

酸奶菌种冷冻干燥保护剂的筛选研究

黄丽金, 陆兆新*, 袁勇军

(南京农业大学食品科技学院, 江苏 南京 210095)

摘 要: 本研究采用 Plackett-Burman 设计法, 对蔗糖、麦芽糖、乳糖、果糖、葡萄糖、甘油、甘露醇、山梨醇、可溶性淀粉、明胶、抗坏血酸、谷氨酸钠、L-半胱氨酸盐酸盐以及脱脂奶粉等 14 种材料对德氏乳杆菌保加利亚亚种和唾液链球菌嗜热亚种冷冻干燥的保护效果进行评价。结果表明: 对德氏乳杆菌保加利亚亚种在冷冻干燥中有显著保护作用的是蔗糖、甘油、山梨醇以及脱脂奶粉; 而唾液链球菌嗜热亚种有效的冷冻干燥保护剂为甘油、谷氨酸钠和脱脂奶粉。

关键词: 德氏乳杆菌保加利亚亚种; 唾液链球菌嗜热亚种; Plackett-Burman 设计法; 冷冻干燥; 保护剂

Screening of the Proper Freeze-drying Protectants for Yoghurt Starter

HUANG Li-jin, LU Zhao-xin*, YUAN Yong-jun

(College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Plackett-Burman design was used to evaluate the freeze-drying protective effect of sucrose, maltose, lactose, fructose, glucose, glycerol, mannitol, sorbitol, soluble starch, gelatin, ascorbic acid, sodium glutamate, L-cysteine hydrochloride and skim milk for yoghurt starter. Results showed that sucrose, glycerol, sorbitol and skim milk were the effective freeze-drying protectants for *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, while glycerol, sodium glutamate and skim milk were the best freeze-drying protectants for *Streptococcus sativarius* subsp. *thermophilus*.

Key words: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; *Streptococcus sativarius* subsp. *thermophilus*;

Plackett-Burman design; freeze-drying; protectants

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)12-0103-04

浓缩冷冻干燥发酵剂是乳酸菌细胞悬浮液冻结后在真空条件下使冰升华, 最后达到干燥而制成的发酵剂^[1]。由于该发酵剂活力强、接种量小、污染率低、便于运输保藏、使用方便, 因此受到广泛的关注。然而, 冷冻干燥会导致菌体细胞的损伤, 使细胞存活率降低^[2]。乳酸菌细胞对冷冻干燥的抗性受到菌种、培养条件、细胞收获期、冷冻速度、干燥温度、保护剂组成以及贮藏条件等因素的影响^[3]。其中, 保护剂是最关键的一个因素。

菌体冷冻干燥保护剂的筛选是一项极为复杂的工作。目前, 国内外主要是通过传统的单因子实验来筛选各菌株的冷冻干燥保护剂, 这不仅费时, 而且工作量极大。而 Plackett-Burman (PB) 设计法是一种两水平的试验设计方法。它试图用最少的试验次数达到使因素的主效果尽可能精确的估计, 适用于从众多的考察因素中快速有效地筛选出最为重要的几个因素供进一步研究^[4]。

本研究采用 Plackett-Burman 设计法, 从 14 种材料中分别筛选出德氏乳杆菌保加利亚亚种以及唾液链球菌嗜热亚种的优良的冷冻干燥发酵剂, 为制备浓缩冷冻干燥酸奶发酵剂提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

德氏乳杆菌保加利亚亚种 (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) LB14 及唾液链球菌嗜热亚种 (*Streptococcus sativarius* subsp. *thermophilus*) STX2, 本实验室从加拿大进口的直投式乳酸菌发酵剂中分离筛选获得。

1.1.2 培养基

菌体增殖培养基: MRS 培养基^[5]。

收稿日期: 2004-10-10

*通讯作者

作者简介: 黄丽金 (1980-), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品微生物及其生物技术。

菌种活化培养基: 鲜奶(上海光明乳品厂)经 5000r/min, 15min 离心后用纱布过滤得脱脂乳, 然后分装于试管中, 108℃, 15min 灭菌备用。

活菌计数培养基: 改良 TJA 固体培养基^[6]

1.1.3 保护剂

蔗糖、麦芽糖、乳糖、果糖、葡萄糖、甘油、甘露醇、山梨醇、可溶性淀粉、抗坏血酸、L-半胱氨酸盐酸盐均为分析纯试剂或生化试剂; 明胶为化学纯试剂; 谷氨酸钠为食品级, 含量 ≥ 99%; 脱脂奶粉产于广东雅士利乳业有限公司。

以上保护剂分别用蒸馏水配制成高浓度的贮备液, 单独灭菌后, 按实验设计配制成各种复合保护剂。其中, 糖类和氨基酸贮备液用 0.22 μm 孔径的滤膜过滤除菌, 其它的贮备液在 108℃下, 15min 灭菌。

1.1.4 主要仪器设备

ALPHA 1-2 型真空冷冻干燥机 德国 CHRIST 公司; 5804R 高速冷冻离心机 Eppendorf; 其它微生物实验室常用仪器设备。

1.2 方法

1.2.1 菌株的培养与细胞悬浮液的制备

菌种经菌种活化培养基传代活化至活力恢复以后, 以 5% (德氏乳杆菌保加利亚亚种) 或 1% (唾液链球菌嗜热亚种) 的接种量, 接入 MRS 增殖培养基中, 37℃静置培养 12h 左右, 使菌体处于对数生长期后期, 然后等量分装于无菌离心管中, 10000r/min, 4℃离心 10min, 弃上清液, 加各实验号的保护剂, 用振荡器混匀, 制成菌悬液, 取样计数, 并将菌悬液分装于无菌的 7ml 离心管中, 每管 1.0ml。

1.2.2 冷冻干燥

将制备好的菌悬液置于 4℃冰箱中平衡 1h, 然后于 -20℃下预冻至其完全冻结, 迅速将冻结样品移入冷冻干燥机中冷冻干燥 24h, 使菌粉含水量达 3% 左右。

1.2.3 菌落总数测定

按国标 GB/T16347-1996^[6]的方法测定菌落总数。

1.2.4 细胞存活率的测定

向各冻干样品中加入 1ml 脱脂乳, 混匀, 置于室温下 15min 左右, 取样计数, 并按下式计算细胞存活率:

$$\text{细胞存活率}(\%) = \frac{\text{每ml菌悬液冻干后存活细胞总数}}{\text{冻干前ml菌悬液的细胞总数}} \times 100$$

1.2.5 Plackett-Burman实验设计

根据保护剂对菌体冷冻干燥的保护机理以及保护剂筛选的一般原则, 结合有关该方面的文献报道^[7~10]和本实验室对保护剂的前期研究, 选取蔗糖、麦芽糖、乳糖、果糖、葡萄糖、甘油、甘露醇、山梨醇、可

溶性淀粉、明胶、抗坏血酸、谷氨酸钠、L-半胱氨酸盐酸盐以及脱脂奶粉作为考察对象, 并以细胞的冷冻干燥存活率为响应值。本研究的实验设计、数据分析及模型建立皆由 JMP 软件(version 4.0.5, SAS Institute Inc. 1989-2001)辅助完成, 自变量及其代号、编码和水平见表 1, 实验设计方案略。

表 1 Plackett-Burman 实验设计因素水平及编码
Table 1 Level and code of variables chosen for the study

变量(g/L)	代 码		编码水平	
	未编码	编码	-1	1
蔗糖	X ₁	x ₁	0	40
麦芽糖	X ₂	x ₂	0	40
乳糖	X ₃	x ₃	0	40
果糖	X ₄	x ₄	0	40
葡萄糖	X ₅	x ₅	0	40
可溶性淀粉	X ₆	x ₆	0	30
明胶	X ₇	x ₇	0	20
甘油	X ₈	x ₈	0	40
甘露醇	X ₉	x ₉	0	30
山梨醇	X ₁₀	x ₁₀	0	40
抗坏血酸	X ₁₁	x ₁₁	0	10
L-半胱氨酸盐酸盐	X ₁₂	x ₁₂	0	10
谷氨酸钠	X ₁₃	x ₁₃	0	40
脱脂乳	X ₁₄	x ₁₄	0	80

2 结果与讨论

按实验设计表进行实验, 实验结果及其预测值见表 2。

表 2 Plackett-Burman 实验结果与预测值
Table 2 Experimental and theoretically predicted values of Plackett-Burman design

组别	LB14/冷冻干燥存活率(%)		STX2/冷冻干燥存活率(%)	
	实测值	预测值	实测值	预测值
1	59.50	63.96	71.27	69.18
2	35.90	31.42	5.19	9.98
3	27.80	23.74	45.87	43.28
4	81.80	78.06	78.67	75.19
5	64.20	63.10	71.07	73.02
6	32.80	33.20	19.67	20.60
7	28.30	27.50	42.80	46.55
8	46.70	46.78	89.47	91.30
9	24.50	24.42	47.27	45.44
10	45.40	48.84	48.93	50.61
11	43.90	48.68	73.27	70.28
12	40.20	43.94	36.33	39.81
13	29.50	30.60	57.47	55.52
14	67.20	63.44	50.87	50.08
15	3.20	2.50	8.13	5.40
16	25.60	26.72	45.53	40.89
17	45.20	41.04	62.33	66.23
18	40.60	39.18	52.13	54.97
19	27.80	32.28	19.67	14.88
20	18.70	19.40	14.33	17.06

2.1 德氏乳杆菌保加利亚亚种最适冷冻干燥保护剂的确定

通过 JMP 软件对表 3 中的 LB14 冷冻干燥存活率实测数据进行方差分析表明, 该数据具有统计学意义($p=0.0056$)。通过逐步回归分析得 LB14 冷冻干燥存活率最优多元线性回归方程($\alpha=0.01$)为:

$$Y=18.7633+0.7075 x_1-1.2267 x_6+0.9825 x_8+0.9750 x_{10}+1.1650 x_{14} \quad (1)$$

式中, Y 为 LB14 冷冻干燥存活率的预测值, x_1 、 x_6 、 x_8 、 x_{10} 、 x_{14} 分别为蔗糖、可溶性淀粉、甘油、山梨醇和脱脂乳的编码值。

对方程(1)进行方差分析表明, $F=31.93 > F_{0.01(5,14)}=9.77$, 证明此模型在概率 $\alpha=0.01$ 水平上显著, 其拟合度可通过校正确定系数 R_{Adj}^2 和相关系数 R 来验证, 经分析计算此处 R_{Adj}^2 值为 0.89, R 值为 0.96, 表明 LB14 冷冻干燥存活率的实测值与预测值之间具有较好的拟合度。对方程(1)的系数显著性进行检验, 结果表明各因子系数均有意义(见表 3)。

表 3 LB14 冷冻干燥存活率回归方程系数显著性检验

Table 3 Regression coefficients and their significance for the model of the strain LB14

模型项	回归系数	标准误	t 值	p 值
常数项	18.7633	2.9684	6.32	<0.0001
蔗糖(g/L)	0.7075	0.1702	4.16	0.0010
可溶性淀粉(g/L)	-1.2267	0.2268	-5.41	<0.0001
甘油(g/L)	0.9825	0.1701	5.78	<0.0001
山梨醇(g/L)	0.9750	0.1701	5.73	<0.0001
脱脂乳(g/L)	1.1650	0.1701	6.85	<0.0001

由方程(1)对 LB14 的冷冻干燥存活率最佳预期值进行分析可知, 当蔗糖为 40g/L、可溶性淀粉为 0g/L、甘油 40g/L、山梨醇 40g/L 及脱脂乳 80g/L 时, LB14 的冷冻干燥存活率预测值可达 78.06%,

其概率为 93%。即欲获得较高的冷冻干燥存活率, 需取上述的蔗糖、甘油、山梨醇及脱脂乳实验水平上限值, 可溶性淀粉的实验水平下限值。

2.2 唾液链球菌嗜热亚种最适冷冻干燥保护剂的确定

利用 JMP 软件进行方差分析表明, 表 2 中 STX2 冷冻干燥存活率的实测值具有统计学意义($p=0.0016$)。通过逐步回归分析($\alpha=0.01$), STX2 冷冻干燥存活率最优多元线性回归方程为:

$$Y=29.7567-2.1246x_6+1.0376x_8+1.3984x_{13}+1.5468x_{14} \quad (2)$$

式中, Y 为 STX2 冷冻干燥存活率的预测值, x_6 、 x_8 、 x_{13} 、 x_{14} 分别为可溶性淀粉、甘油、谷氨酸钠和脱脂乳的编码值。

对方程(2)进行方差分析, $F=46.83 > F_{0.01(5,14)}=9.77$, 因此该方程极显著, 且 $R=0.96$, $R_{Adj}^2=0.91$, 说明方程

拟合度好, 能解释 91% 的变异, 而且各因子系数均有意义(见表 4)。

表 4 STX2 冷冻干燥存活率回归方程系数显著性检验

Table 4 Regression coefficients and their significance for the model of the strain STX2

模型项	回归系数	标准误	t 值	p 值
常数项	29.7567	3.2955	9.03	<0.0001
可溶性淀粉(g/L)	-2.1246	0.2750	-7.73	<0.0001
甘油(g/L)	1.0376	0.2062	5.03	0.0001
谷氨酸钠(g/L)	1.3984	0.2062	6.78	<0.0001
脱脂乳(g/L)	1.5468	0.2062	7.50	<0.0001

用方程(2)对 STX2 冷冻干燥存活率最佳预期值进行分析可见, 当影响 STX2 冷冻干燥存活率的甘油、谷氨酸钠以及脱脂乳为上限, 可溶性淀粉为下限时, 即甘油为 40g/L、谷氨酸钠 40g/L、脱脂乳 80g/L, 可溶性淀粉为 0g/L 时, STX2 冷冻干燥存活率可达 91.30%, 其可能性约为 99%。

本实验结果表明, 并非每种保护剂对所有的微生物在冷冻干燥过程都有保护作用, 由于细胞结构和大小的差异, 对于不同的微生物, 即使采用相同的保护剂所取得的效果也是不同的。德氏乳杆菌保加利亚亚种的细胞较大, 在冷冻干燥过程中更容易受到损伤, 因此它的存活率总体上都比唾液链球菌嗜热亚种的小(见表 2)。

保护剂的保护效果与它们的化学结构有着非常密切的关系, 其特征是具备三个或更多的氢键, 而且能以适当的方式游离出基团^[9]。此外, 保护剂与细胞之间的相互作用是重要的条件。在冻干过程中, 细胞因冷冻、脱水和高浓度的盐类的干扰而引起损害, 例如细胞膜选择透性的破坏等, 保护剂则可以代替结合水而稳定细胞的类型。故有效的保护剂应具备对细胞和水有很强的亲和力^[11]。

糖类和醇类具备多个羟基, 可以与乳酸菌表面的自由基联结起来, 避免菌体暴露在介质中, 它们还可以与菌体中的蛋白质形成氢键以取代水, 从而保证了蛋白质的稳定性, 防止胞内胞外冰晶的形成。很多报道说明, 海藻糖与测金盏花醇为很多菌体的最佳冷冻干燥保护剂^{[9][12]}, 但这两种材料均十分昂贵, 无法应用于工业生产中, 因此在本实验设计中未涉及到。从表 3 与表 4 可以看出, 甘油对德氏乳杆菌保加利亚亚种及唾液链球菌嗜热亚种都有明显的保护效果, 这是因为甘油是一种低分子化合物, 它能渗透到细胞内部, 改变胞内过冷状态, 使胞内压力接近胞外压力, 降低细胞脱水的皱缩程度和速度, 从而减少了细胞在冷冻干燥过程中的损伤, 提高菌体的存活率。另外, 山梨醇对德氏乳杆菌保加利亚亚种的冷冻干燥过程也具有很好的保护作用, 它一方面能与菌体的细胞膜相互作用从而防止细胞膜受

到损伤^[13], 另一方面能稳定蛋白质的构象与功能特性^[14], 因而能够达到保护细胞的效果。Carvalho 等^[8]报道了山梨醇对 *L. plantarum* 及 *L. rhamnosus* 冷冻干燥的良好保护效果。在冷冻干燥保护剂中, 糖类一直是重要而有效的保护剂。本实验结果表明乳糖、果糖、葡萄糖、麦芽糖对两种菌的冷冻干燥都没有有效的保护作用, 仅蔗糖对德氏乳杆菌保加利亚亚种具有冻干保护作用。因为蔗糖具有很强的水化能力, 能于细胞膜表面形成稳定的水化保护层; 此外, 还原性保护糖的醛基能与微生物蛋白质的伯氨基发生非酶性棕色反应, 从而影响微生物膜的功能, 导致微生物死亡^[15], 而蔗糖是非还原性二聚糖, 它能在冻干过程中表现出极佳的保护效果。Carvalho 等^[16]的实验结果也表明了蔗糖能使德氏乳杆菌保加利亚亚种在冷冻干燥后有较高的存活率。

氨基酸是一类重要的菌体冷冻干燥保护剂, 在本实验条件下, 抗坏血酸及 L-半胱氨酸盐酸盐对两种菌的冷冻干燥均无保护效果, 而谷氨酸钠能显著提高唾液链球菌嗜热亚种的冷冻干燥存活率($p < 0.0001$)。Font de Valdéz G 等^[17]认为它的保护机理是氨基酸的氨基团能与菌体蛋白质的羰基产生反应, 从而稳定蛋白质的结构。

很多研究表明^[8,9], 脱脂乳是一种非常有效的冷冻干燥保护剂, 本实验也证实了这一点, 脱脂乳对德氏乳杆菌保加利亚亚种及唾液链球菌嗜热亚种都有极显著的保护作用。因为脱脂乳可呈现过冷状态, 即在冰点下的相同温度下该溶液中的溶质(电解质)浓度较小, 蛋白质的盐析变性也较少, 且乳清蛋白能在菌体外形成蛋白膜, 这一方面可以使菌体表面暴露于外界的区域进一步减少, 另一方面可以固定冻干的酶类, 防止由于细胞壁蛋白质损坏而引起的胞内物质泄露, 从而增强保护作用。而且脱脂乳成分复杂, 乳中的其它成分也可能提高乳酸菌的冷冻干燥存活率。

由实验结果可知, 可溶性淀粉对供试菌株在冷冻干燥过程中并没有起到保护作用, 它的存在反而会导致菌体冷冻干燥存活率下降。这是由于可溶性淀粉配成溶液, 经灭菌后形成凝块, 不利于冷冻干燥过程中菌体的存活。

3 结 论

乳酸菌冷冻干燥保护剂的筛选是制备高效浓缩型乳酸菌发酵剂的一项关键技术, 许多研究者对此保密。本研究通过采用 Plackett-Burman 设计, 仅用了 20 组实验, 即从 14 种材料中筛选出酸奶菌种的有效冷冻干燥保护剂。其中, 对德氏乳杆菌保加利亚亚种的冷冻干燥具有保护作用的是蔗糖、甘油、山梨醇以及脱脂奶粉; 而唾液链球菌嗜热亚种有效的冷冻干燥保护剂为甘油、谷氨酸钠和脱脂奶粉。为进一步优化德氏乳杆菌保加利

亚亚种与唾液链球菌嗜热亚种冷冻干燥保护剂提供了基础。

参考文献:

- [1] (英)A Y 泰米迈, R K 罗宾逊. 酸乳科学与技术[M]. 姜竹茂, 译. 北京: 中国农业出版社, 2003. 451-454.
- [2] 中国科学院微生物研究所《菌种保藏手册》编著组. 菌种保藏手册[M]. 北京: 科学出版社, 1980. 650-651.
- [3] Astrid BA, Mette SF, Heidi L, et al. Storage stability of freeze-dried starter cultures (*Streptococcus thermophilus*) as related to physical state of freezing matrix[J]. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 1999, 32: 540-547.
- [4] Miller A, Sitter RR. Using the Folded-Over 12-Run Plackett-Burman design to consider interactions[J]. *Technometrics*, 2001, 43: 44-54.
- [5] 凌代文, 东秀珠. 乳酸细菌分类鉴定及实验方法[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999. 85-86.
- [6] GB/T16347-1996. 乳酸菌饮料中乳酸菌的微生物学检验[S].
- [7] Fernanda F, Catherine B, Fatma M, et al. Improvement of cryopreservation of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgarius* CFL1 with additives displaying different protective effects[J]. *International Dairy Journal*, 2003, 13: 917-926.
- [8] Carvalho AS, Silva J, Ho P, et al. Survival of freeze-dried *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus rhamnosus* during storage in the presence of protectants[J]. *Biotechnology Letter*, 2002, 24: 1587-1591.
- [9] Albadias M, Benabarre A, Teixidó N, et al. Effect of freeze drying and protectants on viability of the biocontrol yeast *Candida sake* [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2001, 65: 173-182.
- [10] Cárroba R, Rodríguez A. Influence of cryoprotectants on the viability and acidifying activity of frozen and freeze-dried cells of the novel starter strain *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis* CECT 5180[J]. *European Food Research and Technology*, 2000, 211: 433-437.
- [11] Hubálek Z. Protectants used in the cryopreservation of microorganisms[J]. *Cryobiology*, 2003, 46: 205-229.
- [12] Zayed G, Roos Y H. Influence of trehalose and moisture content on survival of *Lactobacillus salivarius* subjected to freeze-drying and storage[J]. *Process Biochemistry*, 2004, 39: 1081-1086.
- [13] Linder L J M, de Jong G I W, Meerdink G, et al. Carbohydrates and the dehydration inactivation of *Lactobacillus plantarum*: the role of moisture distribution and water activity [J]. *J Food Engineering*, 1997, 31: 237-250.
- [14] Yoo B, Lee C M C. Thermoprotective effect of sorbitol on proteins during dehydration[J]. *J Agric Food Chem*, 1993, 41: 190-192.

米糠类阿片拮抗肽的氨基酸序列分析

陈季旺¹, 陶冠军², 姚惠源³, 黄桃菊¹, 夏文水¹

(1. 武汉工业学院食品学院, 湖北 武汉 430023; 2. 江南大学分析测试中心, 江苏 无锡 214036;

3. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘 要: 采用氨基酸分析仪、LC-MS 对米糠类阿片拮抗肽的结构进行了分析, 米糠类阿片拮抗肽由 Asp、Gly、Ser、Val 和 Arg 组成, 它的氨基酸序列为 Asp—Gly—Ser—Val—Arg。

关键词: 米糠; 类阿片拮抗肽; 氨基酸; 序列分析

Amino Acid Sequence Analysis of Opioid Antagonist Peptides from Rice Bran

CHEN Ji-wang¹, TAO Guan-jun², YAO Hui-yuan³, HUANG Tao-ju¹, XIA Wen-shui¹

(1. Food School of Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China

2. Analytical Center of Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China

3. Food School of Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: The structure of opioid antagonist peptide from rice bran was analysed by using amino acid analyzer and RP-HPLC. The results showed that it was made up of Asp, Gly, Ser, Val and Arg, and its amino acid sequence was finally identified as Asp-Gly-Ser-Val-Arg.

Key words: rice bran; opioid antagonist peptide; amino acid; sequence analysis

中图分类号: Q517

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)12-0107-04

氨基酸序列分析是研究生物活性肽结构和功能关系的基础, 一般采用质谱和蛋白质顺序测定仪来鉴定生物活性肽的氨基酸序列^[1,2], 目前应用较多的质谱电离方法是基质辅助激光解吸离子化(MALDI)和电喷雾离子化(ESI)^[3~14]。与其他离子化方法相比, 电喷雾离子化(ESI)有三个显著特征: 一、电喷雾离子化(ESI)可以形成多电荷离子, 所以除了小分子化合物的测定外, 还可以用质荷比(m/z)有限的质量分析器分析强极性、热不稳定的大分子化合物; 二、在电喷雾离子化(ESI)中, 样品以溶液导入, 这使得它与高压液相色谱和毛细管电泳等液相分离技术的直接连用变得十分有利; 三、电喷雾

离子化(ESI)过程极为温和, 使电喷雾离子化(ESI)能够在气相状态下研究溶液中分子之间的非共价作用, 甚至于分子的三维空间构型, 因此电喷雾离子化(ESI)在近年来获得了迅速的发展和广泛的应用^[15,16]。本文采用电喷雾离子化质谱(ESI)和氨基酸组成分析来解析米糠类阿片拮抗肽的氨基酸序列。

1 材料与方法

1.1 实验材料

自制米糠类阿片拮抗肽(A312)^[17]。

1.2 实验方法

收稿日期: 2005-05-30

作者简介: 陈季旺(1971-), 男, 讲师, 博士, 研究方向为生物技术食品中的应用。

[15] 温朗聪, 袁杰利, 卢行安, 等. 冻干微生物与保护剂[J]. 中国微生态学杂志, 1997, 9(1): 56.

[16] Carvalho AS, Silva J, Ho P, et al. Effect of various factors upon thermotolerance and survival during storage of freeze-dried *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* [J]. Journal of

Food Science, 2003, 68(8): 2538-2541.

[17] Font de Vald é G, de Giori G, de Ruiz Holgada A p, et al. Effect of drying medium on residual moisture content and viability of freeze-dried *Lactic acid bacteria* [J]. Appl Environ Microbiol, 1985, 49: 413-415.