

鲟源嗜水气单胞菌拮抗解淀粉芽孢杆菌微胶囊的 制备工艺及其特性

曹海鹏^{1Δ} 何珊^{1Δ} 安健² 陈百尧² 伏光辉² 吕利群^{1*} 陈岩²

- (1. 上海海洋大学农业部淡水水产种质资源重点实验室 上海市水产养殖工程技术研究中心 上海高校知识服务平台 上海海洋大学水产动物遗传育种中心(ZF1206) 上海海洋大学国家水生动物病原库 上海 201306)
(2. 连云港市海洋与水产科学研究所 江苏 连云港 222044)

摘要:【目的】优化鲟源嗜水气单胞菌拮抗解淀粉芽孢杆菌微胶囊的制备工艺,并观察其特性。【方法】以明胶为壁材,采用单因素法,考察了明胶浓度、进风温度、进料速度、空气流量等因素对解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含菌量的影响,并进一步通过正交试验设计优化制备解淀粉芽孢杆菌微胶囊的喷雾干燥工艺参数,观察其微胶囊颗粒形态以及对人工模拟胃液和肠液的耐受力。【结果】解淀粉芽孢杆菌微胶囊喷雾干燥的最佳制备工艺条件为:明胶浓度为3%,进风温度为155℃,进料速度为8 mL/min,空气流量为700 L/h,各因素对其喷雾干燥工艺的影响程度为:明胶浓度>进料速度>空气流量>进风温度。此外,解淀粉芽孢杆菌微胶囊的颗粒呈球形,表面有凹陷,但没有孔和裂纹,颗粒粒径分布基本均匀,平均大小为9.22 μm,对人工模拟胃液和肠液具有较好的耐受力,对鲟源嗜水气单胞菌具有良好的生长抑制效果。【结论】本研究结果为鲟源嗜水气单胞菌拮抗解淀粉芽孢杆菌微胶囊的工业化生产奠定了基础。

关键词: 解淀粉芽孢杆菌, 微胶囊, 制备工艺, 特性

Production process technique and characteristics of microcapsules of *Bacillus amyloliquefaciens* against sturgeon-pathogenic *Aeromonas hydrophila*

CAO Hai-Peng^{1Δ} HE Shan^{1Δ} AN Jian² CHEN Bai-Yao² FU Guang-Hui² LÜ Li-Qun^{1*}
CHEN Yan²

(1. Shanghai Ocean University Key Laboratory of Freshwater Fishery Germplasm Resources of Ministry of Agriculture, Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai University Knowledge Service Platform, Shanghai Ocean University Aquatic Animal Breeding Center (ZF1206), Shanghai Ocean University National Pathogen Collection Center for

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金项目(No. CARS-46); 江苏省科技支撑计划项目(No. BE2013366); 山西省科技攻关项目(No. 20120311025-4)

*通讯作者: Tel: 86-21-61900454; ✉: lqlv@shou.edu.cn

Δ共同第一作者

收稿日期: 2013-07-09; 接受日期: 2013-09-10; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2013-10-12

Aquatic Animals, Shanghai 201306, China)

(2. Marine and Fisheries Research Institute of Lianyungang, Lianyungang, Jiangsu 222044, China)

Abstract: [Objective] The aim of the present study was to optimize the production process technique of microcapsules of *Bacillus amyloliquefaciens* against sturgeon-pathogenic *Aeromonas hydrophila*, and to observe their characteristics. **[Methods]** Based on the use of gelatin as the wall materials, the influences of gelatin concentration, inlet temperature, feeding speed and air flow on the viable cells in *B. amyloliquefaciens* microcapsules were assayed using single factor method, the spray drying processing parameters of its microcapsules were optimized through orthogonal experimental design, and their morphology and tolerance to artificial gastric and intestinal juices were further examined. **[Results]** The experimental results showed that the optimum spray drying processing parameters to prepare *B. amyloliquefaciens* microcapsules were gelatin concentration of 3%, inlet temperature of 155 °C, feeding speed of 8 mL/min and air flow of 700 L/h, and the most leading influence factor on the production of *B. amyloliquefaciens* microcapsules was the gelatin concentration, followed by feeding speed, air flow and inlet temperature. In addition, *B. amyloliquefaciens* microcapsules were spherical, featured dimpled surface without holes and cracks, uniformly-distributed with an average size of 9.22 μm . They were also found to have good tolerance to artificial gastric and intestinal juices, and exhibited a good inhibitory effect on the growth of sturgeon *Aeromonas hydrophila*. **[Conclusion]** The present study laid a good foundation for the industrial production of *B. amyloliquefaciens* microcapsules.

Keywords: *Bacillus amyloliquefaciens*, Microcapsules, Production process technique, Characteristics

鲟鱼是地球上生存最古老的鱼种之一,其肉味鲜美,营养丰富,具有较高的经济价值。然而,由于集约化程度过高、日常管理不严密等诸多原因,鲟鱼嗜水气单胞菌病的暴发日趋严重,导致作为治疗剂的抗生素过度滥用,使鲟鱼产品安全受到日益严峻的挑战,并引起了一系列环境、卫生和社会问题^[1]。目前,欧洲、美国、日本等发达国家已明令禁用抗生素作为饲料添加剂^[2]。因此,鲟鱼养殖业迫切需要既能满足无公害要求又能防控鲟鱼嗜水气单胞菌病的新型饲料抗生素添加剂的替代品。众多研究表明,益生菌作为饲料添加剂饲喂水产养殖动物,能够有效控制水产动物病原菌的增殖,促进动物生长,同时不会出现耐药性,也不存在有害残留或污染等副作用,有望成为替代抗生素、控制动物疾病的最有效工具之一^[3]。其中拮抗芽孢杆菌以其具有抗逆性强、耐储藏、应用条件不苛求等优良性状成为目前应用最为广泛的一种益生菌,已经被美国食品与药品管理局、中国农业部列入可直接用于饲料添加剂的菌种目录^[4]。然而,当前我国益生菌饲料添加剂普遍存在产品含量低、产品稳定性差

等问题,极大阻碍了微生物饲料添加剂产业的健康可持续发展。鉴于此,在筛选鉴定了优良的鲟源病原性嗜水气单胞菌拮抗解淀粉芽孢杆菌菌株 G1^[5]并确定了其安全性^[6]的基础上,本实验以解淀粉芽孢杆菌菌株 G1 作为研究对象,以明胶为壁材,研究了明胶浓度、进风温度、进料速度、空气流量等因素对喷雾干燥过程中解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含菌量的影响,并进一步通过正交试验法确定了解淀粉芽孢杆菌微胶囊的最佳喷雾干燥工艺参数,观察了其微胶囊形态以及对人工模拟胃液和肠液的耐受力和鲟源嗜水气单胞菌的生长抑制效果,以期鲟源嗜水气单胞菌拮抗解淀粉芽孢杆菌微胶囊的工业化生产及其作为鲟鱼饲料添加剂的开发提供科学资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

解淀粉芽孢杆菌菌株 G1 (*Bacillus amyloliquefaciens* strain G1), 为上海海洋大学国家水生动物病原库保藏的具有良好拮抗鲟源嗜水气单胞菌活性的益生芽孢杆菌菌株^[5];嗜水气单胞菌

S1 (*Aeromonas hydrophila* strain S1), 分离于患细菌性败血症的西伯利亚鲟肝脏^[7], 无菌生理盐水(0.85%)、明胶、普通营养琼脂培养基、营养肉汤、Rimler-Shotts (RS)琼脂培养基, 均购于国药集团(上海)化学试剂有限公司, 以上培养基、稀释液等均于 1×10^5 Pa 灭菌 20 min; 小型喷雾干燥机, 购于上海世远生物工程有限公司 pH 分别为 2.0、3.0、4.0 的人工胃液, 胆盐浓度分别为 0.1%、0.3%、0.5%、0.7% 的人工肠液, 由本实验室参照 Guo 等^[8-9]的方法配制。

1.2 解淀粉芽孢杆菌菌悬液的制备

将菌株 G1 接种于无菌营养肉汤中, 于 30 °C、150 r/min 摇床振荡培养 24 h, 然后将培养物于 4 °C、4 000 r/min 离心 20 min, 用无菌生理盐水洗涤 2 次后, 再用它将菌株 G1 的菌悬液浓度调节为 3.6×10^9 CFU/mL, 于 4 °C 保存备用。

1.3 不同因素对解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含菌量的影响

1.3.1 明胶浓度对解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含菌量的影响: 无菌条件下取菌株 G1 的菌悬液 1 mL 加入终浓度分别为 2%、3%、4%、5%、6% 的无菌明胶溶液中, 然后在磁力搅拌器上于 30 °C、100 r/min 充分混合均匀, 并在进风温度 130 °C、进料速度 10 mL/min、空气流量 700 L/h、通针频率 10 s 等条件下进行喷雾干燥, 分别对不同明胶浓度下制备的解淀粉芽孢杆菌微胶囊进行有效含菌量的测定。

1.3.2 进风温度对解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含菌量的影响: 无菌条件下取菌株 G1 的菌悬液 1 mL 加入终浓度为 3% 的无菌明胶溶液中, 然后在磁力搅拌器上于 30 °C、100 r/min 充分混合均匀, 并在进风温度分别为 110、120、130、140、150、160、170 °C 以及进料速度 10 mL/min、空气流量 700 L/h、通针频率 10 s 等条件下进行喷雾干燥, 分别对不同进风温度下制备的解淀粉芽孢杆菌微胶囊进行有效含菌量的测定。

1.3.3 进料速度对解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含

菌量的影响: 无菌条件下取菌株 G1 的菌悬液 1 mL 加入终浓度为 3% 的无菌明胶溶液中, 然后在磁力搅拌器上于 30 °C、100 r/min 充分混合均匀, 并在进料速度分别为 6、8、10、12、14 mL/min 以及进风温度 150 °C、空气流量 700 L/h、通针频率 10 s 等条件下进行喷雾干燥, 分别对不同进料速度下制备的解淀粉芽孢杆菌微胶囊进行有效含菌量的测定。

1.3.4 空气流量对解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含菌量的影响: 无菌条件下取菌株 G1 的菌悬液 1 mL 加入终浓度为 3% 的无菌明胶溶液中, 然后在磁力搅拌器上于 30 °C、100 r/min 充分混合均匀, 并在空气流量分别为 600、650、700、750、800 L/h 以及进风温度 150 °C、进料速度 10 mL/min、通针频率 10 s 等条件下进行喷雾干燥, 分别对不同空气流量下制备的解淀粉芽孢杆菌微胶囊进行有效含菌量的测定。

1.3.5 解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含菌量的测定方法: 无菌条件下取菌株解淀粉芽孢杆菌微胶囊 0.05 g 于 9 mL 无菌蒸馏水中, 于 37 °C 水浴溶解后采用稀释涂布平板法进行有效含菌量的测定 (CFU/g)。

1.4 解淀粉芽孢杆菌微胶囊喷雾干燥工艺参数优化分析

无菌条件下取菌株 G1 的菌悬液 1 mL 加入不同浓度的明胶溶液中, 然后在不同进风温度、进料速度、空气流量以及通针频率 10 s 等条件下进行喷雾干燥, 采用正交试验法对影响解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含菌量的明胶浓度、进风温度、进料速度和空气流量等 4 个因素进行优化。各因素水平见表 1。

1.5 解淀粉芽孢杆菌微胶囊的形态观察

用双面胶将解淀粉芽孢杆菌微胶囊固定于扫描电子显微镜的样品台上, 然后在离子溅射仪中镀一薄层金, 最后用扫描电子显微镜观察其形态并拍照。

1.6 解淀粉芽孢杆菌微胶囊对人工模拟胃液的耐受力分析

人工胃液的配制参照文献^[8-9], 即配制 pH 值分别为 2.0、3.0、4.0 的稀盐酸溶液, 经 4×10^4 Pa

灭菌 10 min 后冷却至 40 °C，然后按质量比 1%的比例加入胃蛋白酶，混匀，冷却至室温后待用。将解淀粉芽孢杆菌微胶囊按 1%的接种量先置于 37 °C 无菌蒸馏水中水浴溶解后，再分别接种于 pH 值分别为 2.0、3.0、4.0 的人工胃液中，然后于 30 °C、150 r/min 摇床振荡培养，分别在 0、2、4 h 取样测定其有效含菌量。

1.7 解淀粉芽孢杆菌微胶囊对人工模拟肠液的耐受力分析

人工肠液的配制参照文献[8-9]，即在新鲜营养肉汤 100 mL 中加入磷酸二氢钾 0.68 g，用 0.4%氢氧化钠溶液调 pH 值至 6.8，经 1×10^5 Pa 灭菌 15 min 后冷却至 40 °C，然后按质量比 1%的比例加入胰蛋白酶，并调节胆盐的质量分数分别为 0.1%、0.3%、0.5%、0.7%，混匀，冷却至室温后待用。将解淀粉芽孢杆菌微胶囊按 1%的接种量先置于 37 °C 无菌蒸馏水中水浴溶解后，再分别接种于胆盐浓度分为 0.1%、0.3%、0.5%、0.7%的人工肠液中，然后于 30 °C、150 r/min 摇床振荡培养 3 h 后分别取样测定其有效含菌量。

1.8 解淀粉芽孢杆菌微胶囊对鲟源嗜水气单胞菌的生长抑制效果分析

将解淀粉芽孢杆菌微胶囊按 1%的接种量先置于 37 °C 无菌蒸馏水中水浴溶解后，再接种于营养肉汤中至终浓度 10^5 CFU/mL，同时接种终浓度为 10^3 CFU/mL 的鲟源嗜水气单胞菌 S1 菌悬液至营养肉汤中，然后于 30 °C、150 r/min 摇床振荡培养，分别在振荡培养后的 0、24、48、72、96 h 取样测定嗜水气单胞菌的活菌量，并以相同条件下单独培养的鲟源嗜水气单胞菌的浓度变化作为对照。其中，嗜水气单胞菌的测定采用稀释涂布 RS 琼脂平

板法。

1.9 数据处理方法

每个实验设 3 个平行样本。数据采用 SPSS 11.5 软件进行统计学分析， $P<0.05$ 表示差异具有显著性。

2 结果与分析

2.1 明胶浓度对解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含菌量的影响

实验结果表明，当明胶浓度为 3%时，解淀粉芽孢杆菌微胶囊的有效含菌量最高。具体表现在：当明胶浓度为 2%时，解淀粉芽孢杆菌微胶囊的有效含菌量的对数值比明胶浓度为 3%时降低了 6.92% ($P<0.05$)；当明胶浓度分别为 4%、5%和 6%时，解淀粉芽孢杆菌微胶囊的有效含菌量随明胶浓度的增加而逐渐降低，其有效含菌量的对数值比明胶浓度为 3%时也分别降低了 2.16% ($P<0.05$)、5.11% ($P<0.05$) 和 8.74% ($P<0.05$) (图 1)。

2.2 进风温度对解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含菌量的影响

实验结果表明，当进风温度为 150 °C 时，解淀粉芽孢杆菌微胶囊的有效含菌量最高。具体表现在：当进风温度为 110、120、130 和 140 °C 时，解淀粉芽孢杆菌微胶囊的有效含菌量随进风温度的升高而逐渐增加，其有效含菌量的对数值分别相当于进风温度为 150 °C 时的 89.37% ($P<0.05$)、91.30% ($P<0.05$)、97.56% ($P<0.05$) 和 98.78% ($P>0.05$)；当进风温度为 160 °C 和 170 °C 时，解淀粉芽孢杆菌微胶囊的有效含菌量随进风温度的升高而逐渐减少，其有效含菌量的对数值比进风温度为 150 °C 时分别降低了 4.87% ($P<0.05$)和 8.75% ($P<0.05$) (图 2)。

表 1 解淀粉芽孢杆菌微胶囊喷雾干燥工艺正交试验[$L_9(3^4)$]因素水平				
Table 1 Factors levels of orthogonal test ($L_9(3^4)$) on spray-drying process of <i>B. amyloliquefaciens</i> microcapsules				
水平 Level	明胶浓度 Gelatin concentration (%)	进风温度 Inlet temperature (°C)	进料速度 Feeding speed (mL/min)	空气流量 Air pressure (L/h)
1	2.5	145	8	650
2	3.0	150	10	700
3	3.5	155	12	750

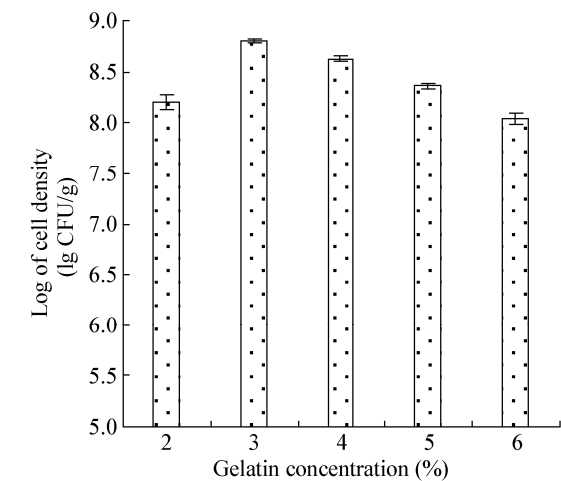


图 1 明胶浓度对解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含菌量的影响

Figure 1 Effect of different concentrations of gelatin on *B. amyloliquefaciens* microcapsules

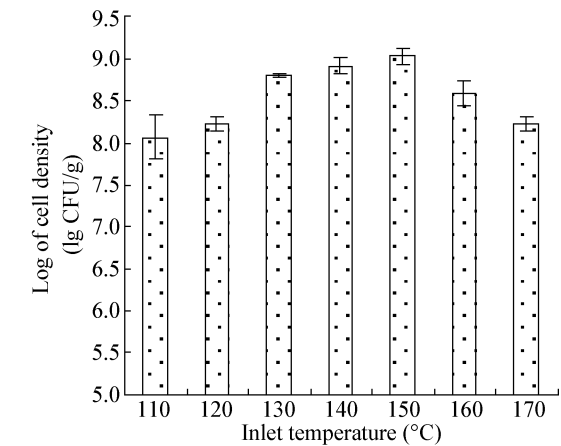


图 2 进风温度对解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含菌量的影响

Figure 2 Effect of inlet temperature on *B. amyloliquefaciens* microcapsules

2.3 进料速度对解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含菌量的影响

实验结果表明，当进料速度为 10 mL/min 时，解淀粉芽孢杆菌微胶囊的有效含菌量最高。具体表现在：当进料速度为 6 mL/min 和 8 mL/min 时，解淀粉芽孢杆菌微胶囊的有效含菌量的对数值比进料速度为 10 mL/min 时分别降低了 16.39% ($P<0.05$) 和 4.21% ($P<0.05$)；当进料速度为 12 mL/min 和 14 mL/min 时，解淀粉芽孢杆菌微胶囊的有效含菌量较进料速度为 10 mL/min 时也分别降低了 7.53%

($P<0.05$)和 14.06% ($P<0.05$) (图 3)。

2.4 空气流量对抗嗜水气单胞菌解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含菌量的影响

实验结果表明，当空气流量为 700 L/h 时，解淀粉芽孢杆菌微胶囊的有效含菌量最高。具体表现在：当空气流量为 600 L/h 和 650 L/h 时，解淀粉芽孢杆菌微胶囊的有效含菌量的对数值比空气流量为 700 L/h 时降低了 17.83% ($P<0.05$)和 4.21% ($P<0.05$)；当空气流量为 750 L/h 和 800 L/h 时，解淀粉芽孢杆菌微胶囊的有效含菌量的对数值比空气流量为 700 L/h 时也分别降低了 7.53% ($P<0.05$) 和 32.45% ($P<0.05$) (图 4)。

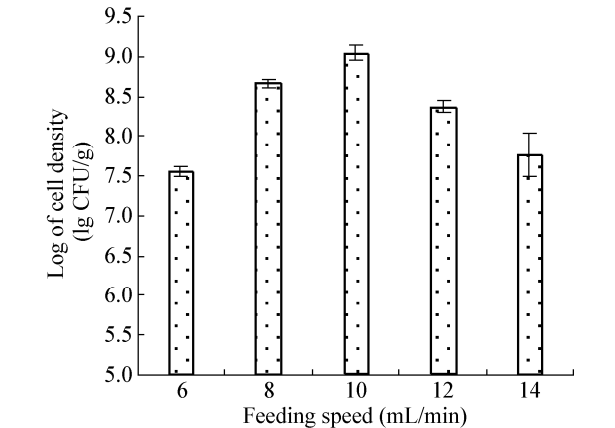


图 3 进料速度对解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含菌量的影响

Figure 3 Effect of feeding speed on *B. amyloliquefaciens* microcapsules

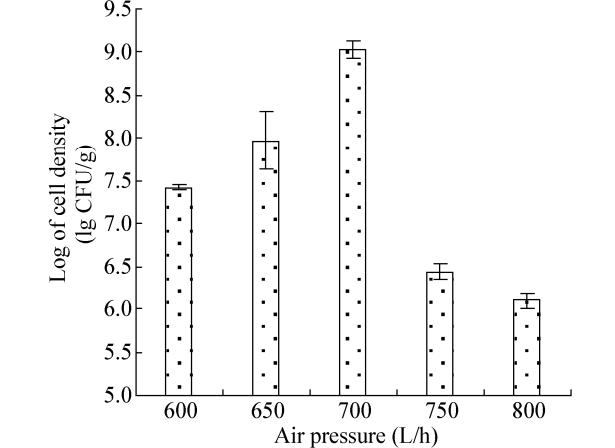


图 4 空气流量对解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含菌量的影响

Figure 4 Effect of air pressure on *B. amyloliquefaciens* microcapsules

2.5 解淀粉芽孢杆菌微胶囊的最佳喷雾干燥工艺参数

实验结果表明,解淀粉芽孢杆菌微胶囊喷雾干燥工艺的最佳组合为明胶浓度为3%,进风温度为155℃,进料速度为8 mL/min,空气流量为700 L/h。菌株G1微胶囊在该最佳条件下的有效含菌量为 1.91×10^9 CFU/g。极差分析结果表明,明胶浓度、进风温度、进料速度、空气流量等4个因素对喷雾干燥工艺的影响程度为:明胶浓度>进料速度>空气流量>进风温度(表2)。

2.6 抗嗜水气单胞菌解淀粉芽孢杆菌微胶囊的形态

实验结果表明,解淀粉芽孢杆菌微胶囊的微胶囊颗粒呈球形,表面有凹陷,但没有孔和裂纹,颗粒粒径分布基本均匀,平均大小为9.22 μm(图5)。

2.7 解淀粉芽孢杆菌微胶囊对人工模拟胃液的耐受性

实验结果表明,解淀粉芽孢杆菌微胶囊的有效含菌量虽然在人工模拟胃液(低pH和胃蛋白酶)处理后明显下降,但解淀粉芽孢杆菌微胶囊的有效含

菌量对数值的减少量均低于1,说明解淀粉芽孢杆菌微胶囊对人工模拟胃液具有一定的耐受能力。具体表现在:通过pH值分别为2.0、3.0和4.0的人工模拟胃液处理2 h,解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含菌量的对数值较初始有效含菌量的对数值分别下降了0.85 ($P<0.05$)、0.67 ($P<0.05$)和0.48 ($P<0.05$);pH值分别为2.0、3.0和4.0的人工模拟胃液处理4 h,解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含菌量的对数值较初始有效含菌量的对数值分别下降了0.89 ($P<0.05$)、0.79 ($P<0.05$)和0.57 ($P<0.05$)(图6)。

2.8 解淀粉芽孢杆菌微胶囊对人工模拟肠液的耐受性

实验结果表明,解淀粉芽孢杆菌微胶囊对人工模拟肠液具有良好的耐受能力。具体表现在:通过质量分数分别为0.1%、0.3%、0.5%和0.7%胆盐的人工模拟肠液处理3 h,解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含菌量的对数值较不含胆盐的人工模拟肠液处理分别仅降低了0.12 ($P>0.05$)、0.13 ($P>0.05$)、0.16 ($P>0.05$)和0.23 ($P>0.05$),对人工模拟肠液表现出良好的适应性(图7)。

表2 解淀粉芽孢杆菌微胶囊喷雾干燥工艺正交试验结果
Table 2 Orthogonal test result of spray-drying process of *B. amyloliquefaciens* microcapsules

实验编号 Test No.	明胶浓度 Gelatin concentration (%)	进风温度 Inlet temperature (°C)	进料速度 Feeding speed (mL/min)	空气流量 Air pressure (L/h)	含菌量对数值 Logrithm of cell density (lg CFU/g)
1	2.5	145	8	650	8.39
2	2.5	150	10	700	8.16
3	2.5	155	12	750	8.48
4	3.0	145	10	750	8.20
5	3.0	150	12	650	8.24
6	3.0	155	8	700	9.28
7	3.5	145	12	700	7.58
8	3.5	150	8	750	7.10
9	3.5	155	10	650	6.64
K_1	8.343	8.057	8.257	7.757	
K_2	8.573	7.833	7.667	8.340	
K_3	7.107	8.133	8.100	7.927	
R	1.466	0.300	0.590	0.583	

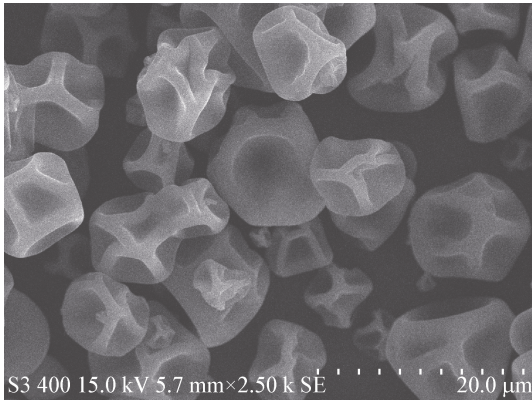


图 5 扫描电镜下解淀粉芽孢杆菌微胶囊的形态
Figure 5 Morphology of *B. amyloliquefaciens* microcapsules under scanning electron microscope

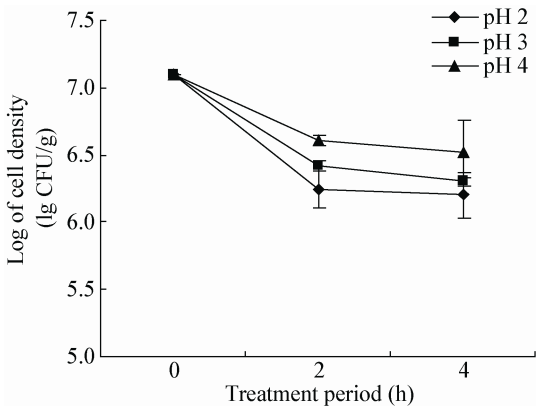


图 6 解淀粉芽孢杆菌微胶囊在人工模拟胃液处理下的有效含菌量变化
Figure 6 Changes of cells in *B. amyloliquefaciens* microcapsules treated with artificial gastric juice

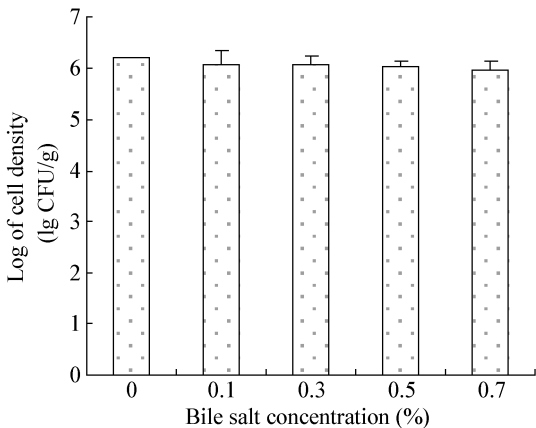


图 7 解淀粉芽孢杆菌微胶囊在人工模拟肠液处理下的有效含菌量变化
Figure 7 Changes of cells in *B. amyloliquefaciens* microcapsules treated with artificial intestinal juice

2.9 解淀粉芽孢杆菌微胶囊对鲟源嗜水气单胞菌的生长抑制效果

实验结果表明,解淀粉芽孢杆菌微胶囊对鲟源嗜水气单胞菌 S1 具有良好的生长抑制效果。具体表现在:当解淀粉芽孢杆菌微胶囊与鲟源嗜水气单胞菌 S1 共培养 24、48、72、96 h, 相应的嗜水气单胞菌的浓度对数值分别较单独培养时降低了 22.14%、35.60%、38.66%、52.83% ($P<0.05$) (图 8)。

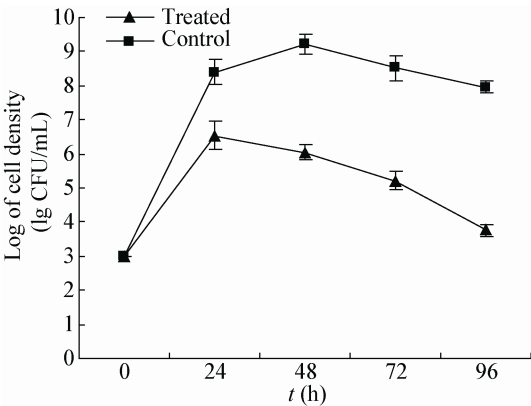


图 8 解淀粉芽孢杆菌微胶囊对鲟源嗜水气单胞菌的生长抑制效果
Figure 8 Inhibitory effect of *B. amyloliquefaciens* microcapsules on the growth of sturgeon *Aeromonas hydrophila*

3 讨论

喷雾干燥法是以单一工序将溶液、乳液、悬浮液或浆状物经雾化器作用, 喷成非常细微的雾滴, 并依靠干燥介质(热空气、冷空气、烟道气或惰性气体)与雾滴均匀混合, 进行热交换和质交换, 使得溶剂气化或使得熔融物固化, 最终加工成粉状干燥制品的一种干燥法, 其操作费用低, 生产效率高, 生产过程简单, 产品的分散性和溶解性较好, 是食品或食品添加剂行业普遍采用的生产方法之一^[10-11]。然而, 利用喷雾干燥技术生产水产饲用微生物添加剂的研究却鲜有报道。本实验参照 Bhathena 等^[12]的方法选择菌悬液, 采用喷雾干燥技术成功制备了鲟源嗜水气单胞菌拮抗解淀粉芽孢杆菌微胶囊, 并确定了其最佳的喷雾干燥工艺参数以及对人工模

拟胃液和肠液的耐受力,不仅有利于弥补利用喷雾干燥技术进行水产饲用微生物添加剂研究的不足,而且为解淀粉芽孢杆菌微胶囊的工业化生产与开发提供了重要的科学资料。

明胶是一种亲水性高分子胶体,来源广泛,价格低廉,乳化性、成膜性能好,理化性能稳定,且不易与油脂类分子发生反应,其微胶囊制品与阿拉伯胶、海藻酸钠等壁材制备的同类产品相比具有入口即化的优点,是一种良好的喷雾干燥热保护剂^[13-15]。因此,本实验选用明胶作为微胶囊壁材,不仅验证了明胶可以作为解淀粉芽孢杆菌微胶囊制备的抗热保护剂,也证实了利用喷雾干燥法制备解淀粉芽孢杆菌微胶囊的最适明胶浓度为3%,这与李宁等^[16]制备双歧杆菌(*Bacillus bifidus*)喷雾干燥微胶囊的最佳明胶浓度在3%时为佳的研究结果相同。此外,进风温度、进料速度和空气流量是影响益生菌喷雾干燥工艺优劣的主要因素^[17-18]。因此,选择合适的进风温度、进料速度和空气流量等关键参数对喷雾干燥法成功制备微胶囊制剂至关重要。国内一些学者在相关领域已经开展了相关研究。罗佳琦等^[19]研究认为,以20%阿拉伯胶和麦芽糊精混合物为壁材,通过喷雾干燥技术制备的嗜酸乳杆菌微胶囊的最适进风温度为140℃,进料速度为14.58 mL/min,并证实进风温度对嗜酸乳杆菌微胶囊质量的影响大于进料速度;区伟佳等^[20]研究发现,以25%阿拉伯胶和麦芽糊精混合物为壁材,通过喷雾干燥技术制备的生防芽孢杆菌微胶囊的最适进风温度为170℃,进料速度为10 mL/min,并指出进料速度对生防芽孢杆菌微胶囊质量的影响大于进风温度;刘永霞等^[21]研究证实,空气流量对微胶囊颗粒的壁厚大小具有明显的影响,并指出空气流量为760 L/h有利于微胶囊颗粒形态均一。本实验研究结果表明,以3%明胶作为壁材,利用喷雾干燥法制备的解淀粉芽孢杆菌微胶囊的最适进风温度与罗佳琦等^[19]、区伟佳等^[20]的研究报道均有所不同,可能与壁材和菌种不同有关,而且空气流量与刘永霞等^[21]的实验结果也稍有不同,

可能与壁材、芯材混合后的料液湿度不同有关。此外,本实验还发现,进料速度对解淀粉芽孢杆菌微胶囊有效含菌量的影响大于进风温度,这与区伟佳等^[20]的研究观点相同。

研究表明,益生菌微胶囊有助于加强益生菌的耐受力,提高益生菌在不良环境中的存活力^[22]。Wiwattanapatapee等^[23]认为,巨大芽孢杆菌微胶囊较游离菌制剂具有更强的抗紫外能力,巨大芽孢杆菌微胶囊经紫外照射48 h仍存活并表现出较好的抗菌活性,而游离菌制剂仅经紫外照射6 h即全部死亡并丧失抗菌能力;Li等^[24]试验结果也表明,干酪乳杆菌微胶囊对人工模拟胃液和人工模拟肠液具有良好的耐受力,与游离菌制剂相比更能够提高菌细胞的活力。本实验结果也表明,解淀粉芽孢杆菌微胶囊对人工模拟胃液和肠液的耐受能力也较强,这与Li等^[24]的观点相同。众所周知,益生菌制剂作为饲料添加剂必需能够耐受胃低pH、肠道高浓度胆盐的作用,才可能在鱼胃肠道粘膜上定殖并大量存活^[25-26]。因此,本实验结果在一定程度上证实了解淀粉芽孢杆菌微胶囊作为饲料添加剂的可行性。

参考文献

- [1] 于明超,李卓佳,文国樑.芽孢杆菌在水产养殖应用中的研究进展[J].广东农业科学,2007(11):78-81.
- [2] 刘华梅,陈振民,李青,等.高含量芽孢杆菌益生菌的制造技术[J].饲料工业,2010,31(14):32-33.
- [3] 韩士群,刘海琴,周建农,等.有益微生物饲料添加剂对水体生态和鱼生长的影响[J].江苏农业科学,2005(2):91-94.
- [4] 辛娜,刁其玉,张乃峰.芽孢杆菌在动物营养与饲料中的应用[J].中国饲料,2010,14(2):26-29.
- [5] 曹海鹏,何珊,刘丽玲,等.鲟源病原性嗜水气单胞菌拮抗芽孢杆菌的鉴定及其生物学特性[J].微生物学通报,2011,38(9):1377-1384.
- [6] 安健,曹海鹏,陈百尧,等.解淀粉芽孢杆菌的安全性分析[J].动物医学进展,2013,34(1):16-18.
- [7] Cao H, He S, Lu L, et al. Characterization and phylogenetic analysis of a bitrichous pathogenic *Aeromonas hydrophila* isolated from the diseased Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) [J]. Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 2010, 62(3): 182-189.

- [8] Guo X, Li D, Lu W, et al. Screening of *Bacillus* strains as potential probiotics and subsequent confirmation of the *in vivo* effectiveness of *Bacillus subtilis* MA139 in pigs[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2006, 90(2): 139-146.
- [9] 马如龙, 杨红玲, 孙云章, 等. 2株鱼源芽孢杆菌的生物学特性研究[J]. *水产科学*, 2010, 29(9): 505-509.
- [10] 曲微, 范俊华, 霍贵成. 益生菌喷雾干燥技术的研究进展[J]. *中国乳业*, 2008(4): 36-38.
- [11] 谭文乐, 肖更生, 吴继军, 等. 醋酸菌喷雾干燥工艺的研究[J]. *现代食品科技*, 2010, 26(3): 272-276.
- [12] Bhatena J, Martoni C, Kulamarva A, et al. Oral probiotic microcapsule formulation ameliorates non-alcoholic fatty liver disease in bio F1B golden syrian hamsters[J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e58394.
- [13] 黄崇军. 明胶在脂类微胶囊化中的应用[J]. *明胶科学与技术*, 2007, 27(2): 84-88.
- [14] 王俊强, 顾震, 马天贵, 等. 微胶囊壁材的选择及其在食品工业中的应用[J]. *江西科学*, 2008, 26(2): 242-245.
- [15] 程艳薇, 谭书明. 乳酸菌抗热保护剂的优化组合[J]. *中国调味品*, 2010, 35(7): 55-59.
- [16] 李宁, 田洪涛, 吴蕊, 等. 双歧杆菌微胶囊喷雾干燥工艺的影响因素研究[J]. *食品与发酵工业*, 2007, 33(8): 89-91.
- [17] 刘广文. 喷雾干燥实用技术大全[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001: 6-10.
- [18] 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.
- [19] 罗佳琦, 于晓晨, 于才渊. 嗜酸乳杆菌干燥技术的研究[J]. *干燥技术与设备*, 2008, 6(6): 273-278.
- [20] 区伟佳, 王荣, 李华兴, 等. 高浓度大豆生防芽孢杆菌粉剂喷雾干燥微胶囊工艺研究[J]. *大豆科技*, 2010(3): 3-6.
- [21] 刘永霞, 于才渊, 王晓光. 油田堵漏剂微胶囊技术的研究[J]. *高校化学工程学报*, 2003, 17(3): 344-348.
- [22] Chen S, Cao Y, Ferguson LR, et al. The effect of immobilization of probiotic *Lactobacillus reuteri* DPC16 in sub-100 μm microcapsule on food-borne pathogens[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2012, 28(6): 2447-2452.
- [23] Wiwattanapatapee R, Chumthong A, Pengnoo A, et al. Preparation and evaluation of *Bacillus megaterium*-alginate microcapsules for control of rice sheath blight disease[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2013, 29(8): 1487-1497.
- [24] Li X, Chen X, Cha D, et al. Microencapsulation of a probiotic bacteria with alginate-gelatin and its properties[J]. *Journal of Microencapsulation*, 2009, 26(4): 315-324.
- [25] Irianto A, Audtin B. Probiotics in aquaculture[J]. *Journal of Fish Diseases*, 2002, 25(11): 633-642.
- [26] Verschuere L, Ronboud G, Sorgeloos P, et al. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2000, 64(4): 655-671.

编辑部公告

《微生物学通报》英文刊名

《微生物学通报》之前使用的英文刊名“Microbiology”因在国际上有重名,造成了本刊在被国内外作者引用以及国外数据库收录时英文刊名的混乱,这大大影响了本刊在国际上的传播,也不利于对我刊引用数据的统计。经本刊编委会讨论,以及主办单位批准,本刊英文刊名自2010年起变更为“Microbiology China”,缩写为“Microbiol. China”,请各位作者、读者和数据库引用时注意使用。