

# 免疫初乳与双歧杆菌复合微胶囊壁材的筛选

杨 柳, 张英楠\*, 尤丽新, 陈海燕, 马井喜  
(长春科技学院生物食品学院, 吉林 长春 130600)

**摘 要:** 以双歧杆菌发酵免疫初乳, 采用真空冷冻干燥技术研制成冻干粉, 并以冻干粉为芯材、以不同肠溶材料作为壁材, 采用空气悬浮微胶囊化的方法制成免疫与微生态双活性肠溶制剂。从不同壁材的成膜性、喷雾性、溶出度、肠溶性、耐酸性、贮存稳定性等方面确定以欧巴代作为微胶囊的壁材, 从喷雾性能及微胶囊的性能考虑, 包衣液的质量分数为15%, 芯材、壁材质量比为10:3。

**关键词:** 双歧杆菌; 免疫球蛋白; 微胶囊; 壁材

## Screening of Capsule Wall for Complex Microcapsules of Immune Colostrum and Bifidobacteria

YANG Liu, ZHANG Ying-nan\*, YOU Li-xin, CHEN Hai-yan, MA Jing-xi  
(College of Organism and Food, Changchun University of Science and Technology, Changchun 130600, China)

**Abstract:** Gastro-resistant complex microcapsules were prepared with freeze-dried powder of immune colostrum fermented with *Bifidobacterium adolescentis* as core material by air suspension technique. Opadry was determined as the optimal wall material based on film-forming property, spraying capacity, dissolution rate, enteric solubility, acid resistance and storage stability. The optimal coating concentration and mass ratio of core to wall material were 15% and 10:3, respectively, when spraying capacity and microcapsule performance were taken into account.

**Key words:** *Bifidobacterium adolescentis*; IgG; microcapsule; capsule wall

中图分类号: TS201.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2014) 07-0149-06

doi:10.7506/spkx1002-6630-201407030

双歧杆菌最初是由法国巴斯德研究所的Henry Tissier从母乳喂养婴儿粪便中分离得到的<sup>[1]</sup>, 在婴儿和成人肠道菌群的平衡方面发挥重要作用; 它产生的有机酸可抑制非有益菌, 且可刺激肠道蠕动, 具有一定的营养和生理保健功能<sup>[2]</sup>。目前, 尽管对双歧杆菌促进人体健康的功能性及其微生态调节机制尚不完全了解, 但该菌的生物化学屏障、抑制致病菌和腐败菌、提供营养、提高免疫力、抗肿瘤功能及其某些临床功效已得到充分肯定<sup>[3]</sup>。因为益生菌在发酵制品中有效菌体浓度的状态保持时间较短, 所以益生菌的存活时间成为其产品货架期的一个关键因素。另外, 益生菌到达肠道并存活下来的量非常少, 大部分在胃内被胃酸和胆汁杀死。益生菌研究的一个热点是如何使其通过胃酸屏障, 将益生菌制成微胶囊是一种行之有效的方法, 用壁材将益生菌保护起来通过人体的胃屏障<sup>[4-5]</sup>。

初乳是指雌性哺乳动物分娩后7 d内所分泌的乳汁的统称。初乳与普通乳汁比较, 其特殊性首先体现在化学组成上: 初乳的蛋白质含量更高, 脂肪和糖含量较低,

铁含量为普通乳汁的10~17倍, VD和VA的含量分别为普通乳汁的3倍和10倍<sup>[6-7]</sup>。牛初乳引人注目之处在于: 它含有大量具有不同生理活性的天然功能性组分, 是自然界免疫因子最为富集的食品资源之一。免疫球蛋白(IgG)作为牛初乳中的一种重要的生物活性成分, 对机体免疫和生长具有调节功能, 使牛初乳具有改善胃肠道功能、免疫调节、延缓衰老、促进生长发育、抗疲劳、抑制肿瘤等一系列的生物功能<sup>[8-10]</sup>。然而, IgG活性容易受到强酸度的胃酸、胆汁酸、蛋白酶的影响而失活, 能到达肠道并发挥相应作用的已是极少数。

本实验以双歧杆菌发酵免疫初乳制成酸奶, 采用真空冷冻干燥制备酸奶冻干粉, 以此为芯材, 分别以虫胶、聚丙烯酸树脂、欧巴代做为壁材, 从成膜性、喷雾性、溶出度、肠溶性、耐酸性、贮存稳定性等方面筛选最佳壁材, 制备双歧杆菌及免疫球蛋白双活性肠溶微胶囊制剂, 考察其胃酸环境适应性和肠黏膜靶向特性, 为双歧杆菌与免疫初乳产品开发利用提供新方法。

收稿日期: 2013-06-19

基金项目: 吉林省科技发展计划项目(20050702-7)

作者简介: 杨柳(1981—), 女, 讲师, 硕士, 研究方向为功能性乳制品。E-mail: yangliu\_2006@163.com

\*通信作者: 张英楠(1983—), 女, 讲师, 硕士, 研究方向为生物工程。E-mail: 281452467@qq.com

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

免疫牛初乳 吉林农业大学奶牛场; 脱脂乳 黑龙江省完达山乳业股份有限公司。

虫胶 武汉兴银河化工有限公司; 肠溶欧巴代 上海卡乐康公司; 聚丙烯酸树脂 上海宝龙化工有限公司。

青春双歧杆菌 吉林农业大学食品科学与工程学院乳品研究室。

改良牛乳培养基 上海丽臣商贸有限公司; GN志贺氏菌增值培养基 北京奥博星生物技术有限责任公司; 胰酶酵母精葡萄糖琼脂(TYG)固体培养基 青岛海博生物技术有限公司。

人工胃液: 盐酸16.4 mL/L, 胃蛋白酶10 g/L, pH 1.2。人工肠液: 磷酸二氢钾6.8 g, 加水500 mL溶解, 用质量分数为0.4%的氢氧化钠溶液调节pH值至6.8; 另取胰酶10 g加水适量使其溶解, 将两溶液混合后, 加水定容至1 000 mL。

### 1.2 仪器与设备

GYB3011均质机 上海东华高压均质机厂; DPX-9162 B-1恒温培养箱 上海博讯实业有限公司; LGJ-18真空冷冻干燥机 北京松源华兴生物技术有限公司; TU-1810紫外-可见分光光度计 北京普析通用仪器有限公司; BZJ-360MII包衣造粒机 北京天民高科技开发公司; YC-1000流化床 上海雅程仪器设备有限公司; BGB-10C高效包衣机 中国温州市制药设备厂; BJ-1崩解时限检测仪 天津市拓普仪器有限公司; JJ-1精密增力电动搅拌器 金坛市江南仪器厂。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 免疫程序的设计

##### 1.3.1.1 抗原的选择

选择我国发病率较高的肠道致病菌福氏志贺氏菌作为抗原。新购进福氏志贺氏菌冻干粉, 选用G-N培养基将冻干菌粉进行活化、传代, 直到菌体的活力恢复。

##### 1.3.1.2 疫苗的制备<sup>[11-13]</sup>

为保证获得高密度的福氏志贺氏菌, 选用GN液体培养基进行增菌培养, 摇床37℃、200 r/min培养18~20 h。并分别于10、13 h向培养基中添加1%~5%的灭菌蔗糖溶液, 同时用1 mol/L的NaOH溶液调节pH值。收集培养液, 添加0.4%甲醛, 37℃灭活24 h, 杂检。如无活菌存在, 用麦氏比浊管测定菌体浓度。用无菌生理盐水调整菌体浓度为 $1.0 \times 10^{11}$  CFU/mL和 $3.0 \times 10^{10}$  CFU/mL。菌体浓度为 $1.0 \times 10^{11}$  CFU/mL的菌液作为水剂苗; 菌体浓度为 $3.0 \times 10^{10}$  CFU/mL的菌液作为检测抗体活性的抗原。水苗及抗原均4℃保存备用。在水剂苗中加入等体积的10号白油, 搅拌乳化, 制成佐剂苗, 4℃保存备用。

#### 1.3.1.3 免疫方案

吉林农业大学奶牛场随机选择10头健康、距预产期6~8周的奶牛, 随机分两组、每组5头。分别作为福氏志贺氏菌的免疫组和对照组。免疫组分娩前6~8周肌注射水苗, 两周后皮下注射佐剂苗, 以后每隔一周交替注射水剂苗和佐剂苗, 直至奶牛分娩。

#### 1.3.2 初乳的收集

收集乳牛分娩后7 d内的乳即为初乳。

#### 1.3.3 双歧杆菌发酵免疫初乳冻干粉的制备<sup>[14]</sup>

##### 1.3.3.1 菌种活化

将双歧杆菌冻干粉接入灭菌的质量分数为11%脱脂乳中, 37℃恒温培养, 待脱脂乳凝固后, 连续传代2~3次, 使其充分活化。

##### 1.3.3.2 镜检

待菌种充分活化后, 按照革兰氏染色法染色后镜检, 确定是否是纯菌种。

##### 1.3.3.3 冻干粉的制备

免疫初乳以5%体积分数接种双歧杆菌, 4 h凝乳, 加入保护剂(海藻糖质量分数6%, 水解酪蛋白体积分数6%, 乳化剂Span80体积分数3%)后进行冻干制粉。

#### 1.3.4 复合微胶囊制备的工艺流程<sup>[15]</sup>



#### 1.3.5 操作要点<sup>[15]</sup>

##### 1.3.5.1 母芯的制作

母芯为蔗糖粉和可溶性淀粉的混合物, 且蔗糖粉和可溶性淀粉质量比为7:3, 采用空气悬浮法将蔗糖粉和可溶性淀粉制成母芯。母芯造粒机的参数为: 主机调速80 r/min、喷浆调速110 r/min、鼓风温度27.1℃。

##### 1.3.5.2 空气悬浮造粒

采用空气悬浮法将双歧杆菌免疫初乳复合冻干粉黏附在母芯上, 同时通入菌体保护剂。空气悬浮造粒机控制参数为: 进风量200 m<sup>3</sup>/h、进气温度45℃、排气温度36℃、物料温度37℃、喷浆速度6 r/min。

##### 1.3.5.3 干燥

采用流化床进行连续干燥, 干燥条件为: 母粒堆积厚度3~4粒, 干燥室湿度20%~40%, 37~40℃干燥1~2 h。

##### 1.3.5.4 包糖衣

糖衣液为蔗糖溶液, 且蔗糖溶液质量分数为50%。

##### 1.3.5.5 包肠溶衣

肠衣液分别选择欧巴代溶液、聚丙烯酸树脂溶液、虫胶溶液, 包衣液质量分数为15%, 片心质量增加15%。

### 1.3.6 免疫初乳与双歧杆菌复合微胶囊壁材的筛选

分别选用肠溶材料虫胶、聚丙烯酸树脂、欧巴代做为微胶囊的壁材,分别从3种壁材的成膜性、喷雾性、溶出度、耐酸性、肠溶性、贮存稳定性等方面选择最佳的壁材。

#### 1.3.6.1 成膜性及喷雾性能的比较

将虫胶、聚丙烯酸树脂、欧巴代均配制成质量分数为15%的肠衣液,通过流化喷雾实验,从壁材溶液的成膜性及喷雾性选择最佳壁材。

#### 1.3.6.2 微胶囊溶出度的比较<sup>[16]</sup>

将等量的上述3种壁材的微胶囊制剂放入不同pH值缓冲溶液的三角瓶中,于37℃恒温水浴搅拌,分别于1h后取出进行活菌计数,通过活菌数计算微胶囊在各种pH值缓冲液的溶出速度。

#### 1.3.6.3 微胶囊的肠溶性比较<sup>[17]</sup>

将等量的上述3种壁材的微胶囊制剂加入人工胃液中,于37℃恒温水浴搅拌,2h后取出,用灭菌的蒸馏水冲洗2~3次后放入人工肠液中进行崩解实验。

#### 1.3.6.4 耐酸性比较<sup>[17]</sup>

##### 1) 3种壁材微胶囊中的双歧杆菌在人工胃液中存活情况

分别取适量3种壁材的复合肠溶微胶囊分别置于盛有50 mL、pH 1.2人工胃液的三角瓶中,于摇床培养箱中以温度(37±1)℃,转速180 r/min的条件下进行崩解,分别于1、2、3h后测定3种微胶囊中双歧杆菌的活菌数,并以未包衣的微胶囊颗粒作对照。

##### 2) 3种壁材微胶囊中IgG活性在人工胃液中的变化

将3种壁材微胶囊分别放入人工胃液中,于1、2、3h后取样测定微胶囊中IgG活性的变化。

##### 3) 3种壁材微胶囊中IgG含量及表观回收率在人工胃液中的变化

表观回收率:免疫球蛋白未被分解或空间结构未发生变化的含量与原免疫球蛋白的含量的比值。

将包衣后的3种肠溶微胶囊放入人工胃液中,于1、2、3h后分别测定微胶囊中IgG含量及表观回收率的变化,并以未包衣的微胶囊颗粒作为对照组。

#### 1.3.6.5 贮存稳定性比较

##### 1) 3种壁材微胶囊中双歧杆菌活菌数在贮藏过程中的变化

将3种壁材微胶囊分别放在室温(25℃)条件下10个月,每隔1个月取出样品进行活菌计数,并以未包衣的微胶囊颗粒作对照组。

##### 2) 3种壁材的微胶囊中IgG活性在贮藏过程中的变化。

将3种壁材的微胶囊分别放在室温(25℃)条件下10个月,每隔1个月取出样品进行IgG活性的测定,并以未包衣的微胶囊颗粒作对照组。

#### 1.3.6.6 溶液质量分数的确定

以乙醇为溶剂将包衣液分别配制成质量分数为10%、15%和20% 3种,从喷雾情况选择最佳包衣液质量分数。

#### 1.3.6.7 壁材、芯材配比的确定

选择芯材/壁材质量比分别为10:1、10:2、10:3、10:4、10:5、10:6,以包埋率作为考察指标,筛选最佳的芯材/壁材比。

#### 1.3.7 免疫初乳与双歧杆菌复合微胶囊指标的测定

##### 1.3.7.1 双歧杆菌活菌数的测定

采用平板涂布法计数<sup>[18]</sup>,于37℃厌氧培养48~60h。

##### 1.3.7.2 免疫球蛋白(IgG)活性的测定

采用试管凝集法,参考文献[19-20]。

##### 1.3.7.3 免疫球蛋白(IgG)含量的测定

采用260~280 nm紫外吸收差法<sup>[21]</sup>,根据以下公式计算。

$$\text{IgG含量}/(\text{mg/mL}) = (\text{OD}_{280\text{nm}} \times 1.45 - \text{OD}_{260\text{nm}} \times 0.74) \times \text{稀释倍数}$$

式中:OD<sub>280nm</sub>为蛋白质溶液在280 nm波长处测得的光密度值;OD<sub>260nm</sub>为蛋白质溶液在260 nm波长处测得的光密度值;1.45、0.74为排除核酸对蛋白质浓度干扰的系数。

##### 1.3.7.4 免疫初乳与双歧杆菌复合微胶囊包囊效率(包埋率)的测定

参照文献[19]方法操作。

## 2 结果与分析

### 2.1 壁材成膜性及喷雾性能

表1 各种壁材成膜性及喷雾性比较

Table 1 Comparison of film-forming property and spraying capacity among various wall materials

壁材种类	成膜性	喷雾性
欧巴代	在母粒表面迅速形成膜,包裹囊心物	包衣液冲出喷嘴后立即被气流打在成膜区域形成雾状,与囊心物相遇成膜,菌粉包裹完全,包裹效果好
聚丙烯酸树脂	在母粒表面成膜速度稍慢,包裹囊心物	在成膜区略呈丝状而不能被打散呈雾状,喷雾状态一般,菌粉包裹不完全,导致部分菌粉外漏,包裹效果一般
虫胶	在母粒表面成膜速度慢,包裹囊心物	在成膜区略呈丝状而不能被打散呈雾状,喷雾状态较差,菌粉包裹不完全,导致部分菌粉外漏,包裹效果一般

由表1可知,3种肠溶材料均具有较好的成膜性能,但欧巴代包衣液能迅速在母粒表面形成膜,包裹囊心物,而聚丙烯酸树脂及虫胶成膜速度稍慢。但由于聚合物本身的结构性能和溶剂挥发快慢的原因,致使3种壁材喷雾效果差别较大,聚丙烯酸树脂及虫胶包衣溶液包裹时,在成膜区略呈丝状,不能很好呈雾状,无法包裹菌粉或菌粉外漏,导致包裹效果差。欧巴代则包衣液在喷嘴口后即被气流分散,在成膜区域形成雾状,与流化状态的囊心物相遇成膜,形成较好微胶囊颗粒,喷雾性能上显示了其独特的优越性。

## 2.2 壁材对溶出度的影响

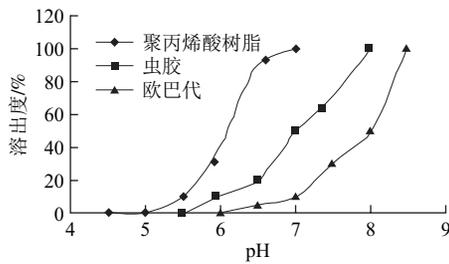


图1 不同壁材的溶解性能

Fig.1 Dissolution performance of different wall materials

由图1可知, 聚丙烯酸树脂在pH值为5.5时开始溶解, 溶解速度在pH值6.0~6.5时达到最快, 在pH值7.0时溶出度为100%, 此时的溶解范围与十二指肠及小肠上部的pH值范围相接近, 有利于药物的释放和吸收。虫胶在pH值6.0时开始溶解, 且溶解速度最快在pH值7.5~8, 在pH值为8时, 溶出度为100%, 因此具有在大肠部位释放的功能; 欧巴代在pH值为6.5时开始溶解, 溶解速率在pH值8~8.5时达最快, 且在pH值为8.5时溶出度达到100%, 因此具有在结肠部位释放的功能, 可避免十二指肠下部高胆汁盐对双歧杆菌活性的影响。

## 2.3 壁材对肠溶性的影响

微胶囊是否能抵御胃酸的侵蚀, 达到小肠部位后能否顺利崩解, 有赖于壁材的耐酸性和肠溶性能。不同壁材在人工胃液及人工肠液中的溶解性结果如表2所示。

表2 不同壁材在人工胃液及人工肠液中的溶解性

Table 2 Dissolution performance of different wall materials in artificial gastric juice and artificial intestinal juice

壁材种类	人工胃液处理2h	人工肠液处理情况
欧巴代	溶液仍然澄清透明, 肠衣不溶解	40 min内完全溶解, 溶液没有沉淀产生
聚丙烯酸树脂	1.5 h后溶液稍有混浊, 肠衣微量崩解	40 min内完全溶解, 溶液有很少量的沉淀产生
虫胶	1.5 h后溶液稍有混浊, 肠衣微量崩解	40 min内完全溶解, 溶液有少量沉淀产生

由表2可知, 欧巴代、聚丙烯酸树脂、虫胶均具有良好的肠溶性, 在人工肠液中40 min内崩解完全。实验观察到欧巴代在人工胃液中处理2 h后溶液仍然澄清透明, 肠衣基本上不崩解, 而其他两种壁材在人工胃液中处理1.5 h后溶液中开始出现混浊, 肠衣发生微量崩解。虽然三者都符合肠溶标准, 但欧巴代的肠溶性及耐酸性均优于其他两种壁材。

## 2.4 壁材的耐酸性

## 2.4.1 不同壁材微胶囊中双歧杆菌在人工胃液中的存活情况

表3 不同壁材的微胶囊中双歧杆菌的活菌数在人工胃液中的变化

Fig.3 Change in viable *Bifidobacterium adolescentis* count of microcapsules in artificial gastric juice

微胶囊类型	原菌数	1 h后活菌数	2 h后活菌数	3 h后活菌数
欧巴代	$6.2 \times 10^8$	$5.94 \times 10^8$	$5.48 \times 10^8$	$4.41 \times 10^8$
聚丙烯酸树脂	$6.31 \times 10^8$	$5.30 \times 10^8$	$4.02 \times 10^8$	$2.70 \times 10^8$
虫胶	$6.30 \times 10^8$	$4.98 \times 10^8$	$3.80 \times 10^8$	$2.10 \times 10^8$
未包肠衣	$6.53 \times 10^8$	$3.32 \times 10^7$	$2.39 \times 10^4$	$3.23 \times 10^2$

由表3可知, 壁材对微胶囊中的双歧杆菌起到了保护作用, 包衣后的微胶囊中的双歧杆菌在胃液中放置3 h后, 活菌数量级仍在 $10^8$  CFU/g以上, 而未包衣的微胶囊在人工胃液中放置3 h后, 活菌数量降为 $10^2$  CFU/g; 且欧巴代作为壁材的微胶囊在人工胃液中放置1 h后, 双歧杆菌存活率为94.3%, 放置3 h后活菌存活率仍可达70%; 而聚丙烯酸树脂及虫胶作为壁材的微胶囊在人工胃液中放置3 h后, 双歧杆菌存活率都下降到了50%以下。结果表明以聚丙烯酸树脂及虫胶作为壁材, 在酸性条件下保护性很差, 双歧杆菌活菌进入肠道大量死亡, 难以发挥调节肠道菌群失调的功效。而欧巴代作为微胶囊的壁材, 在胃环境中能够保护双歧杆菌, 使其具有靶向特性, 能够到达肠道并定殖于肠黏膜上, 发挥胃肠道调节作用。

## 2.4.2 不同壁材微胶囊中的IgG活性在人工胃液中的变化

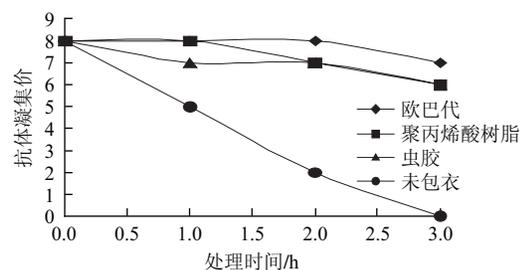


图2 不同壁材微胶囊中IgG活性在人工胃液中变化

Fig.2 Change in IgG activity of microcapsules in artificial gastric juice

由图2可知, 未包肠衣的微胶囊在人工胃液中放置2 h后IgG下降了6个滴度, 3 h后已经检测不到IgG的活性; 而欧巴代作为壁材的微胶囊在人工胃液中放置2 h后活性没有发生变化, 即使存放3 h后活性仅下降1个滴度; 而其他两种壁材的微胶囊在人工胃液中放置3 h后, 活性均降低了2个滴度。表明欧巴代壁材耐酸性最佳, 微胶囊包衣后IgG耐酸性提高, 顺利通过肠道被人体消化吸收。

## 2.4.3 不同壁材微胶囊中IgG含量及表观回收率在人工胃液中的变化

从表4、图3可知, 未包肠衣的微胶囊在人工胃液中处理2 h后表观回收率为30%, 3 h后表观回收率仅为5%; 欧巴代作为壁材的微胶囊在人工胃液中处理2 h后表观回收率为93.6%, 即使是在人工胃液中存放3 h微胶囊中IgG

的表观回收率仍在80%以上；而聚丙烯酸树脂作为壁材的微胶囊在人工胃液中处理3 h后表观回收率为70%，虫胶为71%，表观回收率远远小于欧巴代作为壁材的微胶囊。聚丙烯酸树脂及虫胶为普通薄膜包衣材料，是由多种材料混合而成，容易造成溶解不充分或混合不均匀及沉降现象，致使微胶囊包埋率下降，胃酸使微囊中的生物活性物质活性降低。而欧巴代是用经特殊工艺处理的粉状固体（高分子聚合物、增塑剂、着色剂）溶解于溶剂中，分散均匀，所包衣微囊表面光洁、细腻，均匀，包埋率提高，避免了胃酸对生物活性物质的影响。

表4 IgG含量在人工胃液中的变化  
Table 4 Change in IgG content from microcapsules in artificial intestinal juice

微胶囊类型	原IgG含量	1 h后	2 h后	3 h后
欧巴代	64.012 2	61.588 1	57.922 0	51.849 9
聚丙烯酸树脂	64.012 2	57.876 0	52.988 6	44.788 2
虫胶	64.012 2	58.622 4	52.244 0	45.266 9
未包肠衣微囊	64.012 2	44.807 8	19.203 4	3.200 0

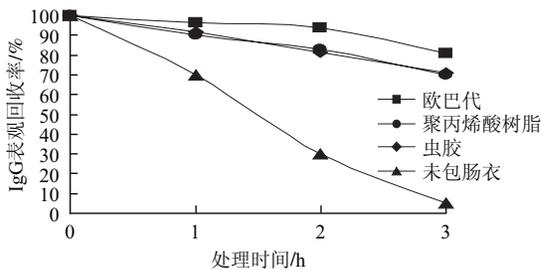


图3 不同壁材的微胶囊中IgG表观回收率在人工胃液中的变化  
Fig.3 Change in apparent recovery rate of IgG from microcapsules in artificial intestinal juice

2.5 不同壁材微胶囊的贮存稳定性研究

2.5.1 微胶囊中双歧杆菌活菌数在贮藏过程中的变化

表5 不同壁材的复合微胶囊中双歧杆菌活菌数在室温贮存中的变化  
Table 5 Change in viable *Bifidobacterium adolescentis* count of microcapsules during storage at room temperature

微胶囊类型	贮存时间/月										
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
欧巴代	$6.3 \times 10^8$	$6.2 \times 10^8$	$6.1 \times 10^8$	$6.0 \times 10^8$	$5.8 \times 10^8$	$5.5 \times 10^8$	$5.1 \times 10^8$	$4.8 \times 10^8$	$4.2 \times 10^8$	$3.3 \times 10^8$	$2.0 \times 10^8$
聚丙烯酸树脂	$6.3 \times 10^8$	$6.1 \times 10^8$	$6.0 \times 10^8$	$5.77 \times 10^8$	$5.0 \times 10^8$	$4.8 \times 10^8$	$4.1 \times 10^8$	$3.3 \times 10^8$	$1.1 \times 10^8$	$0.9 \times 10^8$	$0.6 \times 10^8$
虫胶	$6.3 \times 10^8$	$6.2 \times 10^8$	$5.9 \times 10^8$	$5.7 \times 10^8$	$4.8 \times 10^8$	$4.4 \times 10^8$	$3.1 \times 10^8$	$2.1 \times 10^8$	$0.9 \times 10^8$	$0.5 \times 10^8$	$0.1 \times 10^8$
未包肠衣	$6.5 \times 10^8$	$1.6 \times 10^8$	$0.9 \times 10^8$	$7.2 \times 10^7$	$1.9 \times 10^7$	$8.7 \times 10^6$	$7.6 \times 10^6$	$1.8 \times 10^6$	$6.3 \times 10^5$	$8.7 \times 10^4$	$1.6 \times 10^4$

从表5可知，欧巴代作为壁材的微胶囊中双歧杆菌的活菌数在前9个月变化不明显，9个月时活菌存活率仍可达52.4%，而从第10个月活菌数明显下降，但存活率仍可达31.7%，活菌数量级仍在 $10^8$  CFU/g以上；用聚丙烯酸树脂作为壁材的微胶囊在室温下放置9个月时活菌数量级降为 $10^7$  CFU/g，而虫胶作为壁材的微胶囊在存放8个

月时活菌数量级降为 $10^7$  CFU/g；而未包肠衣的微胶囊在存放2个月时活菌数量级就降为 $10^7$  CFU/g，存放10个月时活菌数量级为 $10^1$  CFU/g，活菌数大大减少。因此，壁材可以有有效的保护微胶囊中的双歧杆菌，使其贮存稳定性大大提高。且以欧巴代作为壁材微胶囊的稳定性最好。

2.5.2 不同壁材微胶囊中的IgG活性在贮藏过程中的变化

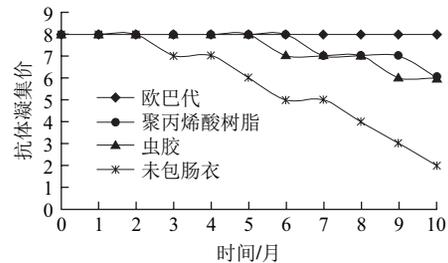


图4 不同壁材的微胶囊中IgG活性在贮存过程中变化  
Fig.4 Change in IgG activity of microcapsules during storage at room temperature

从图4可知，未包肠衣的微胶囊中的IgG在室温下放置3个月活性就已下降了1个滴度，放置10个月时活性下降了6个滴度，活性大大减低；而用欧巴代作为壁材的微胶囊在室温下放置10个月活性没有发生任何变化，仍可达2<sup>8</sup>；聚丙烯酸树脂作为壁材的微胶囊在室温下放置7个月活性下降了1个滴度，10个月下降到了2<sup>6</sup>；虫胶作为壁材的微胶囊的在室温下放置6个月活性下降了1个滴度，10个月也下降到了2<sup>6</sup>。因此，微胶囊包衣后，壁材对微胶囊中的IgG起到保护作用，能使这种生物活性物质的稳定性增强，存活率提高。以欧巴代作为微胶囊的壁材稳定性最好。

2.6 壁材溶液质量分数的确定

表6 壁材溶液的质量分数对喷雾性能及微胶囊性能的影响  
Table 6 Effect of wall material concentration on spraying capacity and microcapsule performance

溶液质量分数/%	喷雾性能	微胶囊性能
10	溶液喷出较快，时间后易聚结	干燥时微胶囊中水分蒸发较快，微胶囊表面出现裂纹
15	喷雾速度适中，成膜效果好，黏结现象少	干燥时间较快，微胶囊表面光滑，没有黏连
20	溶液在喷嘴出口初级快成膜，阻塞喷嘴，增大气流时破坏囊心物的流化	干燥时间过长，微胶囊表面粗糙且黏连现象严重

由表6可知，壁材溶液的质量分数会对包囊过程中的操作造成影响，质量分数过大将会降低喷雾效果，使喷雾速度降低，甚至堵塞喷嘴；质量分数过小又会使包囊效果减低，甚至使菌粉包裹不完全，从喷雾速度及微胶囊的性能综合考虑，选用包衣液的质量分数为15%，此时喷雾速度适中、成膜效果好，微胶囊干燥时间较快且表面光滑，几乎没有黏连现象。此外，本实验选择95%的乙醇溶液作为溶剂，而不用无水乙醇，因为少量的水有利于微胶囊的形成，且对壁材起到一定的增溶作用，肠衣中水含量太低或不含水会造成囊衣易碎、皱缩。实验

芯材为双歧杆菌发酵花生乳冻干粉,吸湿性强,故肠衣中水含量可适当降低;肠衣中水含量过高会造成干燥时间延长,黏连现象严重,同时囊衣强度差、容易变形。

### 2.7 芯材与壁材质量比的确定

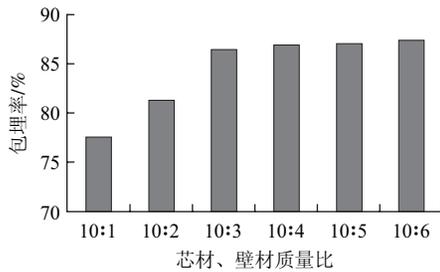


图5 不同壁材的微胶囊中IgG活性在贮存过程中变化

Fig.5 Relationship between core/wall material ratio and embedding rate

在微胶囊包衣过程中,包衣液过少会使菌粉外漏,包囊不完全,从而使包埋率降低;包衣液过多又会使微胶囊干燥速率减慢,同时增加生产成本。由图5可知,在芯材与壁材质量比10:1到10:3的范围内,益生菌包埋率随着壁材用量的增加而逐渐增大;而当二者比例大于10:3时,随着壁材量继续的增大益生菌包埋率增加缓慢。

### 3 结论

双歧杆菌微囊过程,欧巴代在喷雾性能上显示出优越性,而且具有在结肠部位靶向释放特性,可避免十二指肠下部高胆汁盐对双歧杆菌及IgG活性的影响。耐酸性结果表明:壁材对微胶囊中的双歧杆菌及IgG起到保护作用,欧巴代作为壁材的微囊在人工胃液放置3 h后活菌存活率仍可达70%,IgG活性仅下降1个滴度,表观回收率仍在80%以上。稳定性实验表明,欧巴代制备的微囊双歧杆菌的活菌数在前9个月变化不明显,从第10个月活菌

数明显下降,存活率仍可达31.7%,活菌数量级仍在 $10^8$  CFU/g以上;在室温下放置10个月IgG活性没有发生变化,仍可达 $2^8$ 。欧巴代制备的微囊双歧杆菌最佳包衣液质量分数为15%,芯材、壁材质量比为10:3。

### 参考文献:

- [1] 郭本恒. 酸奶[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 193-195.
- [2] 郭本恒. 益生菌[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 238-239.
- [3] 田洪涛, 张柏林, 贾英民. 双歧杆菌与人体胃肠道微生态[J]. 河北农业大学学报, 2000, 23(4): 84-86.
- [4] 徐铮奎. 益生菌的作用研究[N]. 中国医药报, 2001-09-13.
- [5] 吴克刚. 益生菌的生理功能及微胶囊化的必要性和方法[J]. 广州食品工业科技, 2004(B11): 69-72.
- [6] 李国强. 抗哮喘病免疫乳的研究[D]. 天津: 天津商学院, 2003.
- [7] 杨汉春. 动物免疫学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1996.
- [8] 张和平, 郭军. 免疫乳科学与技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2002.
- [9] 郭本恒. 功能性乳制品[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001.
- [10] 陆东林. 我国牛初乳开发利用的现状、问题与对策[J]. 新疆农业科学, 2004, 41(2): 190-195.
- [11] 张和平, 孙天竹, 郭军, 等. 免疫乳中乳抗体对大肠杆菌和沙门氏菌所致小鼠腹泻的被动免疫保护[J]. 中国乳品工业, 2004, 32(6): 3-7.
- [12] 张和平, 孙天竹, 郭军, 等. 免疫乳对肠道菌群的调节作用[J]. 中国乳品工业, 2004, 32(5): 9-12.
- [13] 郭军, 张和平, 李立民, 等. 一株肠出血性大肠杆菌O157H7免疫乳牛实验即抗EHEC O157H7免疫乳的试制[J]. 食品科学, 2002, 23(8): 254-258.
- [14] 杨柳, 尤丽新, 张英楠, 等. 免疫初乳与双歧杆菌复合微胶囊保护剂的筛选[J]. 食品科学, 2011, 32(13): 179-183.
- [15] 杨柳. 免疫初乳与双歧杆菌复合微胶囊的研制[J]. 食品科学, 2009, 30(20): 194-197.
- [16] 黄序. 微胶囊技术及片剂包衣技术在双歧杆菌保护中的应用[D]. 天津: 天津轻工业学院, 2002.
- [17] 杨柳, 尤丽新, 张英楠, 等. 免疫初乳与双歧杆菌复合微胶囊的制备及特性研究[J]. 食品科学, 2012, 33(23): 150-154.
- [18] 杜连祥. 工业微生物学实验技术[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1992.
- [19] 王春风. 抗人轮状病毒和大肠杆菌免疫乳的研制[D]. 长春: 吉林农业大学, 1997.
- [20] 何昭阳. 病原细菌检验技术[M]. 长春: 吉林科学技术出版社, 1986.
- [21] 何昭阳, 胡桂学, 王春风. 动物免疫学试验技术[M]. 长春: 吉林科技出版社, 2002.