

# 嗜酸乳杆菌冷冻干燥过程中保护剂的选择

赵瑞香, 李 刚, 于 涛  
(河南科技学院食品学院, 河南 新乡 453003)

**摘 要:** 采用不同保护剂组合, 对嗜酸乳杆菌在冷冻干燥中存活率进行了测定。结果表明, 保护剂对提高冻干过程中嗜酸乳杆菌的存活率具有明显效果, 且组合不同保护剂协同累加效果不同, 其中10%脱脂乳+10%乳糖La-1和La-2的存活率均为100%。

**关键词:** 嗜酸乳杆菌; 冷冻干燥; 保护剂

## The Selection of Cryoprotective Agents during Lyophilizing *Lactobacillus acidophilus*

ZHAO Rui-xiang, LI Gang, YU Tao  
(Food College, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China)

**Abstract:** The survival rate of *Lactobacillus acidophilus* during lyophilizing, using different combination of cryoprotective agents, was determined. The result indicated that the cryoprotective agents had obvious effect on increasing the survival rate of *Lactobacillus acidophilus*; that different combination had different synergistic accumulation; and that the survival rates of La-1 and La-2 were 100% using the combination of 10% skim milk and 10% lactose.

**Key words:** *Lactobacillus acidophilus* lyophilization cryoprotective agent

中图分类号 TS252.1

文献标识码 A

文章编号 1002-6630(2004)11-0147-04

嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)是宿主(人和动物)肠道中的重要微生物, 其能顺利通过胃肠环境而定殖肠内<sup>[1]</sup>, 当达到一定数量时, 能够改善、调节宿主肠道内微生物菌群的平衡, 增强机体的免疫力, 降低胆固醇水平, 缓解乳糖不耐症以及抑制肿瘤细胞的形成等等, 即所谓的健康促进效果(Probiotic effects)<sup>[2,3]</sup>。嗜酸乳杆菌作为第三代酸奶发酵剂, 其菌种的保藏至关重要, 自70年代以来, 冷冻干燥技术已广泛应用于乳酸菌的菌种保藏。但是, 不同属的乳酸菌对冷冻干燥的抵抗力不同, 同一属的不同菌种间也存在着差异, 有关嗜热链球菌、保加利亚杆菌、植物乳杆菌等乳酸菌的冷冻干燥技术报道较多, 而对嗜酸乳杆菌的冷冻干燥技术目前尚未报道。

绝大多数乳酸菌冷冻干燥成功(存活率高、存活期长)的关键在于有效保护剂的使用。保护剂可以改变生物样品冷冻干燥时的物理、化学环境, 减轻或防止冷冻干燥或复水时细胞的损害, 尽可能保持原有的各种生理生化特性和生物活性<sup>[4]</sup>。因此, 本文主要采用不同保护剂的组合, 探讨其对嗜酸乳杆菌冷冻干燥过程中的保

护作用, 从而选择出适合于嗜酸乳杆菌冷冻干燥的最佳保护剂。

### 1 材料与方法

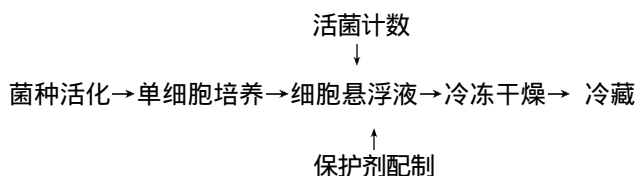
#### 1.1 材料

菌种 *Lactobacillus acidophilus* Ind-1(简称La-1)和*Lactobacillus acidophilus* Lakcid(简称La-2)来源于波兰罗兹技术大学食品化学与生物工程学院发酵工程与工业微生物系。

MRS 液体和固体培养基<sup>[5]</sup>

试剂: 乳糖; 谷氨酸钠; 酵母浸出物; 抗坏血酸; 蛋白胨; 麦芽糖; 葡萄糖; 柠檬酸钠; 0.05mol/L磷酸盐缓冲液; 甘油等。

#### 1.2 工艺流程



收稿日期: 2004-08-20

基金项目: 河南省高校杰出科研人才创新工程项目

作者简介: 赵瑞香(1966-), 女, 博士, 主要从事食品发酵微生物的教学与科学研究工作。

### 1.3 操作要点

#### 1.3.1 准备安瓿管

选择内径0.8cm、长5cm的安瓿管用2%盐酸浸泡8~10h,再经自来水洗数次,蒸馏水洗2~3次,然后置烘箱中烘干,管外粘上标签。

#### 1.3.2 培养菌种

将嗜酸乳杆菌接种于MRS液体培养基中,于恒温箱中37℃培养24h,然后于超净工作台上取1ml培养液,用无菌生理盐水以10倍递减稀释至 $10^{-6}$ ~ $10^{-8}$ 稀释度,取1ml稀释液均匀涂布于MRS琼脂固体培养基平板上,37℃培养24h。用接种环挑取单个大小一致的菌落,于MRS琼脂试管斜面培养基上划线,37℃培养24h。

#### 1.3.3 抗冷冻保护剂组合(表1)

表1 抗冷冻保护剂的试验组合

试验处理	保护剂配方
1	10%脱脂乳
2	10%脱脂乳+10%乳糖
3	10%脱脂乳+5%乳糖+1%谷氨酸钠
4	10%脱脂乳+3%乳糖+0.3%酵母浸出物
5	20%乳糖+0.5%VC
6	20%乳糖+10%蛋白胨
7	10%脱脂乳+3%麦芽糖+2%葡萄糖+3%柠檬酸钠+1%VC
8	0.05mol/L磷酸盐缓冲液+5%甘油
9	10%脱脂乳+3%麦芽糖+2%葡萄糖+3%柠檬酸钠+5%甘油
10	蒸馏水

#### 1.3.4 制备悬液和分装

将配制好的保护剂按每配方2ml分装于试管中,重

复3个试管,121℃灭菌15min,于超净工作台上倒入斜面培养基上,用接种环轻轻将斜面表面的细胞搅起,切不能使MRS琼脂斜面破碎,将悬浮液倒回试管中,在无菌条件下用长吸管取0.2ml直接滴入标有标签的安瓿管中上机。

#### 1.3.5 真空冷冻干燥

经过反复试验得出,将安瓿管于-35℃预冻1h之后抽气3min,然后在真空度10.67~12.00Pa条件下干燥约30h左右,安瓿管内温度由开始时-20℃以下逐渐升至室温,且样品达到干燥为止,取出安瓿管用火焰烧熔封口,在7℃条件下冷藏。

#### 1.3.6 活菌数测定

采用平板菌落计数法<sup>[5]</sup>。

#### 1.3.7 存活率的测定

取待测样品于超净工作台上将安瓿管口击破,加入2ml无菌生理盐水,静置20min使其复水,然后采用平板菌落计数法测定活菌数。

嗜酸乳杆菌存活率=(冷冻干燥后嗜酸乳杆菌的活菌数/冷冻干燥前嗜酸乳杆菌的活菌数)×100%

## 2 结果与分析

冷冻干燥制品在无菌条件下加无菌生理盐水复水后进行活菌计数,与冷冻干燥前活菌数进行比较可知,使用保护剂与否和使用不同保护剂组合对嗜酸乳杆菌在冷冻干燥过程中的保护作用存在明显差异,而且由于菌株不同,其保护作用也不一致(表2、3)。

对表2中存活率进行单因素方差分析可得表3:

表2 不同保护剂对La-1冷冻干燥存活率的影响

处理	冷冻干燥前活菌数(cfu/ml)			冷冻干燥后活菌数(cfu/ml)			存活率(%)		
	I	II	$\bar{X}$	I	II	$\bar{X}$	I	II	$\bar{X}$
1	2.28E+10	2.56E+10	2.42E+10	2.14E+10	1.82E+10	1.98E+10	88.43	75.21	81.82
2	2.40E+9	9.40E+8	1.67E+9	2.90E+9	2.24E+9	2.57E+9	100	100	100
3	2.20E+10	2.14E+10	2.17E+10	9.88E+9	9.94E+9	9.91E+9	45.53	45.81	45.67
4	4.16E+9	1.56E+10	9.88E+9	6.80E+8	8.76E+9	4.72E+9	6.88	88.66	47.77
5	6.24E+11	8.78E+10	3.56E+11	5.60E+10	3.06E+10	4.33E+10	15.73	8.60	12.16
6	3.48E+9	1.14E+10	7.44E+9	1.62E+9	1.54E+9	1.58E+9	21.77	20.70	21.24
7	2.80E+9	2.62E+9	2.71E+9	3.92E+10	1.76E+10	2.84E+10	100	100	100
8	5.60E+9	8.64E+9	7.12E+9	-	-	-	0	0	0
9	1.17E+11	1.01E+11	1.09E+11	3.20E+10	5.00E+10	4.10E+10	29.36	45.87	37.61
10	1.12E+10	1.24E+10	1.18E+10	3.11E+5	2.22E+5	2.67E+5	0.003	0.002	0.003

表3 方差分析表

方差来源	平方和(SS)	自由度(df)	均方(MS)	F值	临界值
处理	26776.1444	9	2975.127156	8.28**	$F_{0.01}(9,10)=4.94$
误差	3593.1944	10	359.39144		
总和	30369.3388	19			

表4 不同保护剂对La-2冷冻干燥存活率的影响

处理	冷冻干燥前活菌数(cfu/ml)			冷冻干燥后活菌数(cfu/ml)			存活率(%)		
	I	II	$\bar{X}$	I	II	$\bar{X}$	I	II	$\bar{X}$
1	1.94E+10	7.38E+9	1.34E+9	1.19E+10	6.40E+9	9.15E+9	88.81	47.76	68.28
2	1.10E+9	8.00E+8	9.50E+8	2.08E+9	3.22E+9	2.65E+9	100	100	100
3	4.60E+9	1.94E+9	3.27E+9	2.02E+9	3.70E+9	2.86E+9	61.77	113.15	87.46
4	3.06E+10	8.60E+9	1.96E+10	8.88E+9	6.82E+9	7.85E+9	45.31	34.80	40.05
5	5.78E+10	5.63E+10	5.71E+10	2.02E+10	1.38E+10	1.70E+10	35.38	24.17	29.77
6	9.86E+10	5.08E+10	7.47E+10	7.81E+9	8.92E+9	8.37E+9	10.46	11.94	11.20
7	1.68E+10	2.28E+9	9.54E+9	1.02E+10	1.60E+9	5.90E+9	106.92	16.77	61.84
8	2.16E+10	4.36E+10	3.26E+10	-	-	-	0	0	0
9	1.28E+10	1.66E+10	1.47E+10	2.02E+9	1.88E+9	1.95E+9	13.74	12.79	13.27
10	1.52E+10	3.60E+9	9.40E+9	-	-	-	0	0	0

表5 方差分析表

方差来源	平方和(SS)	自由度(df)	均方(MS)	F 值	临界值
处理	23927.38842	9	2658.598713	4.19*	F <sub>0.05</sub> (9,10)=3.02
误差	6347.1622	10	634.71622		
总和	30274.55062	19			

对表4中存活率进行单因素方差分析可得表5:

从表2可以看出,抗冷冻保护剂对La-1有一定的保护作用。处理(2)、(7)试验结果最好,存活率均为100%,处理(1)次之,存活率为81.82%,而处理(8)效果最差,存活率为0%,处理(10)为本试验的对照组。从表3可以看出,抗冷冻保护剂对La-2同样也具有保护作用。处理(2)效果最好,存活率为100%,处理(1)、(3)、(7)次之,存活率分别为68.28%、87.46%和61.84%,而处理(8)最差,存活率为0,对照组处理(10)也为0。综合表2和3,初步分析,脱脂乳是嗜酸乳杆菌最好的抗冷冻保护剂,如果再配合10%乳糖等可使抗冷冻效果更好,说明两者配合具有协同累加效应。但是,以10%脱脂乳为基础,再加其他保护剂如:谷氨酸钠、酵母浸出物、柠檬酸钠和甘油等,则出现了负面效应,存活率反而下降,说明他们之间的配合没有出现累加效应,而有拮抗效果。因此,保护剂的选择应进行适当配合,而不能无限制随意组合。从La-1、La-2两者试验中均可以看出,处理(5)、(6)的效果均不十分理想,La-1存活率分别是12.16%和21.24%,La-2的存活率分别是29.77%和11.20%。初步分析,单一以中性物质蔗糖为基础配和其他保护剂,如VC和蛋白胨等不如多配合几种物质,如脱脂乳等,这样效果更优。处理(8)单一使用甘油作保护剂,其效果最差,这可能与甘油本身的特性有关。由于甘油具有挥发性,且分子量较小,其随着抽真空和干燥过程而挥发掉,使嗜酸乳杆菌赤裸暴露于冷冻条件下,致使菌体因受冷而死亡。如果

将甘油配合其他保护剂使用使之产生协同累加效应,则保护效果增加。对照试验组(10),由于单一使用蒸馏水,无任何保护剂,结果嗜酸乳杆菌在冷冻条件下很容易死亡,存活率极低。总之,与对照组比较表明,保护剂的使用是嗜酸乳杆菌冷冻干燥过程中必不可少的。

### 3 结 论

3.1 保护剂对提高冷冻干燥过程中嗜酸乳杆菌的存活率有明显的效果。其中脱脂乳配合乳糖,嗜酸乳杆菌的存活率为100%,二者有协同累加效果。采用脱脂乳配合乳糖和谷氨酸钠或酵母浸出物或VC,使协同累加效果减少。

3.2 脱脂乳、乳糖、麦芽糖、葡萄糖、谷氨酸钠、酵母浸出物、VC、蛋白胨为嗜酸乳杆菌的抗冷冻保护剂。

3.3 抗冷冻保护剂配合中只要有脱脂乳,冷冻干燥的存活率就较高。其中10%脱脂乳+10%乳糖,La-1和La-2的存活率均为100%;10%脱脂乳La-1存活率为81.82%,La-2为68.28%;10%脱脂乳+3%乳糖+0.3%酵母浸出物La-1存活率为47.77%,La-2为40.05%,此配合较适于La-1,而对La-2效果略差些;10%脱脂乳+3%麦芽糖+2%葡萄糖+3%柠檬酸钠+1%VC,La-1存活率为100%,而La-2为61.84%,故此配合对La-1抗冷冻效果较好,而La-2次之。因此,同一抗冷冻保护剂对不同的菌株之间存在着明显的差异,有菌株的专一性。

3.4 20%乳糖+0.5%VC或10%蛋白胨不适合于嗜酸乳

# 无损伤栗果的微波爆壳工艺研究

陈从贵<sup>1,2</sup>, 王 武<sup>1,2</sup>, 张 莉<sup>3</sup>, 何竞旻<sup>1</sup>

(1. 合肥工业大学生物与食品工程学院, 安徽 合肥 230069

2. 农产品生物化工教育部重点实验室(合肥工业大学), 安徽 合肥 230069

3. 哈尔滨商业大学轻工学院, 黑龙江 哈尔滨 150001)

**摘 要:** 栗果的脱壳去衣是板栗深加工的头道工序, 历来是板栗加工的技术难题, 已成为发展板栗加工业的制约因素。研究将微波技术引入栗果脱壳过程, 以期找到一种有效的栗果脱壳去衣方法。研究结果表明: 利用微波技术可实现对栗果的一次性脱壳去衣, 一次性栗果爆壳率可达90%, 栗果微波爆壳的合理工艺条件为: 原料→ 称重分级 → 90℃预热干燥15 min → 微波脉冲处理(平均功率495 W)→ 爆裂栗果 → 分离壳衣 → 栗仁(粉)。

**关键词:** 微波; 栗果; 爆壳; 加工工艺

## Study on the Microwave Shelling Technology of Uninjured Chinese Chestnuts

CHEN Cong-gui<sup>1,2</sup>, WANG Wu<sup>1,2</sup>, ZHANG Li<sup>3</sup>, HE Jing-min<sup>1</sup>

(1. School of Biology and Food Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230069, China

2. Key Laboratory of Bio-process, Ministry of Education, Hefei University of Technology, Hefei, 230069, China 3. College of Light Industry, Harbin University of Commerce, Harbin 150001, China)

**Abstract:** The removing of shell and inner cover of Chinese chestnut, the first working procedure in chestnut deep processing, is always the technique difficulty to be resolved, which has become a restricting factor in Chinese chestnut processing industry. In this research, the microwave technology was introduced into the chestnut shelling for the purpose of developing an effective method of chestnut shelling. The results showed that the shelling could be achieved by microwave processing, where the shelling rate was 90% in one processing. The optimized technology conditions were as follows: raw chestnut → weighing and classifying → preheating and drying (90℃, 15 min) → pulsing treatment by microwave (average power 495 W) → cracking → removing of shell and inner cover → chestnut kernel (or powder).

**Key words:** microwave Chinese chestnuts shelling technology

中图分类号 TS255.35

文献标识码 A

文章编号 1002-6630(2004)11-150-04

板栗是我国特产, 素有“干果之王”的美誉<sup>[1]</sup>。

收稿日期: 2004-08-30

作者简介: 陈从贵(1963-), 男, 副教授, 硕士, 研究方向为高新技术在食品加工中的应用。

其果实营养丰富、药用价值较高,《本草纲目》中就有记载, 称其有“治肾虚, 腰脚无力”等功效<sup>[2]</sup>; 1992年召开的第一届世界栗业大会上, 板栗又被誉为高热量、低脂肪、高蛋白质、不含胆固醇的健康食品<sup>[3]</sup>。

杆菌的抗冷冻保护作用。同时, 单一使用甘油也不适于作为嗜酸乳杆菌的保护剂。

参考文献:

- [1] 赵瑞香, 李元瑞, 孙俊良, 等. 嗜酸乳杆菌在模拟胃肠环境中抗性的研究[J]. 微生物学通报, 2002, 29(2): 35-38.
- [2] Fuller R. Probiotics in human medicine[J]. Gut, 1991, 32:

439-442.

- [3] Alm L. The therapeutic effects of various cultures-an overview[A]. Therapeutic Properties of Fermented Milks [C]. New York: Elsevier Applied Science, 1991. 45-64.
- [4] 李钟庆. 微生物菌种保藏[M]. 北京: 科学技术出版社, 1989.
- [5] 赵瑞香, 李元瑞, 罗磊, 等. 嗜酸乳杆菌生产特性的研究[J]. 西北农林科技大学学报, 2002, 30(2): 85-88.