela M. Microencapsulation for delivery of probiotics and other ingredients in functional dairy products[M]. Woodhead UK: Functional Dairy Products, 2007, 404-426.
- [25] King A H. Encapsulation of food ingredients: a review of available technology, focusing on hydrocolloids[J]. *Food Agric Organ United Nations*, 1995: 26-39.
- [26] Chen H, Song Y, Liu N, *et al*. Effect of complexation conditions on microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* in xanthan-chitosan polyelectrolyte complex gels[J]. *Acta Sci Pol Technol Aliment*, 2015, 14(3): 207.
- [27] Argin S. Microencapsulation of probiotic bacteria in xanthan-chitosan polyelectrolyte complex gels[D]. Maryland America: University of Maryland, 2007.
- [28] Seth D, Mishra H N, Deka S C. Effect of microencapsulation using extrusion technique on viability of bacterial cells during spray drying of sweetened yoghurt[J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 103: 802-807.
- [29] 吴家泉, 邓桂芳, 崔东良, 等. 乳酸菌微胶囊化包被技术研究进展 [C]. 重庆: 中国畜牧兽医学动物微生物生态学分会会员代表大会, 2014.
- [30] Ying D, Sanguansr L, Weerakkody R, *et al*. Tocopherol and ascorbate have contrasting effects on the viability of microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG[J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(19): 10556-10563.
- [31] Moayyedi M, Eskandari M H, Rad A H E, *et al*. Effect of drying methods (electrospraying, freeze drying and spray drying) on survival and viability of microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469[J]. *J Functional Food*, 2018, 40: 391-399.
- [32] Yao M, Wu J, Li B, *et al*. Microencapsulation of *Lactobacillus salivarius* Li01 for enhanced storage viability and targeted delivery to gut microbiota[J]. *Food Hydrocolloid*, 2017, 72: 228-236.
- [33] Yao M, Li B, Ye H, *et al*. Enhanced viability of probiotics (*Pediococcus pentosaceus* Li05) by encapsulation in microgels doped with inorganic nanoparticles[J]. *Food Hydrocolloid*, 2018, 83: 246-252.
- [34] 潘秋月, 高红岩, 南天月, 等. 益生菌的微胶囊研究进展 [J]. *食品科技*, 2014(7): 31-36.
- [35] Morgan C A, Herman N, White P A, *et al*. Preservation of microorganisms by drying: A review[J]. *J Microbiol Methods*, 2006, 66(2): 183-193.
- [36] 李燕, 何堰. 含嗜热链球菌壳聚糖-海藻酸钠微胶囊冷冻干燥后的稳定性及耐酸性研究 [J]. *中南药学*, 2016(8): 800-804.
- [37] Shoji A S, Oliveira A C, Balieiro J C C, *et al*. Viability of *L. acidophilus* microcapsules and their application to buffalo milk yoghurt[J]. *Food Bioprod Process*, 2013, 91(2): 83-88.
- [38] 张琳. 微囊化益生菌的体外特性及动物应用效果评价 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2016.
- [39] Poncelet D. Production of alginate beads by emulsification/internal gelation[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1992, 38(1): 39.
- [40] Wan L S C, Heng P W S, Chan L W. Drug encapsulation in alginate microspheres by emulsification[J]. *J Microencapsul*, 1992, 9(3): 309-316.
- [41] 阳晖. 肠溶性嗜酸乳杆菌微胶囊制备方法及特性研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2006.
- [42] 赵萌, 蔡沙, 屈方宁, 等. 海藻酸钠-魔芋葡甘聚糖微胶囊对嗜酸乳杆菌 CGMCC1.2686 保护研究 [J]. *现代食品科技*, 2015(2): 70-75.
- [43] Zhang Y, Lin J, Zhong Q. The increased viability of probiotic *Lactobacillus salivarius* NRRL B-30514 encapsulated in emulsions with multiple lipid-protein-pectin layers[J]. *Food Res Int*, 2015, 71: 9-15.
- [44] Kim S J, Cho S Y, Kim S H, *et al*. Effect of microencapsulation on viability and other characteristics in *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121[J]. *LWT - Food Sci Technol*, 2008, 41(3): 493-500.
- [45] 贺红军, 李宜春, 张雪婷, 等. 微胶囊法提高益生菌抗逆性的研究 [J]. *食品工业*, 2017(2): 188-193.
- [46] Ribeiro M C E, Chaves K S, Gebara C, *et al*. Effect of microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 on physicochemical, sensory and microbiological characteristics of stirred probiotic yoghurt[J]. *Food Res Int*, 2014, 66: 424-431.
- [47] Gebara C, Chaves K S, Ribeiro M C E, *et al*. Viability of *Lactobacillus acidophilus* La5 in pectin-whey protein microparticles during exposure to simulated gastrointestinal conditions[J]. *Food Res Int*, 2013, 51(2): 872-878.
- [48] Eratte D, Dowling K, Barrow C J, *et al*. Recent advances in the microencapsulation of omega-3 oil and probiotic bacteria through complex coacervation: A review[J]. *Trends Food Science Technol*, 2018, 71: 121-131.
- [49] Sun W, Griffiths M W. Survival of bifidobacteria in yogurt and simulated gastric juice following immobilization in gellan-xanthan beads[J]. *Int J Food Microbiol*, 2000, 61(1): 17-25.
- [50] Gerez C L, Font D V G, Gigante M L, *et al*. Whey protein coating bead improves the survival of the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* CRL 1505 to low pH[J]. *Lett Appl Microbiol*, 2012, 54(6): 552-556.
- [51] 周奕先, 李峰, 王倍, 等. 新型保加利亚乳杆菌微胶囊的稳定性 [J]. *药学报*, 2017(7): 1165-1169.
- [52] 张琳, 负婷婷, 蔡文涛, 等. 乳化凝胶化法微囊化益生菌抗胁迫作用研究 [J]. *动物营养学报*, 2015, 27(11): 3636-3642.
- [53] Lian T, Mirhosseini S H, Mustafa S, *et al*. Tolerance of free and encapsulated probiotics towards heat treatment and high sodium concentration[J]. *J Food Agric Env*, 2011, 9(1): 69-73.
- [54] 朱守创. 益生菌 LGG 微胶囊化及对提高其存活性的机制研究 [D]. 郑州: 郑州大学, 2013.
- [55] 张玉华, 凌沛学, 籍保平, 等. 双歧杆菌和嗜酸乳杆菌二联活菌微胶囊的研制 [J]. *食品与药品*, 2009, 11(7): 11-16.
- [56] Santivarangkna C, Kulozik U, Foerst P. Inactivation mechanisms of lactic acid starter cultures preserved by drying processes[J]. *J Appl Microbiol*, 2008, 105(1): 1-13.
- [57] 杨柳, 尤丽新, 张英楠, 等. 免疫初乳与双歧杆菌复合微胶囊的加工特性 [J]. *食品科学*, 2012, 33(23): 150-154.
- [58] 张慧, 朱宇旌, 李方方, 等. 微胶囊益生菌对育肥猪生产性能, 血液生化和抗氧化指标及养分消化率的影响 [J]. *猪业科学*, 2017, 34(1): 88-90.
- [59] 马宁宁, 裴宗飞, 朱丽君, 等. 植物乳杆菌-泰山松花粉多糖微胶囊对小鼠生长和肠道环境的影响 [J]. *动物营养学报*, 2017, 29(10): 3627-3634.

仔猪低蛋白日粮的应用研究

张涛¹, Htoo JK², 高俊¹, 王龙昌¹, 叶江莉¹

(1. 赢创德国赛(中国)投资有限公司, 北京 100600; 2. 德国赢创德国赛集团, 德国哈瑙 63457)

摘要: 仔猪是猪生长过程中最关键的阶段。低蛋白日粮应用氨基酸平衡理念在满足仔猪氨基酸营养需求的同时降低日粮粗蛋白水平, 减少仔猪代谢负担, 降低仔猪腹泻。本文对仔猪的低蛋白日粮研究及应用情况做一综述, 分析其成功和失败的原因, 并结合我国仔猪饲料中粗蛋白和氨基酸含量分析调查情况给出建议, 旨在为生产实践中仔猪低蛋白日粮的合理应用提供参考。

关键词: 仔猪; 低蛋白; 日粮; 腹泻

中图分类号: S828.5

文献标识码: A

DOI 编号: 10.19556/j.0258-7033.2018-11-011

仔猪是猪生长过程中最关键的阶段, 仔猪出生后生长快速、生理变化急剧, 对蛋白质和氨基酸营养需要高, 但此时仔猪消化器官的结构和功能发育尚不完善, 同时要应对环境变化应激(离开母猪、转群、转圈)、日粮转换应激(由液态母乳转为固体饲料)和免疫疾病应激等挑战, 因此常常发生仔猪营养性腹泻, 进而可能继发病原性腹泻。饲料中蛋白质水平往往是导致仔猪腹泻和生长抑制的重要原因。我国猪饲料以玉米-豆粕型日粮为主。豆粕蛋白质含量丰富, 氨基酸组成适宜, 在仔猪料中使用普遍而且用量较高, 但豆粕含有抗胰蛋

白酶抑制因子、致甲状腺肿因子、皂素、植物血凝素等抗营养因子, 会引起仔猪肠道暂时过敏, 破坏小肠形态结构, 导致营养吸收不良, 加剧仔猪腹泻和生长抑制, 甚至造成二次病原菌的感染。当前, 限制抗生素和氧化锌使用并日趋规范使用, 仔猪腹泻及断奶应激问题亟待解决。

低蛋白日粮根据“理想氨基酸”理论提出, 添加晶体氨基酸来保证日粮的氨基酸平衡, 从而在降低日粮蛋白水平的情况下, 满足仔猪氨基酸营养需求, 同时减少仔猪代谢负担, 降低仔猪腹泻, 促进肠道健康。

1 低蛋白日粮在仔猪日粮中的应用

仔猪发生断奶应激时, 其消化系统发生显著变化,

收稿日期: 2018-05-03; 修回日期: 2018-08-13

作者简介: 张涛(1976-), 男, 博士, 副教授, 主要从事单胃动物营养研究, E-mail: vincenz@126.com

Research Progress on Application of Microencapsulation on Probiotics for Feed

TANG Ren-long¹, WANG Chong¹, WANG Hai-feng^{1,2*}

(1. College of Animal Science and Technology, Zhejiang Agriculture and Forestry University Zhejiang Hangzhou 311300, China; 2. College of Animal Science, Zhejiang University, Zhejiang Hangzhou 310058, China)

Abstract: Probiotics are widely used in animal feeding. However, they are affected by adverse environmental condition during storage or use, resulting in reduced activity or even death. Microencapsulation has been used in protection of probiotics. This article reviews the common adverse environment that the probiotics face. We present the main wall materials used in microencapsulation such as proteins, polysaccharides, modified starch and nanomaterials. The article reviews methods for probiotics microencapsulation including extrusion, spray drying, freeze drying, emulsification, complex coacervation and so on. We also reviewed the effects of microencapsulation on the resistance of probiotics to acid, high temperature, humidity and store. Finally, the future was prospected for microencapsulation used in feed probiotics industry.

Keywords: Microencapsulation; Probiotic; Resistance