

## 青稞非淀粉多糖-植物乳杆菌共微胶囊化对益生菌存活率的影响

朱莹莹<sup>1,2</sup>, 尹丽莎<sup>1</sup>, 杜艳<sup>3</sup>, 仵华君<sup>1</sup>, 冯学伟<sup>1</sup>, 禹晓<sup>1,2</sup>, 郝静<sup>3</sup>, 申瑞玲<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup> 郑州轻工业大学食品与生物工程学院 郑州 450001

<sup>2</sup> 河南省冷链食品质量安全控制重点实验室 郑州 450001

<sup>3</sup> 青海省青稞资源综合利用工程技术研究中心 西宁 810000)

**摘要** 从青稞麸皮中分别提取纯化戊聚糖(AX)和 $\beta$ -葡聚糖(BG),这2种非淀粉多糖均能被植物乳杆菌有效利用并代谢产生短链脂肪酸,具有潜在的肠益生功效。将植物乳杆菌GIM1.191分别与AX(M-AX)和BG(M-BG)共微胶囊化,评价其对微胶囊包埋率、胃肠耐受性和储藏性的影响。结果表明:与未添加青稞多糖组(M-S)相比,M-AX和M-BG的包埋率分别提高了1.4倍和1.6倍。模拟胃肠道消化结束后,M-S组中未检测到植物乳杆菌活性,M-AX和M-BG组中测得活菌数分别为5.70 lg(CFU/g)和6.3 lg(CFU/g)。4℃时AX和BG将微胶囊储藏期【活菌数>6 lg(CFU/g)】从21 d延至35 d,26℃时微胶囊在储藏期(14 d)的活菌数显著提高( $P<0.05$ )。本研究结果为青稞麸皮的高值化利用提供技术支持。

**关键词** 青稞麸皮; 戊聚糖;  $\beta$ -葡聚糖; 植物乳杆菌; 微胶囊

**文章编号** 1009-7848(2023)11-0266-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.11.026

世界卫生组织(WHO)将益生菌定义为:通过摄取适当的量对食用者的身体健康能发挥有效作用的活菌。目前已知的益生菌种类繁多,主要包括乳酸杆菌类、双歧杆菌类、部分革兰氏阳性球菌和部分酵母菌<sup>[1]</sup>。植物乳杆菌是人体胃肠道内重要的益生菌群,对肠道健康有良好影响,可降低血清胆固醇,预防冠心病,缓解抑郁,调节精神和神经等生理功能<sup>[2]</sup>,是传统发酵食品和商业益生菌食品中常用的菌株。Mdae等<sup>[3]</sup>研究发现,益生菌食品中须有足量的活菌数,才能使其较好地定植于肠道中,发挥健康效益。世界粮农组织(FAO)建议益生菌食品中活菌数至少大于 $10^6$  CFU/mL或g。然而,在储藏过程中,益生菌食品中的活菌因物理环境易导致细胞损伤而失活,此外,益生菌对胃肠道强酸和高浓度胆酸盐的环境较为敏感,经胃肠道消化后很难存活定植<sup>[4]</sup>。微胶囊技术无疑是一个提高植物乳杆菌在胁迫环境下存活率的良好方法。

选用的微胶囊壁材可为益生菌提供物理屏障,保证益生菌与极端外部环境隔绝,从而增强其胃肠耐受性,延长储藏期。海藻酸盐是一种最常见的益生菌微胶囊壁材,具有无毒、低成本、抗消化

酶和生物降解性好等优点<sup>[5]</sup>。然而,海藻酸盐壁材对益生菌的包埋率较低,此外,钙离子诱导的海藻酸钠微胶囊对酸碱环境耐受性差,在胃酸消化过程中易降解致乳酸菌早释,暴露在高浓度胆盐环境下,降低益生菌存活率<sup>[6]</sup>。为解决这一问题,将植物非淀粉多糖作为新型壁材,或与益生菌共微胶囊化成为近年来益生菌微胶囊领域研究热点。王森等<sup>[7]</sup>利用谷物水溶性膳食纤维作为壁材替代一半脱脂奶粉与益生菌共微胶囊化,可使包埋益生菌活性提高10倍。Shah等<sup>[8]</sup>利用青稞 $\beta$ -葡聚糖的凝胶特性完全替代海藻酸盐作为壁材包埋益生菌,可以显著提高益生菌耐胃肠消化特性和耐热性。总之,植物非淀粉多糖用于益生菌微胶囊生产时,其特殊的网络结构有利于益生菌的吸附和包裹,从而增加包埋率;其抗胃肠道消化酶降解作用,可保护益生菌顺利进入大肠;其作为益生元促进益生菌增殖效应,可有效帮助益生菌在机体肠道中定植。

青稞,也称高原裸大麦,是生长在我国青藏高原地区的特色农作物。近年来,“三区三州”产业扶贫工作带动了青稞产业的迅速发展。如何实现对青稞食品加工副产物——青稞麸皮的综合利用,逐渐引起人们关注。青稞麸皮中富含非淀粉多糖,戊聚糖(AX)和 $\beta$ -葡聚糖(BG)是其中最重要的水溶性膳食纤维。AX主要由阿拉伯糖、木糖、甘露

收稿日期: 2022-11-20

基金项目: 国家重点研发计划项目(2020YFD1001405)

第一作者: 朱莹莹,女,博士,讲师

通信作者: 申瑞玲 E-mail: Shenr1967@163.com

糖、葡萄糖和半乳糖组成,含有  $\alpha$ -和  $\beta$ -两种糖苷键,基本骨架以 1,4- $\beta$ -D-Xylp 为主链,以  $\alpha$ -L-Araf-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-Araf 以及  $\beta$ -D-Xylp-(3 $\rightarrow$ 1)- $\beta$ -D-Xylp 为支链,具有高分支结构<sup>[9]</sup>。BG 则由吡喃型葡萄糖通过  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)以及  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)糖苷键交替连接而成,主要以线性链状结构存在<sup>[10]</sup>。研究报告青稞 AX 和 BG 均具有抗人体胃肠道消化酶消化的作用,其潜在益生功效的评价及在功能食品的应用已经成为领域研究热点<sup>[11]</sup>。本研究从青稞麸皮中分别提取纯化 AX 和 BG,旨在 1)评价其体外促进植物乳杆菌增殖作用;2)评价其与植物乳杆菌共微胶囊化对微胶囊综合品质的影响;3)评估其对所包埋植物乳杆菌胃肠道耐受性和储藏特性的影响。以期对益生菌食品的开发以及青稞麸皮的高值化利用提供理论依据及技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料、菌种与试剂

青稞麸皮由青海省新丁香粮油有限公司提供;植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*)GIM1.191 购自广东省微生物物种保护中心;MRS 液体培养基购自北京奥博星生物技术有限公司;琼脂、蛋白胨、牛肉膏购自青岛高科技工业园海博生物技术有限公司;耐热  $\alpha$ -淀粉酶、猪胆盐、胃蛋白酶、脂肪酶、吐温-80、胰蛋白酶等均购自上海源叶生物科技有限公司;甘油、乙酸、磷酸氢二钾、硫酸镁、柠檬酸三铵、硫酸锰、氯化钠、石油醚、氯化钙等分析纯级试剂购自天津市科密欧化学试剂有限公司。

### 1.2 仪器与设备

超净工作台,苏州智净净化设备有限公司;生化培养箱,北京科伟永兴仪器有限公司;TD5A-WS 台式低速离心机,湖南湘怡实验室仪器开发有限公司;HNY-100B 恒温培养振荡器,天津市欧诺仪器仪表有限公司;Multiskan GO 全波长酶标仪,美国 Thermo Fisher SCIENTIFIC 公司;E-201-9 pH 计,上海佑科仪器仪表有限公司;7890B-5977A 气相色谱-质谱联用仪,美国 Agilent 公司;S3500 激光粒度仪,美国 Microtrac 公司;JSM-76490LV 扫描电子显微镜,日本 JEOL 公司;SCI-ENTZ-207A 超高压均质机,宁波新芝生物科技有

限公司;数显灭菌器,郑州华曼生物科技有限公司。

### 1.3 AX 和 BG 提取纯化

参考姚豪颖<sup>[12]</sup>的方法并做一定修改,按如下流程图分别从青稞麸皮中提取 BG 和 AX 粗提物。得到 BG 和 AX 粗提物,分别用蒸馏水按料液比 1:10 复溶,置于透析袋(8 000 u)中,4  $^{\circ}$ C 透析 72 h,每隔 8 h 换水。透析后样品,再次冷冻干燥,通过 DNS 法测定两个样品中总糖含量,通过 AOAC 955.16 法测定 BG 提取物中 BG 含量,通过 Douglas 法测定 AX 样品中 AX 含量<sup>[13]</sup>。

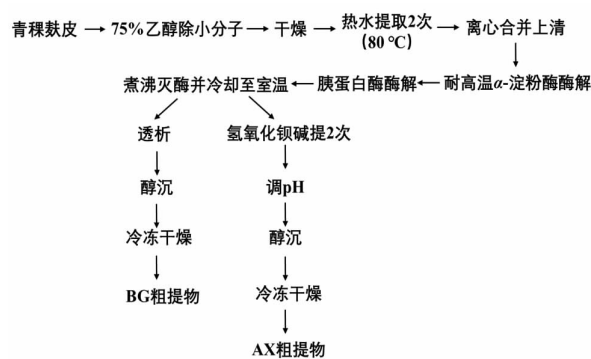


图 1 青稞麸皮中粗提 AX 和 BG 的流程图

Fig.1 Flow chart of crude AX and BG from highland barley bran

### 1.4 AX 和 BG 体外促进益生菌增殖

参考文献报道步骤<sup>[14]</sup>活化植物乳杆菌 GIM1.191。简要过程如下:低温保存菌种在 37  $^{\circ}$ C 融化,使用无菌接种环于 MRS 固体培养基划线接种,37  $^{\circ}$ C 培养。挑取单菌落于 MRS 液体培养基中,37  $^{\circ}$ C 恒温振荡培养 12 h 至对数生长期,按照 1% 的接种量接种至 MRS 液体培养基中,重复 2~3 次,使其充分活化。以上试验均在无菌条件下操作。

依据 Dong 等<sup>[15]</sup>的报道,向 MRS 培养基中分别添加提取的 BG 和 AX,使培养基中 BG 或 AX 的最终质量分数分别达到 0,0.5%,1.0%,1.5%,2.0%,37  $^{\circ}$ C 培养 48 h,使用平板计数法计算活菌数量,以 lg(CFU/mL)为单位。

### 1.5 短链脂肪酸(SCFA)检测

依据 Zhu 等<sup>[16]</sup>的报道,测定上述 48 h 后培养基 pH 值以及 SCFA 组成。简要过程如下:取 2 mL

培养基,10倍稀释后,使用pH计测定其pH值;另外取2 mL培养基加入50  $\mu$ L硫酸(10%)酸化,然后与1 mL乙醚振荡混匀30 min后低温离心(4  $^{\circ}$ C,8 000 r/min,10 min),小心吸取上清液于另一试管,加入无水CaCl<sub>2</sub>脱水,以巴豆酸为内标,使用GC-MS测定乙酸、丙酸、丁酸的含量。

### 1.6 微胶囊制备

根据文献报道<sup>[7]</sup>,采用乳化法制备微胶囊。简要步骤如下:活化的植物乳杆菌以1:20比例分散于冰磷酸缓冲液(PBS)中,加入AX或BG使终质量分数达到2%,涡旋混匀3次,每次涡旋60 s,静置20 min后,加入CaCO<sub>3</sub>溶液使终质量分数达到0.4%,紧接着加入海藻酸钠溶液使终质量分数达到4.5%,充分混匀备用。取一定量大豆油置于烧杯中加入吐温80使终质量分数达到0.2%,使用均质机均质,同时缓慢滴入上述益生菌/青稞多糖/CaCO<sub>3</sub>/海藻酸钠混合液至其最终与油的比例达到体积比1:4并形成稳定的油包水乳液。停止均质,使用搅拌器连续搅拌,同时加入冰醋酸使终质量分数达到0.2%,搅拌约10 min后,加入0.1 mol/L的CaCl<sub>2</sub>。于4  $^{\circ}$ C环境下静置1 h使油相和水相分离,并收集水相,0.85%生理盐水清洗并纱布过滤,得到不同微胶囊。含AX的微胶囊记为M-AX,含BG的微胶囊记为M-BG,不含青稞多糖的微胶囊作为对照组,记为M-S。以上试验均在无菌条件下操作。

### 1.7 包埋率测定

包埋活菌数( $N_1$ )测定方法如下:取1 g新鲜制备的微胶囊分散于10 mL冰PBS中,先剧烈振荡15 min,再于1 000 r/min速度下均质1 min使微胶囊充分破裂,平板计数法测定被包埋的活菌数。未被包埋活菌数( $N_2$ )测定方法如下:取过滤微胶囊后滤液,平板计数法测定活菌数。包埋率(%)以包埋活菌数( $N_1$ )占活菌总数( $N_1+N_2$ )比例表示。以上试验均在无菌条件下操作。

### 1.8 粒径分析

取新鲜制备微胶囊0.1 g均匀悬浮于1 mL去离子水,悬浮液放入微型离心管中,频繁倒转离心管,保持悬浮液的分散性,使用激光粒度测定仪进行粒度分析。记录 $D_{10}$ 、 $D_{50}$ 、 $D_{90}$ 并计算粒径分布宽度 $[(D_{90}-D_{10})/D_{50}]$ 。

### 1.9 微观结构观察

取一定量微胶囊冷冻干燥,均匀地涂抹在导电碳胶布的上,并将多余的粉末吹去,在真空条件下对其做喷金镀膜的加工。使用扫描电子显微镜(SEM)观察微胶囊样品的颗粒形貌并拍摄。

### 1.10 胃肠耐受性测定

依据文献报道的配方配制新鲜的模拟胃液与模拟肠液<sup>[8]</sup>。将1.5 g胃蛋白酶加入到500 mL生理盐水中,调节pH值至2.0,即得到新鲜模拟胃液;将1 g猪胰酶和6 g猪胆盐加入到500 mL生理盐水中,调节pH值至8.0,即得到新鲜模拟肠液。称取将新鲜制备的微胶囊5 g分散于100 mL模拟胃液中,置于37  $^{\circ}$ C水浴振荡(50 r/min),分别在0,30,60,120 min和180 min时取样,采用平板计数法测定活菌数。180 min后,使用将微胶囊从模拟胃液中过滤,生理盐水轻柔冲洗后,转移至100 mL模拟肠液,置于37  $^{\circ}$ C水浴振荡(50 r/min),分别在30,60,120 min和180 min时取样,采用平板计数法测定活菌数。以上试验均在无菌条件下操作。

### 1.11 储藏稳定性测定

新鲜制备的微胶囊密封分别置于4  $^{\circ}$ C和26  $^{\circ}$ C的避光环境下储存,分别于0,3,7,14 d和21 d取样1 g并分散于10 mL冰PBS中,先剧烈振荡15 min,再于1 000 r/min速度下均质1 min使微胶囊充分破裂,平板计数法测定被包埋的活菌数。以上试验均在无菌条件下操作。

### 1.12 数据统计与分析

以上试验均重复3次,结果以平均值 $\pm$ 标准差表示。所有试验数据在SPSS 26.0中进行方差分析,采用Duncan's多重检验法(95%置信区间)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 AX和BG对植物乳杆菌增殖的影响

本研究从青稞麸皮中分别提取AX和BG,并测定提取样品纯度。如图2所示,所提取AX和BG富集物中总糖含量均达到90%以上,AX纯度为80.3%,BG纯度为76.9%。进一步研究AX和BG体外促进植物乳杆菌增殖的作用,初步评价并比较其潜在益生功效。由图3可知,与空白组相比,当添加量达到1.5%时,AX显著提高了活菌数

( $P < 0.05$ ); 当添加量达到 2% 时, AX 和 BG 使活菌数分别提高了 6.62% 和 6.18% ( $P < 0.05$ ), AX 和 BG 间无显著差异; 以上结果说明青稞 AX 和 BG 均可以被植物乳杆菌发酵利用, 并促进其增殖, 具有潜在的益生功效。该结果与文献报道一致: 如刘丽娅等<sup>[18]</sup>发现, 1% 的小麦源 AX 可以体外促进双歧杆菌和乳酸杆菌等益生菌的增殖; Dong 等<sup>[15]</sup>则报道了燕麦源 BG 促进瑞士乳杆菌、鼠李糖乳杆菌和长双歧杆菌等多株乳酸菌增殖的作用。

## 2.2 pH 值对植物乳杆菌增殖的影响

益生菌有效利用碳源可代谢产生多种有机酸, 使培养基 pH 值降低, 有利于抑制杂菌生长<sup>[19]</sup>。此外, 研究报道, 益生菌在肠道内利用益生元产酸可使肠道 pH 值降低, 从而抑制有害菌(例如大肠杆菌等)的增殖<sup>[20]</sup>。本研究结果表明(图 4), 与空白组相比, 向培养基中添加 AX 和 BG, 发酵 48 h 后, 均能使培养基 pH 值进一步降低; 当添加量为 2%, AX 和 BG 分别使发酵液 pH 值显著 ( $P < 0.05$ ) 降低至 5.6 和 5.7, 而 AX 和 BG 两者之间无显著差异, 该结果进一步证实了 AX 和 BG 均可被植物乳杆菌作为碳源有效利用并产酸, 一定程度表征了 AX 和 BG 潜在的肠道益生作用。

## 2.3 短链脂肪酸(SCFAs)组成分析

SCFAs 是益生菌发酵益生元产生的主要代谢产物, 包括乙酸、丙酸、丁酸等。研究表明肠道内产生的 SCFAs 不仅能为肠黏膜细胞提供能量, 还可通过多种途径参与到机体代谢过程, 影响机体脂代谢、糖代谢和胆固醇代谢等, 进而调节机体健康状态<sup>[21]</sup>。因此, 在上述研究基础上, 进一步评价了添加 2% AX 和 BG 对培养基中 SCFAs 含量及组成的影响。如图 5 所示, 植物乳杆菌发酵 48 h 后, AX 和 BG 显著提高了培养基中乙酸、丁酸和总 SCFAs 的含量 ( $P < 0.05$ ), 对丙酸含量无显著影响。这与郭文奎等<sup>[22]</sup>对小米和燕麦水溶性膳食纤维体外发酵产短链脂肪酸结果一致。此外, 与 AX 相比, BG 更有利于提高丁酸含量 ( $P < 0.05$ )。在益生菌代谢产生的多种 SCFA 中, 丁酸的健康效益被广泛研究与报道, 具有抑制动脉粥样硬化形成、抑制结肠癌细胞增殖、缓解结肠炎症、改善胰岛素抵抗等多种功效<sup>[23-24]</sup>。

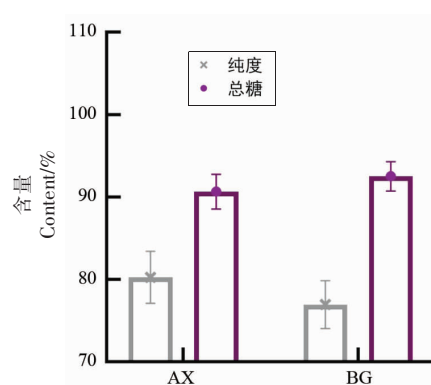
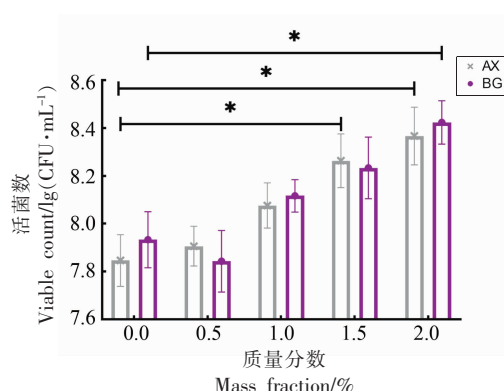


图 2 提取 AX 和 BG 的含量及纯度

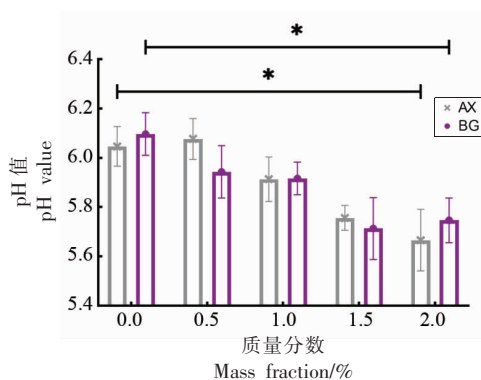
Fig.2 Content and purity of AX and BG extracts



注: \* 表示不同组间存在显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

图 3 不同质量分数的 AX 和 BG 对植物乳杆菌增殖作用

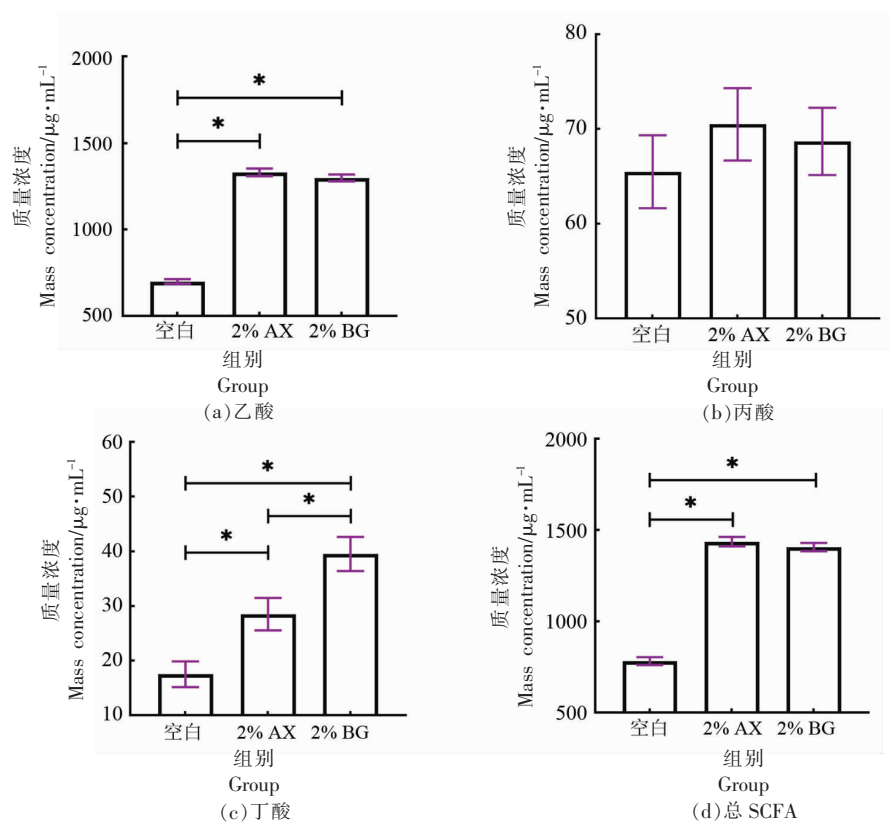
Fig.3 Different mass fraction of AX and BG promoted the proliferation of *Lactobacillus plantarum*



注: \* 表示不同组间存在显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

图 4 不同质量分数的 AX 和 BG 作为植物乳杆菌的碳源产酸 pH 值变化

Fig.4 pH value changes of acid production by *Lactobacillus plantarum* with different mass fraction of AX and BG as carbon sources



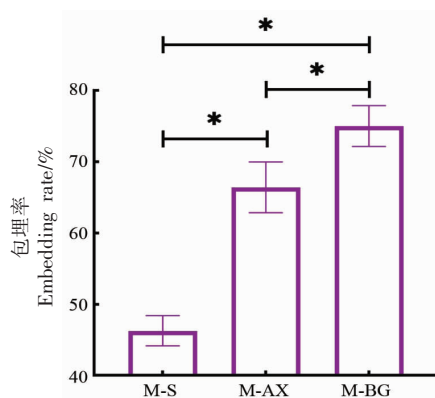
注: \* 表示不同组间存在显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

图5 2%的 AX 和 BG 与植物乳杆菌发酵产生 SCFAs 含量及组成

Fig.5 Content and composition of SCFAs produced by *Lactobacillus plantarum* fermentation with 2% AX and 2% BG

## 2.4 包埋率分析

上述研究表明 AX 和 BG 可被植物乳杆菌有效利用并代谢产生 SCFAs, 具备潜在的肠道益生功效。在上述研究基础上, 选择植物乳杆菌为芯材, 海藻酸钠为主要壁材, 研究 2% 的 AX 和 BG 分别与植物乳杆菌共微胶囊化, 对植物乳杆菌微胶囊综合品质的影响。包埋率是微胶囊进行工艺优化的主要指标, 也是评价微胶囊质量好坏的重要指标, 因此包埋率是制造微胶囊产品首要考虑的因素<sup>[25]</sup>。如图 6 所示, 不添加青稞非淀粉多糖时 (M-S), 通过乳化法使海藻酸盐包埋植物乳杆菌微胶囊的包埋率为 46.3%。陈合等<sup>[20]</sup>研究报道使用乳化法在不同条件下制备益生菌微胶囊包埋率在 40.9%~82% 之间, 这与本研究结果一致。添加 2% AX 和 2% BG 后, 微胶囊包埋率分别提高了 1.4 倍 (M-AX) 和 1.6 倍 (M-BG)。文献报道, 植物非淀粉多糖结构复杂, 形成三维网络结构有利于吸附益生菌, 且吸附作用受多糖分子质量、糖苷键



注: \* 表示不同组间存在显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

图6 2% AX 和 2% BG 与植物乳杆菌共微胶囊化的包埋率

Fig.6 The embedding rate of 2% AX and 2% BG co-microencapsulation with *L. plantarum*

组成和分支结构等多种因素影响<sup>[27]</sup>。根据文献报道, 青稞 BG ( $\sim 1 \times 10^6$  u) 比 AX 分子质量更大 ( $\sim 3 \times 10^5$  u), 且 BG 对小分子物质吸附能力更强<sup>[28]</sup>, 这可能是 BG 对包埋率影响更大的原因。

## 2.5 粒径和微观结构

微胶囊的粒径是影响所包埋益生菌肠道耐受性以及储生活性的重要因素。Hansen 等<sup>[29]</sup>研究报告微胶囊粒径在 100  $\mu\text{m}$  以上时对益生菌的保护作用更强。然而,微胶囊粒径过大,添加到食物中会对食物质构及感官产生较大的影响<sup>[30]</sup>。本研究测定了 3 组微胶囊包括 M-S、M-AX 和 M-BG 的粒径分布 ( $D_{10}$ 、 $D_{50}$  和  $D_{90}$ ) 和平均粒径,并计算了微

胶囊粒径分布域宽度 (Span 值)。如表 1 所示,使用乳化法制备的 3 组微胶囊粒径均在 1 000  $\mu\text{m}$  以下,说明都属于微米级别的颗粒; $D_{50}$  均在 100  $\mu\text{m}$  以上,说明对益生菌具备保护作用。M-S 的平均粒径最小 (207.4  $\mu\text{m}$ ),AX 和 BG 的加入显著提高了 ( $P<0.05$ ) 微胶囊的平均粒径,尤其是 BG。此外,AX 和 BG 显著降低了微胶囊的粒径分布宽度,使粒径分布更均匀集中,尤其是 AX。

表 1 植物乳杆菌微胶囊化粒径分布

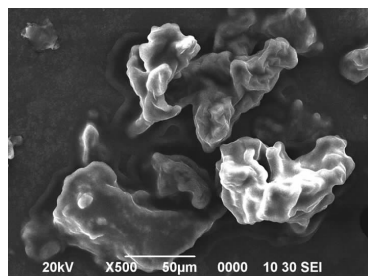
Table 1 Microencapsulation particle size distribution of *Lactobacillus plantarum*

样品	$D_{10}/\mu\text{m}$	$D_{50}/\mu\text{m}$	$D_{90}/\mu\text{m}$	$Mz/\mu\text{m}$	粒径分布宽度
M-S	$49.5 \pm 4.8^c$	$176.6 \pm 3.2^c$	$751.5 \pm 4.9^c$	$207.4 \pm 4.1^c$	$4.02 \pm 0.07^a$
M-AX	$64.8 \pm 5.3^b$	$290.8 \pm 5.7^b$	$809.4 \pm 6.9^b$	$348.9 \pm 5.8^b$	$2.61 \pm 0.04^b$
M-BG	$113.5 \pm 3.3^a$	$424.4 \pm 2.8^a$	$986.1 \pm 7.9^a$	$489.1 \pm 7.3^a$	$2.07 \pm 0.04^c$

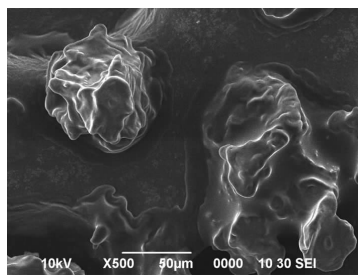
注:数据表示为 ( $x \pm s$ ),  $n=3$ ;  $Mz$  表示平均粒径;同列数据不同字母表示样品间差异显著 ( $P<0.05$ )。

SEM 观察不同微胶囊的结构发现 (图 7), 3 组微胶囊均表现出完整结构,无益生菌暴露在表面,进一步说明微胶囊有效包埋了植物乳杆菌;此外,

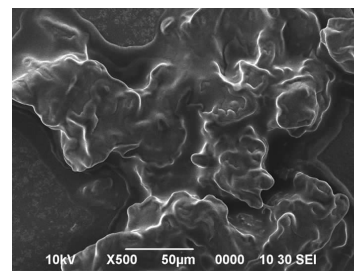
SEM 结果也验证了 AX 和 BG 对微胶囊粒径的影响。



(a) M-S



(b) M-AX



(c) M-BG

图 7 3 组微胶囊 SEM 图 ( $\times 500$ )

Fig.7 Three microcapsules SEM map ( $\times 500$ )

## 2.6 胃肠道耐受

使用体外模拟胃肠道消化液,评价不同青稞非淀粉多糖对微胶囊包埋益生菌胃肠耐受性的影响。如表 2 所示,在模拟胃消化结束时 (120 min), M-S 组活菌数减少到 3.11  $\lg(\text{CFU/g})$ ,而 M-AX 和 M-BG 组活菌数分别为 6.36  $\lg(\text{CFU/g})$  和 6.72  $\lg(\text{CFU/g})$ ,说明 AX 和 BG 的添加有助于植物乳杆菌抵抗胃部酸性环境。继续进行模拟肠道消化,150 min 时, M-S 组未检测到活菌,这可能是模拟胃部的强酸及模拟肠道的高胆酸盐等环境使海藻酸盐包埋的微胶囊壁降解破坏,植物乳杆菌暴露在消化液中,细胞壁破坏失活<sup>[31]</sup>。添加 AX 和 BG 对植物乳杆菌活性具有显著的保护作用,在模拟

肠消化进行到 180 min 时, M-AX 和 M-BG 中活菌数  $>6 \lg(\text{CFU/g})$ ,符合 FAO 对益生菌食品中活菌数的最低要求<sup>[3]</sup>。此外,直到模拟胃肠道消化结束, M-BG 中活菌数仍  $>6 \lg(\text{CFU/g})$ ,与 M-BG 益生菌包埋率较高、粒径较大有关系。

## 2.7 储存特性

一般来说,商业化的益生菌食品在食用前都会经过一定时间的货架期,因此,储存期间益生菌活性的保持,成为保证益生菌食品健康效益的重要因素<sup>[32]</sup>。3 组微胶囊在 4  $^{\circ}\text{C}$  和室温 (26  $^{\circ}\text{C}$ ) 环境中储存后,对其中包埋植物乳杆菌活性进行测定。结果如表 3 所示,在 4  $^{\circ}\text{C}$  下储存 21 d 时,3 组活菌数均  $>6 \lg(\text{CFU/g})$ ,满足益生菌食品中最低活菌数

表2 植物乳杆菌微胶囊化在胃肠消化中的存活情况

Table 2 Survival of *Lactobacillus plantarum* microencapsulated in gastrointestinal digestion

	时间/min	pH 值	活菌数/lg(CFU·g <sup>-1</sup> )		
			M-S	M-AX	M-BG
模拟胃消化	0	-	7.01 ± 0.13 <sup>Ba</sup>	7.79 ± 0.08 <sup>Aa</sup>	7.93 ± 0.09 <sup>Aa</sup>
	30	2.0	6.80 ± 0.08 <sup>Cb</sup>	7.09 ± 0.09 <sup>Bb</sup>	7.42 ± 0.10 <sup>Ab</sup>
	60	2.0	5.70 ± 0.14 <sup>Cc</sup>	6.91 ± 0.12 <sup>Bb</sup>	7.14 ± 0.13 <sup>Ac</sup>
	90	2.0	4.37 ± 0.21 <sup>Ca</sup>	6.67 ± 0.13 <sup>Bc</sup>	7.01 ± 0.14 <sup>Ac</sup>
	120	2.0	ND	6.36 ± 0.08 <sup>Bd</sup>	6.72 ± 0.09 <sup>Ad</sup>
模拟小肠消化	150	7.0	ND	6.15 ± 0.11 <sup>Bc</sup>	6.63 ± 0.11 <sup>Ad</sup>
	180	7.0	ND	6.07 ± 0.08 <sup>Bc</sup>	6.58 ± 0.15 <sup>Ac</sup>
	240	7.0	ND	5.75 ± 0.10 <sup>Bd</sup>	6.49 ± 0.13 <sup>Ac</sup>
	300	7.0	ND	5.70 ± 0.08 <sup>Bd</sup>	6.38 ± 0.06 <sup>Ac</sup>

注:数据表示为( $x \pm s$ ),  $n=3$ ; 同列数据后不同大写字母表示组间差异显著( $P<0.05$ ), 不同小写字母表示样品间差异显著( $P<0.05$ ); ND 表示未检测到活菌; “-”表示未消化前。

要求。储存至第 35 天, M-S 组活菌数下降至 5.15 lg(CFU/g), 而 M-AX 和 M-BG 中活菌数仍然 >6 lg(CFU/g)。35~50 d 期间, 3 组微胶囊中活菌数分别迅速下降了 3.14, 1.01 lg(CFU/g) 和 0.81 lg(CFU/g)。第 65 天 M-S 组中活菌数降低至 1 lg(CFU/g) 以下, 第 80 天 M-AX 中活菌数降低至 1 lg(CFU/g) 以下, 第 95 天 M-BG 中活菌数降低至 1 lg(CFU/g) 以下。以上研究结果表明在 4 °C 环境下添加青稞非淀粉多糖可以有效延长植物乳杆菌微

胶囊储存期, 且 BG 效果优于 AX。在室温条件下, 储存的前 14 d 内, 各组微胶囊中益生菌活性较稳定, 活菌数 M-BG > M-AX > M-S ( $P<0.05$ ), 且均满足 FAO 要求 (>6 lg(CFU/g))。14~28 d, 各组益生菌活性迅速下降, 到第 35 天, 3 组活菌数均 <1 lg(CFU/g)。室温下研究结果说明, AX 和 BG 虽然有助于保持微胶囊中益生菌活性, 但没有起到延长储存期的作用。

表3 植物乳杆菌微胶囊化在 4 °C 和 26 °C 的储藏稳定性

Table 3 Storage stability of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* at 4 °C and 26 °C

储存温度/°C	储存时间/d	活菌数/lg(CFU·g <sup>-1</sup> )		
		M-S	M-AX	M-BG
4	0	7.15 ± 0.13 <sup>Ba</sup>	7.71 ± 0.09 <sup>Aa</sup>	7.86 ± 0.14 <sup>Aa</sup>
	3	7.02 ± 0.09 <sup>Ba</sup>	7.60 ± 0.16 <sup>Aa</sup>	7.71 ± 0.11 <sup>Aa</sup>
	7	6.56 ± 0.12 <sup>Bb</sup>	7.04 ± 0.15 <sup>Ab</sup>	7.22 ± 0.14 <sup>Ab</sup>
	14	6.08 ± 0.08 <sup>Bc</sup>	6.79 ± 0.11 <sup>Ab</sup>	6.93 ± 0.12 <sup>Ab</sup>
	21	6.01 ± 0.10 <sup>Bc</sup>	6.55 ± 0.08 <sup>Ac</sup>	6.50 ± 0.10 <sup>Ac</sup>
	28	5.88 ± 0.13 <sup>Bc</sup>	6.41 ± 0.07 <sup>Ac</sup>	6.28 ± 0.09 <sup>Ad</sup>
	35	5.15 ± 0.21 <sup>Bd</sup>	6.29 ± 0.18 <sup>Ad</sup>	6.22 ± 0.15 <sup>Ad</sup>
	50	2.01 ± 0.24 <sup>Bc</sup>	5.28 ± 0.22 <sup>Ac</sup>	5.41 ± 0.18 <sup>Ac</sup>
	65	<1.00	3.09 ± 0.24 <sup>Af</sup>	3.12 ± 0.27 <sup>Af</sup>
	80	<1.00	<1.00	2.07 ± 0.20 <sup>E</sup>
26	0	7.08 ± 0.06 <sup>Ba</sup>	7.79 ± 0.10 <sup>Aa</sup>	7.90 ± 0.13 <sup>Aa</sup>
	3	7.01 ± 0.09 <sup>Ba</sup>	7.73 ± 0.07 <sup>Aa</sup>	7.88 ± 0.12 <sup>Aa</sup>
	7	6.62 ± 0.14 <sup>Cb</sup>	7.15 ± 0.10 <sup>Bb</sup>	7.37 ± 0.09 <sup>Ab</sup>
	14	6.17 ± 0.13 <sup>Bc</sup>	6.98 ± 0.12 <sup>Ab</sup>	7.17 ± 0.11 <sup>Ac</sup>
	21	4.19 ± 0.21 <sup>Ca</sup>	5.20 ± 0.16 <sup>Bc</sup>	5.89 ± 0.19 <sup>Ad</sup>
	28	2.97 ± 0.29 <sup>Cc</sup>	3.52 ± 0.17 <sup>Bd</sup>	4.08 ± 0.18 <sup>Ac</sup>
	35	<1.00	<1.00	<1.00

注:数据表示为( $x \pm s$ ),  $n=3$ ; 同列数据后不同大写字母表示组间差异显著( $P<0.05$ ), 不同小写字母表示样品间差异显著( $P<0.05$ )。

### 3 结论

综上,青稞源非淀粉多糖 AX 和 BG 均能被植物乳杆菌有效利用并代谢产生 SCFAs, 具备潜在的肠益生功效。当与植物乳杆菌共微胶囊化时,可提高为微胶囊产品的综合品质。其中 BG 更有利于提高微胶囊包埋率、增大微胶囊粒径、改善微胶囊胃肠耐受性和储藏特性。该研究结果可为高品质益生菌微胶囊的生产及青稞麸皮的高值化利用提供理论依据和技术支撑。

### 参 考 文 献

- [1] 马秀霞. 植物乳杆菌微胶囊的制备及其在酸奶中的应用研究[D]. 长春: 吉林大学, 2020.  
MA X X. Preparation of *Lactobacillus plantarum* microcapsules and its application in yogurt [D]. Changchun: Jilin University, 2020.
- [2] 孔祥丽, 吴昕雨, 许晓曦. 植物乳杆菌代谢产物抑菌机制与应用研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(8): 3131-3140.  
KONG X L, WU X Y, XU X X. Research progress on metabolites and bacteriostasis mechanism of *Lactobacillus plantarum* [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(8): 3131-3140.
- [3] MDAE A, GLN A, BRN A, et al. Improvement of the viability of encapsulated probiotics using whey proteins[J]. LWT, 2019, 117: 108601-108601.
- [4] ARCHACKA M, BIALAS W, DEMBCZYNSKI R, et al. Method of preservation and type of protective agent strongly influence probiotic properties of *Lactococcus lactis*: A complete process of probiotic preparation manufacture and use[J]. Food Chemistry, 2019, 274(15): 733-742.
- [5] GU M, ZHANG Z P, PAN C, et al. Encapsulation of *Bifidobacterium pseudocatenulatum* G7 in gastro-protective microgels: Improvement of the bacterial viability under simulated gastrointestinal conditions[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 91(6): 283-289.
- [6] 李哲. 植物乳杆菌的微胶囊固定化研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2020.  
LI Z. Study on microcapsule immobilization of *Lactobacillus plantarum*[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2020.
- [7] 王森, 夏立臣, 李焘, 等. 益生菌微型胶囊化壁材和方法的研究进展[J]. 饲料研究, 2015(2): 9-12, 17.  
WANG S, XIA L C, LI D, et al. Research progress of microencapsulated wall materials and methods of probiotics[J]. Feed Research, 2015(2): 9-12, 17.
- [8] SHAH A, GANI A, AHMAD M, et al.  $\beta$ -Glucan as an encapsulating agent: Effect on probiotic survival in simulated gastrointestinal tract[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 82: 217-222.
- [9] 徐中香. 青稞麸皮阿拉伯木聚糖的结构与溶液特性[D]. 上海: 上海交通大学, 2018.  
XU Z X. Structure and solution properties of arabinoxylans from hull-less barley bran[D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2018.
- [10] 戎银秀. 青稞 $\beta$ -葡聚糖的制备、结构解析及其降血脂活性的研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2019.  
RONG Y X. The extraction and structural elucidation of highland barley  $\beta$ -glucan and the investigation of its antihyperlipidemic effects [D]. Suzhou: Suzhou University, 2019.
- [11] 曲良冉, 郑学玲, 李利民. 青稞中非淀粉多糖- $\beta$ -葡聚糖研究进展[J]. 粮油加工, 2009(2): 77-81.  
QU L R, ZHENG X L, LI L M. Research progress of non-starch polysaccharide  $\beta$ -glucan in highland barley[J]. Cereals and Oils Processing, 2009(2): 77-81.
- [12] 姚豪颖叶. 青稞中 $\beta$ -葡聚糖与阿拉伯木聚糖的分离纯化与结构表征[D]. 南昌: 南昌大学, 2016.  
YAOHAO Y Y. Isolation and purification and structural characterization of Beta-glucan and Araboxylan in Hullless barley[D]. Nanchang: Nanchang University, 2016.
- [13] ROMBEAU J L, KRIPKE S A. Metabolic and intestinal effects of short-chain fatty acids[J]. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition, 1990, 14(5): 181S-185S.
- [14] HUANG L, DONG J L, ZHANG K Y, et al. Thermal processing influences the physicochemical properties, *in vitro* digestibility and prebiotics potential of germinated highland barley [J]. LWT -Food Science and Technology, 2020, 140(8): 110814.
- [15] DONG J L, YU X, DONG L E, et al. *In vitro* fermentation of oat  $\beta$ -glucan and hydrolysates by fecal



- microbiota and selected probiotic strains[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2017, 97(12): 4198-4203.
- [16] ZHU Y Y, DONG J L, HUANG L, et al. Effects of oat  $\beta$ -glucan, oat resistant starch, and the whole oat flour on insulin resistance, inflammation, and gut microbiota in high-fat-diet-induced type 2 diabetic rats[J]. Journal of Functional Foods, 2020, 69: 103939.
- [17] BANERJEE D, CHOWDHURY R, BHATTACHARYA P. *In-vitro* evaluation of targeted release of probiotic *Lactobacillus casei* (2651 1951 RPK) from synbiotic microcapsules in the gastrointestinal (GI) system: Experiments and modeling[J]. LWT - Food Science and Technology, 2017, 83: 243-253.
- [18] 刘丽娅, 赵梦丽, 钟葵, 等. 小麦麸皮阿拉伯木聚糖体外益生活性研究[J]. 中国粮油学报, 2016, 31(10): 1-5, 30.
- LIU L Y, ZHAO M L, ZHONG K, et al. *In vitro* prebiotic activity of arabinoxylan from wheat bran[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils, 2016, 31(10): 1-5, 30.
- [19] 黄蓉, 张学亮, 韩烁, 等. 瑞士乳杆菌 MB2-1 源胞外多糖对 10 种益生菌生长特性的影[J]. 食品科学, 2020, 41(6): 163-169.
- HUANG R, ZHANG X L, HAN S, et al. Effect of exopolysaccharides of *Lactobacillus helveticus* MB2-1 on growth characteristics of ten probiotics[J]. Food Science, 2020, 41(6): 163-169.
- [20] SHEN R L, DANG X Y, DONG J L, et al. Effects of oat  $\beta$ -glucan and barley  $\beta$ -glucan on fecal characteristics, intestinal microflora, and intestinal bacterial metabolites in rats[J]. J Agric Food Chem, 2012, 60(45): 11301-11308.
- [21] SHI Z X, ZHU Y, TENG C. et al. Anti-obesity effects of  $\alpha$ -amylase inhibitor enriched-extract from white common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) associated with the modulation of gut microbiota composition in high-fat diet-induced obese rats[J]. Food & Function, 2020, 11(2): 1624-1634.
- [22] 郭文奎, 焦月华, 刘飞. 小米和燕麦中水溶性膳食纤维结构表征及对体外发酵体系短链脂肪酸的影响[J]. 食品科技, 2017, 42(3): 190-194.
- GUO W K, JIAO Y H, LIU F, et al. Structure and short chain fatty acids produced characteristics by *in vitro* fermentation of water soluble dietary fibers isolated from millet and oats[J]. Food Science and Technology, 2017, 42(3): 190-194.
- [23] 白洪波, 杨萍, 张汉斌, 等. 短链脂肪酸丁酸抑制动脉硬化形成及其分子机制[J]. 生理学报, 2021, 73(1): 42-50.
- BAI H B, YANG P, ZHANG H B, et al. Short-chain fatty acid butyrate acid attenuates atherosclerotic plaque formation in apolipoprotein E-knockout mice and the underlying mechanism[J]. Acta Physiologica Sinica, 2021, 73(1): 42-50.
- [24] 刘鹏. 短链脂肪酸盐丁酸钠抑制人结肠癌细胞 SW620 增殖及其机制的实验研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2010.
- LIU P. The studies to effects and mechanisms of sodium butyrate on the proliferation of human colon cancer cell line SW620[D]. Suzhou: Suzhou University, 2010.
- [25] 杨立娜, 黄靖航, 李燕红, 等. 不同分子质量菊芋菊糖益生元特性及其益生菌微胶囊稳定性研究[J]. 中国食品学报, 2021, 21(4): 106-113.
- YANG L N, HUANG J H, LI Y H, et al. Studies on the prebiotics characteristics of different molecular mass *Jerusalem artichoke* Inulin and the stability of probiotic microcapsules[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(4): 106-113.
- [26] 陈合, 王野, 贾亚丽, 等. 乳化法制备两歧双歧杆菌微胶囊[J]. 陕西科技大学学报, 2013, 31(1): 78-81.
- CHEN H, WANG Y, JIA Y L, et al. Preparation of *Bifidobacterium bifidum* microcapsules by emulsification[J]. Journal of Shaanxi University of Science & Technology, 2013, 31(1): 78-81.
- [27] YANG Y L, GUO S J, ZHANG Z X, et al. Structural elucidation of galactomannan from seeds of *Crotalaria mucronata* Desv. by atomic force microscopy[J]. Molecular Medicine Reports, 2017, 17(3): 3870-3876.
- [28] 杨媚. 热处理对全谷燕麦  $\beta$ -葡聚糖和戊聚糖结构及体外发酵的影响[D]. 郑州: 郑州轻工业学院, 2018.
- YANG M. Effects of thermal processing on the structural characteristics and *in vitro* fermentation of whole grain oats  $\beta$ -glucan and arabinoxylan [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University of Light Industry, 2018.
- [29] HANSEN L T, ALLAN-WOJTAS P M, JIN Y L,

- et al. Survival of Ca-alginate microencapsulated *Bifidobacterium* spp. in milk and simulated gastrointestinal conditions[J]. Food Microbiology, 2002, 19(1): 35-45.
- [30] SANDOVAL -CASTILLA O, LOBATO -CALLEROS C, GARCIA-GALINDO H S, et al. Textural properties of alginate-pectin beads and survivability of entrapped *Lb. casei* in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt[J]. Food Research International, 2010, 43(1): 111-117.
- [31] SHI L E, LI Z H, LI D T, et al. Encapsulation of probiotic *Lactobacillus bulgaricus* in alginate-milk microspheres and evaluation of the survival in simulated gastrointestinal conditions[J]. Journal of Food Engineering, 2013, 117(1): 99-104.
- [32] LI W, LIU L M, TIAN H F, et al. Encapsulation of *Lactobacillus plantarum* in cellulose based microgel with controlled release behavior and increased long-term storage stability[J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 223(2): 115065.

### Effect of Co-microencapsulation of Non-starch Polysaccharides from Highland Barley and *Lactobacillus plantarum* on the Survival of Probiotics

Zhu Yingying<sup>1,2</sup>, Yin Lisha<sup>1</sup>, Du Yan<sup>3</sup>, Wu Huajun<sup>1</sup>, Feng Xuewei<sup>1</sup>, Yu Xiao<sup>1,2</sup>, Hao Jing<sup>3</sup>, Shen Ruiling<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001

<sup>2</sup>Henan Key Laboratory of Cold Chain Food Quality and Safety Control, Zhengzhou 450001

<sup>3</sup>Qinghai Barley Resources Comprehensive Utilization Engineering Technology Research Center, Xining 810000)

**Abstract** Araboxylan (AX) and  $\beta$ -glucan (BG) were extracted and purified from highland barley bran, respectively. It was found that both AX and BG could promote the proliferation of *Lactobacillus (L.) plantarum* and producing short-chain fatty acids, suggesting potential intestinal probiotic effects of AX and BG. Based on this, *Lactobacillus plantarum* GIM1.191 was co-microcapsuled with AX (M-AX) and BG (M-BG), respectively, and their effects on the encapsulation efficiencies, gastrointestinal tolerance and storage were evaluated. The results showed the encapsulation efficiencies of M-AX and M-BG were increased by 1.4 times, and 1.6 times, respectively, compared with the control group (M-S). After simulated gastrointestinal digestion, no viable probiotics was detected in M-S, however, the viable counts of M-AX and M-BG groups were 5.70 and 6.3 lg (CFU/g), respectively. In addition, AX and BG extended the storage time [viable probiotics counts >6 lg (CFU/g)] from 21 days to 35 days under 4 °C, and significantly increased the viable probiotics counts at day 14 under 26 °C. These results will provide theoretical basis and technical support for the high value utilization of highland barley bran.

**Keywords** highland barley bran; araboxylan;  $\beta$ -glucan; *Lactobacillus plantarum*; microcapsules