

# 喷雾干燥对德氏乳杆菌代谢酶活与可培养性的影响

蒋艾廷, 李宝坤\*, 金丹, 乔传丽, 杨婕, 赵利利

(石河子大学 食品学院, 新疆 石河子 832000)

**摘要:** 为了提高乳酸菌在喷雾干燥过程中的可培养性,以德氏乳杆菌 ATx 为研究对象,在分析不同热胁迫条件对其细胞可培养性的影响的基础上,以 20 g/dL 脱脂乳(SM)、12 g/dL 脱脂乳+8 g/dL 菊糖 (SMS)、12 g/dL 脱脂乳+8 g/dL 海藻糖 (SMT)、12 g/dL 脱脂乳+4 g/dL 菊糖+4 g/dL 海藻糖 (SMST)为保护剂,探讨了喷雾干燥对菌体己糖激酶、乳酸脱氢酶、细胞膜 ATP 酶、细胞可培养性以及产酸性能的影响。结果表明:德氏乳杆菌 ATx 的最佳热胁迫条件为(50 °C, 15 min),此时细胞活菌数仅下降 0.107 lg CFU/mL( $P \geq 0.05$ )。经过喷雾干燥后菌体的细胞膜 ATP 酶、己糖激酶与乳酸脱氢酶的活性均显著地降低( $P < 0.05$ ),但均高于对照组。四种菌粉在 12 g/dL 脱脂乳中的产酸性能良好,凝乳时间为 8~10 h,说明喷雾干燥会对德氏乳杆菌 ATx 的细胞膜与糖代谢关键酶造成损伤,通过添加保护剂可以提高细胞对喷雾干燥中不利环境的抵抗力,从而提高可培养性。

**关键词:** 喷雾干燥;代谢酶活;产酸性能;可培养性

中图分类号:TS 201.3 文章编号:1673-1689(2019)11-0115-07 DOI:10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.11.016

## Effects of Spray Drying on Metabolic Enzyme Activity and Culturability of *Lactobacillus delbrueckii*

JIANG Aiting, LI Baokun\*, JIN Dan, QIAO Chuanli, YANG Jie, ZHAO Lili

(College of Food Engineering, Shihezi University, Shihezi, xinjiang 832000, China)

**Abstract:** In order to improve the culturability of lactic acid bacteria during spray drying, taking *Lactobacillus delbrueckii* (ATx) as study objects, culturability of lactic acid bacteria have been investigated after heat stress. And the effects of spray drying on the activities of hexokinase, lactate dehydrogenase, cell membrane ATPase, cell viability and acid-producing capacity have been investigated in four kinds of protective agent (20% skim milk (SM), 12% skim milk +8% synanthrin (SMS), 12% skim milk +8% trehalose (SMT), 12% skim milk+4% synanthrin +4% trehalose (SMST)). The results showed that the optimal heat stress condition of ATx was (50 °C, 15 min), and the number of viable cells only decreased by 0.107 lg CFU / mL ( $P \geq 0.05$ ). It was worth mentioning that after spray drying, the activities of ATPase, carbohydrase and lactate dehydrogenase were significantly decreased ( $P < 0.05$ ), but all were still higher than the control

收稿日期: 2017-04-04

基金项目: 国家自然科学基金地区项目(31560444);石河子大学重点科技攻关项目(gxjs2014-zdgg07)。

\* 通信作者: 李宝坤(1979—),男,博士,副教授,硕士研究生导师,主要从事乳品微生物方面的研究。E-mail: libaokun1998@163.com

引用本文: 蒋艾廷,李宝坤,金丹,等. 喷雾干燥对德氏乳杆菌代谢酶活与可培养性的影响[J]. 食品与生物技术学报,2019,38(11):115-121.

group. Four kinds of bacterial powder in the 12% skim milk had a good acid-producing capacity and curd time was 8-10 h, these indicated that spray drying could damage the cell membrane and the key enzyme of glycometabolism in ATx. In order to improve the culture culturability, we could add protective agent to improve the resistance of cells to unfavorable environment in spray drying.

**Keywords:** spray drying, metabolic enzyme activity, acid-producing capacity, culturability

乳酸菌(lactic acid bacteria)是一类能够发酵乳糖生成乳酸的革兰氏阳性益生菌,对人体健康起着至关重要的作用<sup>[1]</sup>。通常人们通过食用含活菌制品或含菌体组分及代谢产物的死菌制品来维持人体肠道内的菌群平衡,发酵乳制品因其丰富的营养价值与益生作用受到许多消费者的青睐<sup>[2-4]</sup>,发酵剂中乳酸菌的细胞活力与细胞数量是影响发酵食品质量的关键因素<sup>[5]</sup>。目前,乳酸菌发酵剂的生产方式主要为冷冻干燥和喷雾干燥<sup>[6]</sup>。喷雾干燥是在干燥室利用热空气,将进料溶液雾化,去除水蒸气得到干粉物质。与冷冻干燥相比,喷雾干燥设备投入低、操作简单、容易扩大规模和连续生产<sup>[7-10]</sup>。但是,高温、干燥、氧化等环境使菌体遭受到严重的损伤或大量死亡<sup>[11-13]</sup>。多年以来,国内外针对喷雾干燥导致乳酸菌活力低下的问题,开展了大量的研究工作。在乳酸菌喷雾干燥方面,深入研究乳酸菌在喷雾干燥过程中的微生物学性质与存活机理,结合添加保护剂、乳酸菌收获阶段、胁迫处理和喷雾干燥工艺参数选择等多种手段,提高乳酸菌的活力一直是乳酸菌喷雾干燥研究的重点<sup>[14-16]</sup>。

目前,我国商业化发酵剂生产厂家较少,发酵剂市场被国外公司垄断。作者以德氏乳杆菌(*Lactobacillus delbrueckii*)ATx(KY310724)为研究对象,检测细胞的亚致死温度以及分析在喷雾干燥过程中保护剂对细胞存活率、细胞膜 ATP 酶、糖代谢关键酶和产酸性能的影响,为乳酸菌喷雾干燥提供理论支持,促进我国发酵剂的工业化生产。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验菌株:德氏乳杆菌(*Lactobacillus delbrueckii*)ATx(KY310724),从新疆塔城地区传统酸奶中分离,由石河子大学食品学院保存。

MRS 肉汤:青岛海博生物技术有限公司;考马斯亮蓝 G-250:美国 Amresco 公司;己糖激酶(HK)、

Ca<sup>2+</sup>Mg<sup>2+</sup>、Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>、总 ATP 酶试剂盒:南京建成生物公司;乳酸脱氢酶试剂盒(LDH):北京索莱宝科技有限公司;保护剂:20%脱脂乳(SM)、12%脱脂乳+8%菊糖(SMS)、12%脱脂乳+8%海藻糖(SMT)、12%脱脂乳+4%菊糖+4%海藻糖(SMST),105 °C灭菌 20 min。

### 1.2 主要仪器设备

VCX500 型超声波细胞破碎仪:美国 Sonics 公司;SD-100 型喷雾干燥机:日本 EYELA(东京理化)东京理化器械株式会社;Neoluge 15R 型台式高速冷冻离心机:香港力康发展有限公司;752 型紫外可见分光光度计:上海光谱仪器有限公司;DNP-9272 型电热恒温培养箱:上海精宏实验设备有限公司;LDZX-30KBS 型电热蒸汽灭菌锅:上海申安医疗器械厂;SW-CJ-2D 型超净工作台:苏州苏洁净化设备有限公司。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 细胞前处理** 乳酸脱氢酶(LDH)的测定:收集乳酸菌细胞到 5 mL 离心管(8 000 r, 4 °C, 10 min),倒掉上清液,加入 5 mL 提取液,冰水浴超声破碎(功率 200 W,超声 3 s,间隔 10 s,重复 30 次),在 4 °C 下 8 000 r 离心 10 min,取上清液,置于冰上待测;己糖激酶(HK)的测定:取 5 mL 菌液在室温下,1 000 r/min 离心 10 min,倒掉上清液用 PBS 缓冲液(0.1 mol/L, pH 6.8)洗涤 2 次后重悬,进行超声破碎(功率 300 W,每次 3~5 s,间隔 4 次,间隔 30 s,冰水浴);细胞 ATP 酶的测定:取 5 mL 菌液离心(2 500 r, 10 min)弃上清液,留下层细胞,用 PBS 缓冲液(0.1 mol/L, pH 6.86)重悬超声,条件同上,破碎好的细胞悬浮液直接用于以上酶活的检测。

**1.3.2 热处理** 将培养至对数末期(16~18 h)的德氏乳杆菌浓缩富集至 11 lg CFU/mL 左右,离心(4 °C, 6 000 r, 10 min),用 pH 6.86 的 PBS 缓冲液洗涤 2 次,在相同的条件下离心重悬。将细胞用漩涡混匀仪混匀,分别置于 46、50、54、58 °C 处理 3、6、9、12、15 min,以未经过热处理的细胞作为对照,测定其细

胞活菌数的变化。

**1.3.3 喷雾干燥** 将 50 mL 已配好的保护剂加入经过热处理后离心的菌泥中,同时以添加 50 mL PBS 作为对照,进行喷雾干燥。喷雾干燥条件为:入口温度 150 ℃;出口温度 70~74 ℃;进料流量 300 mL/h;热空气流量 0.5 m<sup>3</sup>/h;喷雾压力 15×10 kPa。

**1.3.4 蛋白质的测定** 采用考马斯亮蓝法测定蛋白质<sup>[17]</sup>。

**1.3.5 酶活与细胞可培养性的测定** 己糖激酶(HK)、丙酮酸激酶(PK)、乳酸脱氢酶(LDH)的测定:采用北京索莱宝科技有限公司的相应试剂盒;可培养性的测定:通过将经过喷雾干燥的菌粉,重新溶解于相同体积的 PBS 缓冲液中,采用菌落平板计数法计算活菌数。

**1.3.6 数据统计分析** 采用 Origin 2016 软件作图,利用 Minitab 16 软件中的 Fisher 单因子多重比较对实验数据进行方差分析,置信水平为 95%,"\*"或不同字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 热胁迫对细胞可培养性的影响

收集对数末期的菌体,重悬于 PBS 缓冲液中,通过不同温度热处理后,以未经热处理的菌体作为对照,结果见图 1。当热胁迫温度低于 50 ℃时,德氏乳杆菌的活菌数随着温度的逐渐升高变化不明显;当热处理温度高于 50 ℃时,德氏乳杆菌的活菌数随着温度的升高显著下降。当德氏乳杆菌在 46 ℃胁迫 0~15 min 时,活菌数仅下降 0.08 lg CFU/mL,几乎未发生死亡。当德氏乳杆菌在 50 ℃胁迫 0~15 min 时,活菌数下降 0.107 lg CFU/mL,与未经热胁迫的对照相比,差异不显著。当德氏乳杆菌在 54 ℃处理时,从第 3~15 分钟开始,活菌数均显著地下降( $P<0.05$ ),活菌数从 10.57 lg CFU/mL 下降至 8.58 lg CFU/mL,降低了 1.99 lg CFU/mL。当热胁迫温度为 58 ℃时,德氏乳杆菌大量的死亡,热胁迫 3 min 时,活菌数从 10.55 lg CFU/mL 下降为 8.60 lg CFU/mL,随后依次显著的下降( $P<0.05$ ),当热胁迫时间为 15 min 时,德氏乳杆菌的活菌数仅为 5.62 lg CFU/mL,降低了 4.93 lg CFU/mL。

研究<sup>[18]</sup>发现,乳酸菌的最适生长温度集中在 30~37 ℃,喷雾干燥过程中的过高的温度导致菌体细胞大量脱水、细胞膜受到损害,从而造成菌体失

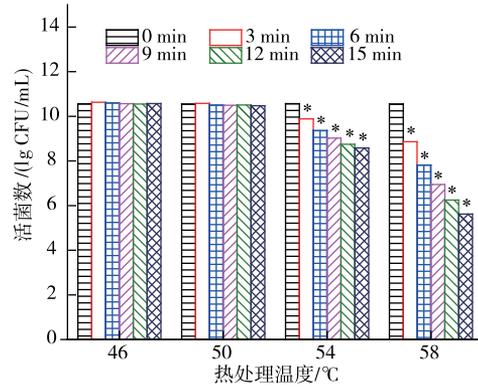


图 1 热胁迫对细胞可培养性的影响

Fig. 1 Influence of heat stress on cell culturability

活<sup>[19]</sup>。自然状态下的大多数微生物在生长过程中均受到各种胁迫环境的影响,微生物在各种胁迫环境下具有自我调控能力,并通过各种生理反应来适应不利环境<sup>[20]</sup>。乳酸菌在高温条件下通常会发生热应激。热应激是生物在高于正常生理温度环境下抵御高温环境的应激反应<sup>[21]</sup>。目前,通过热胁迫来提高乳酸菌在喷雾干燥中的活菌数是常用的技术手段之一。乳酸菌受到热胁迫后可以调控自身的防御系统来调节相关基因的表达和代谢途径,产生一系列热激蛋白以降低或消除热胁迫的伤害。Lavari<sup>[22]</sup>发现温和的热胁迫能够有效的减少乳酸菌在喷雾干燥中的死亡,Desmond<sup>[23]</sup>发现采用亚致死温度进行热胁迫能够提高乳酸菌对高温的耐受性。因此作者选择 46~58 ℃作为热胁迫的温度,发现乳酸菌经 50 ℃胁迫 15 min 后,活菌数未发生明显变化( $P\geq 0.05$ ),选择其作为热胁迫的条件,这与 Zhang Yun 等<sup>[24]</sup>的研究结果相同。

### 2.2 保护剂对细胞可培养性的影响

喷雾干燥是一个剧烈的、综合的胁迫过程,涉及到脱水干燥、高渗胁迫、高温胁迫等,导致菌体的活菌数降低。在发酵剂的制备过程中,保护剂对生物体或生物大分子具有良好的非特异性保护作用,能有效提高喷雾干燥过程中乳酸菌的活菌数<sup>[25]</sup>。采用 20 g/dL 脱脂乳、12 g/dL 脱脂乳+8 g/dL 菊糖、12 g/dL 脱脂乳+8 g/dL 海藻糖及 12 g/dL 脱脂乳+4 g/dL 菊糖+4 g/dL 海藻糖作为保护剂,与不加护剂的菌体为对照,进行喷雾干燥。由图 2 可以看出,添加保护剂能够有效提高德氏乳杆菌的细胞活菌数,不同的保护剂对德氏乳杆菌的保护效果是有差异的。未添加保护剂的菌液经过喷雾干燥后的活菌数明显的降

低( $P<0.05$ ),降低了 2.29 lg CFU/mL, SMS 对德氏乳杆菌的保护效果最好,经过喷雾干燥后,活菌数降低较小,与对照组相比,无明显差异。其次对德氏乳杆菌保护较好的是 SMST 与 SMT,经过喷雾干燥后活菌数分别降低了 0.21 lg CFU/mL 与 0.36 lg CFU/mL,与对照组相比具有显著差异( $P<0.05$ )。SM 对的德氏乳杆菌的保护效果相对弱于前三种,经喷雾干燥后,活菌数下降了 0.92 lg CFU/mL。

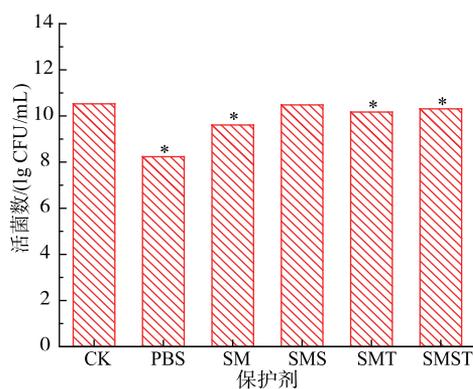


图 2 保护剂对细胞可培养性的影响

Fig. 2 Influence of protective agent on cell culturability

研究表明,脱脂乳粉是制备发酵剂时运用最广泛的保护剂之一<sup>[26]</sup>,其中的乳糖和乳清蛋白能对菌种产生较好的保护作用,通常以“包埋”的形式将菌体与外界不利环境隔离,减少因细胞壁损伤而引起的胞内物质泄漏,起到保护菌体的作用。此外,一些糖类物质也能够提高干燥过程中菌体细胞膜和蛋白质的稳定性,从而提高细胞的活力<sup>[27]</sup>。以功能性低聚糖作为益生菌的保护剂能够促进动物机体健康和调节肠道微生物体系平衡等保健作用<sup>[28]</sup>。本研究选取的四种保护剂均能够提高乳酸菌在喷雾干燥过程中细胞膜的稳定性,减少高温、脱水等不利环境对细胞膜的损伤,从而达到保护细胞的作用。

### 2.3 保护剂对细胞己糖激酶与乳酸脱氢酶的影响

己糖激酶(HK)与乳酸脱氢酶(LDH)是糖代谢途径中的关键酶,广泛的存在于各种动物、植物、微生物与培养细胞中,己糖激酶是糖代谢途径中的第一个酶,其活性大小与糖代谢速率相关,乳酸脱氢酶是糖代谢途径的末端酶,催化丙酮酸与乳酸之间的可逆反应,其活性大小与微生物的产酸能力有关。作者测定保护剂对德氏乳杆菌喷雾干燥菌粉的己糖激酶与乳酸脱氢酶活力的影响,结果见图 3。

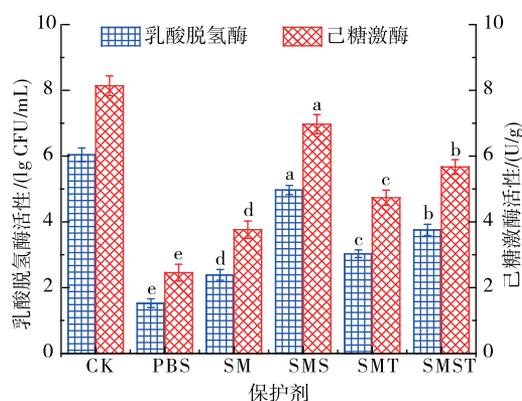


图 3 保护剂对细胞己糖激酶与乳酸脱氢酶的影响

Fig. 3 Influence of protective agent on cell hexokinase and lactate dehydrogenase

由图 3 可以看出,保护剂对德氏乳杆菌乳酸脱氢酶活力的影响为:SMS>SMST>SMT>SM>PBS。对己糖激酶活力的影响为:SMS>SMST>SMT>SM>PBS。经过 PBS 处理的菌液喷雾干燥后,乳酸脱氢酶与己糖激酶的活力分别由 6.039 4 U/mg 与 8.137 8 U/g 下降为 1.524 9 U/mg 与 2.454 6 U/g,大约降低了 4 倍。通过添加 SMS 的德氏乳杆菌乳酸脱氢酶与己糖激酶活力分别由 6.039 4 U/mg 与 8.137 8 U/g 下降为 4.967 5 U/mg 与 6.971 6 U/g,下降了 1.21 与 1.17 倍,其余三种保护剂的保护效果均弱于 SMS。经过喷雾干燥后,己糖激酶与乳酸脱氢酶的活力均有不同程度的下降。但也可以看出,未添加保护剂的喷雾干燥菌粉的两种酶,活力最低,说明保护剂能够减小己糖激酶与乳酸脱氢酶活力的损失。此外,保护剂的成分对酶活的损失也有一定的影响。

### 2.4 保护剂对细胞 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Na}^{+}\text{K}^{+}$ 与总 ATP 酶的影响

ATP 酶广泛存在于组织细胞及细胞器的膜上,是生物膜上的一种蛋白酶,它在物质运送、能量转换以及信息遗传方面具有重要的作用,细胞在缺氧或者一些其他胁迫状态下,此酶活力会发生改变。作者测定保护剂对德氏乳杆菌喷雾干燥菌粉的  $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Na}^{+}\text{K}^{+}$  与总 ATP 酶活力的影响,结果见图 4。

由图 4 可知,在喷雾干燥过程中 SM、SMS、SMT、SMST 能够对德氏乳杆菌提供一定的保护效果。添加四种保护剂的乳酸菌经过喷雾干燥后细胞膜的  $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 与  $\text{Na}^{+}\text{K}^{+}$ -ATPase 活力均明显( $P<0.05$ )高于 PBS 组,但四种保护剂之间无明显差

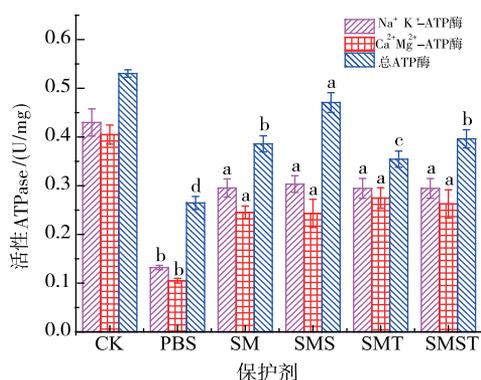


图4 保护剂对细胞膜ATP酶的影响

Fig. 4 Influence of protective agent on cell membrane ATPase

异。添加四种保护剂的乳酸菌经过喷雾干燥后细胞膜的总ATP酶活力也均高于PBS组( $P < 0.05$ ),但四种保护剂对总ATP酶活力的影响有显著的差异,其中,SMS对细胞膜总ATP酶活力影响最大,与喷雾前的菌体酶活相比,仅下降了0.059 53 U/mg,与对PBS组相比,酶活提高了0.206 07 U/mg。SM与SMST对细胞膜总ATP酶的影响差异不明显,与喷雾前的菌体酶活相比分别下降了0.144 43、0.134 07 U/mg,与对PBS组相比,酶活分别提高了0.121 17、0.131 53 U/mg。SMT对细胞膜总ATP酶活力的保护效果明显弱于( $P < 0.05$ )前三种保护剂,但与PBS组相比也具有明显( $P < 0.05$ )的效果。

### 2.5 保护剂对乳酸菌产酸性能的影响

在发酵乳制品的加工与制造的过程中,乳酸菌能将原料乳中的乳糖分解成葡萄糖与半乳糖,葡萄糖进一步分解成乳酸,使pH逐渐降低达到酪蛋白的等电点4.6左右时,牛乳开始凝固。乳酸菌的产酸特性能够直接关系到产品的最终质量,本研究测定了在42℃的条件下经不同保护剂处理的德氏乳杆菌在12%的脱脂乳中的产酸情况,见图5。

由图5可知,经过四种保护剂处理的德氏乳杆菌在12 g/dL的脱脂乳中生长良好,经过发酵16 h后,脱脂乳的pH值由6.37下降至4.0以下,凝乳时间在8~10 h之间。在0~2 h时,脱脂乳的pH几乎未发生改变,pH值仅下降0.08;发酵2 h后脱脂乳的pH开始逐渐的下降,当发酵时间为4~6 h时,脱

脂乳pH下降的速率最大;当发酵时间至8 h时,脱脂乳开始凝固,凝乳时间:SMS<SMST<SMT<SM。随后脱脂乳的pH下降速率逐渐变缓,发酵16 h后脱脂乳的pH基本不再改变。

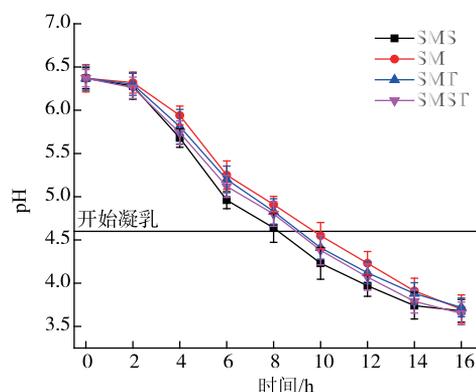


图5 保护剂对乳酸菌产酸性能的影响

Fig. 5 Influence of protective agent on acid-producing ability of lactic acid bacteria

## 3 结语

在喷雾干燥过程中,不同保护剂对德氏乳杆菌ATx的保护效果不同,四种保护剂对喷雾干燥活菌数的保护效果为:SMS>SMST>SMT>SM,说明SMS可以有效降低( $P < 0.05$ )德氏乳杆菌ATx的死亡。也可以看出,在12 g/dL脱脂乳的基础上,8 g/dL菊糖的保护效果优于8 g/dL海藻糖。同时测定了喷雾干燥对细胞膜ATP酶活力的影响,四种保护剂对细胞膜ATP酶的保护效果均为:SMS>SMST>SMT>SM。与其它三种保护剂相比,SMS能够有效的保护细胞膜,提高细胞膜的稳定性,同时也说明喷雾干燥中德氏乳杆菌细胞的死亡与细胞膜ATP酶有密切的关系。四种喷雾干燥菌粉在脱脂乳中均能正常生长,凝乳时间为8~10 h。由于真空冷冻干燥制备乳酸菌发酵剂价格昂贵、操作复杂<sup>[29]</sup>,而喷雾干燥具有低成本、产品保存时间长、运输方便等优点<sup>[30]</sup>,因此利用喷雾干燥制备乳酸菌发酵剂很有前景。本研究为乳酸菌的喷雾干燥技术提供理论支持,但针对乳酸菌喷雾干燥的工艺与发酵剂贮藏条件还需要后续深入研究。

## 参考文献:

- [ 1 ] SARIM K, MENG W, DARRY M, et al. Agent selection and protective effects during single droplet drying of bacteria[J]. **Food Chemistry**, 2015, 166(2): 206-214.
- [ 2 ] ASTRUP A. Yogurt and dairy product consumption to prevent cardiometabolic diseases: epidemiologic and experimental studies [J]. **American Journal of Clinical Nutrition**, 2014, 99(5): 1235-1242.
- [ 3 ] KUIMAR A, KUMAR D. Characterization of *Lactobacillus* isolated from dairy samples for probiotic properties[J]. **Anaerobe**, 2015, 33: 117-123.
- [ 4 ] CHEN Jiankai, PAN Yuntian, LIU Xun, et al. Optimized the fermentation condition for highly active Lactococcus in fermented milk beverage[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2009, 28(4): 559-563. (in Chinese)
- [ 5 ] KARIMIR, MORTAZAVIAN A M, Amiri-Rigi A. Selective enumeration of probiotic microorganisms in cheese[J]. **Food Microbiol**, 2012, 29(1): 1-9.
- [ 6 ] MENG X C, STANTON C, FITZGERALD G F, et al. Anhydrobiotics: the challenges of drying probiotic cultures[J]. **Food Chemistry**, 2008, 106(4): 1406-1416.
- [ 7 ] KNORR D. Technological aspects related to microorganisms in functional foods[J]. **Trends in Food Science & Technology**, 1998, 9(8): 295-306.
- [ 8 ] CHAVEZ B, LEDEBOER A. Drying of probiotics: Optimization of formulation and process to enhance storage survival[J]. **Drying Technology**, 2007, 25(7-8): 1193-1201.
- [ 9 ] HEIDEBACH T, FORST P, KULOZIK U. Microencapsulation of probiotic cells for food applications[J]. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2012, 52(4): 291-311.
- [10] COOK M T, TZORTZIS G, CHARALAMPOPOULOS D, et al. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery[J]. **J Control Release**, 2012, 162: 56-67.
- [11] RIVEROS B, FERRER J, BORQUEZ R. Spray drying of a vaginal probiotic strain of *Lactobacillus acidophilus*[J]. **Drying Technology**, 2009, 27(1): 123-132.
- [12] GARRE E, RAGINEL F, PALACIOS A. Et al. Oxidative stress responses and lipid peroxidation damage are induced during dehydration in the production of dry active wine yeasts[J]. **Int J Food Microbiol**, 2010, 136(3): 295-303.
- [13] LEMETAIS G, DUPONT S, BENEY L, et al. Air-drying kinetics affect yeast membrane organization and survival[J]. **Appl Microbiol Biotechnol**, 2012, 96(2): 471-480.
- [14] PEREIRA A L F, ALMEIDA F D L, LIMA M A, et al. Spray-drying of probiotic cashew apple juice[J]. **Food And Bioprocess Technology**, 2014, 7(9): 2492-2499.
- [15] PERDANA J, BESTEN H M W, ARYANI D C, et al. Inactivation of *Lactobacillus plantarum* WCFS1 during spray drying and storage assessed with complementary viability determination methods[J]. **Food Research International**, 2014, 64: 212-217.
- [16] KINGWATEE N, APICHARTSRANGKON A, CHAIKHAM P. Spray drying *Lactobacillus casei* 01 in lychee juice varied carrier materials[J]. **Lwt-Food Science And Technology**, 2015, 62(1): 847-853.
- [17] WENG Y P, HSU F, YANG W, et al. Optimization of the overexpression of glutamate mutase component under the control of T7 system by using lactose and IPTG as the inducers[J]. **Enzyme and Microbial Technology**, 2006, 38(3-4): 465-469.
- [18] PRASAD J, MCJARROW P, GOPAL P. Heat and osmotic stress responses of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* HN001 (DR20) in relation to viability after drying[J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 2003, 69(2): 917-925.
- [19] CARVALHO A S, SILVA J, TEIXEIRA P, et al. Survival of freeze-dried *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus rhamnosus* during storage in the presence of protectants[J]. **Biotechnology Letters**, 2002, 24: 1587-1591.
- [20] WANG Xueliang, HAN Xue, WANG Haijuan, et al. Studying progress of *Lactobacillus*'s responses in a variety of stress[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2015, 36(6): 365-369. (in Chinese)
- [21] SUI Xin, CHEN Lijun, REN Fazheng, et al. Effects of heat-shock *Lactobacillus helveticus* on cheddar cheese ripening[J]. **Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery**, 2009, 40(10): 135-139. (in Chinese)
- [22] LAVARI L, IANNIELLO R, PAEZ R, et al. Growth of *Lactobacillus rhamnosus* 64 in whey permeate and study of the effect of mild stresses on survival to spray drying[J]. **LWT - Food Science and Technology**, 2015, 63(1): 322-330.
- [23] DESMOND C, STANTON C, FITZGERALD G F, et al. Environmental adaptation of probiotic lactobacilli towards improvement

- of performance during spray drying[J]. **International Dairy Journal**,2001,11(10):801-808.
- [24] ZHANG Y,LIN J,ZHONG Q X. Effects of media,heat adaptation,and outlet temperature on the survival of *Lactobacillus salivarius* NRRL B-30514 after spray drying and subsequent storage[J]. **Lwt-Food Science And Technology**,2016,74:441-447.
- [25] NAN F,ZHENG X F ,CHEN X D ,et al. Towards a maximal cell survival in convective thermal drying processes[J]. **Food Research International**,2011,44(1):1127-1149.
- [26] WANG Na, GUO Shilei, ZHANG Yongxiang, et al. Selection of protectants for freezing and freeze-drying of acetic acid bacteria [J]. **Food and Fermentation Industries**,2015,41(3):135-139.(in Chinese)
- [27] PAN Yan, HE Shengjiang. Effects of protecting agent on survival rate of ensilage *lactobacillus plantarum* in freeze-drying and storing process[J]. **Feed Industry**,2010,31(6):36-39.(in Chinese)
- [28] ZHANG Ju, LI Wei, LI Jinmin, et al. Research progress of functional oligosaccharide as probiotic freeze-dried protective agent and its application in animal husbandry[J]. **Chinese Journal of Animal Husbandry**,2012,48(24):56-59.(in Chinese)
- [29] CHAMPAGNE C P, GARDNER N, BROCHU E, et al. The freeze-drying of lactic acid bacterial. A review [J]. **Canadian Institute of Food Science and Technology Journal**,1991,24(3-4):118-128.
- [30] NIU Huaxin, GUO Shidong, XIE Zhongguo, et al. Optimization of technology for microencapsulation of methionine by spray-drying[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2010,29(5):681-686.(in Chinese)

## 科技信息

### 澳大利亚更新运动食品配方补充剂要求

2019年9月16日,澳大利亚农业部发布 IFN 15-19 号公告,更新运动食品配方补充剂要求。目前进口的部分运动食品配方补充剂并不符合澳大利亚新西兰食品标准法典,会对人类健康造成风险。含有下列物质的产品不得进口,如果产品已经配送则应禁止销售:列入计划的有毒物质/药物,比如 1,3-二甲基胺(DMAA);未经批准的新食品(比如含地那明或甲基利伯林);禁用植物性治疗药物;不允许使用的营养物质(如瓜氨酸);超过允许含量的物质(如 L-丙氨酸含量超过 1.2 g/d)。

[信息来源]浙江省应对技术性贸易壁垒信息服务平台. 澳大利亚更新运动食品配方补充剂要求 [EB/OL]. (2019-9-19).  
<http://zjtbt.org/News/>

### 美国修订多杀菌素在茶叶和速溶茶中的最大残留限量

2019年9月19日,美国联邦公报网站消息,环保署发布 2019-19664 号规则文件,将多杀菌素(Spinosad)在茶叶和速溶茶中的最大残留限量修订为 2 mg/kg。修订限量于发布之日起生效。

[信息来源]海关总署. 美国修订多杀菌素在茶叶和速溶茶中的最大残留限量 [EB/OL]. (2019-9-20).  
<http://www.customs.gov.cn/customs/jyjj/jckspaq/fxyj/bzfg/2602560/index.html>

### 加拿大批准一种谷氨酰胺酶用作食品酶

2019年9月4日,加拿大卫生部发布 NOP/ADP-0031 号文件,修订允许使用的食物酶列表,批准来自解淀粉芽孢杆菌 GT2 菌株(*Bacillus amyloliquefaciens* GT2)的谷氨酰胺酶(glutaminase)作为食品酶用于以下 4 类产品:1. 乳制品调味剂; 2. 水解动物蛋白、乳蛋白和植物蛋白;3. 未标准化蛋制品;4. 酵母膏。

产品限量标准均为按照良好生产规范适量使用。该规定自发布之日起生效。

[信息来源]食品伙伴网. 加拿大批准一种谷氨酰胺酶用作食品酶[EB/OL]. (2019-9-6).  
<http://news.foodmate.net/2019/09/532864.html>