

海藻酸钠-纳米纤维素凝胶球包埋凝结芽孢杆菌的pH值敏感性变化

沈益诚^{1,2}, 丛海花^{1,2,3}, 汪思源³, 赵勇², 马转娥⁴, 周威^{1*}, 刘雅婷³, 孔繁荣³

(1. 大连海洋大学食品科学与工程学院, 辽宁大连 116023) (2. 中科荣耀(苏州)生物科技有限公司, 江苏苏州 215152) (3. 苏州农业职业技术学院, 江苏苏州 215008) (4. 颖乐福(太仓)食品添加剂制造有限公司, 江苏太仓 215400)

摘要: 为了提高益生菌递送过程中对胃肠道强酸、消化酶、胆盐等耐受性, 本研究将纳米纤维素(Cellulose Nanofibril, CN)与海藻酸钠(Sodium Alginate, SA)进行复配, 分别通过傅里叶变换红外光谱、差示扫描量热法、卢里亚-贝尔塔尼培养基液体培养、人工模拟胃肠液体外消化法, 测定包埋材料之间的相容性、包埋凝结芽孢杆菌后的热稳定性、在液体培养过程中的pH变化差异、在人工模拟胃肠液中体外消化特性(溶胀率、膨胀行为、pH值敏感性)。结果表明, SA与CN具有良好的相容性; 纳米纤维素的添加有效地增强了SA-CN-BC结构的热稳定性; 液体培养中经过包埋的凝结芽孢杆菌pH值变化更小, 表明其显著起到缓释的作用, 且当SA和CN复配比例为1:1时, 凝胶球网络的疏松度最大, 溶胀率最大, 达到3243%; SA-CN-BCs在模拟胃液中皱缩, 在模拟肠液中膨胀, 具有显著的pH值敏感性。本研究成功制备了一款具有pH值敏感性的海藻胶-纳米纤维素水凝胶球, 可用于递载益生菌的凝胶球, 为水凝胶作为药物和营养传递生物相容性载体提供更多的可能性。

关键词: 纳米纤维素; 海藻酸钠; 凝结芽孢杆菌; pH值敏感性

文章编号: 1673-9078(2026)02-21-27

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.2.1619

pH-sensitive Change in the Encapsulation of *Bacillus coagulans* with Alginate-nanocellulose Gel Bead

SHEN Yicheng^{1,2}, CONG Haihua^{1,2,3}, WANG Siyuan³, ZHAO Yong², MA Zhuane⁴, ZHOU Wei^{1*}, LIU Yating³, KONG Fanrong³

(1. College of Food Science and Engineering, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China) (2. Zhongke Runyao (Suzhou) Biotechnology Co. Ltd., Suzhou 215152, China) (3. College of Food Science and Technology, Suzhou Polytechnic Institute of Agriculture, Suzhou 215008, China) (4. Innophos (Taicang) Food Ingredients Manufacturing Co. Ltd., Taicang 215400, China)

引文格式:

沈益诚, 丛海花, 汪思源, 等. 海藻酸钠-纳米纤维素凝胶球包埋凝结芽孢杆菌的pH值敏感性变化[J]. 现代食品科技, 2026, 42(2): 21-27.

SHEN Yicheng, CONG Haihua, WANG Siyuan, et al. pH-sensitive change in the encapsulation of *Bacillus coagulans* with alginate-nanocellulose gel bead [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(2): 21-27.

收稿日期: 2024-10-31; 修回日期: 2025-04-17; 接受日期: 2025-04-21

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31701630); 中国科学院过程工程研究所-百合股份联合培养博士后项目; 辽宁省教育厅高等学校基本科研项目面上项目(LJKZ0715); 辽宁省教育厅高等学校基本科研项目面上项目(JYTMS20230504); 江苏省高校“青蓝工程”中青年学术带头人项目(2024); 江苏省高职院校教师专业带头人高端研修项目资助(2023GRFX061); 2022年青年教师科研能力提升计划(BS[2022]18); 苏州市乡村振兴软科学重点课题(SN-XCZX-2023-04); 校级科研项目(ZQZR202425); 国家藻类产业技术体系岗位科学家项目(CARS-50)

作者简介: 沈益诚(1999-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 蛋白质开发与利用, E-mail: 936425585@qq.com

通讯作者: 周威(1984-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 工业微生物菌种分离与改造, E-mail: 179557338@qq.com

Abstract: The tolerance of probiotics delivered to the gastrointestinal tract, characterized by high acidity and the abundant presence of digestive enzymes and bile salts, remains unknown. To this end, investigations were conducted involving the compounding of cellulose nanofibril (CN) and sodium alginate (SA), as well utilizing techniques such as Fourier transform infrared spectroscopy differential scanning calorimetry, Luria-Bertani medium liquid culturing, artificial simulated gastrointestinal liquid digestion method, compatibility testing of embedding materials, evaluation of thermal stability after embedding *Bacillus coagulans*, analysis of pH changes during liquid culture, and assessment of *in vitro* digestion characteristics (swelling rate, swelling behavior, and pH sensitivity) in artificial simulated gastrointestinal fluids. The results showed that SA had good compatibility with CN, with the addition of nanocellulose effectively enhancing the thermal stability of the SA-CN-BC structure. The pH value of the embedded *B. coagulans* exhibited minimal fluctuation in the liquid culture, its pivotal contribution to the sustained release. The highest degree of looseness in the gel sphere network and largest swelling rate of 3 243% were observed at a SA:CN ratio of 1:1. The SA-CN-BC contracted in the simulated gastric fluid and were expanded in the simulated intestinal fluid, indicating notable pH sensitivity. A pH-sensitive alginate gel-nanocellulose hydrogel sphere was successfully prepared in this study for the delivery of probiotics, demonstrating the potential for hydrogels to serve as biocompatible carriers for drug and nutrient delivery.

Key words: nano-cellulose; sodium alginate; *Bacillus coagulans*; pH sensitivity

益生菌是当摄入足够数量时,对宿主健康产生有益作用的活的微生物,研究显示,益生菌可作为新兴疾病治疗和健康维护的方式,例如肥胖、抑郁症等^[1,2]。1965年,Stillwell和Lilley首次使用益生菌一词来描述这些有益细菌^[3]。有研究发现一些细菌与健康呈正相关,因为益生菌递送到肠道需通过强酸、消化酶、胆盐等会导致益生菌大量死亡,影响益生菌在胃肠道中的定殖和增殖,所以为了使益生菌发挥最大的作用,须确保益生菌的存活^[4]。一些常用的益生菌,如乳酸杆菌属、双歧杆菌属、丙酸杆菌属、链球菌属以及一些酵母菌属,在恶劣的环境中难以生存或存活率较低。

包埋技术因技术操作简单、可重复性高、生物相容性强、包埋外壁孔隙可控以及制作成本低等优点而备受关注^[5,6]。凝胶球是利用包埋技术的一种载体,受到外部环境物理或化学刺激时如温度、pH值、盐浓度、光、电场和化学物质等会发生明显变化^[7,8]。包埋材料一般采用天然聚合物或合成聚合物,因天然聚合物有更安全,生物相容性和生物降解性更优良的特点^[9],常被用做包埋材料。在天然聚合物中多糖的利用率较高,包括壳聚糖、海藻酸盐(Sodium Alginate, SA)、卡拉胶、淀粉、明胶和纤维素等,SA是一种从海洋褐藻中提取的酸性多糖,由 β -D-甘露醛酸和 α -L-古罗酸通过1,4-糖苷键连接形成的多糖分子。据报道,SA能够保护益生菌在胃液中不被胃酸侵害,可以作为益生菌产品的包埋材料,由于SA凝胶球中存在高孔隙率、包埋后的益生菌早期释放、包埋效率低等缺点^[10]。故将SA与纳米纤维素(Cellulose Nanofibril, CN)相结合可有效地解决这一问题^[11]。CN表面含有丰富的羟

基,能够利用二价阳离子成为优秀的交联剂^[12],已有研究证明CN可以增强SA-壳聚糖凝胶球的药物缓释能力^[13]。Li等^[14]通过控制CN和SA的量,制备了CN-SA组成的凝胶球作为pH值响应释放系统。凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*, BC)因其对酸和胆汁有强耐受性成为研究的热点,其代谢产物为乳酸和多种酶类,可将蛋白质和碳水化合物降解为小分子的肽和游离氨基酸,是具有乳酸杆菌和双歧杆菌等肠道主要有益菌相似益生功能的菌种^[15]。

因此本研究选择SA与Tempo(2,2,6,6-四甲基哌啶氧化物)氧化后形成的CN,包埋凝结芽孢杆菌制备一款凝胶球,通过傅里叶变换红外光谱、差示扫描量热法对其结构进行初步分析,同时对凝胶球的溶胀率、膨胀行为和pH值敏感性进行表征,探究凝胶球的化学性质的变化,为凝胶球的应用提供了理论基础。

本研究制备了一款具有pH值敏感性的海藻胶-纳米纤维素水凝胶球,利用SA和CN对凝结芽孢杆菌进行包埋,它能保护凝结芽孢杆菌免受胃中的pH值的影响,确保它们能够到达目标区域^[16]。为凝胶球作为药物和营养传递生物相容性载体提供更多的可能性。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

海藻酸钠、微晶纤维素,河南利享生物科技有限公司;凝结芽孢杆菌,西安雅图生物科技有限公司;KCl、KH₂PO₄、NaHCO₃、MgCl₂·6H₂O、(NH₄)₂CO₃,分析纯。

1.2 仪器与设备

MP511 Meter pH 计, 上海三信仪表厂; Q20 差示扫描量热仪, 美国 TA 仪器公司; NEXUS670 型红外光谱仪, 美国 PerkinElmer 公司; XFH-40CA 电热压力蒸汽灭菌器, 浙江新丰医疗器械有限公司; JJ-1A 数显电动搅拌器, 金坛区西城新瑞仪器厂; CX31RTSF 双目显微镜, 日本奥林巴斯公司。

1.3 方法

1.3.1 凝胶芽孢杆菌菌液制备

在无菌超净台中, 称取 1 g 商业化的凝结芽孢杆菌 ($\geq 9.8 \times 10^8$ CFU/g), 加入 100 mL 无菌去离子水, 制备 $\varphi=1\%$ 凝结芽孢杆菌菌液。

1.3.2 Tempo CN 的制备

Tempo CN 的制备方法如图 1 所示: 在 pH 值为 10.34, 温度为 22.3 °C 的碳酸钠-碳酸氢钠缓冲溶液中加入 10 g 微晶纤维素, 搅拌均匀后再加入 0.2 g Tempo 以及 2 g NaBr, 再用滴管滴入 32 mL 10 wt.% NaClO, 使用磁力搅拌器搅拌 3 h 后加入 60 mL 的无水乙醇以停止反应。

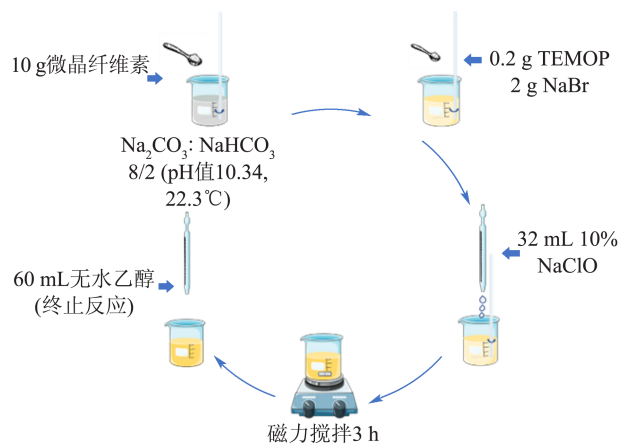


图 1 Tempo 纳米纤维素的制备

Fig.1 Preparation of tempo nano cellulose

1.3.3 SA-CN-BC 的制备

将 $\varphi=2\%$ SA 溶液和 1.3.2 制备的 $\varphi=2\%$ CN 溶液按照 1:0、3:1 和 1:1 体积比混合, 加入菌液使体系中菌液与复合胶体的比值为 1:10, 制得 SA-CN 复合菌液。将不同 CN 比例的 SA-CN 复合菌液用注射器挤压到 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 无菌 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 溶液中静置 0.5 h 后, 将水凝胶分别记为 SA-BC、SA-CN-BC1、SA-CN-BC2, 在 -60°C 冻干 48 h 后置于层析柜中备用。

1.3.4 SA-CN-BC 傅里叶变换红外 (Fourier Transform Infrared, FT-IR) 分析

将冻干样品与 KBr 按照 1:50 的比例混合, 于 $400\sim$

4000 cm^{-1} 间扫描。扫描次数为 30 次, 分辨率为 4 cm^{-1} 。

1.3.5 SA-CN-BC 的差示扫描量热分析 (Differential Scanning Calorimetry, DSC)

使用差示扫描量热法研究了凝胶球的热稳定性。在氮气流量为 $50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 下, 每个水凝胶样品 (约 $15\sim 20 \text{ mg}$) 以 $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速度从 25°C 加热至 200°C 。

1.3.6 SA-CN-BC 在液体培养过程中 pH 值的变化

将经过包埋的 SA-BC、SA-CN-BC1、SA-CN-BC2 和 $\varphi=1\%$ 游离凝结芽孢杆菌分别接种于卢里亚-贝尔塔尼培养基 (Luria-Bertani, LB) 培养基中, 在 37°C 的培养箱中培养 12 h, 每隔 1 h 测量其 pH 值。

1.3.7 SA-CN-BC 在模拟胃肠液中的溶胀率

参考行云逸等^[17]将等量冻干样品分别浸泡在蒸馏水, 模拟胃液 (Simulated Gastric Fluid, SGF), (Simulated Intestinal Fluid, SIF) 中, 于 37°C 下溶胀, 每隔 30 min 取样用滤纸吸干表面水分后立即称重。以如下公式计算溶胀率:

$$S = \frac{wt - wd}{wd} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

S ——膨胀率, %;

wd ——称取的冻干样品的初始质量, g;

wt ——样品在溶液中膨胀 t 时间后的质量, g。

SGF: KCl 6.9 g, KH_2PO_4 0.9 g, NaHCO_3 312.5 g, NaCl 11.8 g, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.4 g, $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ 0.5 g, 去离子水 367 mL, 将溶液 pH 值调至 2.6。

SIF: KCl 6.8 g, KH_2PO_4 0.8 g, NaHCO_3 42.5 g, NaCl 9.6 g, $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})$ 61.1 g, 去离子水 339.2 mL, 将溶液 pH 值调至 7。

1.3.8 SA-CN-BC 在 SGF、SIF 中的膨胀行为

参考 Deng 等^[18]的方法, 称取 20 mg 样品, 将其浸泡在 SGF 中 2 h, 然后转移到 SIF 中浸泡 6 h, 使用双目显微镜观察膨胀行为。

1.3.9 SA-CN-BC 的 pH 值敏感性

称量 25 mg 冻干样品, 放置在不同 pH 值 (pH 值 1~8) 的溶液中, 在 37°C 下, 使其充分溶胀至平衡, 采用溶胀性能法测其溶胀率, 即上述 1.3.7 中计算公式, 以不同 pH 值溶液中的溶胀率表征 SA-CN-BC 的 pH 值敏感性。

1.4 数据处理

采用 SPSS 26.0 数据分析软件对各指标进行方差分析 (ANOVA)。所有指标均为 3 个平行样, 数据以均数 $\pm$ (SD) 表示。用 Duncan's 统计结果 $P < 0.05$

来判断样本间的显著性差异，用 Excel 2019 和 Origin 2021 进行数据绘图。

2 结果与分析

2.1 凝胶球FT-IR分析

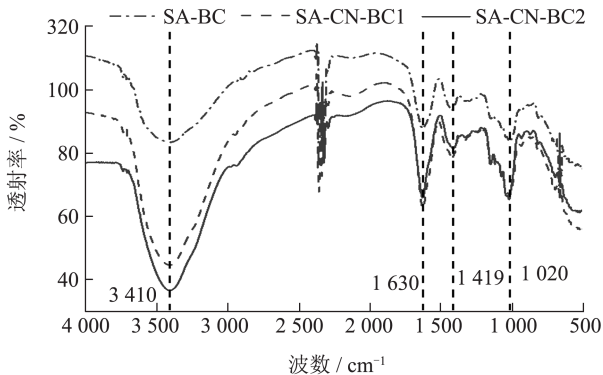


图2 凝胶球的傅里叶变换红外分析
Fig.2 FT-IR analysis of hydrogel

图2为SA-BC，SA-CN-BC1和SA-CN-BC2的傅里叶变换红外光谱图。如图所示：1 020 cm⁻¹处的峰代表SA的β-1,4-糖苷键拉伸。在1 630 cm⁻¹对应于SA的C=O基团，属于SA的特征峰；1 419 cm⁻¹处的峰属于羧基（-COO）拉伸带，所有的水凝胶都向更高的波数移动；在3 410 cm⁻¹和720 cm⁻¹处的峰对应于-OH基团，3 410 cm⁻¹为宽吸收峰是由于-OH伸缩振动形成的。随着CN增加3 410 cm⁻¹和1 020 cm⁻¹峰强度变低，可能是由于氢键的形成导致3 410 cm⁻¹峰强度变低，1 020 cm⁻¹处的峰被分配到的C=O基团中。这些结果表明CN的添加没有改变SA的结构，SA的β-1,4-糖苷键（1 020 cm⁻¹）与CN的羟基（3 410 cm⁻¹）形成氢键^[19]，此外CN中的-COO与SA分子之间形成了交联网络^[20]，证明SA和CN之间存在离子相互作用和分子相容性。王卉等^[21]通过φ=8% SA和微晶纤维素制备薄膜，并进行红外光谱分析。结果表明，微晶纤维素的3 348 cm⁻¹是纤维素中羟基的伸缩振动，1 058 cm⁻¹是纤维素醇羟基中羰基的伸缩振动海藻酸钠谱图中3 430 cm⁻¹是羟基的伸缩振动，1 410 cm⁻¹是羰基的对称伸缩振动。从两者图谱对比可以看出，两者有相似的结构单元，海藻酸钠/微晶纤维素复合膜图谱没有出现新的峰，这都与图2中的实验结果类似。总之，FT-IR结果表明SA和CN相容性较好。

2.2 凝胶球DSC分析

图3为A-CN-BC的DSC热图。SA-BC、SA-CN-BC1、SA-CN-BC2在200℃以下表现相同的趋势，在150℃出现了一个吸热峰，这与SA-CN-BC的脱水有

关。在170℃时SA-CN-BC出现放热峰，SA-CN-BC1和SA-CN-BC2，最高峰值出现时的峰值均向低温度移动，原因可能是添加了CN后形成的凝胶球更容易发生解聚^[22]。结果发现与SA-BC相比，SA-CN-BC1和SA-CN-BC2的放热峰向更高的温度移动，添加CN后凝胶球的放热峰向高温移动，表明CN通过物理交联增强了SA网络的热稳定性。在白露等^[19]的研究中同样添加CN增强热稳定性，但其复配比例（φ=8% SA与微晶纤维素）的溶胀率仅为本研究1:1比例的1/5，突显了CN比例优化的重要性。此外，添加CN后在一定程度上提高了凝胶球结构的热稳定性。该指标参考Zhang等^[23]的实验方案，从25℃升温至400℃，发现凝胶球只在250℃之前有变化，故只选取这一段时间的变化趋势。在本实验样品选择上使用未进行冻干的新鲜凝胶球，在实验过程中易出现爆锅的现象，导致峰值不稳定，由于实验误差较大，数据无显著性差异，需要进行进一步实验分析结果，表1为170℃峰值。

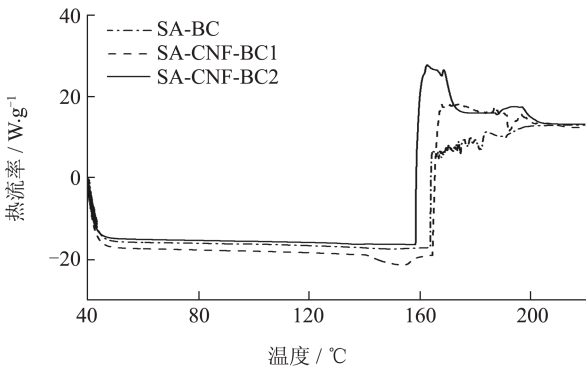


图3 凝胶球差示扫描量热法分析
Fig.3 DSC analysis of hydrogel

表1 水凝胶DSC 170℃峰值
Table 1 Hydrogel DSC peak at 170℃

凝胶	SA-BC	SA-CN-BC1	SA-CN-BC2
峰值	3.97 ± 9.30 ^a	9.15 ± 2.9 ^a	16.74 ± 6.48 ^a

注：相同小写字母表示DSC分析结果无显著差异（P<0.05）。

2.3 凝胶球及游离BC在培养过程中的pH值变化

表2表示了SA-BC、SA-CN-BC1、SA-CN-BC2和游离的凝结芽孢杆菌在37℃的LB培养基中的培养情况。可以观察到，游离BC在第7小时的时候pH值到达最低值6.5，从4h开始pH值不断降低，主要是因为凝结芽孢杆菌经同型发酵后生成大量乳酸^[24]，在环境中不断积累，造成pH值下降；7h以后pH值逐渐升高是因为凝结芽孢杆菌可以合成多种氨基酸，又可产生蛋白酶、淀粉酶、乳糖酶和纤维素酶^[25]，故而后续的pH值慢慢升高至6.9。经过包埋之后的水凝胶

pH 值与游离 BC 之间有显著差异 ($P<0.05$),从 4 h 起,凝结芽孢杆菌开始累积以乳酸为主的代谢产物,导致 pH 值降低,其中游离 BC 降低程度最大,从 7.00 下降到 6.50。经过包埋后的 BC,由于包裹了一层胶状弹性凝胶,是一种三维网状结构的凝胶物质,具有疏松多孔的形态^[26],导致 BC 从水凝胶的孔隙当中渗透,起到了缓释的作用,同时让代谢产物不会直接的接触到外环境,因此 pH 值仅下降 0.20。其中 SA-CN-BC1 和 SA-CN-BC2 缓释能力相对较强,且之间几乎没有差别,分析原因可能是 CN 具有良好的吸水性,膨胀能力较高^[27],释放的菌也更多。SA-BC 的缓释效果略差于 SA-CN-BCs,可能 SA 主要由 β -D-甘露醛酸-(1-4)-连接 α -L-古洛糖醛酸组成,独特的聚合物链结构,每个糖醛酸单元上含有一个-COO,故 SA 在中性条件下更容易发生离子交换和电荷重排^[28]。综上所述,水凝胶对 BC 有明显的缓释作用,且 SA-CN-BCs 的水凝胶缓释效果较好。

表 2 凝胶球及游离BC在培养过程中的pH值变化
Table 2 The pH changes of gel balls and free BC during the culture process

时间/h	1% 菌液	SA-BC	SA-CN-BC1	SA-CN-BC2
0	7.257 ^a	7.200 ^b	7.273 ^a	7.277 ^a
1	7.113 ^a	7.057 ^b	7.053 ^b	7.077 ^b
2	7.053 ^a	7.060 ^a	7.050 ^a	7.050 ^a
3	7.050 ^a	7.050 ^a	7.037 ^{ab}	7.023 ^b
4	7.043 ^a	6.993 ^b	7.007 ^b	7.003 ^b
5	6.866 ^a	6.900 ^b	6.903 ^b	6.887 ^{ab}
6	6.650 ^c	6.837 ^a	6.810 ^{ab}	6.803 ^b
7	6.501 ^c	6.847 ^a	6.800 ^b	6.807 ^b
8	6.570 ^c	6.930 ^a	6.887 ^b	6.913 ^a
9	6.733 ^b	7.043 ^a	7.047 ^a	7.067 ^a
10	6.913 ^c	7.200 ^b	7.237 ^{ab}	7.273 ^a
11	6.843 ^b	7.34 ^a	7.347 ^a	7.290 ^a

注：相同小写字母表示相同时间下 pH 值变化结果无显著差异 ($P<0.05$)。

2.4 不同的凝胶球在去离子水、SIF、SGF 中溶胀率

图 4 为 SA-BC、SA-CN-BC1 和 SA-CN-BC2 在去离子水、SGF 和 SIF 中溶胀率测定结果。SA-BC 在 SGF 和 SIF 溶胀率表现出先上升后降低的趋势,SA-CN-BC1 在 SGF 中表现出先上升后下降的趋势,是由于凝胶球受到溶胀导致破裂,原因与图 6 中的现象保持一致;SA-CN-BC1 与 SA-CN-BC2 在去离子水、SIF、SGF 达到近似平衡时的溶胀率分别为 160%、651%; 2 031%、2 579% 和 2 600%、3 243%; 并随着

CN 添加量的增加,SA-CN-BC 的溶胀率增长加快。这是由于添加 CN 后大量的-OH 和-COO 基团形成氢键,并且-COO 发生质子化变成-COOH 官能团;此外在低 pH 值条件下 CN 通过主导的内聚相互作用和范德华力结合在一起,这些导致了复合凝胶球的收缩^[29]。SA-CN-BC 在 SIF 溶液中其溶胀率较大,是因为在 SGF 溶液中-COOH 解离成-COO,由于负电荷之间的排斥力使得凝胶网络变得疏松^[30],导致 SA-CN-BC 溶胀率较高。结果表明,在酸性条件下,CN 含量较高时,凝胶球的孔隙度增大,收缩较小,但在偏中性条件下膨胀较大。添加 CN 之后分子间的相互作用决定了 SA-CN-BC 的凝胶网络配置,疏松的凝胶网络在 SIF 中会大量膨胀并迅速释放被封装的益生菌,因此,高 CN 的添加有助于被包裹益生菌的释放。

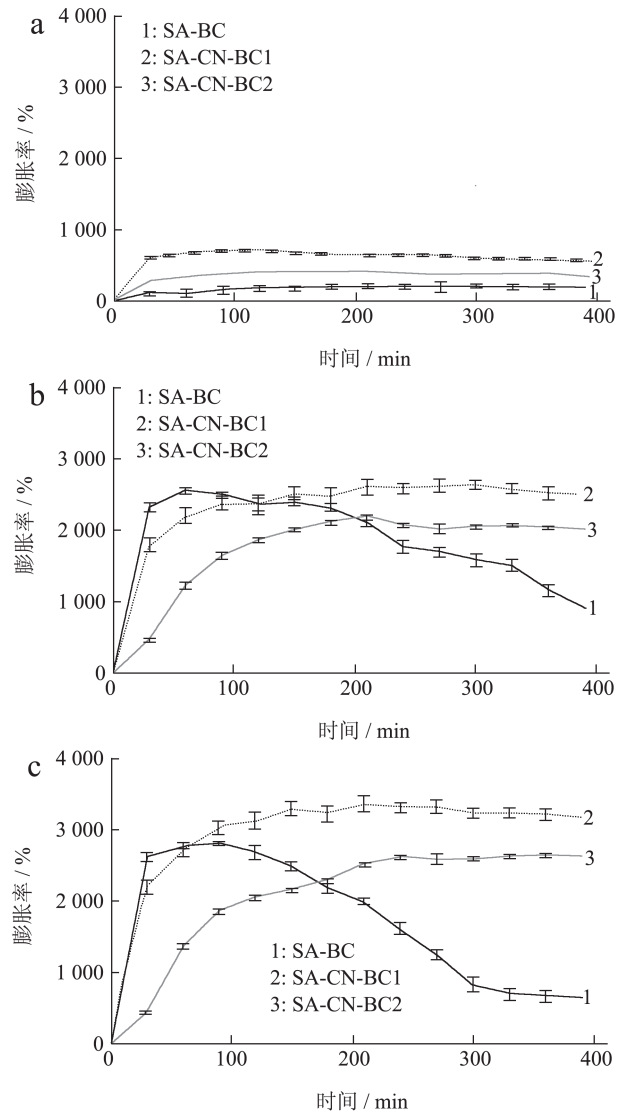


图 4 SA-BC、SA-CN-BC1 和 SA-CN-BC2 在去离子水中的膨胀比 (a)、SGF (b) 和 SIF (c)
Fig.4 Swelling ratio of SA-BC, SA-CN-BC1 and SA-CN-BC2 in deionized water (a), SGF (b) and SIF (c)

2.5 凝胶球在模拟连续胃肠消化过程中的膨胀行为

为进一步直观表现凝胶球的膨胀现象,将凝胶球依次浸泡在 SGF (2 h) 和 SIF (6 h) 中,观察其在模拟胃肠液中的表现。如图 5 所示,观察到 SA-BC, SA-CN-BC1 和 SA-CN-BC2 的膨胀行为不同: SA-BC 在 SIF 中较稳定,在 SIF 中溶解性增大,30 min 后膨胀至轮廓不清晰; SA-CN-BC1 在 1 h 开始溶解,在第 3 小时还可以观察到一些轮廓,6 h 后溶胀至轮廓不清晰; SA-CN-BC2 在 3 h 时发生溶胀,6 h 时依然观察到一些轮廓。SA-CN-BC1 和 SA-CN-BC2 在 SGF (pH 值 2.6) 中有收缩作用,SGF 对所有凝胶球的渗透作用均较弱。Zhao 等^[31]通过海藻酸钠不同配方复配凝胶球包埋嗜酸乳杆菌,这些凝胶球在 pH 值为 2 的模拟胃液中大多都发生了皱缩,原因是 SA 和 CN 链的-COO 在酸性环境中质子化,导致静电排斥减弱。所有的凝胶球在转入到 SIF (pH 值 6.8) 后均观察到明显的膨胀现象,因为随着时间的延长水凝胶发生溶解^[20]。原因是由于-COO 在中性 SIF 中被脱质子化,消除了分子间的氢键。这些实验结果证明水凝胶在 SGF 和 SIF 中的膨胀行为与水凝胶中的 SA 和 CN 的组成比例密切相关,随着 CN 逐渐增加凝胶球稳定性增强。

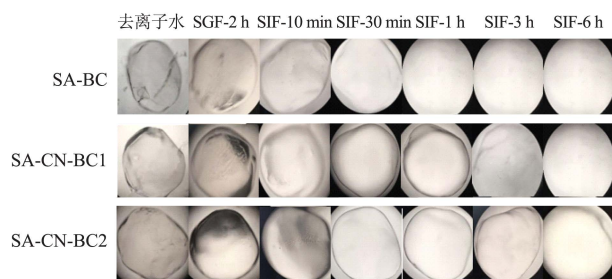


图 5 SA-BC、SA-CN-BC1 和 SA-CN-BC2 依次浸入 SGF (2 h) 和 SIF (6 h) 的光学显微照片

Fig.5 SA-BC, SA-CN-BC1 and SA-CN-BC2 optical micrographs immersed in SGF (2 h) and SIF (6 h) successively

2.6 凝胶球的 pH 值敏感性

pH 值响应性凝胶球通过外界环境变化带来自身体积变化(膨胀或收缩),响应外界的刺激^[32]。图 6 为 SA-BC, SA-CN-BC1 和 SA-CN-BC2 在 pH 值 1~8 中的溶胀率变化,SA-CN-BC 膨胀率随着 pH 值升高不断增加。整体而言凝胶球在酸性环境中表现出较低的溶胀率,原因是由于在酸性环境中 H^+ 使 SA 转化为不溶性 SA,导致复合体系的溶胀率降低,阴离子 SA 的质子化加速了氢键的形成^[33],从而限制了凝胶球的膨胀性能。随着环境中 pH 值逐渐增大,溶胀率也在不断地增加,猜测原因是由于氢键交联度的降低以及凝

胶网络上羧基的电离度的增加^[34],从而导致凝胶球的溶胀率显著增加 ($P < 0.05$)。与此同时随着 CN 添加量的不断变大溶胀率也明显增强。结果表明,环境中的 pH 值对凝胶球的溶胀率有明显影响,凝胶球的 pH 值响应特性将有助于在胃肠道的条件下保护和释放被包裹的益生菌,为益生菌在肠道中作用提供关键条件。

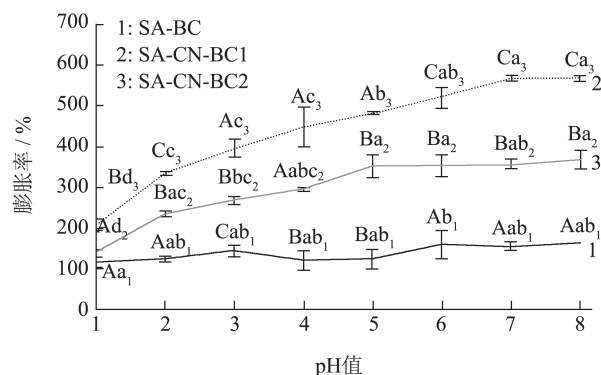


图 6 SA-BC、SA-CN-BC1 和 SA-CN-BC2 在不同 pH 值下的溶胀率

Fig.6 Swelling ratio of SA-BC, SA-CN-BC1 and SA-CN-BC2 in different pH values

注: 不同大写字母表示相同时间不同样品之间差异显著,不同小写字母表示同一样品不同时间内差异显著 ($P < 0.05$)。

3 结论

本研究成功复配了不同比例的 SA 与 CN 的凝胶球, FT-IR 结果表明凝胶球有良好的相容性; DSC 结果证明添加 CN 后可有效地增强凝胶球结构热稳定性,为凝结芽孢杆菌提供了良好的保护作用;且在 SA 与 CN 比例为 1:1 时其理化性质最佳,此时凝胶球网络的疏松度最大、凝胶球膨胀稳定性增强、以及溶胀率最大。所有的凝胶球均具有 pH 值敏感性,在 SGF 中皱缩,在 SIF 中膨胀,成功制备出具有 pH 值敏感性的水凝胶。本研究结果确立了多糖复配包埋技术对益生菌的潜在载体能力,为益生菌包埋领域提供了基础研究数据,旨在为开发益生菌凝胶球相关产品做出贡献。

参考文献

- [1] 邓雁楠,周晶晶,王刚.益生菌在抑郁症治疗中的作用及机制研究进展[J].中国医刊,2024,59(11):1176-1181.
- [2] 汪思,李智慧,吴淑琼.益生菌抗肥胖治疗的临床研究进展[J].医药前沿,2024,14(34):58-61.
- [3] GUPTA V, GARG R. Probiotics [J]. Indian Journal of Medical Microbiology, 2009, 27(3): 202-209.
- [4] RANADHEERA R, BAINES S K, ADAMS M C. Importance of food in probiotic efficacy [J]. Food Research International, 2010, 43(1): 1-7.
- [5] ZHUANG W, LIU X, YANG J, et al. Immobilization of

- Clostridium acetobutylicum* onto natural textiles and its fermentation properties [J]. Microbial Biotechnology, 2017, 10(2): 502-512.
- [6] JAIME M G, TERESA G M, MAURICIO J C, et al. Yeast immobilization systems for alcoholic wine fermentations: actual trends and future perspectives [J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 241.
- [7] XU X, JERCA V V, RICHARD H. Bioinspired double network hydrogels: From covalent double network hydrogels via hybrid double network hydrogels to physical double network hydrogels [J]. Materials Horizons, 2021, 8(4): 1173-1188.
- [8] WEI J, CHEN Y, LIU H, et al. Effect of surface charge content in the TEMPO-oxidized cellulose nanofibers on morphologies and properties of poly(N-isopropylacrylamide)-based composite hydrogels [J]. Industrial Crops and Products, 2016, 92: 227-235.
- [9] HAN J, LEI T, WU Q. High-water-content mouldable polyvinyl alcohol-borax hydrogels reinforced by well-dispersed cellulose nanoparticles: Dynamic rheological properties and hydrogel formation mechanism [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 102(1): 306-316.
- [10] RAZAVI S, JANFAZA S, TASNIM N, et al. Microencapsulating polymers for probiotics delivery systems: preparation, characterization, and applications [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 120(10): 106882.
- [11] HAFNER F B, GIRARDON M, FONTANAY S, et al. Core-shell alginate@ silica microparticles encapsulating probiotics [J]. Journal of Materials Chemistry B, 2016, 4(48): 7929-7935.
- [12] HAO Z, CHEN Y, ZHOU W, et al. A pH-responsive gel macrosphere based on sodium alginate and cellulose nanofiber for potential intestinal delivery of probiotics [J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2018, 6(11): 13924-13931.
- [13] WD A, YTA B, JM A, et al. Cellulose nanofibril as a crosslinker to reinforce the sodium alginate/chitosan hydrogels [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 189: 890-899.
- [14] LI Y, WANG C, LUAN Y, et al. Preparation of pH-responsive cellulose nanofibril/sodium alginate based hydrogels for drug release [J]. Journal of Applied Polymer Science, 2022, 139(7): 51647.
- [15] ZHOU X, WANG Y, GU Q, et al. Effect of dietary probiotic, *Bacillus coagulans*, on growth performance, chemical composition, and meat quality of Guangxi Yellow chicken [J]. Poultry Science, 2010, 89(3): 588.
- [16] IANIRO G, TILG H, GASBARRINI A. Antibiotics as deep modulators of gut microbiota: between good and evil [J]. Gut, 2016, 65(11): 1906-1915.
- [17] 行云逸,黄惠华.菠萝果肉纤维素水凝胶的制备及对益生菌的包埋与缓释分析[J].食品科学,2021,42(1):8-14.
- [18] DENG Z, LI J, SONG R, et al. Carboxymethylpachymaran/alginate gel entrapping of natural pollen capsules for the encapsulation, protection and delivery of probiotics with enhanced viability [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 120(43): 106855.
- [19] 白露,张力平,曲萍,等.聚乙烯醇/纳米纤维素复合膜的渗透汽化性能及结构表征[J].高等学校化学学报,2011,32(4):6.
- [20] CHENG F, LIU C, WEI X, et al. Preparation and characterization of 2, 2, 6, 6-tetramethylpiperidine-1-oxyl (TEMPO)-oxidized cellulose nanocrystal/alginate biodegradable composite dressing for hemostasis applications [J]. American Chemical Society Sustainable Chemistry & Engineering, 2017, 5(5): 3819-3828.
- [21] 王卉,白燕,杨波,等.海藻酸钠/微晶纤维素复合壁材的性能及对精油微胶囊缓释性的影响[J].食品科技,2020,45(2):6.
- [22] NORBERG A B, GEHRKE V R, MOTA H P, et al. Alginate-cellulose biopolymeric beads as efficient vehicles for encapsulation and slow-release of herbicide [J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2019, 583: 123970.
- [23] ZHANG A, ZOU Y, XI Y, et al. Fabrication and characterization of bamboo shoot cellulose/sodium alginate composite aerogels for sustained release of curcumin [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 192: 904-912.
- [24] 董惠钧,姜俊云,郑立军,等.新型微生态益生菌凝结芽孢杆菌研究进展[J].食品科学,2010,1:3.
- [25] 陈秀秀,孙洪浩,孙小涵,等.一株凝结芽孢杆菌的分离鉴定及益生性分析[J].饲料博览,2020,11:6.
- [26] SANG H C, OH S H, JIN H L. Fabrication and characterization of porous alginate/polyvinyl alcohol hybrid scaffolds for 3D cell culture [J]. Journal of Biomaterials Science Polymer Edition, 2005, 16(8): 933-947.
- [27] DAVIS N J, FLITSCH S L. Selective oxidation of monosaccharide derivatives to uronic acids [J]. Tetrahedron Letters, 1993, 34(7): 1181-1184.
- [28] 高春梅,柳明珠,吕少瑜,等.海藻酸钠水凝胶的制备及其在药物释放中的应用[J].化学进展,2013,25(6):1012-1022.
- [29] YANG J, XU F, HAN C R. Metal ion mediated cellulose nanofibrils transient network in covalently cross-linked hydrogels: mechanistic insight into morphology and dynamics [J]. Biomacromolecules, 2017, 18(3): 1019-1028.
- [30] 覃小丽,杨溶,刘雄,等.两种海藻酸钠基凝胶的溶胀和质构性能[J].食品科学,2017,38(19):5.
- [31] ZHAO M, QU F, CAI S, et al. Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* CGMCC1.2686: Correlation between bacteria survivability and physical properties of microcapsules [J]. Food Biophysics, 2015, 10(3): 292-299.
- [32] ZHANG W, ZHU S, BAI Y, et al. Glow discharge electrolysis plasma initiated preparation of temperature/pH dual sensitivity reed hemicellulose-based hydrogels [J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 122: 11-17.
- [33] KELLER, VERBRUGGEN, CASH, et al. Spores of *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 show high germination, survival and enzyme activity in a dynamic, computer-controlled *in vitro* model of the gastrointestinal tract [J]. Beneficial Microbes, 2019, 10(1): 77-87.
- [34] YIN Y, JI X, HUI D, et al. Study of the swelling dynamics with overshooting effect of hydrogels based on sodium alginate-g-acrylic acid [J]. Carbohydrate Polymers, 2008, 71(4): 682-689.