

DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.015646

引用格式:万茵,罗成,张鸿婷,等.海藻酸钠微胶囊对乳酸菌产乙醛脱氢酶在体外胃肠消化环境中保护作用[J].食品与发酵工业,2018,44(9):61-65. WAN Yin, LUO Cheng, ZHANG Hong-ting, et al. Protection of *Lactobacillus* ALDH activity by sodium alginate microcapsule during gastrointestinal digestion *in vitro*[J]. Food and Fermentation Industries, 2018, 44(9):61-65.

# 海藻酸钠微胶囊对乳酸菌产乙醛脱氢酶在体外胃肠消化环境中保护作用

万茵<sup>1,2</sup>, 罗成<sup>1,2</sup>, 张鸿婷<sup>1,2,3</sup>, 郭帅玲<sup>1,2,3</sup>, 皮潇文<sup>1,2,3</sup>, 童火艳<sup>1,2,3</sup>, 付桂明<sup>1,2,3\*</sup>

1(南昌大学,食品科学与技术国家重点实验室,江西 南昌,330047) 2(南昌大学 食品学院,江西 南昌,330047)

3(南昌大学 中德食品工程中心,江西 南昌,330047)

**摘要** 利用海藻酸钠及脱脂奶粉等材料,采用氯化钙挤压法包埋产乙醛脱氢酶的植物乳杆菌 *Lactobacillus plantarum* FCJX 102 和嗜酸乳杆菌 *Lactobacillus acidophilus* FCJX 104,并探讨其在体外模拟胃肠液中对乙醛脱氢酶的保护作用。研究结果表明,双乳杆菌海藻酸钠微胶囊平均粒径为 1.14 mm,外表圆润饱满,且包埋率达 99.8%。在体外模拟的胃液环境中,消化 90 min 微胶囊包埋菌体乙醛脱氢酶活性能保留在 95% 以上,至消化 180 min 后乙醛脱氢酶活保留率仍然达 73.4%;而未经包埋的双乳杆菌,其乙醛脱氢酶在 30 min 时就已完全失去活性;在人工肠液中,双乳杆菌海藻酸钠微胶囊颗粒具有较好的肠溶性,菌体乙醛脱氢酶保留率在消化 30、50 min 仍达 97.8% 和 86.5%。

**关键词** 植物乳杆菌;嗜酸乳杆菌;微胶囊;乙醛脱氢酶;体外胃肠消化

乙醛脱氢酶(aldehyde dehydrogenase, ALDH)是广泛存在于动植物和微生物线粒体中的一种氧化还原酶类,可在 NAD<sup>+</sup> 存在的条件下,催化醇、醛和酮的脱氢反应<sup>[1]</sup>,尤其是参与乙醇及其代谢产物乙醛的转化,故其在乙醇的解毒研究中受到了高度关注<sup>[2-3]</sup>。乙醛脱氢酶对热、酸的抗逆性较差<sup>[4]</sup>,啤酒酵母线粒体乙醛脱氢酶最适 pH 值为 9,在 pH 值 8.0 弱碱性环境下稳定性较好<sup>[5]</sup>。因此乙醛脱氢酶要在人体内发挥作用,如何经受住高酸性胃酸、多种消化酶和胆汁的作用,保持在人体消化道中其酶活性是关键。

目前,工业化的乙醛脱氢酶来自动物的胰腺、肝脏或肝细胞线粒体中,来源的局限性致其价格居高不下。研究表明微生物乙醛脱氢酶来源丰富,可从酿酒酵母、醋酸菌、乳酸菌等微生物中分离得到。微生物乙醛脱氢酶是一种胞内酶<sup>[6]</sup>,微生物的细胞内环境可有效保护乙醛脱氢酶不受外部环境的影响。因此,若将产乙醛脱氢酶的益生菌直接进行微胶囊包埋,利用微胶囊和益生菌的细胞内环境为乙醛脱氢酶提供双重保护作用,可增强其抗逆性效果。海藻酸钠由于具有良好的生物相容性、生物粘附性和温和的凝胶条件已被广泛应用于医药、农药、食品、化妆品等许多领

域。海藻酸钠作为壁材不仅可以包埋乳酸菌<sup>[7]</sup>,还可以包埋酶<sup>[8]</sup>等生物活性物质。

本研究通过前期实验筛选得到的高产乙醛脱氢酶植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum* FCJX 102)和嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus* FCJX 104),通过混合发酵培养菌体,采用微胶囊包埋乳酸菌活菌体,提高所含乙醛脱氢酶耐受胃液及肠液的能力,为高产乙醛脱氢酶乳酸菌及乙醛脱氢酶在调节酒后的肠道微环、解酒益生等领域的应用提供研究基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

EDTA,盐酸,Tris,乙醛, $\beta$ -巯基乙醇:分析纯,国产试剂;海藻糖,海藻酸钠,V<sub>c</sub>,甘油:生物试剂,国产试剂;NAD:生物试剂,Roche 公司;胃蛋白酶,胰蛋白酶,胆盐:生物试剂,SIGMA 公司;伊利牌脱脂奶粉:市售;大豆分离蛋白:哈高科大豆食品有限责任公司;耐高温 $\alpha$ 淀粉酶:山东苏柯汉生物工程股份有限公司;山楂:湖北蕲春中药材公司;葛根:江西横峰皇同有机葛开发有限公司。

植物乳杆菌(*L. plantarum* FCJX 102),嗜酸乳杆菌(*L. acidophilus* FCJX 104):南昌大学食品科学与技术国家重点实验室保藏。

### 1.2 培养基

种子培养基:蛋白胨 10.0 g,牛肉粉 5.0 g,酵母

第一作者:博士,副教授(付桂明教授为通讯作者,E-mail: fuguiming@ncu.edu.cn)。

收稿日期:2017-09-04,改回日期:2017-12-18

浸粉 4.0 g, 葡萄糖 20.0 g, 乙酸钠 5.0 g, 柠檬酸氢二铵 2.0 g,  $K_2HPO_4$  2.0 g, 七水硫酸 0.2 g,  $MnSO_4$  0.05 g, 吐温 -80 1.0 mL, 加水至 1 000 mL, pH 6.2 ~ 6.4, 115 ℃ 灭菌 30 min。

发酵培养基: 将葛根粉碎至 20 目, 加入 5 倍质量的水, 并添加 0.1% (v/m 葛根质量) 的耐高温  $\alpha$ -淀粉酶, 于 100 ℃ 下酶解液化 50 min, 100 目过滤, 收集滤液作为葛根汁; 将鲜山楂按 1:1 的比例加水榨浆, 向山楂原浆中加入 0.5 g/L 果胶酶 (10 万 U/g), 在温度 50 ℃、pH 为 3.5 的条件下酶解 4 h, 加入 0.5 g/L 壳聚糖沉淀, 再经过硅藻土过滤, 得山楂原料汁 (质量分数为 50%)。按山楂汁: 葛根汁按 1:2 质量比混合, 调 pH 值至 6.2 ~ 6.4, 115 ℃ 灭菌 30 min, 即得发酵培养基。

### 1.3 实验仪器

游标卡尺, 任丘市桂量量具有限公司; FA2004 分析天平, 上海舜宇恒平科学仪器有限公司; T6 型紫外-可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; SORVALL 高速冷冻离心机, Thermo Fisher 公司; DKS-24 型不锈钢新型电热恒温水浴锅, 嘉兴市中新医疗仪器有限公司; PHS-3C 型 pH 计, 上海精密仪器雷磁仪器厂; HJ-4A 型数显四联磁力加热搅拌器, 常州国华电器有限公司; LDZX-50KBS 型高压蒸汽灭菌锅, 上海申安医疗器械有限公司; HWS-250 型恒温恒湿培养箱, 上海森信实验仪器有限公司; 冷冻干燥机, 美国 LABCONCO 公司。

### 1.4 方法

#### 1.4.1 双乳杆菌的混合培养

取筛选获得产乙醛脱氢酶的植物乳杆菌 (*L. plantarum* FCJX 102) 和嗜酸乳杆菌 (*L. acidophilus* FCJX 104) 2 个菌种, 用种子培养基活化培养 16 h, 后按照两者活菌数比例 2:1 接种到发酵培养基中, 接种量为 5%, 37 ℃ 培养 16 h, 收获含乙醛脱氢酶活力高的混合菌体发酵液。

#### 1.4.2 双乳杆菌海藻酸钠微胶囊的制备

采用海藻酸钠挤压法<sup>[9]</sup>。将 1.4.1 中混合发酵液在 4 ℃、4 500 r/min 离心 10 min, 去上清, 无菌生理盐水清洗菌体 2 次, 离心后得到双乳杆菌菌泥, 按 1:5 (w/v) 加入保护剂 (海藻糖 8%,  $V_c$  0.2%, 乳糖 8%, 甘油 3%), 混匀后再加 4.0% 脱脂乳和灭菌的 2.68% 海藻酸钠溶液, 充分混合均匀。用无菌滴管 (直径 0.45 mm) 将混合菌滴加到 0.2 mol/L 的灭菌  $CaCl_2$  溶液中, 搅拌速度 600 r/min, 固化 30 min, 无菌

生理盐水清洗后过滤, 即得双乳杆菌湿微胶囊。将之于 -80 ℃ 预冻 24 h, 再冷冻干燥 48 h, 得到双乳杆菌海藻酸钠微胶囊成品。

#### 1.4.3 微胶囊包埋率测定

采用平板计数法测定制备微胶囊前乳酸菌菌落数及上清液中未被包埋的乳酸菌菌落数, 根据下列公式计算包埋率:

$$\text{包埋率}/\% = \frac{\text{总活菌数} - \text{未包埋活菌数}}{\text{总活菌数}} \times 100 \quad (1)$$

#### 1.4.4 微胶囊粒径测定

用游标卡尺测量随机取样的微胶囊颗粒粒径若干, 取平均值。

#### 1.4.5 双乳杆菌及其微胶囊的体外模拟胃消化研究

于 100 mL 具塞锥形瓶中加入质量浓度为 9 g/L 的 NaCl 溶液 25 mL、0.1 mol/L HCl 溶液 4 mL、40 mg/mL 胃蛋白酶溶液 2 mL (用 0.1 mol/L HCl 配制), 混合均匀后, 调 pH 值在 1.5 ~ 2.0 之间, 制备人工胃液。加入 0.200 g 双乳杆菌菌泥或含有等菌落数的微胶囊, 放置于 37 ℃ 160 r/min 水浴振荡 180 min, 其间, 于 0、10、20、30、40、50、60、90、120、150、180 min 时, 依次取出消化液测定其 ALDH 酶活。以等质量未经消化的菌泥或微胶囊作对照, 将其活性视作 100%。

#### 1.4.6 双乳杆菌海藻酸钠微胶囊体外模拟肠溶性研究

于 100 mL 具塞锥形瓶中加入 0.9 g/100 mL NaCl 溶液 25 mL, 加入 9 mL 胰液胆汁混合液 (2 mg/mL 胰液, 12 mg/mL 胆汁均用 0.1 mol/L  $NaHCO_3$  溶液配制), 用 0.5 mol/L  $NaHCO_3$  调节 pH 在 7.0 ~ 7.5, 制备人工肠液。将经体外模拟胃消化后的微胶囊继续于模拟肠液中消化 60 min, 每 10 min 取一次样, 于 600 nm 处测定透光率, 以等质量未经消化的微胶囊作对照, 将其透光率视作 100%, 测定双乳杆菌海藻酸钠微胶囊体外肠溶性。

#### 1.4.7 双乳杆菌及其微胶囊体外模拟肠消化研究

向 34 mL 人工肠液中加入 0.200 g 菌泥或含有等菌落数的微胶囊, 放置于 37 ℃、160 r/min 水浴振荡 60 min, 其间, 于 0、10、20、30、40、50 min 时, 依次取出消化液测定其 ALDH 酶活。以等质量未经消化的菌泥或微胶囊作对照, 将其活性视作 100%。

#### 1.4.8 乙醛脱氢酶粗酶活力测定

将微胶囊颗粒重悬于 5 倍质量的磷酸缓冲盐 (pH 值 8.0、20 mmol/L) 中, 制成菌悬液, 以 200 W 功率超声破碎 15 min (冰水浴), 再于 6 000 r/min、4 ℃

离心 15 min,收集上清液,得到沉淀按上述处理重复 1 次,合并 2 次上清液即得乙醛脱氢酶粗酶液。

向试管中加入 2.52 mL Tris-HCl 缓冲液(0.05 mol/L,pH = 8.0)、0.1 mL EDTA 溶液(0.05 mol/L)、0.1 mL KCl 溶液(3 mol/L)、0.1 mL NAD<sup>+</sup> 溶液(0.02 mol/L)、0.05 mL 乙醛溶液(0.1 mol/L)、0.03 mL β-巯基乙醇溶液(0.05 mol/L),混匀后,加入 0.1 mL 粗酶液,迅速混匀后,于 340 nm 波长下测吸光值,计算 5 min 内吸光值的变化 ΔA<sub>340</sub><sup>[10]</sup>。

酶活力单位定义:25 ℃ 下,每分钟催化还原 1 μmol NAD<sup>+</sup> 的所需要的酶量为 1 个酶活力单位。

2 结果与讨论

2.1 双乳酸杆菌微胶囊制备

测得双乳酸杆菌菌悬液活菌数为 4.4 × 10<sup>10</sup> CFU/mL,制备过程中滤液和洗涤液中活菌数仅为 7.5 × 10<sup>6</sup> CFU/mL,包埋率达 99.8% 以上,微胶囊制备包埋效果好。与 KRASAEKOOPT 等<sup>[11]</sup>用海藻酸钠对嗜酸乳杆菌等益生菌微胶囊化的结果一致。

如图 1 所示,经挤压法制成的双乳酸杆菌湿微胶囊呈乳白色,颗粒均匀、圆润饱满。冻干后,干微胶囊颗粒粒径变化不大,表面稍有内陷,多为球状,表观颜色变为嫩黄色。这是冷冻干燥过程中,微胶囊含的水分由固态直接升华,固形物形态基本得以保持。而表观颜色的变化,是由于壁材海藻酸钠和脱脂乳干燥后呈现出来。

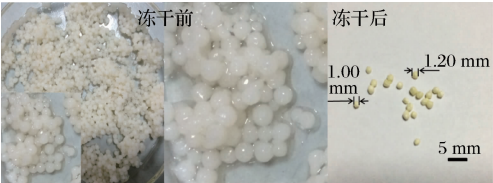


图 1 双乳杆菌海藻酸钠微胶囊

Fig.1 Microcapsules of dual *Lactobacillus*

随机挑取 25 粒已冻干的双乳酸杆菌海藻酸钠微胶囊,用游标卡尺测量其粒径,数据如表 1 所示,本实验制得的双乳杆菌海藻酸钠微胶囊平均粒径为 (1.14 ± 0.08) mm。

2.2 双乳杆菌及其微胶囊体外模拟胃消化研究

食物在胃中消化需历经 4 个阶段,大约 2 ~ 3 h,微胶囊在这段时间内应不溶解或囊体不破碎,方可保证双乳杆菌耐受高酸性环境和胃消化酶消解,从而顺利到达肠道发挥其益生功效<sup>[12]</sup>。故在本实验中,微胶囊在人工胃液中的最长消化时间定为 180 min。

表 1 双乳杆菌海藻酸钠微胶囊粒径

Table 1 Diameters of microcapsules of dual *Lactobacillus*

编号	粒径/ mm	编号	粒径/ mm	编号	粒径/ mm
1	1.04 ± 0.01	10	1.20 ± 0.02	19	1.20 ± 0.01
2	0.98 ± 0.05	11	1.18 ± 0.01	20	1.12 ± 0.02
3	1.10 ± 0.03	12	1.24 ± 0.03	21	0.98 ± 0.01
4	1.28 ± 0.02	13	1.10 ± 0.01	22	1.16 ± 0.01
5	1.18 ± 0.01	14	1.20 ± 0.02	23	1.14 ± 0.01
6	1.28 ± 0.01	15	1.18 ± 0.01	24	1.20 ± 0.03
7	1.04 ± 0.02	16	1.08 ± 0.02	25	1.10 ± 0.01
8	1.00 ± 0.03	17	1.14 ± 0.01		
9	1.24 ± 0.01	18	1.18 ± 0.01		

*L. plantarum* FCJX 102 与 *L. acidophilu* FCJX 104 混合菌及其微胶囊按照 1.4.8 方法测定乙醛脱氢酶的酶活,如图 2 所示,在模拟胃液中,未包埋的双乳杆菌中乙醛脱氢酶活性在 30 min 内急剧下降,在 10 min 时存活 53.2%,到 20 min 时存活 25.6%,至 30 min 时存活率仅为 0,说明乙醛脱氢酶在 pH 值为 1.5 ~ 2 的高酸性条件下极易失活,其活力会迅速降低。这与李鑫<sup>[4]</sup>的研究一致,在人工胃液环境中,8 min 时乙醛脱氢酶活性损失近 50% 相近。而微胶囊包埋后双乳杆菌在体外模拟胃液环境中,前 90 min 内酶活性下降不明显,均能保持在 95% 以上;模拟胃消化 90 min 后,乙醛脱氢酶活性开始下降,至 180 min 时,微胶囊包埋菌体乙醛脱氢酶活性仍存留 73.4%。说明海藻酸钠和脱脂乳等保护剂制成的双乳酸杆菌微胶囊对低 pH 值环境有良好的抵御作用<sup>[13]</sup>,很好地保护了双乳杆菌体中的乙醛脱氢酶活性。

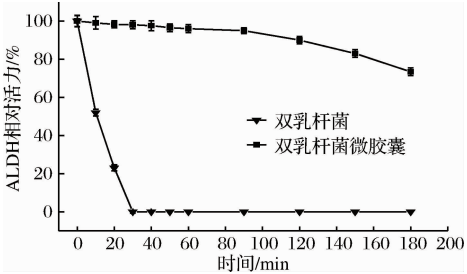


图 2 双乳杆菌及其微胶囊体外模拟胃消化 ALDH 活性变化

Fig.2 ALDH activity of entrapped dual *Lactobacillus* cells following exposure to simulated gastric juice and microencapsulation

2.3 双乳杆菌海藻酸钠微胶囊制剂体外模拟肠溶解性试验

将 0.100 g 经模拟胃消化后的微胶囊继续于模

拟肠液中消化 60 min, 每 10 min 测一次透光率, 结果如图 3 所示。双乳杆菌海藻酸钠微胶囊在体外模拟的肠液环境中, 随着消化时间延长, 透光率下降, 即双乳杆菌渐渐从胶囊颗粒中释出。40 min 后, 透光率不再继续呈较大幅度下降, 曲线接近平缓, 而在此时溶液中已观察不到成型固体小颗粒, 表明溶解彻底。该结果也符合《中华人民共和国药典》(2010 年版二部) 中对肠溶衣片崩解时限的规定<sup>[14]</sup>。说明双乳杆菌海藻酸钠微胶囊有较好的肠溶性, 可在消化 40 min 后可完全崩解释放菌体, 有利于乙醛脱氢酶发挥催化作用。

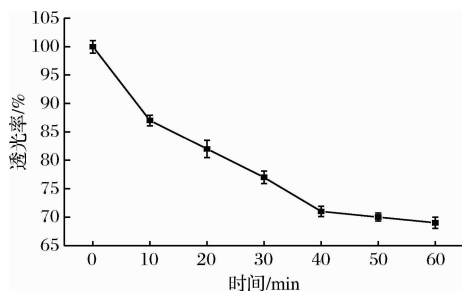


图 3 双乳杆菌海藻酸钠微胶囊体外模拟肠溶解性

Fig. 3 Release of encapsulated dual *Lactobacillus* from microspheres in simulated intestine juice

## 2.4 双乳杆菌及其微胶囊体外模拟肠消化研究

*L. plantarum* FCJX 102 与 *L. acidophilus* FCJX 104 混合菌及其微胶囊模拟肠消化 ALDH 活性变化结果如图 4 所示。

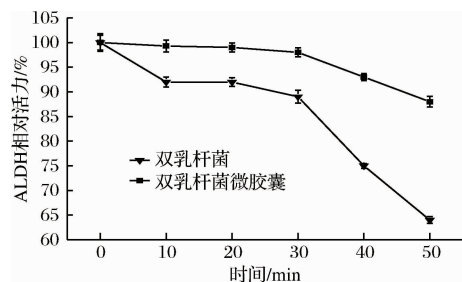


图 4 双乳杆菌及其微胶囊体外模拟肠消化 ALDH 活性变化

Fig. 4 ALDH activity of entrapped dual *Lactobacillus* cells following exposure to simulated intestinal juice and microencapsulation

在模拟肠液中, 前 30 min 内混合菌体中 ALDH 活性均能保持在 85% 以上, 消化 50 min 后仍能保持 63.7% 以上活力, 说明乙醛脱氢酶在弱碱性条件下较稳定。在陈贵佳<sup>[15]</sup>、刘清利<sup>[7]</sup>、李文<sup>[16]</sup>等学者的研究中, pH 6.0 ~ 8.0 的环境中, 乙醛脱氢酶反应活性最高, 故小肠是乙醛脱氢酶发挥分解乙醛作用的主要

器官。双乳杆菌海藻酸钠微胶囊在模拟体外肠消化的前 30 min 内, 微胶囊颗粒尚未完全崩解, 由于海藻酸钠等壁材对菌体和乙醛脱氢酶的保护, 消化 30 min 酶活保存率仍达 97.8%; 40 min 以后, 随着微胶囊颗粒崩解, 双乳杆菌直接暴露于人工肠液中, 乙醛脱氢酶活性较之前开始下降, 但消化 50 min, 相对活性仍能保留 86.5%。

## 3 结论

本文研究了 *L. plantarum* FCJX 102 和 *L. acidophilus* FCJX 104 混合菌及其微胶囊在体外模拟胃液消化中乙醛脱氢酶活性的变化。利用脱脂乳和海藻酸钠制备的双乳杆菌海藻酸钠微胶囊, 其包埋率为 99.8%, 粒径为  $(1.14 \pm 0.08)$  mm。在体外模拟的胃液环境中, 消化 90 min 后双乳杆菌海藻酸钠微胶囊乙醛脱氢酶活性能保留在 95% 以上, 至消化 180 min 后微胶囊包埋菌体乙醛脱氢酶活保留率仍然达 73.4%; 而未经包埋的双乳杆菌, 其乙醛脱氢酶在胃液消化 30 min 时就已完全失去活性; 体外模拟肠消化前 40 min, 由于微胶囊壁材的保护作用, 菌体乙醛脱氢酶均能保持 95% 以上的活性; 40 min 以后, 随着微胶囊颗粒崩解, 乙醛脱氢酶开始下降, 至消化 50 min, 乙醛脱氢酶相对活性仍能保留 86.5%。

乙醇在被人体吸收后, 首先在乙醇脱氢酶 (ADH) 的催化下脱氢氧化转化为乙醛。生成的乙醛在乙醛脱氢酶 (ALDH) 的催化下氧化生成乙酸<sup>[17]</sup>, 最终进入三羧酸循环分解成水和二氧化碳排出体外<sup>[18-19]</sup>。由于乙醛具有强烈的毒理作用, 若体内缺少 ALDH 或 ALDH 活性较低, 饮酒后容易造成乙醛在体内累积而导致中毒<sup>[20-21]</sup>; 乙醛脱氢酶加速乙醛在体内的氧化分解, 降低体内乙醛的浓度, 缩短醉酒时间及缓解人们因醉酒产生的不适应, 减少因乙醛中毒而导致各种疾病的诱发率<sup>[22]</sup>。双乳杆菌海藻酸钠微胶囊产品在包埋率及乙醛脱氢酶酶活保存率高, 在降低饮酒后人体乙醛含量、缓解乙醇中毒症状具有较好的潜在的应用前景。

## 参 考 文 献

- [1] KELSON T L, SECOR M J R, RIZZO W B. Human liver fatty aldehyde dehydrogenase: microsomal localization, purification, and biochemical characterization [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -General Subjects, 1997, 1 335(1-2): 99-110.
- [2] PICAZO A, PEDRAZA C J, MONROY A, et al. Hypogly-

- cemic drugs induce antioxidant aldehyde dehydrogenase activity and remain high in patients with glycemic control in type 2 diabetes [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2017, 800:57–62.
- [3] BOGEN A, BUSKE C, HIDDEMANN W, et al. Variable aldehyde dehydrogenase activity and effects on chemosensitivity of primitive human leukemic cells[J]. *Experimental Hematology*, 2016(47): 54–63.
  - [4] LASKAR A A, Alam M F, Younus H. In vitro activity and stability of pure human salivary aldehyde dehydrogenase [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 96(March 2017):798.
  - [5] 李鑫. 乙醛脱氢酶提取工艺与活性研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2011:34–38.
  - [6] 刘清利, 杨国武, 郭葛光, 等. 乙醛脱氢酶高产菌株 Z07-J01 的选育与酶学特性[J]. *西北农业学报*, 2006, 15(5):251–254.
  - [7] 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.
  - [8] 杨本宏, 蔡敬民, 吴克, 等. 海藻酸钠固定化根霉脂肪酶的制备及其性质[J]. *催化学报*, 2005, 26(11): 977–981.
  - [9] NAZZARO F, FRATIANNI F, COPPOLA R, et al. Fermentative ability of alginate-prebiotic encapsulated *Lactobacillus acidophilus* and survival under simulated gastrointestinal conditions[J]. *Journal of Functional Foods*, 2009, 1(3): 319–323.
  - [10] OKIBE N, Amada K, Hirano S I, et al. Gene cloning and characterization of aldehyde dehydrogenase from a petroleum-degrading bacterium, strain HD-1[J]. *Journal of Bioscience & Bioengineering*, 1999, 88(1):7–11.
  - [11] KRASAEKOOPT W, BHANDARI B, DEETH H. The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria[J]. *International Dairy Journal*, 2004, 14(8): 737–743.
  - [12] 郝莹. 不同剂型双歧杆菌制剂的制备技术及存活性能的研究[D]. 西安:西北大学, 2009:46–47.
  - [13] CHAN E S, ZHANG Z. Bioencapsulation by compression coating of probiotic bacteria for their protection in an acidic medium[J]. *Process Biochemistry*, 2005, 40(10): 3346–3351.
  - [14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 3 部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2010.
  - [15] 陈贵佳. 雪峰干酵母中乙醛脱氢酶提取及其酶学性质研究[D]. 广州:华南理工大学, 2012:46–49.
  - [16] 李文, 王陶, 李同祥. 醋化醋杆菌产乙醛脱氢酶发酵条件优化及酶学性质[J]. *食品科技*, 2013,34(11): 24–28.
  - [17] 方芳, 王凤忠. 醉酒与解酒的研究[J]. *农产品加工(学刊)*, 2013(22):59–61.
  - [18] 吴桂英, 吴元欣, 赵玉凤, 等. 破碎酵母释放乙醛脱氢酶的研究[J]. *酿酒科技*, 2006(11):21–23.
  - [19] ISHIKAWA H, YARNAMOTO H, TIAN Y, et al. Effects of ALDH2 gene polymorphisms and alcohol-drinking behavior on micronuclei frequency in non-smokers[J]. *Mutation Research*, 2003, 541: 71–80.
  - [20] KURKIVUORI J, SALASPURO V. Acetaldehyde production from ethanol by oral streptococci[J]. *Oral Ontology*, 2007, 43:181–186.
  - [21] TAE W J, YOUNG L J, SUB S W, et al. Adiponectin protects human neuroblastoma SH-SY5Y cells against MPP+ -induced cytotoxicity[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2006, 343(2):564–570.
  - [22] 王志萍, 雷晓翠, 邓家刚, 等. 复方护肝解酒晶解酒护肝作用的研究[J]. *中成药*, 2015, 37(10):2306–2308.

## Protection of *Lactobacillus* ALDH activity by sodium alginate microcapsule during gastrointestinal digestion *in vitro*

WAN Yin<sup>1,2</sup>, LUO Cheng<sup>1,2</sup>, ZHANG Hong-ting<sup>1,2,3</sup>, GUO Shuai-ling<sup>1,2,3</sup>,  
PI Xiao-wen<sup>1,2,3</sup>, TONG Huo-yan<sup>1,2,3</sup>, FU Gui-ming<sup>1,2,3\*</sup>

1(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

2(College of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

3(Sino-German Food Engineering Center, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

**ABSTRACT** In this paper, microcapsules of two *Lactobacillus* strains producing acetaldehyde dehydrogenase (ALDH), *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus*, were prepared using calcium chloride extrusion technique with sodium alginate and skimmed milk powder as encapsulants. The protective effect of microcapsules on acetaldehyde dehydrogenase in artificial gastric and intestinal succus *in vitro* was examined. The results showed that the average particle size of double-*Lactobacillus* alginate microcapsules was 1.14 μm, the appearance of which was round and full, and the embedding rate reached 99.8%. The ALDH activity from *Lactobacillus* microcapsules maintained 95% and 73.4% in the artificial gastric succus system after 90 min and 180 min, respectively. However, the ALDH activity of free bacteria in the artificial gastric succus system decreased to zero after 30 min. In the artificial intestinal succus, calcium alginate embedded *Lactobacillus* microcapsules had favorable enteric solubility. The retention rate of the ALDH activity was still 97.8% and 86.5% after digestion for 30 min and 50 min.

**Key words** *Lactobacillus plantarum*; *Lactobacillus acidophilus*; microcapsule; aldehyde dehydrogenase; simulated digestion