

## 益生菌包埋前沿技术及其研究进展

陈臣，张晓丛，袁海彬，于海燕，黄娟，田怀香\*

(上海应用技术大学香料香精技术与工程学院 上海 201418)

**摘要** 益生菌是对人体健康有益的一类活性微生物。由于菌体对外界环境高度敏感，在生产、储存和使用过程中容易出现存活率低或生物活性差等问题，极大地降低了益生菌的益生效果。包埋技术可以在一定程度上保护益生菌免受环境和相关因素的影响，对益生菌抵抗外界不良条件具有良好的效果。近年来，益生菌包埋技术的快速发展，为益生菌的高效保护提供了有效策略。本文综述内源乳化法、Pickering 乳化法、复合凝聚法和多层包埋 4 种益生菌包埋前沿技术，包括其技术原理，优、缺点等方面；阐述益生菌包埋技术在食品领域的应用，包括产品在胃肠道中活菌数的变化以及对食品感官特性的影响。最后对益生菌包埋技术的研究方向与发展前景进行展望。

**关键词** 益生菌；菌包埋技术；存活率；食品应用

**文章编号** 1009-7848(2023)01-0384-13    **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.01.037

益生菌是指一类定植于人体肠道和生殖系统内，能产生确切健康功效，从而改善宿主微生态平衡，发挥对肠道有益作用的活性有益微生物<sup>[1]</sup>。越来越多的临床证据表明，益生菌能有效改善人体的一些健康状况，包括通过肠道微生物成分的正常化来抑制病原体，调控肠道疾病；通过免疫调节来降低血清胆固醇，改善乳糖耐受性，减轻婴儿的食物过敏症状等<sup>[2]</sup>。

随着功能研究的深入，益生菌被广泛应用到发酵食品、乳制品及功能饮料等产品中。然而，益生菌对温度、氧气、湿度、酸碱度等环境因素的高度敏感<sup>[3]</sup>，生产加工和贮藏期间容易造成菌体存活率低，生物活性差。此外，只有足够数量的活菌【≥6 lg(CFU/g)】释放到人体肠道中才能发挥其益生作用<sup>[4]</sup>。为了保证益生菌的存活率和在人体肠道中定殖与释放，需对益生菌进行保护，而包埋技术是目前最有效的方法之一<sup>[5]</sup>。

包埋技术是运用物理、化学等技术手段将菌体进行包裹，使菌体与外界隔离，为益生菌抵抗不利条件提供了庇护所，降低了不良环境和相关因素对菌体的影响，是提高菌体耐受性，保持菌体活性和稳定，发挥益生作用的有效方法<sup>[6]</sup>。传统的包

埋技术主要包括挤压法、冷冻干燥法和喷雾干燥法。虽然这些技术已非常成熟并被广泛应用，但是在使用过程中存在一些显著的缺陷，已不能满足菌体包埋的要求。例如：挤压法制备的微胶囊粒径较大，均匀性较差，微珠形成缓慢并且产率较低，难以用于大规模生产<sup>[7]</sup>。真空冷冻干燥法在冻干过程中难免会对细胞膜、细胞壁、溶质等造成机械损伤<sup>[8]</sup>，并且也会影响细胞代谢调节作用，从而导致细胞死亡，使其存活率降低<sup>[9]</sup>。喷雾干燥法在制备过程中菌体会短时间暴露于高温环境，易使细胞壁和细胞膜等损伤，对活菌细胞的结构完整性、后续处理加工和益生作用造成负面影响<sup>[10]</sup>。

随着益生菌功效的不断发掘，其市场需求不断扩大。对益生菌存储和运输方便，存活率高和复活迅速等多种要求，推动了益生菌包埋技术的发展，新的方法不断涌现，如内源乳化法、Pickering 乳化法、复合凝聚法和多层包埋等。本文主要概述了益生菌包埋的前沿技术及其在酸奶、奶酪等食品中的应用。

### 1 益生菌最新包埋技术

#### 1.1 内源乳化法

内源乳化法是乳化方法的一种。乳化法根据加入油相乳化先、后的不同，而分为外源乳化法和内源乳化法<sup>[11]</sup>。1989 年 Lencki 等<sup>[12]</sup>首次提出了内源凝胶化的概念。以此为基础，Poncelet 等<sup>[13]</sup>设计了搅拌桨和反应器，成功地制备出尺寸较小、光滑

收稿日期：2022-01-09

基金项目：上海市科委“上海工程技术研究中心”项目  
(20DZ2255600)

第一作者：陈臣，男，博士，教授

通信作者：田怀香 E-mail: tianhx@sit.edu.cn

表面的球形海藻酸钙凝胶颗粒，并且分析了制备海藻酸盐微胶囊的各项参数，从而建立了内源乳化法。内源乳化法的原理是将不溶性的钙盐颗粒和海藻酸盐混合形成均一稳定的溶液后，再将其混合液注入油相，在活性剂的作用下形成乳化液，通过  $H^+$  透过表面活性剂层(O/W 界面)，加入酸性物质使反应 pH 呈下降趋势，从而导致不溶性钙盐中钙离子的流失，与海藻酸根结合在包裹的液滴内侧形成凝胶微胶囊球<sup>[14-15]</sup>。

内源乳化法由于其制备的微胶囊具有粒径小和均匀性高的特点，已被研究用于一些益生菌的包埋。周艳林等<sup>[16]</sup>将双歧杆菌、植物乳杆菌、干酪乳杆菌 3 种复合益生菌包埋在魔芋葡甘聚糖和海藻酸钠中制成微胶囊，在模拟连续的胃肠道试验中，活菌数能达到  $7.57 \text{ lg}(\text{CFU/g})$ ，显著提高了菌体存活率。Qi 等<sup>[17]</sup>采用内源乳化法对布拉酵母菌和屎肠球菌进行包埋，制备的微球粒径在 300~500  $\mu\text{m}$  之间，在高温高湿条件下，包埋的益生菌

存活率分别提高了 25% 和 40%，在胃肠道中也形成了良好的保护。Heidebach 等<sup>[18]</sup>以转谷氨酰胺酶为交联剂，以蛋白质为壁材，通过内源乳化凝胶包埋了益生菌，达到免受酸碱度损害的效果。Chandramouli 等<sup>[19]</sup>通过内源乳化法，将嗜酸乳杆菌成功包封，活菌数显著增加，可以保护乳杆菌免受胃液影响。赵萌等<sup>[20]</sup>通过海藻酸钠与魔芋葡甘聚糖内源乳化复配形成微胶囊，对嗜酸乳杆菌 CGMCC1.2686 进行包埋，提高了微胶囊对乳酸菌的保护效果，而增大了微胶囊粒径，达到了 100  $\mu\text{m}$  左右。

内源乳化法与外源乳化法相比，包封率更高<sup>[21]</sup>。同时内源乳化法克服了微胶囊的成簇凝聚现象，使得微胶囊粒径易于控制，可形成粒径更小、更均一、分布范围更广、圆球度更佳和表面更光滑的微胶囊<sup>[22]</sup>。然而该方法需要添加油脂做分散相，制备过程繁琐，增加了工艺成本，因而目前还主要停留在实验室阶段。

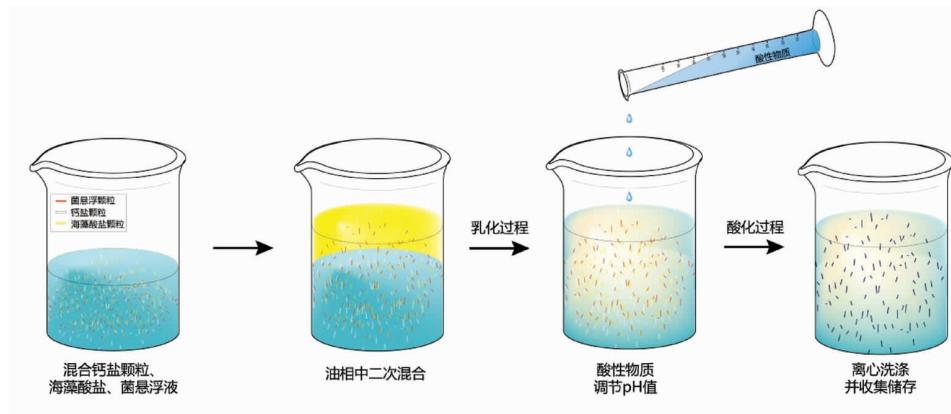


图 1 内源乳化法流程图

Fig.1 Flow chart of emulsification/internal gelation method

## 1.2 Pickering 乳化法

Pickering 乳化法是用固体颗粒代替传统乳化剂，将固体颗粒吸附于油水界面并形成单层或多层膜，通过固体颗粒来稳定乳液，达到动力学和热力学体系均一、稳定的一种方法<sup>[23]</sup>。1903 年，Ramsden<sup>[24]</sup>在研究蛋白质分散体系时，发现胶体颗粒可以用作乳化剂<sup>[25]</sup>。随后，在 1907 年，Pickering 对这类固体颗粒稳定的乳液进行了系统性研究，故此类乳液又被称为 Pickering 乳液，用来稳定乳液的固体颗粒被称作 Pickering 颗粒<sup>[26]</sup>。

Pickering 乳化法包埋益生菌的原理是将菌体

与水相或者油相混合形成均匀的体系后，加入另一相和用于稳定的固体颗粒，经过高速剪切、超声振荡和高压均质等方式处理后，固体颗粒吸附于油水界面表面形成膜，达到动力学和热力学稳定，即得到 Pickering 乳液包埋的益生菌<sup>[27]</sup>。在益生菌与其中一相混合之前，先选择将其冻干成粉末。Su 等<sup>[28]</sup>将冻干的植物乳酸菌粉末悬浮在葡萄籽油中，而后与乳清蛋白微凝胶溶液混合，并在均质机剪切作用下得到 Pickering 高内相乳液(HIPEs)。巴氏杀菌处理后，HIPEs 能显著提高细胞的存活率，维持在  $5 \text{ lg}(\text{CFU/g})$ ，表明 HIPEs 具有增强益

生菌活力的潜力。Eslami 等<sup>[29]</sup>将德氏乳杆菌包埋在 Pickering 双乳液的内水相中,以  $\beta$ -环糊精和吐温-80 两种不同的表面活性剂进行比较,发现以  $\beta$ -环糊精为乳化剂包埋细胞的存活率显著增加。Wang 等<sup>[30]</sup>设计了一种  $W_1/O/W_2$  型 Pickering 乳剂对嗜酸乳杆菌包埋,在 4 ℃贮存 14 d 后,包封的乳酸菌在酸性条件下存活率显著提高,对碱性环境的耐受性略有增强。Su 等<sup>[31]</sup>以  $\beta$ -乳球蛋白-海藻酸丙二醇酯复合水凝胶颗粒作为乳化剂,大豆油作为油相对鼠李糖乳杆菌进行包埋形成 HIPEs,在巴氏杀菌处理后,存活率高达 7.91 lg(CFU/g)。

Pickering 乳液的显著优势是乳液具有长期稳定性,作为乳化剂的固体颗粒界面膜会阻止乳液

滴之间的碰撞和聚集,固体颗粒需要很大的解析能,才能从界面上解析脱离,该吸附过程几乎可视为不可逆<sup>[32]</sup>。同时,制备过程中乳化剂多为可食性固体颗粒,一般主要为蛋白质和多糖,对人体和环境具有较好的安全性<sup>[33]</sup>。然而,由单一粒子稳定的 Pickering 乳液液滴之间易相互作用导致乳液体系降解<sup>[34]</sup>,且需采取加热、复配和水解等方法改善其粒径、表面粗糙度和湿润性等。此外,目前食品级可食性的 Pickering 固体颗粒种类比较有限,生物相容性和环境兼容性存在一定的局限性<sup>[35]</sup>,并且制备过程较复杂,造成生产成本提高,在工业应用上也存在一定困难。

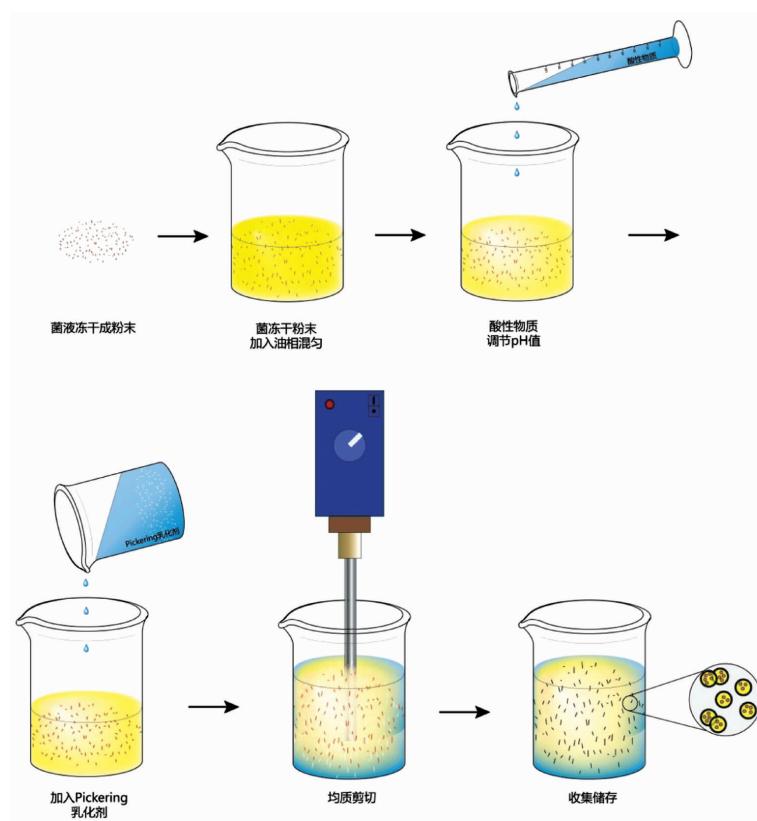


图 2 Pickering 乳化法流程图(O/W型)

Fig.2 Flow chart of Pickering emulsification method (O/W type)

### 1.3 复合凝聚法

复合凝聚是高分子物理中的一个概念<sup>[36]</sup>,主要是基于静电相互作用,带相反电荷聚电解质间发生去溶剂化而导致相分离,最后形成了两相体系,即富含聚电解质的凝聚相和与之平衡的稀释相。为了区别于大分子脱水的简单凝聚,Jong 和

Kruyt 在 1929 年首次引入了“复合凝聚”这个概念<sup>[37]</sup>。复合凝聚法主要是将芯材分散在带有相反电荷的聚合物溶液中,通过调节体系的温度、pH 值等因素,使壁材因静电相互作用,溶解度下降而凝聚在芯材表面,形成微胶囊而析出<sup>[38]</sup>。食品体系中研究较多的复合凝聚体系是蛋白质和多糖体

系, 带相反电荷的蛋白质和多糖可发生静电相互作用形成微胶囊<sup>[39]</sup>。

Gerez 等<sup>[40]</sup>研究通过复合凝聚法使乳清蛋白有效包裹在果胶微胶囊表面, 形成果胶和乳清蛋白体系可以在 pH=2.0 的条件下, 对乳酸菌起到很好的保护效果, 存活率达到 7 lg(CFU/g)。Oliveira 等<sup>[41]</sup>以酪蛋白、果胶复合物体系用复合凝聚法包埋然后干燥, 包埋后的乳杆菌在 7 °C 的贮藏温度下可得到有效保护, 保持了较高的生存能力。Bosnea 等<sup>[42]</sup>以乳清分离蛋白和阿拉伯胶为壁材经复合凝聚法对乳酸菌进行包埋, 在 pH=4.0 下冷藏 60 d 后, 微囊化细胞与未包埋菌体相比, 存活率提高了 86%。同时, 该复合物可以在 pH=7.0 的肠道环境下溶解释放乳杆菌, 表明该包埋方法在一定程度

上解决了菌体释放问题。Silva<sup>[43]</sup>等采用复合凝聚法结合转谷氨酰胺酶交联的方法对嗜酸乳杆菌进行微胶囊化, 然后冷冻干燥制造干燥微胶囊, 得到了 68.20%~97.72% 的高封装效率, -18 °C 下可贮存 60 d, 湿微胶囊活细胞计数可达 9.59 lg(CFU/g), 干微胶囊达 8.51 lg(CFU/g), 提高了微胶囊对益生菌的保护作用。在类似的研究中, Liu 等<sup>[44]</sup>用硫代氧化魔芋葡甘聚糖微球对益生菌进行包埋, 利用 COO-Fe<sup>3+</sup>配位和二硫键的双重交联制备了 sOKGM 微球, 在交联过程中将双歧杆菌包埋在微球中, 该方法增强了双歧杆菌的胃酸抗性和在肠内的黏附定殖能力, 可以有效地提高益生菌的数量与活力。

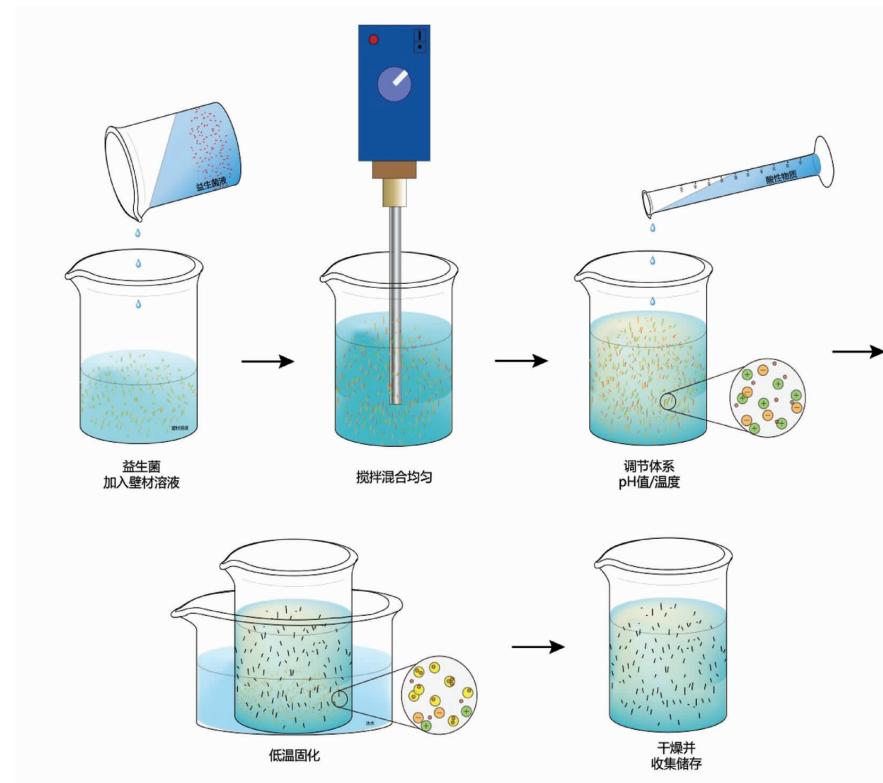


图 3 复合凝聚法流程图  
Fig.3 Flow chart of complex coacervation method

复合凝聚法通过封装基质的凝聚及静电结合形成分子间复合物, 因此提高了整体黏度和结构完整性<sup>[45]</sup>; 通过凝聚形成的结构在喷雾干燥后具有较好的机械强度和阻隔性能, 包埋效率较高。然而复合凝聚法的制备成本相对较高, 并且微胶囊的溶解性和润湿性较差, 给产品的应用带来一些

不便。

#### 1.4 多层包埋法

多层包埋法可以分为双层包埋和三层包埋等技术方法, 主要是综合利用多种包埋技术, 起到协同增效的作用。

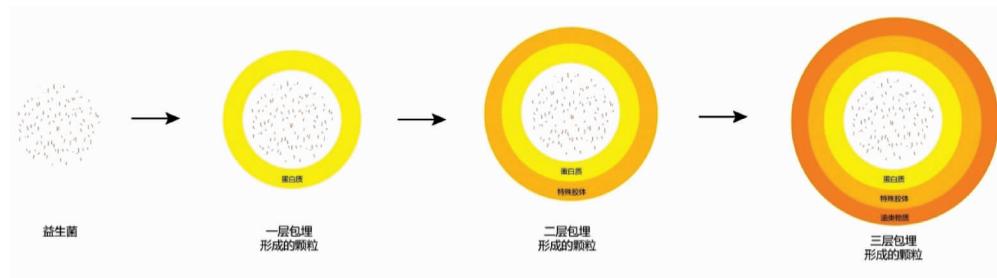


图4 多层包埋法流程图  
Fig.4 Flow chart of multi-layer embedding method

Bosnea 等<sup>[46]</sup>在复合凝聚法的基础上进行改进, 将复合凝聚法与离子凝胶法结合对乳酸菌进行包埋保护。先用复合凝聚法对乳酸菌进行一次包埋, 再用  $\text{Ca}^{2+}$ -海藻酸盐凝胶微球进行二次包埋, 形成的微胶囊粒径为 1~2 mm, 在  $\text{pH}=2.0$  下处理 3 h 后, 失活的益生菌仅有 1.24 lg(CFU/g), 相比未包埋的菌体和仅用复合凝聚法进行包埋的菌体存活率明显提高。Loyeau 等<sup>[47]</sup>通过以美拉德反应得到的乳清蛋白和右旋糖酐偶联物为乳化剂对动物双歧杆菌亚属进行第一层乳化包埋, 然后复合凝聚形成海藻酸钙第二层包埋, 冷冻干燥后在 4 °C 贮存 3 周, 与普通乳清蛋白包埋相比活菌数提高了 0.74 lg(CFU/g)。刘仁杰等<sup>[48]</sup>用大豆分离蛋白、海藻酸钠作为一层包埋壁材, 明胶作为二次包埋壁材对植物乳杆菌进行包埋, 同时做了一组对比试验, 结果表明, 大豆分离蛋白-海藻酸钠-明胶复配微胶囊的包埋率达到 95.31%, 结构质密, 平均粒径小于 2 mm, 在体外消化道试验中菌体存活率达到 85.73%。William 等<sup>[49]</sup>在乳酸菌表面利用特殊蛋白质做第一层包埋, 再利用特殊胶质及纤维寡糖做第二层包埋, 可有效延长益生菌在产品保存期的活性, 也可提高益生菌的胃酸耐受性和肠道定殖能力。陈健凯等<sup>[50]</sup>采用双层包埋方法, 以牛奶蛋白为内层包埋剂,  $\kappa$ -卡拉胶和刺槐豆胶为外层包埋剂, 对嗜酸乳杆菌和干酪乳杆菌进行双层包埋, 结果表明在  $\text{pH}=2.1$  和 60 °C/60 min 的条件下, 包埋菌体的生物活性更稳定, 并且室温存放 1 年的包埋菌体活菌数仅降低 1 lg(CFU/g)。李洪波等<sup>[51]</sup>分别以酪蛋白和海藻酸钠为内层和外层壁材, 通过酶促法和内源乳化法对干酪乳杆菌/乳糖醇合生元进行双层包埋, 微胶囊粒径最小为 340  $\mu\text{m}$ , 活菌数较未包埋的菌体提高了 0.56 lg(CFU/g)

g)。宋雅娟<sup>[52]</sup>以黄原胶作为第一层壁材, 壳聚糖作为第二层壁材, 运用挤压法和乳化交联法将嗜酸乳杆菌和双歧杆菌进行包埋, 成功提高了其生物活性和贮存稳定性。

三层包埋也是多层包埋方法中的一种。王野<sup>[53]</sup>以海藻酸钠为包埋材料, 采用乳化方式对双歧杆菌进行一次包埋, 在此基础上分别以壳聚糖进行二次包埋, 再以棕榈油进行三次包埋, 通过三层包埋技术较好地解决了双歧杆菌抗逆环境差的问题, 增强了双歧杆菌的存活性能。本课题组在前期研究中通过内源乳化法制备得到海藻酸钠-壳聚糖-三聚磷酸钠三层微胶囊, 并对植物乳杆菌进行包埋, 平均粒径为 138  $\mu\text{m}$ , 制备的益生菌酵素粉在 30 °C 保存 90 d 后, 活菌数仍高于 9.5 lg(CFU/g)<sup>[54]</sup>。罗丹阳等<sup>[55]</sup>通过单分散液滴发生器结合静电自组装, 以海藻酸钙凝胶、壳聚糖和阿拉伯胶为壁材包埋鼠李糖乳杆菌, 制备三层益生菌微胶囊, 粒径为 434  $\mu\text{m}$ , 在 4 °C 贮藏 12 d 后, 活菌数仅下降 0.1 lg(CFU/g), 显著提高了存活率。

多层包埋技术能有效提高益生菌的稳定性, 如贮存稳定性、胃酸耐受性和温度耐受性等, 并且该技术适用性强, 任何益生菌都可以利用该技术包埋。其次, 由于多种功能壁材的协同作用<sup>[56]</sup>, 多层包埋技术能有效提高益生菌的益生效果, 如帮助益生菌在肠道内定植和释放等。然而, 多层包埋技术制备步骤较多, 生产成本较高, 并且制备得到的微胶囊粒径普遍偏大<sup>[51]</sup>, 增加了益生菌芯材释放的难度, 影响释放率。

## 2 益生菌包埋技术在食品中的应用

### 2.1 在酸奶中的应用

酸奶被认为是消费者补充益生菌的最受欢迎

的载体，也是益生菌包埋应用最多的食品之一<sup>[57]</sup>（表 1）。Mousa 等<sup>[58]</sup>将双歧杆菌 F-35 封装到乳清蛋白-海藻酸钠制备的双层微胶囊中，加入发酵的酸奶后，在(4±1)℃贮存 14 d，延长了活菌数下降到 9 lg(CFU/g)的时间。Kailasapathy<sup>[59]</sup>研究了游离状态和钙诱导的海藻酸盐-淀粉包埋的嗜酸乳杆菌和乳酸双歧杆菌，加入牛奶中发酵成酸奶，在 4 ℃下贮藏 49 d，包埋后益生菌的存活率提高，含有包埋益生菌的酸奶酸化较慢。Adhikari 等<sup>[60]</sup>用  $\kappa$ -卡拉胶将双歧杆菌微囊化，在 pH=4.6 条件下添加到搅拌酸奶中发酵，4.4 ℃贮存 30 d，成功提高了双歧乳杆菌的存活率，保护菌体免受酸奶低酸度的影响。Bosnea 等<sup>[61]</sup>使用乳清蛋白分离物和阿拉伯树胶通过复合凝聚法对副干酪乳杆菌进行包埋，然后添入搅拌酸奶中，4 ℃贮存 45 d，乳杆菌包埋后改善了细菌在酸奶中的存活率，在模拟胃液环境中保护作用更有效。Kadri 等<sup>[62]</sup>通过 2 次乳化将副干酪乳杆菌亚种包埋在 W<sub>1</sub>/O/W<sub>2</sub> 乳化剂中，然后加入酸奶中制成凝固型酸奶，产品质地稳定，在整个贮存期间保持了高存活率。

益生菌包埋可有效改善酸奶低 pH 环境对益生菌生物活性和存活率的影响<sup>[63]</sup>，同时也可提高益生菌对胃酸的耐受性，增加益生菌在肠道的定殖率，使益生作用充分发挥。此外，在酸奶加工过程中，包埋后的益生菌较易存储，可以有效降低活性损失，以保证酸奶产品中的活菌量<sup>[64]</sup>。虽然益生菌包埋在酸奶中应用效果突出，但是也有不足之处。益生菌包埋后微胶囊的粒径大小、呈味性、溶液相容性和硬度会影响酸奶的口感，如引起乳脂状、颗粒状的粗糙质地和轻微的苦味<sup>[58]</sup>。这会降低酸奶绵密顺滑的感官特性，使酸奶的质地（光滑度）下降<sup>[65]</sup>。因而如何降低酸奶中益生菌微胶囊粒径大小及壁材与酸奶基质的相容性需要进一步探究。

## 2.2 在奶酪中的应用

益生菌包埋在奶酪中也有较多的应用，包埋对益生菌产生保护作用，可以改善奶酪在制备和贮存期间益生菌生物活性下降和存活率降低等问题（表 1）。Amine 等<sup>[66]</sup>评估用海藻酸盐对长双歧杆菌 15708 进行包埋，在 4 ℃贮存 21 d 后，在切达生产和贮存时显示出良好的存活率，包埋后的细菌

对模拟胃肠环境的抵抗力也比未包埋的提高 30 倍。Özer 等<sup>[67]</sup>对双歧杆菌 BB-12 和嗜酸乳杆菌 LA-5 通过乳化技术进行包埋，将其用于白盐水干酪，添加包埋益生菌的干酪中，长链游离脂肪酸含量远高于添加游离益生菌的干酪，同时乙醛和丁二酮的含量更高。Afzaal 等<sup>[68]</sup>使用内源乳化法将双歧杆菌包埋在卡拉胶和海藻酸钠两种水凝材料中，加入切达奶酪中，评估在 4 ℃下贮存 35 d 和模拟胃肠道条件下的效果，发现包埋后显著提高了益生菌的稳定性和生存能力，同时对比得出海藻酸钠作为壁材效果更佳。Schoina 等<sup>[69]</sup>用天然乳香树脂对干酪乳杆菌 ATCC393 进行包埋，并添入 Myzithra 奶酪（传统希腊乳清干酪）中，在 4 ℃下贮存 30 d，结果显示包埋对干酪乳杆菌有保护作用，此外还赋予奶酪独特的乳香树胶香气和令人愉悦的连贯质地，延长了货架期。Nejati 等<sup>[70]</sup>用海藻酸钙珠使嗜酸乳杆菌 LA-5 微胶囊化，加入 UF 白干酪中，并在 4 ℃贮存 60 d，结果显示包埋后的菌体在贮存期间和体外胃肠模拟过程中，存活率较未包埋前均提高了 1 lg(CFU/g)。

益生菌的微胶囊化降低了环境对益生菌在奶酪生产贮存期间存活率的影响，也提高了益生菌在胃肠道中的生存能力<sup>[71]</sup>。同时对奶酪的风味特征、外观颜色等各种感官特性没有显著影响<sup>[72]</sup>。与酸奶相比，其微胶囊颗粒对口感的影响也较低。然而对部分奶酪产生了更厚、更坚硬的质感，使其硬度、咀嚼性和黏弹性都产生了变化<sup>[73]</sup>。因而，可进一步优化微胶囊的颗粒大小和硬度等对奶酪质感的影响。

## 2.3 在其它制品中的应用

包埋后的益生菌还可以应用于许多其它的食品中，如冰淇淋、果汁、蛋黄酱、香肠等（表 1）。Zanjani 等<sup>[74]</sup>通过乳化法对干酪乳杆菌和青春双歧杆菌进行微胶囊化，加入冰淇淋后在 -30 ℃保存 100 d 以上，结果显示微胶囊化可以提高益生菌的存活率，而对产品感官特性或酸碱度没有显著影响。Homayouni 等<sup>[75]</sup>将干酪乳杆菌 LC-01 和乳酸双歧杆菌 BB-12 包埋在海藻酸钙中用于冰淇淋，监测了两种益生菌在 -20 ℃ 储存 180 d 期间的存活率，结果发现包埋使益生菌存活率在相同条件下提高了 30%。在果汁的研究中，Nualkaekul 等<sup>[76]</sup>

表 1 益生菌包埋技术在食品中的应用

Table 1 Application of probiotics embedding technology in food

产品种类	益生菌类型	包埋方法	壁材	贮藏条件	包埋对益生菌活菌数的影响/ $\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$	参考文献
酸奶	双歧杆菌 F-35 嗜酸乳杆菌、乳酸双歧杆菌	双层包埋法 乳化法	乳清蛋白-海藻酸钠 海藻酸盐-淀粉	(4±1)℃, 14 d 4℃, 49 d	提高 1 分别提高 2 和 1	[58] [59]
	B6 长双歧杆菌、ATCC 长双歧杆菌 15708	乳化法	$\kappa$ -卡拉胶	4.4℃, 30 d	均提高 1	[60]
	副干酪乳杆菌亚种	复合凝聚法	乳清蛋白分离物-阿拉伯树胶	4℃, 45 d	提高 0.42	[61]
	副干酪乳杆菌亚种	乳化法	向日葵油-乳脂海藻酸钠	4℃, 28 d 4℃, 56 d	提高 1 满足 ≥7	[62] [63]
	唾液乳杆菌 CET 4063、副干酪乳杆菌 A13	乳化法	低甲氨基果胶	-20℃, 13 d	提高 0.5	[64]
	短双歧杆菌	离子交联法	海藻酸钠-变性淀粉	4℃, 30 d	提高 1~2	[65]
	嗜酸乳杆菌 DD910、乳酸双歧杆菌 DD920	乳化法	海藻酸盐	4℃, 21 d	提高 2	[66]
	长双歧杆菌 15708	乳化法	$\kappa$ -卡拉胶	4℃, 90 d	提高 2	[67]
	双歧杆菌 BB-12 和嗜酸乳杆菌 LA-5	内源乳化法	海藻酸钠、 $\kappa$ -卡拉胶	4℃, 35 d	提高 1	[68]
	双歧杆菌	乳化法	天然乳香树脂	4℃, 30 d	提高 1	[69]
	干酪乳杆菌 ATCC 393	乳化法	海藻酸钙	(4±1)℃, 60 d	提高 1	[70]
	嗜酸乳杆菌 LA-5	美拉德反应、冷冻胶化	乳清蛋白-低聚异麦芽糖海藻酸钠	4℃, 90 d (6±1)℃, 30 d	提高 3 分别提高 1.5 和 1	[71] [72]
	鼠李糖乳杆菌 NCDC 298 和嗜酸乳杆菌 NCDC 15	内源乳化法	海藻酸钠	4℃, 35 d	提高 1.5	[73]
	干酪乳杆菌	喷雾气溶胶法	海藻酸钠	-30℃, 100 d	提高 2~3	[74]
	鼠李糖乳杆菌	乳化法	海藻酸盐-壳聚糖			
冰淇淋	干酪乳杆菌 ATCC 39392 和青春双歧杆菌 ATCC 15703	乳化法	海藻酸钙	-20℃, 180 d	分别提高 3 和 2	[75]
	干酪乳杆菌 LC-01、乳酸双歧杆菌 BB-12	乳化法	海藻酸钠	18℃, 60 d	提高 1	[80]
	嗜酸乳杆菌 LA-5	外源乳化法	海藻酸盐-壳聚糖	4℃, 42 d	提高 1.5	[76]
石榴汁	植物乳杆菌 NCIMB 8826	多层包埋法	海藻酸钠	4℃, 60 d	均提高 1	[77]
葡萄汁	嗜酸乳杆菌 PTCC 1643、双歧杆菌 PTCC 1644	内源乳化法	海藻酸钠	4℃, 30 d	分别提高 2 和 6	[78]
蛋黄酱	干酪乳杆菌 PTCC 1608、双歧杆菌 PTCC 1644	乳化法	海藻酸钠	13℃干燥 25 d	提高 2	[79]
香肠	罗伊乳酸杆菌	乳化法	海藻酸钠			

用双层壳聚糖-海藻酸盐对植物乳杆菌进行多层包埋,在模拟胃液和4℃石榴汁中贮存42 d,发现包埋增强了益生菌在石榴汁这种酸性产品中的耐受性。Mokhtari等<sup>[77]</sup>使用内源乳化法对嗜酸乳杆菌和双歧杆菌进行包埋,并添入到巴氏灭菌的葡萄汁中,结果发现在4℃贮存60 d后,活菌数仍能达到最低标准7 lg(CFU/g)。Fahimdanesh等<sup>[78]</sup>用乳化法将干酪乳杆菌和双歧杆菌用抗性淀粉包裹后添加到蛋黄酱中,并在4℃贮存30 d,显著提高了蛋黄酱中益生菌在贮存期间的存活率,且改善了蛋黄酱的感官品质。Muthukumarasamy等<sup>[79]</sup>将微胶囊化的罗伊乳酸杆菌添加在干香肠中发酵后,在13℃下干燥25 d,与未包埋的乳酸杆菌对比,包埋后的益生菌存活率提高了2 lg(CFU/g),并有助于增加发酵香肠的品质。

食品中添加包埋后的益生菌能有效提高益生菌在产品中的存活率,显著提升产品的益生效果。微囊化后的益生菌也能改善部分食品的感官风味,如降低冰淇淋的硬度<sup>[80]</sup>等。特别是微囊化的益生菌颗粒对颗粒较粗糙的产品口感影响较小<sup>[78]</sup>,如冰淇淋、蛋黄酱等,因而这些食品可以作为益生菌的良好载体,开展更为广泛的应用。

### 3 结语

益生菌包埋技术是增强益生菌生物活性的有效途径。内源乳化法、Pickering乳化法、复合凝聚法和多层包埋等包埋技术的开发和运用,对改善和提升菌体的环境耐受性和肠道定殖率具有显著的推动作用。包埋后的益生菌在食品领域也极具应用潜力,能有效提高益生菌在食品生产和储存过程中的稳定性,提高益生菌在肠道中的存活率。

然而,目前益生菌包埋技术仍然存在一些不足。如有的方法制备成本高,有的工艺复杂,限制了工业化应用,因此探索一种既经济又适合大规模工业化生产的技术,仍是研究的目标。其次,现有的技术所制备的益生菌微胶囊在粒径大小、储存稳定性和释放性等方面仍有很大的提升空间。最后,一些包埋后的益生菌颗粒应用到食品中,会对食品的质感和风味产生显著影响。因此,如何有效调控益生菌微胶囊对食品感官特性的影响,也是值得研究和改善的重要方向。目前为止,能够克

服环境、加工和应用等因素的影响,如何有效提高益生菌的包埋效果和实用性仍是一个巨大的挑战。解决这些问题,将会极大地推动益生菌产品与食品工业的发展。

### 参 考 文 献

- [1] SALMINEN S, OUWEHAND A, BENNO Y, et al. Probiotics: How should they be defined? [J]. Trends in Food Science & Technology, 1999, 10(3): 107–110.
- [2] SAARELA M, LÄHTEENMÄKI L, CRITTENDEN R, et al. Gut bacteria and health foods—the European perspective [J]. International Journal of Food Microbiology, 2002, 78(1/2): 99–117.
- [3] MATTILA – SANDHOLM T, MYLLÄRINEN P, CRITTENDEN R, et al. Technological challenges for future probiotic foods[J]. International Dairy Journal, 2002, 12(2/3): 173–182.
- [4] 任大勇. 益生乳酸杆菌的黏附及免疫调节作用研究[D]. 长春: 吉林大学, 2013.  
REN D Y. Research on adhesion and immunoregulation of probiotic *Lactobacillus* strains[D]. Changchun: Jilin University, 2013.
- [5] MORTAZAVIAN A, RAZAVI S H, EHSANI M R, et al. Principles and methods of microencapsulation of probiotic microorganisms [J]. Iranian Journal of Biotechnology, 2007, 5(1): 1–18.
- [6] IRAVANI S, KORBEKANDI H, MIRMOHAMMADI S V. Technology and potential applications of probiotic encapsulation in fermented milk products [J]. Journal of Food Science and Technology, 2015, 52(8): 4679–4696.
- [7] BURGAIN J, GAIANI C, UNDER M, et al. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications[J]. Journal of Food Engineering, 2011, 104(4): 467–483.
- [8] HAN B, BISCHOF J C. Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing [J]. Cryobiology, 2004, 48(1): 8–21.
- [9] 曾小群, 潘道东, 包红燕, 等. 干酪乳杆菌冻干保护剂研究[J]. 中国食品学报, 2013, 13(1): 44–50.  
ZENG X Q, PAN D D, BAO H Y, et al. Research on cryoprotectant of *Lactobacillus casei*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology,

- 2013, 13(1): 44–50.
- [10] BRENNAN M, WANISMAIL B, JOHNSON M C, et al. Cellular damage in dried *Lactobacillus acidophilus*[J]. Journal of Food Protection, 1986, 49 (1): 47–53.
- [11] 蔡沙. 内源乳化法制备海藻酸钠微胶囊及其对嗜酸乳杆菌 CGMCC1.2686 的保护研究[D]. 武汉: 湖北工业大学, 2014.
- CAI S. Preparation of alginate microcapsules by emulsification/internal gelation and their protection for *Lactobacillus acidophilus* CGMCC1.2686[D]. Wuhan: Hubei University of Technology, 2014.
- [12] LENCKI R W J, NEUFELD R J, SPINNEY T. Method of producing microspheres: U.S. Patent 4, 822,534[P]. 1989-04-18 [2021-08-05]. <https://www.freepatentsonline.com/4822534.html>.
- [13] PONCELET D, LENCKI R, BEAULIEU C, et al. Production of alginate beads by emulsification/internal gelation. I. Methodology[J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 1992, 38: 39–45.
- [14] 王婷婷. 内源乳化法制备干酪乳杆菌微胶囊及其在乳清发酵中应用[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2016.
- WANG T T. Preparation of microcapsulated *Lactobacillus casei* by endogenous emulsion method and its fermentation application in the whey[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2016.
- [15] 张瑞. 果胶+明胶/乳清蛋白双层微胶囊包埋鼠李糖乳杆菌研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2017.
- ZHANG R. Study on *Lactobacillus rhamnosus* treated by pectin+gelatin/ whey protein double layer microcapsules[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2017.
- [16] 周艳林, 吴影, 马雨浩, 等. 魔芋葡甘聚糖-海藻酸钠复合益生菌微胶囊的构建及性能评价[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(20): 52–60.
- ZHOU Y L, WU Y, MA Y H, et al. Construction and performance evaluation of sodium alginate and konjac glucomannan microcapsules of multi-probiotics[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45 (20): 52–60.
- [17] QI W, LIANG X, YUN T, et al. Growth and survival of microencapsulated probiotics prepared by emulsion and internal gelation[J]. Journal of Food Science and Technology, 2019, 56(3): 1398–1404.
- [18] HEIDEBACH T, FÖRST P, KULOZIK U. Transglutaminase-induced caseinate gelation for the microen-
- capsulation of probiotic cells[J]. International Dairy Journal, 2009, 19(2): 77–84.
- [19] CHANDRAMOULI V, KAILASAPATHY K, PEIRIS P, et al. An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect *Lactobacillus spp.* in simulated gastric conditions[J]. Journal of Microbiological Methods, 2004, 56(1): 27–35.
- [20] 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, 31(2): 70–75, 105.
- ZHAO M, CAI S, QU F N, et al. Protection of sodium alginate-konjac glucomannan microcapsules on *Lactobacillus acidophilus* CGMCC1.2686[J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31 (2): 70–75, 105.
- [21] 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.
- YANG H. Study on enteric-coating microcapsules containing LA and their characteristic[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2006.
- [22] SONG H, YU W, GAO M, et al. Microencapsulated probiotics using emulsification technique coupled with internal or external gelation process[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 96(1): 181–189.
- [23] 冯鑫, 马良, 戴宏杰, 等. 食品级 Pickering 乳液的稳定性及  $\beta$ -胡萝卜素的装载研究[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(6): 18–25.
- FENG X, MA L, DAI H J, et al. Stability of food-grade Pickering emulsion and the loading of  $\beta$ -carotene[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(6): 18–25.
- [24] RAMSDEN W. Separation of solids in the surface-layers of solutions and ‘suspensions’ (observations on surface-membranes, bubbles, emulsions, and mechanical coagulation)—Preliminary account[J]. Proceedings of the royal Society of London, 1904, 72 (477–486): 156–164.
- [25] WU W, GAO S, TU W, et al. Intensified photocatalytic degradation of nitrobenzene by Pickering emulsion of ZnO nanoparticles [J]. Particuology, 2010, 8(5): 453–457.
- [26] PICKERING S U. CXCVI.—Emulsions[J]. Journal of the Chemical Society, Transactions, 1907, 91: 2001–2021.
- [27] 刘雨菲. Pickering 乳液法制备高载量纳米香精及其在棉织物上的应用[D]. 上海: 上海应用技术大学,

- 2020.
- [28] LIU Y F. Preparation of high-loading nano-fragrance by Pickering emulsion and its application on Catton fabrics[D]. Shanghai: Shanghai Institute of Technology, 2020.
- [29] SU J, WANG X, LI W, et al. Enhancing the viability of *Lactobacillus plantarum* as probiotics through encapsulation with high internal phase emulsions stabilized with whey protein isolate microgels [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(46): 12335–12343.
- [30] ESLAMI P, DAVARPAH L, VAHABZADEH F. Encapsulating role of  $\beta$ -cyclodextrin in formation of Pickering water-in-oil-in-water (W1/O/W2) double emulsions containing *Lactobacillus dellbrueckii* [J]. Food Hydrocolloids, 2017, 64: 133–148.
- [31] WANG L, SONG M, ZHAO Z, et al. *Lactobacillus acidophilus* loaded Pickering double emulsion with enhanced viability and colon-adhesion efficiency [J]. LWT – Food Science and Technology, 2020, 121: 108928.
- [32] SU J, CAI Y, TAI K, et al. High-internal-phase emulsions (HIPEs) for co-encapsulation of probiotics and curcumin: Enhanced survivability and controlled release[J]. Food & Function, 2021, 12(1): 70–82.
- [33] COSTA A L R, GOMES A, DE ANDRADE C C P, et al. Emulsifier functionality and process engineering: Progress and challenges[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 68: 69–80.
- [34] ZHAO Q, ZAABOUL F, LIU Y, et al. Recent advances on protein-based Pickering high internal phase emulsions (Pickering HIPEs): Fabrication, characterization, and applications[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2020, 19(4): 1934–1968.
- [35] 朱雨晴, 刘伟, 陈兴, 等. 食品级皮克林乳液的稳定机制及稳定性研究进展[J]. 食品工业科技, 2018, 39(7): 315–322.
- ZHU Y Q, LIU W, CHEN X, et al. Advances in stabilization mechanism and stability control of food grade Pickering emulsion[J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(7): 315–322.
- [36] 刘倩, 常霞, 单杨, 等. 功能型 Pickering 乳液研究进展[J]. 中国食品学报, 2020, 20(11): 279–293.
- LIU Q, CHANG X, SHAN Y, et al. Progress in functional Pickering emulsions[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20 (11): 279–293.
- [37] 王颖, 赵萌, 黄雪, 等. 复合凝聚法包埋功能性食品组分的研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(9): 265–271.
- WANG Y, ZHAO M, HUANG X, et al. Progress in microencapsulation of functional food ingredients by complex coacervation method[J]. Food Science, 2018, 39(9): 265–271.
- [38] DEV N, SARMAH M, KHATUN B, et al. Encapsulation of active ingredients in polysaccharide-protein complex coacervates[J]. Advances in colloid and Interface Science, 2017, 239: 136–145.
- 王颖. 复合凝聚法及反溶剂法对乳酸菌的包埋研究[D]. 武汉: 湖北工业大学, 2017.
- WANG Y. Microencapsulation of lactic acid bacteria using the methods of complex coacervation and anti-solvent precipitation[D]. Wuhan: Hubei University of Technology, 2017.
- [39] ZHAO M, HUANG X, ZHANG H, et al. Probiotic encapsulation in water-in-water emulsion via hetero-protein complex coacervation of type-A gelatin/sodium caseinate [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 105: 105790.
- [40] GEREZ C L, FONT DE VALDEZ G, GIGANTE M L, et al. Whey protein coating bead improves the survival of the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* CRL 1505 to low pH[J]. Letters in Applied Microbiology, 2012, 54(6): 552–556.
- [41] OLIVEIRA A C, MORETTI T S, BOSCHINI C, et al. Microencapsulation of *B. lactis* (BI 01) and *L. acidophilus* (LAC 4) by complex coacervation followed by spouted-bed drying[J]. Drying Technology, 2007, 25(10): 1687–1693.
- [42] BOSNEA L A, MOSCHAKIS T, BILIADERIS C G. Complex coacervation as a novel microencapsulation technique to improve viability of probiotics under different stresses[J]. Food and Bioprocess Technology, 2014, 7(10): 2767–2781.
- [43] DA SILVA T M, DE DEUS C, DE SOUZA FONSECA B, et al. The effect of enzymatic crosslinking on the viability of probiotic bacteria (*Lactobacillus acidophilus*) encapsulated by complex coacervation[J]. Food Research International, 2019, 125: 108577.
- [44] LIU Y, LIU B, LI D, et al. Improved gastric acid resistance and adhesive colonization of probiotics by

- mucoadhesive and intestinal targeted konjac glucomannan microspheres[J]. Advanced Functional Materials, 2020, 30(35): 2001157.
- [45] SCHMITT C, TURGEON S L. Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems[J]. Advances in Colloid & Interface Science, 2011, 167(1/2): 63–70.
- [46] BOSNEA L A, MOSCHAKIS T, NIGAM P S, et al. Growth adaptation of probiotics in biopolymer-based coacervate structures to enhance cell viability [J]. LWT – Food Science and Technology, 2017, 77: 282–289.
- [47] LOYEAU P A, SPOTTI M J, VINDEROLA G C, et al. Encapsulation of potential probiotic and canola oil through emulsification and ionotropic gelation, using protein/polysaccharides Maillard conjugates as emulsifiers[J]. LWT – Food Science and Technology, 2021, 150: 111980.
- [48] 刘仁杰, 李哲, 毛思凝, 等. 复配及多层包埋植物乳杆菌微胶囊的制备及表征[J]. 食品工业科技, 2020, 41(5): 12–16.
- LIU R J, LI Z, MAO S N, et al. Preparation and characterization of *Lactobacillus plantarum* microcapsules by compounding and multi-layer encapsulation [J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(5): 12–16.
- [49] WILLIAM T H, 许敬华, 宋小刚, 等. 双层包埋益生菌稳定性研究及在乳制品中的应用[J]. 乳业科学与技术, 2007, 30(4): 178–181.
- WILLIAM T H, XU J H, SONG X G, et al. Preservation of probiotics by double coating technology and its application in dairy products[J]. Journal of Dairy Science and Technology, 2007, 30(4): 178–181.
- [50] 陈健凯, 翁文. 乳酸菌双层包埋技术及包埋菌生物活性的研究[J]. 西北农业学报, 2005, 14(6): 191–194.
- CHEN J K, WENG W. A technique of double layer embedment *Lactobacillus* and biological activity of embedded bacterium[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2005, 14(6): 191–194.
- [51] 李洪波, 李春爽, 张天琪, 等. 干酪乳杆菌/乳糖醇双层合生元微胶囊制备及其在橙汁中的应用[J]. 中国食品学报, 2020, 20(4): 93–99.
- LI H B, LI C S, ZHANG T Q, et al. Preparation of *Lactobacillus casei* / lactitol symbiotic microcapsule and its application in orange juice[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(4): 93–99.
- [52] 宋雅娟. 壳聚糖/黄原胶益生菌微胶囊制备及应用[D]. 杨凌: 陕西科技大学, 2015.
- SONG Y J. The preparation of chitosan/ xanthan probiotic microcapsule and its application[D]. Yangling: Shaanxi University of Science and Technology, 2015.
- [53] 王野. 双歧杆菌微胶囊化及其应用研究[D]. 杨凌: 陕西科技大学, 2013.
- WANG Y. Study on *Bifidobacterium bifidum* microcapsules and its application[D]. Yangling: Shaanxi University of Science and Technology, 2013.
- [54] 田怀香, 徐晓琳, 于海燕, 等. 高活性益生菌酵素粉的制备及工艺优化[J]. 农业工程学报, 2019, 35(11): 330–336.
- TIAN H X, XU X L, YU H Y, et al. Preparation and technology optimization of high activity Jiaosu powder with probiotics[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2019, 35(11): 330–336.
- [55] 罗丹阳, 韩凯宁, 杨晓泉. 单分散液滴发生器(MDDG)结合静电自组装制备益生菌微胶囊[J]. 现代食品科技, 2020, 36(12): 227–233, 251.
- LUO D Y, HAN K N, YANG X Q. Monodisperse droplet generator (MDDG) combined with electrostatic self-assembly to produce probiotic microcapsules[J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(12): 227–233, 251.
- [56] 张天鸿, 邱鸿滨. 双层包埋乳酸菌及乳酸菌素之应用[J]. 广州食品工业科技, 2003(S1): 50–54.
- ZHANG T H, QIU H B. New technology development of lactic acid bacteria in food industry[J]. Science and Technology of Guangzhou Food Industry, 2003(S1): 50–54.
- [57] RAMCHANDRAN L, SHAH N P. Characterization of functional, biochemical and textural properties of symbiotic low-fat yogurts during refrigerated storage [J]. LWT – Food Science and Technology, 2010, 43(5): 819–827.
- [58] MOUSA A, LIU X M, CHEN Y Q, et al. Evaluation of physicochemical, textural, microbiological and sensory characteristics in set yogurt reinforced by microencapsulated *Bifidobacterium bifidum* F-35 [J]. International Journal of Food Science & Technology,

- 2014, 49(7): 1673–1679.
- [59] KAILASAPATHY K. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt[J]. LWT – Food Science and Technology, 2006, 39(10): 1221–1227.
- [60] ADHIKARI K, MUSTAPHA A, GRÜN I U. Survival and metabolic activity of microencapsulated *Bifidobacterium longum* in stirred yogurt[J]. Journal of Food Science, 2003, 68(1): 275–280.
- [61] BOSNEA L A, MOSCHAKIS T, BILIADERIS C G. Microencapsulated cells of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* in biopolymer complex coacervates and their function in a yogurt matrix [J]. Food & Function, 2017, 8(2): 554–562.
- [62] EL KADRI H, LALOU S, MANTZOURIDOU F T, et al. Utilisation of water-in-oil-water ( $W_1/O/W_2$ ) double emulsion in a set-type yogurt model for the delivery of probiotic *Lactobacillus paracasei*[J]. Food Research International, 2018, 107: 325–336.
- [63] PATRIGNANI F, SIROLI L, SERRAZANETTI D I, et al. Microencapsulation of functional strains by high pressure homogenization for a potential use in fermented milk [J]. Food Research International, 2017, 97: 250–257.
- [64] LI M, JIN Y, WANG Y, et al. Preparation of *Bifidobacterium breve* encapsulated in low methoxyl pectin beads and its effects on yogurt quality [J]. Journal of Dairy Science, 2019, 102(6): 4832–4843.
- [65] 王潔雪. 游离与微胶囊化益生菌对酸奶感官性质的影响[J]. 中国食物与营养, 2011, 17(3): 32–35.  
WANG Y X. Effect of free and microencapsulation probiotic bacteria on yogurt sensory attributes [J]. Food and Nutrition in China, 2011, 17(3): 32–35.
- [66] AMINE K M, CHAMPAGNE C P, RAYMOND Y, et al. Survival of microencapsulated *Bifidobacterium longum* in Cheddar cheese during production and storage[J]. Food Control, 2014, 37: 193–199.
- [67] ÖZER B, KIRMAKI H A, SENEL E, et al. Improving the viability of *Bifidobacterium bifidum* BB-12 and *Lactobacillus acidophilus* LA-5 in white-brined cheese by microencapsulation[J]. International Dairy Journal, 2009, 19(1): 22–29.
- [68] AFZAAL M, SAEED F, ATEEQ H, et al. Encapsulation of *Bifidobacterium bifidum* by internal gelation method to access the viability in cheddar cheese and under simulated gastrointestinal conditions[J]. Food Science & Nutrition, 2020, 8 (6): 2739–2747.
- [69] SCHOINA V, TERPOU A, BOSNEA L, et al. Entrapment of *Lactobacillus casei* ATCC393 in the viscous matrix of *Pistacia lentiscus* resin for functional myzithra cheese manufacture[J]. LWT – Food Science and Technology, 2018, 89: 441–448.
- [70] NEJATI R, GHEISARI H R, HOSSEINZADEH S, et al. Viability of encapsulated *Lactobacillus acidophilus* (LA - 5) in UF cheese and its survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions[J]. International Journal of Dairy Technology, 2017, 70 (1): 77–83.
- [71] LIU L, CHEN P, ZHAO W, et al. Effect of microencapsulation with the Maillard reaction products of whey proteins and isomaltooligosaccharide on the survival rate of *Lactobacillus rhamnosus* in white brined cheese[J]. Food Control, 2017, 79: 44–49.
- [72] KADIYA K S. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of Quarg cheese[J]. International Journal of Fermented Foods, 2014, 3(1):61–76.
- [73] NINGTYAS D W, BHANDARI B, BANSAL N, et al. The viability of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* (non-encapsulated and encapsulated) in functional reduced-fat cream cheese and its textural properties during storage[J]. Food Control, 2019, 100: 8–16.
- [74] ZANJANI M A K, EHSANI M R, GHIASSI TARZI B, et al. Promoting *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium adolescentis* survival by microencapsulation with different starches and chitosan and poly L - lysine coatings in ice cream[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2018, 42(1): e13318.
- [75] HOMAYOUNI A, AZIZI A, EHSANI M R, et al. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of symbiotic ice cream[J]. Food chemistry, 2008, 111(1): 50–55.
- [76] NUALKAEKUL S, LENTON D, COOK M T, et al. Chitosan coated alginate beads for the survival of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* in pomegranate juice[J]. Carbohydrate polymers, 2012, 90(3): 1281–1287.
- [77] MOKHTARI S, JAFARI S M, KHOMEIRI M. Survival of encapsulated probiotics in pasteurized grape

- juice and evaluation of their properties during storage[J]. Food Science and Technology International, 2019, 25(2): 120–129.
- [78] FAHIMDANESH M, MOHAMMADI N, AHARI H, et al. Effect of microencapsulation plus resistant starch on survival of *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium bifidum* in mayonnaise sauce[J]. African Journal of Microbiology Research, 2013, 6 (40): 6853–6858.
- [79] MUTHUKUMARASAMY P, HOLLEY R A. Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate–microencapsulated *Lactobacillus reuteri* [J]. International Journal of Food Microbiology, 2006, 111(2): 164–169.
- [80] AHMADI A, MILANI E, MADADLOU A, et al. Synbiotic yogurt–ice cream produced via incorporation of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* (la-5) and fructooligosaccharide[J]. Journal of Food Science and Technology, 2014, 51(8): 1568–1574.

### Research Progress on the Advanced Technology of Embedding for Probiotics

Chen Chen, Zhang Xiaocong, Yuan Haibin, Yu Haiyan, Huang Juan, Tian Huaixiang\*

(School of Perfume and Aroma Technology, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 201418)

**Abstract** Probiotics are live microorganisms that are beneficial to human health. Because the bacteria are highly sensitive to the external environment, problems such as low survival rate or poor biological activity are prone to occur during production, storage and use, which greatly reduces the probiotic effect of probiotics. The embedding technology can protect the probiotics from the environment and related factors to a certain extent, and has a good effect on the probiotics against external adverse conditions. In recent years, the rapid development of probiotics embedding technology has provided effective strategies for the efficient protection of probiotics. This study reviews four advanced probiotic embedding technologies: emulsification/internal gelation method, Pickering emulsification method, complex coacervation method and multi-layer embedding method, and summarizes the technology introduction, principle, advantages and disadvantages. Then the application of probiotics embedding technology in the food field is outlined, including the changes in the number of viable bacteria in the gastrointestinal tract and the impact on the sensory characteristics of food. Finally, the research direction and development prospects of probiotics embedding technology are prospected.

**Keywords** probiotics; bacteria embedding technology; survival rate; food applications