

# 水分对干酪乳杆菌 LC-134 冻干粉的贮存稳定性的影响

鲍志宁<sup>1,2</sup>, 魏培培<sup>1</sup>, 林伟锋<sup>1,3</sup>

(1. 广州科盛生物科技有限公司, 广东广州 510663) (2. 广州市微生物研究所, 广东广州 510663)

(3. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

**摘要:** 本文研究了水分含量和水分活度 ( $A_w$ ) 对干酪乳杆菌 LC-134 (简称 LC-134) 冻干粉在贮存过程中的稳定性影响。将不同水分含量和  $A_w$  的 LC-134 冻干粉分别在 -18 °C 和 25 °C 条件下贮存 12 个月和 6 个月, 定期测定 LC-134 冻干粉中的活菌数的变化趋势, 并且探讨保护剂中的聚葡萄糖含量对冻干粉的水分含量和  $A_w$  的影响; 研究表明, 贮存于 -18 °C 条件下, LC-134 冻干粉水分含量  $\leq (5.14 \pm 0.06) \times 10^{-2}$  g/g 或者  $A_w \leq 0.31 \pm 0.01$  时, 在贮存的 12 个月中, 活菌数没有明显的下降; 然而, 贮存于 25 °C 条件下达到活菌数稳定, 则要求 LC-134 冻干粉的水分含量低于  $(3.06 \pm 0.05) \times 10^{-2}$  g/g 或者  $A_w$  低于  $0.25 \pm 0.01$ 。聚葡萄糖的添加, 可降低水分含量相同的 LC-134 冻干粉的  $A_w$ , 而且水分含量越高, 这种作用越明显。

**关键词:** 水分含量; 水分活度; 干酪乳杆菌; 冻干粉; 贮存稳定性

文章编号: 1673-9078(2017)3-216-221

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.3.033

## Effects of Moisture on the Storage Stability of *Lactobacillus casei* LC-134 Lyophilized Powder

BAO Zhi-ning<sup>1,2</sup>, WEI Pei-pei<sup>1</sup>, LIN Wei-feng<sup>1,3</sup>

(1. Guangzhou Kesheng Biotechnology Co. Ltd., Guangzhou 510663, China) (2. Guangzhou Institute of Microbiology, Guangzhou 510663, China) (3. School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** The effects of moisture content and water activity ( $a_w$ ) on the storage stability of *Lactobacillus casei* LC-134 (LC-134) lyophilized powder were studied. LC-134 lyophilized powders with different moisture contents and  $a_w$  values were stored at -18 °C for 12 months and at 25 °C for six months, respectively. Viable cell count variation of the powders were measured regularly, and the influence of polydextrose concentration in the lyoprotectant on the moisture content and  $a_w$  of the powders was explored. The results showed that during 12 months of storage at -18 °C, no significant decrease was found in the viable cell counts of the LC-134 lyophilized powders with a moisture content of less than  $(5.14 \pm 0.06) \times 10^{-2}$  g/g or an  $a_w$  value of less than  $0.31 \pm 0.01$ . However, the viable cell count was stable at 25 °C during six months of storage if the moisture content was less than  $(3.06 \pm 0.05) \times 10^{-2}$  g/g or  $a_w$  was less than  $0.25 \pm 0.01$ . The addition of polydextrose could reduce the  $a_w$  value of LC-134 lyophilized powders with the same moisture content. Moreover, the higher the moisture content, the more significant the effect.

**Key words:** moisture content; water activity; *Lactobacillus casei*; lyophilized powders; storage stability

为了提高诸如干酪乳杆菌、双歧杆菌和植物乳杆菌等益生菌的贮存性能, 生产上常常使用真空冷冻干燥技术将其干燥成粉状(简称冻干粉), 然后贮存起来。由于益生菌在真空冷冻干燥过程中, 会遭受冷冻、加

收稿日期: 2016-04-11

基金项目: 2016 年广州市科技型中小企业技术创新资金专项(初创项目)(2015051439494)

作者简介: 鲍志宁(1983-), 女, 博士, 工程师, 研究方向: 食品生物技术  
通讯作者: 林伟锋(1970-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 食品生物技术

热升华干燥的影响, 稍微处理不当, 会导致大量的活细胞死亡, 妨碍益生菌的生产与商业化; 为此, 如何降低真空冷冻干燥过程的微生物死亡, 提高活菌得率, 成为益生菌冻干粉生产商业化的关键步骤之一。因而, 近 10 多年以来国内开展了大量的、积极的研究, 并从冻干损伤机理及其解决方法方面, 取得不少研究成果, 益生菌的冻干存活率达到 80% 以上<sup>[1-9]</sup>。然而, 对于益生菌商业化的另一关键步骤-冻干粉在贮存过程中的稳定性变化情况的研究, 则几乎无人问津了。当前,

无论是商业上还是科研上,人们根据真空冷冻干燥技术的条件推理,则常把益生菌菌粉一般存放-18℃的冷冻条件下,没有考虑常温贮存的可能性,因而几乎没有对此加以详尽的研究与分析;但是,在冷冻条件下存放的加工食品很少,这一存放条件大大局限了益生菌均在食品工业中的应用。然而,实际上益生菌的冻干粉可否在常温条件下贮存?如果能够常温存放,则活菌数衰退情况如何?并且如何提高益生菌冻干粉贮存过程活菌数的稳定性?根据微生物生理学原理,可知影响微生物菌粉贮存稳定性的关键要素是水分。

本文是以干酪乳杆菌为研究对象,对比-18℃冷冻贮藏和常温25℃存放条件下,水分(包括水分含量和 $A_w$ )因素对其冻干粉在贮存过程中的稳定性的影响情况,以期获得可在常温25℃下能够稳定存放6个月的干酪乳杆菌冻干粉的条件,实现降低水分对冻干粉贮存稳定性的负面影响的的目的,为拓展益生菌在食品加工业中广泛应用,解决其常温贮存的制约因素。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种

本论文所用干酪乳杆菌干酪乳杆菌亚种 LC-134 (*Lactobacillus casei* LC-134)由华南理工大学食品科学与工程学院保藏<sup>[10]</sup>。

### 1.2 试剂与试验设备

#### 1.2.1 主要试剂

MRS 固体培养基,胰蛋白胨,冻干保护剂<sup>[10]</sup>,广东环凯微生物生物科技有限公司;聚葡萄糖(食品级),市售。

#### 1.2.2 主要仪器设备

超净工作台,苏州净化设备有限公司;微型涡流混合仪 WH-2,上海沪西分析仪器厂;手提式高压灭菌锅,上海三申医疗器械有限公司;真空冷冻干燥机,上海东富龙科技有限公司;发酵罐组 BIOF-6010s,上海高机生物工程有限公司;海尔冰箱 BC-117FC,青岛海尔股份有限公司;隔水式保温箱,上海福玛实验设备有限公司;水分活度仪,美国 Decagon Devices 公司。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 活菌数的测定

参考国标 GB 4789.35-2010<sup>[11,12]</sup>。

#### 1.3.2 水分含量的测定

参考国标 GB 5009.3-2010<sup>[13]</sup>。

#### 1.3.3 $A_w$ 的测定

将菌粉铺满水分活度仪的盖子里,平衡温度为24.8~25.0℃,每组样品平行测定5次,测定 $A_w$ 后取其平均值。

#### 1.3.4 分析方法

试验数据通过 SPSS 软件进行数据处理,采用 Origin 8.6 作图。

## 2 结果与讨论

### 2.1 水分含量对贮存稳定性的影响

将四批真空冷冻干燥所制备的不同水分含量 $(3.06\pm 0.05)\times 10^{-2}$  g/g~ $(6.56\pm 0.07)\times 10^{-2}$  g/g 的干酪乳杆菌 LC-134 冻干粉分别放在冷冻(-18℃)和室温(25℃)下分别保存12个月和6个月,定期跟踪其在贮藏过程中冻干粉的活菌数变化情况,其结果如图1、图2所示。

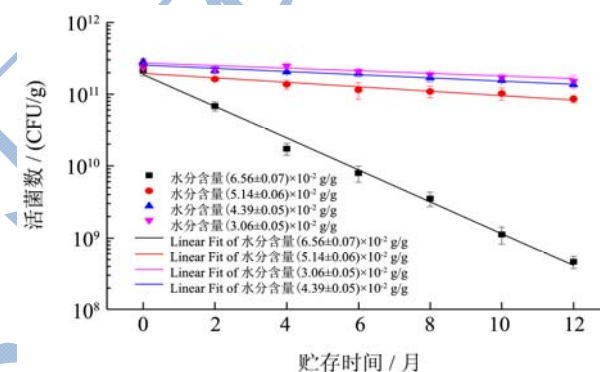


图1 水分含量在-18℃下对LC-134冻干粉活菌数稳定性的影响

Fig.1 Effect of moisture content on the stability of viable cell counts of LC-134 lyophilized powders stored at -18 °C

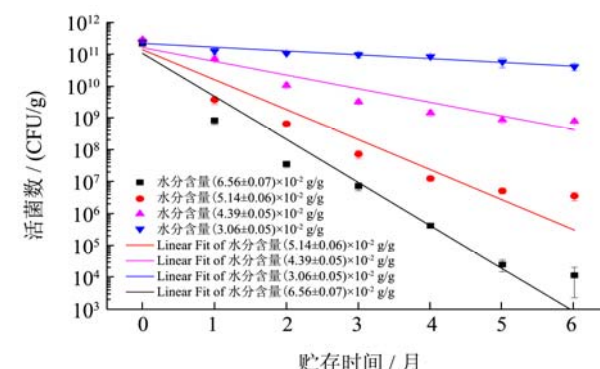


图2 水分含量在25℃下对LC-134冻干粉稳定性的影响

Fig.2 Effect of moisture content on the stability of viable cell counts of LC-134 lyophilized powders stored at 25 °C

由图1可看出,在-18℃下贮存过程中LC-134冻干粉的活菌数均有一些下降,当水分含量介于 $(3.06\pm 0.05)\times 10^{-2}$  g/g~ $(5.14\pm 0.06)\times 10^{-2}$  g/g, LC-134冻干

粉活菌数下降很慢,即使经过 12 个月的贮存,活菌数的数量级没有变化;然而,对于水分含量为 $(6.56\pm 0.07)\times 10^{-2}$  g/g 的样品则其活菌数快速下降,在经过 12 个月的贮存期,活菌数下降了 3 个数量级,这是与水分在冻干粉中的状态有关。冻干粉中的水分子可为细胞内外各种大、小亲水性溶质通过氢键作用所束缚,形成所谓“结合水”,“结合水”包裹在大分子例如蛋白质(包括酶)、小分子例如葡萄糖和海藻糖表面,即使在  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下也不能形成冰晶;但是,当冻干粉水分含量较高时(例如水分含量高于  $6.50\times 10^{-2}$  g/g),将有部分水分被束缚的力量较弱,有一定流动性,形成所谓“游离水”,在  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  下,将形成冰晶,体积膨胀,造成对细胞壁、膜乃至细胞质中细胞器的破坏,使得细胞在贮存过程中出现快速死亡的情况。反之,冻干粉水分含量较低时(低于  $5.00\times 10^{-2}$  g/g),则因为水分几乎被束缚而“固定”在溶质分子的表面,在  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  下贮存,基本不冻结而以液态形式存在来保护蛋白质尤其是酶的构象稳定,因而 LC-134 冻干粉在 12 个月的贮存过程中活菌数变化不大。

图 2 显示,在  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  常温贮存的 LC-134 冻干粉在测试的 6 个月里,只有水分含量为 $(3.06\pm 0.05)\times 10^{-2}$  g/g 的样品,其活菌数的变化并不十分明显,活菌数下降

相对平缓,在 6 个月测试期 LC-134 冻干粉的活菌数下降不到 1 个数量级;然而,随着样品中的水分含量越高,LC-134 冻干粉的活菌数随着贮存时间而下降得越来越快,当水分含量高于 $(5.14\pm 0.06)\times 10^{-2}$  g/g 时,6 个月测试期的活菌数下降了 5 个数量级。导致这种情况的主要原因,与前相同依然是与冻干粉中水分的存在形态相关,“结合水”和“游离水”两种形态,是随着 LC-134 冻干粉贮存温度高低而变化的;贮存温度的上升,表明能量的提高,可以破坏形成“结合水”的氢键,降低水分为溶质的所束缚的力量,结果细胞内存在较大的可流动水,细胞内将会出现酶催化反应,加之冻干粉的低水分环境的胁迫作用,引发细胞的自我凋亡,结果导致常温存放下,LC-134 活菌快速大量死亡。在低水分含量时(例如水分为 $(3.06\pm 0.05)\times 10^{-2}$  g/g),这些水分分布在溶质尤其是胞内溶质的表面,形成单分子层结构,即使提高了贮存环境温度和对氢键的破坏力,但薄薄单层水分子依旧被束缚在表面,难以流动,细胞没有出现快速凋亡的现象。

图 1 和图 2 中冻干粉水分含量与 LC-134 活菌数下降趋势线的斜率  $k$  及  $R^2$  如表 1 所示,而斜率  $k$  与水分含量之间的相关性,则见图 3 和图 4 所示。

表 1 LC-134 冻干粉水分含量与活菌衰退趋势线斜率

Table 1 Moisture and  $k$  values of LC-134 lyophilized powders

水分含量/ $(\times 10^{-2}$ g/g)	$k_{-18\text{ }^{\circ}\text{C}}$	$R^2_{-18\text{ }^{\circ}\text{C}}$	$k_{25\text{ }^{\circ}\text{C}}$	$R^2_{25\text{ }^{\circ}\text{C}}$
$3.06\pm 0.05$	$-0.018\pm 0.010^a$	0.651	$-0.120\pm 0.020^a$	0.912
$4.39\pm 0.05$	$-0.022\pm 0.010^a$	0.952	$-0.431\pm 0.020^b$	0.910
$5.14\pm 0.06$	$-0.031\pm 0.010^a$	0.872	$-0.943\pm 0.020^c$	0.944
$6.56\pm 0.07$	$-0.221\pm 0.010^b$	0.993	$-1.353\pm 0.020^d$	0.984

注: a~d 不同字母表示为同一列数据有显著性差异 (Duncan's test,  $p<0.05$ )。

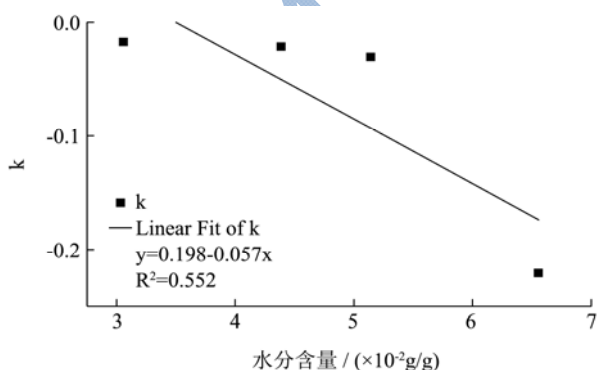


图 3  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  下活菌衰退趋势线斜率与 LC-134 冻干粉水分含量的关系

Fig.3 Relationship between  $k$  value at  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  and moisture content of LC-134 lyophilized powder

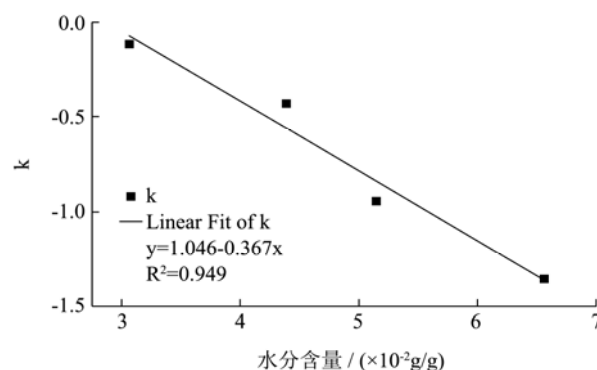


图 4  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  下活菌衰退趋势线斜率与 LC-134 冻干粉水分含量的关系

Fig.4 Relationship between  $k$  value at  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  and moisture content of LC-134 lyophilized powder



表 1 结果表明, 在-18 °C 贮存条件下, 当水分含量  $>(5.14 \pm 0.06) \times 10^{-2}$  g/g 时, LC-134 冻干粉贮存稳定性与水分含量  $\leq(5.14 \pm 0.06) \times 10^{-2}$  g/g 的贮存稳定性有显著差异; 当水分含量  $\leq(5.14 \pm 0.06) \times 10^{-2}$  g/g, 不同批次之间的贮存稳定性无显著性差异; 这说明当 LC-134 冻干粉的水分含量低于  $5.00 \times 10^{-2}$  g/g 时, 水分含量对其在冷冻条件下的贮存稳定性无影响 (图 3)。在 25 °C 贮存条件下, 不同水分含量的 LC-134 冻干粉贮存稳定性有显著差异, 这说明水分含量对其在室温条件下贮存稳定性的影响较大; 由图 4 可以看出, 在 25 °C 条件下, 随着水分含量的上升, k 值降低, LC-134 冻干粉的贮存稳定性逐渐下降, 这与图 2 一致。

### 2.2 $A_w$ 对贮存稳定性的影响

将六批真空冷冻干燥后不同  $A_w$  ( $0.10 \pm 0.01 \sim 0.36 \pm 0.01$ ) 的 LC-134 冻干粉分别置于冷冻 (-18 °C) 和室温 (25 °C) 下分别保存 12 个月和 6 个月, 跟踪其在贮藏过程中 LC-134 冻干粉的活菌数的变化趋势, 分别如图 5 和图 6 所示。

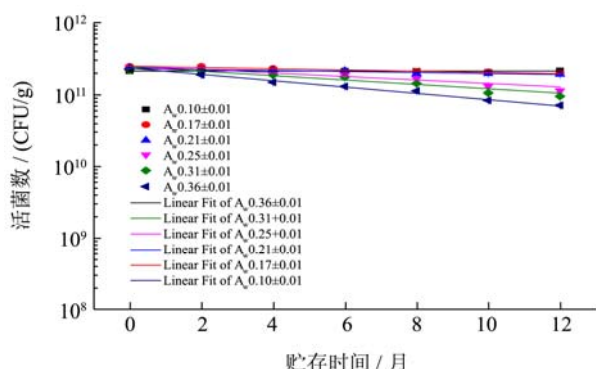


图 5 在-18 °C 下  $A_w$  对 LC-134 冻干粉活菌数稳定性的影响  
Fig.5 Effect of the  $A_w$  on the stability of viable cell counts of LC-134 lyophilized powders stored at -18 °C

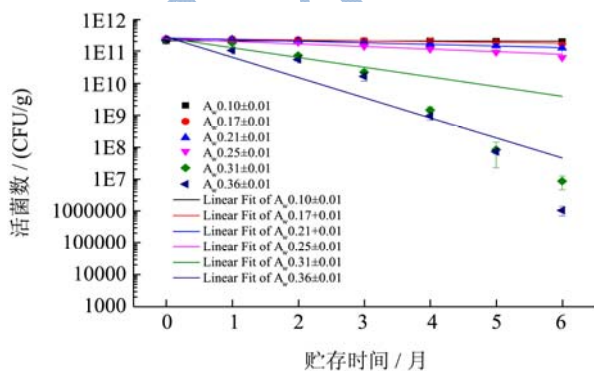


图 6 在 25 °C 下  $A_w$  对 LC-134 冻干粉活菌数稳定性的影响  
Fig.6 Effect of the  $A_w$  on the stability of viable cell counts of LC-134 lyophilized powders stored at 25 °C

从图 5 可知,  $A_w$  在  $0.10 \pm 0.01 \sim 0.36 \pm 0.01$  的范围内, LC-134 冻干粉活菌数在-18 °C 条件下的稳定性比较

好, 在保存测试的 12 个月中, 六批 LC-134 冻干粉的活菌含量均是呈缓慢下降的趋势; 当 LC-134 冻干粉的  $A_w$  低于  $0.31 \pm 0.01$  时, 其活菌数在测试的 12 月内未发生数量级变化, 都是处于  $\sim 10^{11}$  CFU/g 的水平, LC-134 冻干粉的贮存稳定性相当好; 当 LC-134 冻干粉  $A_w$  在  $0.36 \pm 0.01$  时, 冷冻测试 12 个月活菌数则下降不到一个数量级, 其贮存稳定性也比较好。  $A_w$  是体现体系的各种溶质成分对水分的束缚力的大小, 这种束缚力是受所处的环境温度所影响, 温度越低, 束缚力越大, 则相应测得的  $A_w$  值越小; 因而贮存测试时的温度为-18 °C, 此时 LC-134 冻干粉的  $A_w$  值将明显低于在 25 °C 下测定的  $A_w$  值, 较高的水分束缚力, 可以提高水分的冰点, 避免 LC-134 冻干粉中的水分在贮存过程中因产生较大冰晶而致使细胞遭受损伤。因此,  $A_w$  在  $0.10 \pm 0.01 \sim 0.36 \pm 0.01$  范围内处于-18 °C 条件下, LC-134 冻干粉的活菌数在贮存测试的 12 个月里的下降缓慢, 但随着  $A_w$  越高, 活菌数下降相对越快。

图 6 显示, 在 25 °C 常温下存放的稳定性情况与-18 °C 有明显的不同, 当  $A_w$  下降到一定值 (如图示  $A_w 0.25 \pm 0.01$ ) 以下时, 在测试的 6 个月里, LC-134 冻干粉活菌数的稳定性很好, 基本没有明显的活菌数下降, 均是处于同一数量级; 然而, 当  $A_w$  大于  $0.31 \pm 0.01$  时, 随着  $A_w$  上升, LC-134 冻干粉的活菌数稳定性越来越差, 贮存室温 6 个月后, 活菌数下降两个数量级 (从  $10^{11}$  下降到  $10^9$ ), 而  $A_w$  为  $0.36 \pm 0.01$  时, 室温贮存 6 个月后的活菌数则下降了五个数量级 (从  $10^{11}$  下降到  $10^6$ )。正如前述  $A_w$  反映溶质对水分的束缚力大小, 在常温下, 当  $A_w > 0.3$  因细胞内外溶质对水分的束缚力较低, 存在部分水分有一定流动性, 使得 LC-134 冻干粉活细胞内部产生一些酶促反应, 细胞出现自我凋亡, 最终使得 LC-134 冻干粉的活菌数快速下降, 大量活细胞死亡。

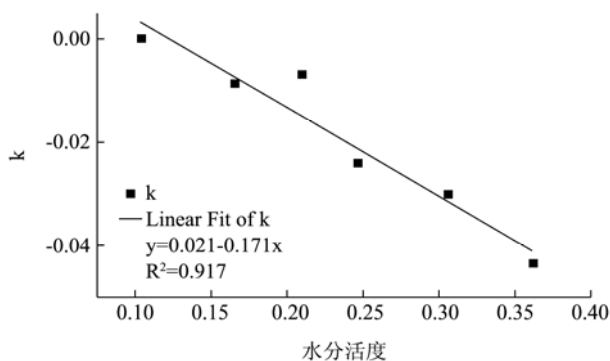


图 7 -18 °C 下活菌衰退趋势线斜率与 LC-134 冻干粉  $A_w$  的关系  
Fig.7 Relationship between k value at -18 °C and  $A_w$  of LC-134 lyophilized powder

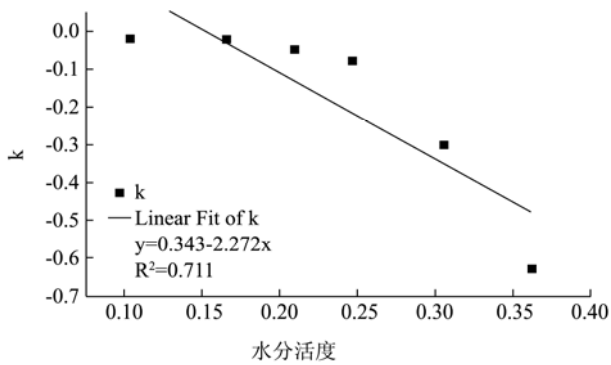


图8 25 °C下活菌衰退趋势线斜率与LC-134冻干粉Aw的关系

Fig.8 Relationship between k value at 25 °C and Aw of LC-134 lyophilized powder

六批具有不同Aw的冻干粉,分别在-18 °C冻藏和25 °C常温贮存,LC-134冻干粉Aw与活菌数下降趋势线的斜率k及R<sup>2</sup>如表2所示,而斜率k与Aw之间的关联性,如图7和图8所示。

表2 LC-134冻干粉Aw与活菌衰退趋势线斜率

Table 2 Aw and k values of LC-134 lyophilized powders

Aw	k <sub>-18°C</sub>	R <sup>2</sup> <sub>-18°C</sub>	k <sub>25°C</sub>	R <sup>2</sup> <sub>25°C</sub>
0.10±0.01	-0.000±0.000 <sup>a</sup>	0.982	-0.002±0.000 <sup>a</sup>	0.259
0.17±0.01	-0.009±0.001 <sup>b</sup>	0.898	-0.024±0.030 <sup>a,b</sup>	0.951
0.21±0.01	-0.007±0.001 <sup>c</sup>	0.915	-0.050±0.030 <sup>b,c</sup>	0.953
0.25±0.01	-0.024±0.001 <sup>d</sup>	0.930	-0.080±0.030 <sup>c,d</sup>	0.959
0.31±0.01	-0.031±0.001 <sup>e</sup>	0.806	-0.303±0.030 <sup>e</sup>	0.926
0.36±0.01	-0.044±0.001 <sup>f</sup>	1.000	-0.631±0.030 <sup>f</sup>	0.885

注: a~f 不同字母表示为同一列数据有显著性差异(Duncan's test, p≤0.05)。

从表2可知,LC-134冻干粉在-18 °C贮存条件下,不同Aw的贮存稳定性有显著差异,并且k<sub>-18°C</sub>值随着Aw的上升而降低(图7)。但相比于表1中k<sub>-18°C</sub>值,但表2中k<sub>-18°C</sub>值普遍较大,结合对比图1与图5,一方面说明Aw为0.10~0.31之间,-18 °C贮存条件下的LC-134冻干粉活菌数下降速率缓慢,其贮存稳定性较

表3 聚葡萄糖添加量对不同水分含量的冻干菌粉的Aw趋势线斜率的影响

Table 3 Effect of the amount of added polydextrose on the Aw k value of lyophilized powders with different moisture contents

水分含量/(×10 <sup>-2</sup> g/g)	3.10±0.05	3.87±0.05	4.90±0.06	6.10±0.07	6.84±0.07
k <sub>Aw</sub>	-(2.22±1.00)×10 <sup>-3a</sup>	-(4.87±1.00)×10 <sup>-3b</sup>	-(5.06±1.00)×10 <sup>-3b</sup>	-(8.38±2.00)×10 <sup>-3c</sup>	-(9.99±2.00)×10 <sup>-3c</sup>
R <sup>2</sup> <sub>Aw</sub>	0.96	0.97	0.97	0.89	0.97

注: a~c 不同字母表示为同一行数据有显著性差异(Duncan's test, p≤0.05)。

从图9可知,在同一水分含量下,随着聚葡萄糖添加量的增加,LC-134冻干粉的Aw随之下降,而且随着水分含量的上升,Aw的下降速率越大;当水分含量为6.84×10<sup>-2</sup>g/g时,聚葡萄糖添加量从0上升到20×10<sup>-2</sup>g/g,LC-134冻干粉的Aw从0.43下降到0.24, Aw下降值为0.19;而当水分含量为3.10×10<sup>-2</sup>g/g时,

佳;另一方面,说明无论菌粉的水分含量或者Aw值高低,当k值≥-0.03时,LC-134冻干粉的活菌数在-18 °C贮存条件下均保持稳定。由表2还可看出,在25 °C贮存条件下,当Aw<0.30时,不同Aw的菌粉其活力稳定性差异并不十分显著;当Aw>0.30时, Aw的增加对菌粉活力的下降影响显著,这与图6一致。

### 2.3 水溶性多羟基大分子对LC-134冻干粉Aw

的影响

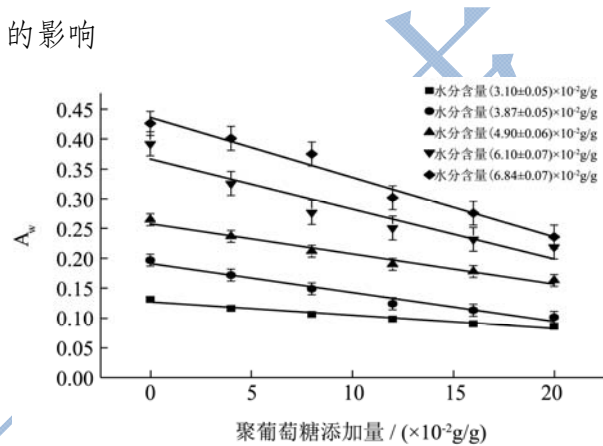


图9 聚葡萄糖添加量对LC-134冻干粉Aw的影响

Fig.9 Effect of the amount of added polydextrose on the Aw of LC-134 lyophilized powder

冻干粉的水分含量高低会影响Aw的大小,一般情况下,水分含量越高,则Aw将会越高;但是, Aw主要反映冻干粉组分对水分束缚力的大小,除了水分含量高低会影响外,冻干粉组分尤其是水溶性多羟基大分子对水分的束缚力也是影响Aw的主要原因。把冻干粉的水分含量尽量降低是一件耗时、耗能并降低冻干存活率的过程,可通过在冻干处理时添加适量的水溶性多羟基大分子,例如聚葡萄糖,则降低冻干粉Aw。聚葡萄糖的添加量对某一水分含量下的LC-134冻干粉Aw的影响情况,如图9所示,其水分含量与Aw下降趋势线的斜率k及R<sup>2</sup>如表3所示。

聚葡萄糖添加量从0上升到20×10<sup>-2</sup>g/g,LC-134冻干粉的Aw从0.20下降到0.11,此时Aw下降值仅为0.09。从表3可知,水分含量为3.10×10<sup>-2</sup>g/g与6.84×10<sup>-2</sup>g/g的差异性显著,但在3.87±0.05~4.90±0.06和6.10±0.07~6.84±0.07两区间中的差异性不显著。这表明在水分含量较高的情况下,可以通过添加一定量的

聚葡萄糖来降低 LC-134 冻干粉的  $A_w$ 。

### 3 结论

3.1 在-18℃贮存条件下, LC-134 冻干粉的水分含量  $\leq(5.14\pm 0.06)\times 10^{-2}$  g/g 时, 其活菌数在贮存期保持稳定, 但当水分含量  $\geq 6.56\times 10^{-2}$  g/g 时, 其活菌数快速下降; 但在 25℃条件下贮存, 只有水分含量  $\leq 3.06\pm 0.05$ , 其活菌数在贮存期才能保持稳定。

3.2 在-18℃贮存条件下, LC-134 冻干粉的  $A_w\leq 0.31\pm 0.01$  时, 其活菌数在贮存期相当稳定, 即使  $A_w$  为  $0.36\pm 0.01$  时, 也比较稳定; 然而, 在 25℃条件下贮存, 只有  $A_w\leq 0.25\pm 0.01$ , 其活菌数在贮存期才能保持稳定。

3.3 当 LC-134 冻干粉水分含量  $\leq(3.10\pm 0.05)\times 10^{-2}$  g/g 时, 添加聚葡萄糖对降低其  $A_w$  的作用不明显; 但在水分含量  $\geq 3.87\pm 0.05$  时, 聚葡萄糖的添加对降低 LC-134 冻干粉  $A_w$  的作用比较显著。因此, 当 LC-134 冻干粉的水分含量介于  $3.50\times 10^{-2}$  g/g~ $5.00\times 10^{-2}$  g/g 范围内, 可通过添加聚葡萄糖来降低其  $A_w$ , 以提高冻干粉在 25℃贮存条件下的稳定性。

### 参考文献

- [1] Yang C Y, Zhu X L, Fan D D, et al. Optimizing the chemical composition of protective agents for freeze-drying *Bifidobacterium longum* BIOMA 5920 [J]. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2012, 20(5): 930-936
- [2] Strasser S, Meureiter M, Gepl M, et al. Influences of lyophilization, fluidized bed drying, addition of protectants, and storage on the viability of lactic acid bacteria [J]. Journal of Applied Microbiology, 2009, 107(1): 167-177
- [3] Santos M I, Gerbino E, Araujo-Andrade C, et al. Stability of freeze-dried *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* in the presence of galacto-oligosaccharides and lactulose as determined by near infrared spectroscopy [J]. Food Research International, 2014, 59: 53-60
- [4] F Fonseca, S Cenard, S Passot. Freeze-drying of *Lactic Acid bacteria* [M]. London: Springer, 2015
- [5] Velly H, Bouix M, Passot S, et al. Cyclopropanation of unsaturated fatty acids and membrane rigidification improve the freeze-drying resistance of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* TOMSC161 [J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2012, 99(2): 907-918
- [6] Pehkonen K S, Roos Y H, Miao S, et al. State transitions and physicochemical aspects of cryoprotection and stabilization in freeze-drying of *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) [J]. Journal of Applied Microbiology, 2008, 104(6): 1732-1743
- [7] Fonseca F, Passot S, Cunin O, et al. Collapse temperature of freeze-dried *Lactobacillus bulgaricus* suspensions and protective media [J]. Biotechnology Progress, 2004, 20(1): 229-238
- [8] Bergenholtz A S, Eessman P, Wuttke A, et al. A case study on stress preconditioning of a *Lactobacillus* strain prior to freeze-drying [J]. Cryobiology, 2012, 64(3): 152-159
- [9] Huang L J, Lu Z X, Yuan Y J, et al. Optimization of a protective medium for enhancing the viability of freeze-dried *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* based on response surface methodology [J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2006, 33(1): 55-61
- [10] 魏培培. 直投式干酪乳杆菌发酵剂稳定性及应用的研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2010
- [11] WEI Pei-pei. The study on stability and application of *Lb.casei* direct vat set [D]. Guangzhou: South China University, 2010
- [12] 鲍志宁. 干酪乳杆菌 GBHM-21 鉴定、中试制备及发酵技术研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2015
- [13] BAO Zhi-ning. Identification, pilotscale DVS starter manufacture and fermentation technology of *Lactobacillus casei* GBHM-21 [D]. Guangzhou: South China University, 2015
- [12] GB 4789.35-2010, 食品微生物学检验 乳酸菌检验[S]
- [13] GB 4789.35-2010, Food microbiological examination: Lactic acid bacteria [S]
- [13] GB 5009.3-2010, 食品中水分的测定[S]
- GB 5009.3-2010, Determination of moisture in foods [S]