

真空冷冻干燥与喷雾干燥长双歧杆菌的工艺比较研究

付 博¹, 马 齐¹, 王卫卫², 黄炯力³

(1.陕西省科学院酶工程研究所, 陕西省酶工程技术中心, 陕西省酿造发酵产品质量监督检验站, 陕西 西安 710600;
2.西北大学生命科学学院, 陕西 西安 710069; 3.西安计量技术研究院, 陕西 西安 710068)

摘 要: 为有效延长双歧杆菌的保存期和耐受性, 利用真空冷冻干燥及喷雾干燥法制备活性菌粉。研究两种干燥方法的工艺参数, 并对干燥得到的活性菌粉性能进行比较。真空冷冻干燥法制备的长双歧杆菌活性菌粉的活菌数为 7.98×10^9 CFU/g、存活率 90.9%、含水量 3.8%, 4℃保藏 90d 后活菌数为 2.5×10^8 CFU/g, 菌粉的水溶性好; 喷雾干燥法制备的活性菌粉的活菌数为 4.4×10^9 CFU/g、存活率 82.2%、包埋率 71.9%、含水量 5.6%, 4℃保藏 90d 后活菌数为 4×10^8 CFU/g, 菌粉在水中的溶解时间较长。真空冷冻干燥成本较高、操作时间长、菌粉的保藏期较短; 而喷雾干燥工艺简单、生产成本低、工作效率高, 包埋的菌粉保藏期较长。

关键词: 真空冷冻干燥; 喷雾干燥; 长双歧杆菌; 活性菌粉; 工艺; 比较

Comparison of Vacuum Freeze-Drying and Spray-Drying Processes for Active *Bifidobacterium longum* Powder Production

FU Bo¹, MA Qi¹, WANG Wei-wei², HUANG Jiong-li³

(1. Enzyme Engineering Technology Center of Shaanxi, Fermentation Product Quality Supervision and Inspection Station of Shaanxi, Enzyme Engineering Institute of Shaanxi Academy of Sciences, Xi'an 710600, China; 2. College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China; 3. Xi'an Institute of Measurement Technology, Xi'an 710068, China)

Abstract: For long term storage and to improve its stress resistance, *Bifidobacterium longum* was made into active bacteria powder by vacuum freeze-drying or spray-drying. In this study, we first optimized the technological conditions for active *Bifidobacterium longum* powder production and then compared these two processes in term of bacterial survival rate, cost, and ease of operation. The viable count, survival rate, moisture and viable count after storage for 90 days at 4 °C of vacuum freeze-dried active *Bifidobacterium longum* powder were 7.98×10^9 CFU/g, 90.9%, 3.8%, and 2.5×10^8 CFU/g, respectively. The powder dissolved easily in water. In contrast, the viable count, survival rate, encapsulation efficiency, moisture and viable count after storage for 90 days at 4 °C of spray-dried *Bifidobacterium longum* powder were 4.4×10^9 CFU/g, 82.2%, 71.9%, 5.6% and 4×10^8 CFU/g, respectively. It took longer time to dissolve in water when compared to vacuum-freeze dried powder. Vacuum freeze-drying was more complicated to operate, time-consuming and expensive than spray-drying. In conclusion, these two processes have both their advantages and disadvantages, which make them fit for different purposes.

Key words: vacuum freeze-drying; spray-drying; *Bifidobacterium longum*; active bacteria powder; process; comparison
中图分类号: Q939.9 文献标识码: A 文章编号: 1002-6630(2012)07-0188-05

双歧杆菌(*Bifidobacterium*)是人和哺乳动物消化道内维持肠道菌群平衡且具有重要益生功能的生理性细菌之一^[1-2], 并逐渐应用于功能性食品、保健营养品及医疗免疫产品的开发和使用^[3-4]。其基础研究与应用在美国、法国、德国、俄罗斯、日本等国家受到较高的重视^[1], 目前双歧杆菌高效活菌固体制剂的开发逐渐成为研究的

热点^[5]。但是, 双歧杆菌对生存条件要求苛刻, 氧气和酸度对菌体的损伤较大, 在生产、贮存以及运输过程中活菌含量下降迅速^[6-7]。真空冷冻干燥与喷雾干燥技术可以有效的保护菌体活力, 成为制备双歧杆菌活菌固体制剂的重要方法^[8]。

真空冷冻干燥与喷雾干燥工艺不同, 所制备的双歧

收稿日期: 2011-04-10

基金项目: 陕西省科学院青年基金资助项目(2010k-26)

作者简介: 付博(1982—), 女, 研究实习员, 硕士, 研究方向为微生物学、双歧杆菌活菌制剂。E-mail: lisa_265@163.com

杆菌活菌固体制剂性能也有所差异,本次研究主要以长双歧杆菌为研究对象,对比两种干燥方法的工艺及干燥得到的活性菌粉性能。以便针对实际生产要求选择更适合的工艺,并为深入研究双歧杆菌活菌制剂制备技术提供借鉴。

1 材料与amp;方法

1.1 菌株、培养基与试剂

长双歧杆菌 Bi-05(*Bifidobacterium longum*) 丹尼斯克(中国)有限公司。

活化菌种用改良 TPY 液体培养基^[7];发酵及活菌计数培养基采用文献[9-10]配制。

β -环糊精、海藻糖、甘露醇 西安智诚生物科技有限公司;脱脂奶粉 内蒙古伊利实业集团有限公司;水苏糖 西安大鹏生物科技有限公司;阿拉伯树胶粉 苏丹巨人集团阿拉伯树胶中国办事处;胰蛋白酶(酶活力 250U/mg) 美国 Amresco 公司。

1.2 仪器与设备

DX-5 冷冻真空干燥系统 上海东富龙科技有限公司;Freezone-6L 真空冷冻干燥机 美国 Labconco 公司;喷雾干燥中试设备(专利号 200910022255.7;200910022256.1,水分蒸发量为 40kg/h) 陕西省科学院酶工程研究所自行设计研制。

1.3 方法

1.3.1 真空冷冻干燥工艺参数的研究

1.3.1.1 单因素冻干保护剂筛选^[7,11]

采用 Freezone-6L 真空冷冻干燥机进行冻干保护剂筛选试验,选择甘油、水苏糖、菊糖、脱脂奶粉、大豆蛋白、葡萄糖、甘露醇、海藻糖、麦芽糖、乳糖、蔗糖作为保护剂筛选对象。各配制 5 种质量浓度的溶液,其中甘油和脱脂奶粉质量浓度设置为 50、100、150、200、250g/L;其他物质质量浓度设置为 40、60、80、100、120g/L。以冻干菌体存活率为检测指标,确定最佳单因素冻干保护剂及其质量浓度。

1.3.1.2 复合因素冻干保护剂筛选^[12]

采用 DX-5 冷冻真空干燥系统进行试验,根据单因素保护剂筛选结果,选择脱脂奶粉、甘露醇、大豆蛋白的添加量设计 $L_9(3^3)$ 正交试验,以冻干菌体存活率为检测指标,确定最佳保护剂组合。

1.3.1.3 添加麦芽糊精的防回潮实验

采用 DX-5 冷冻真空干燥系统进行实验,将确定好的双歧杆菌最佳冻干保护剂配方中再添加适量的麦芽糊精,麦芽糊精的添加量分别设置为 10、20、30、40、50g/L,根据冻干菌粉的活菌数及回潮性质,最终确定最佳的麦芽糊精添加量。

1.3.1.4 工艺条件与冻干曲线分析

在最佳保护剂条件下,利用 DX-5 冷冻真空干燥系统进行冻干。先将双歧杆菌发酵液于 4000r/min 离心 5min,混料(加保护剂)使菌泥质量浓度达 10g/L,装盘使液面厚度在 5mm 左右,放入冻干箱,温度最终上升至 30℃ 以上并维持稳定后冻干结束,装袋密封于 4℃ 保存,绘制冻干曲线并进行分析^[13]。

1.3.2 喷雾干燥工艺研究

1.3.2.1 壁材质量浓度、芯材质量浓度、处理温度和处理时间对菌体存活率的影响

以壁材(β -环糊精、阿拉伯树胶粉质量比为 4:6)质量浓度^[3,14-15]、芯材质量浓度^[7](海藻糖 20g/L、甘露醇 20g/L、菌泥 25g/L 和抗坏血酸 0.01g/L)、处理温度和处理时间为试验因素,设计 $L_9(3^4)$ 正交试验,确定喷雾干燥过程中壁材质量浓度和芯材质量浓度的最佳组合,检验在热处理过程中 4 个因素对菌体的存活率影响能力。

1.3.2.2 喷雾干燥工艺参数的确定

梯度设置进风温度、调节控制排风温度,利用喷雾干燥中试设备进行实验。发酵液于 4000r/min 离心 5min,取菌泥加入包埋壁材、包埋芯材混合静置 30min,然后进行喷雾干燥。双层平板菌落计数法对喷雾干燥后的菌粉进行活菌计数^[16],根据活菌数确定最佳工艺参数。

1.4 干燥后菌粉的性能分析比较

1.4.1 真空冷冻干燥和喷雾干燥后菌粉的长双歧杆菌活菌数、存活率、水分含量及包埋率的比较^[17-19]

$$\text{菌体存活率}/\% = \frac{n_1}{n} \times 100 \quad (1)$$

式中: n_1 为干燥后菌粉中的长双歧杆菌活菌数/(CFU/g); n 为干燥前加入的长双歧杆菌的活菌数/(CFU/g)。

$$\text{喷雾干燥包埋率}/\% = \frac{n_2 - n_0}{n_2} \times 100 \quad (2)$$

式中: n_2 为干燥后微胶囊中的活菌数/(CFU/g); n_0 为微胶囊表面的活菌数/(CFU/g)。

取喷雾干燥后的微胶囊样品各 1g,分别置于 99mL 的缓冲液(pH4.0)和肠溶液(pH6.8),37℃ 恒温水浴振荡,处理 45min,活菌计数分别为微胶囊表面的活菌数和产品中的活菌数。

干燥后菌粉的水分含量测定:参照 GB/T 5009.3—2003《食品中水分的测定》方法。

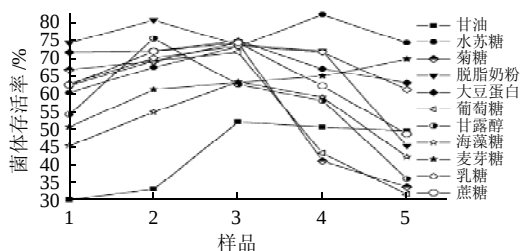
1.4.2 4℃ 保藏实验

将真空冷冻干燥和喷雾干燥后的菌粉置于 4℃ 贮藏 30、60、90d,检测活菌数变化并进行比较^[20]。

2 结果与分析

2.1 单因素冻干保护剂对菌体活性的影响

用于生产的冻干保护剂必须具有安全性,可提高菌体存活力,不影响活菌制剂的检测和消费,易获取,价格低廉。根据实际分析,选取11种物质为冷冻干燥保护剂,研究在冻干过程中对长双歧杆菌的保护效果。结果如图1所示,在冷冻干燥过程中,对长双歧杆菌保护效果最好的单一保护剂为100g/L水苏糖,其次为100g/L脱脂奶粉、60g/L甘露醇、80g/L大豆蛋白。



横坐标1~5代表甘油和脱脂奶粉质量浓度分别为50、100、150、200、250g/L,其他物质质量浓度40、60、80、100、120g/L。

图1 单一冻干保护剂对菌体存活率的影响

Fig.1 Effect of different individual cryoprotectants on survival rate of *Bifidobacterium longum* Bi-05 after lyophilization

甘露醇是山梨糖醇的异构化体,没有吸湿性,干燥快且稳定性好,冻干后制品不易回潮,复水迅速;脱脂奶粉保护效果较好,是真空冷冻干燥过程中常用的冻干保护剂;水苏糖对人体胃肠道内的双歧杆菌、乳酸杆菌等有益菌群有着极明显的增殖作用,调节微生态菌群平衡,但水苏糖的冻干保护作用暂未见相关报道。

2.2 复合因素冻干保护剂对菌体活性的影响

表1 冷冻真空干燥系统筛选冻干保护剂的正交试验结果

Table 1 Orthogonal array design arrangement and results for optimizing vacuum freeze-drying cryoprotectant formulation

试验号	A 脱脂奶粉 添加量/(g/L)	B 甘露醇 添加量/(g/L)	C 大豆蛋白 添加量/(g/L)	菌体 存活率/%
1	1(60)	1(20)	1(60)	52.18
2	1	2(40)	2(80)	58.15
3	1	3(60)	3(100)	63.61
4	2(80)	1	2	58.52
5	2	2	3	56.89
6	2	3	1	60.24
7	3(100)	1	3	64.23
8	3	2	1	53.70
9	3	3	2	74.34
k_1	57.98	58.31	55.373	
k_2	58.55	56.247	63.67	
k_3	64.09	66.063	61.577	
R	6.11	9.816	8.297	

利用筛选得到的具有较好冻干保护效果的单一保护剂,进行组合试验,发挥复合保护剂的保护效果。水苏糖保护效果好,但价格贵,考虑工业化生产,用大豆蛋白替代。单批次试验样品20L,总体干燥时间22~24h。结果如表1所示,3种保护剂的保护效果依次为甘露醇>大豆蛋白>脱脂奶粉,最佳复合保护剂组合为A₃B₃C₂,即脱脂奶粉添加量100g/L、甘露醇添加量60g/L、大豆蛋白添加量80g/L,存活率为74.34%。

2.3 麦芽糊精的防回潮效果

冻干产品放置一段时间后,菌粉易吸潮,对菌粉活性影响较大,因此采用麦芽糊精缓解菌粉回潮。结果如图2所示,当麦芽糊精的添加量为10g/L时,活菌数最高,为 7.98×10^9 CFU/g,并且当添加麦芽糊精后,冻干粉质地变得较为致密,放置相同时间与未加麦芽糊精的样品相比吸潮性有所缓解。

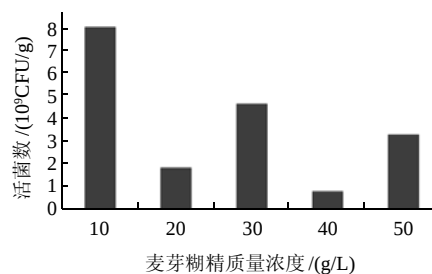


图2 添加麦芽糊精对冻干菌体活性的影响

Fig.2 Effect of maltodextrin on viable count of lyophilized bacteria powder

2.4 冻干过程中温度变化曲线分析

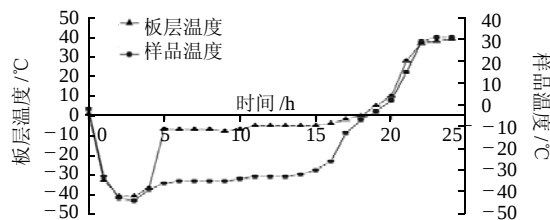


图3 冻干过程中温度变化曲线

Fig.3 Temperature curve during freeze-drying

由图3可知,整个冻干过程分为预冻、升华干燥和解析干燥3个阶段。预冻阶段:箱内预冻。样品放入冻干箱后,3h温度迅速降低到 -44°C 。升华干燥阶段:板层温度升高,升华阶段开始。样品温度基本维持在 $(-34 \pm 2)^{\circ}\text{C}$,升华时间约10h。解析干燥阶段:板层继续升温,进入解析干燥阶段。样品温度迅速上升至 31°C ,并保持稳定,冻干结束。

2.5 壁材质量浓度、芯材质量浓度、处理温度和处理时间对菌体存活率的影响

喷雾干燥过程中的热风温度对长双歧杆菌的存活率有较大影响,因此通过壁材包埋芯材来克服。为了节约菌液,在喷雾干燥之前,利用水浴法对壁材质量浓度、芯材质量浓度、处理温度和处理时间进行正交优化试验,采用双层平板菌落计数法进行活菌计数,并计算菌体存活率,结果见表2。

表2 壁材质量浓度、芯材质量浓度、处理温度与处理时间的正交试验设计及结果

Table 2 Orthogonal array design arrangement and results for optimizing spray-drying conditions

试验号	A 壁材质量浓度/(g/L)	B 芯材质量浓度/(g/L)	C 处理温度/℃	D 处理时间/min	菌体存活率/%
1	1(80)	1(40)	1(60)	1(1)	75.5
2	1	2(60)	2(65)	2(5)	80.6
3	1	3(80)	3(70)	3(10)	57.5
4	2(90)	1	2	3	62.5
5	2	2	3	1	78.5
6	2	3	1	2	83.8
7	3(100)	1	3	2	70.2
8	3	2	1	3	78.0
9	3	3	2	1	83.3
k_1	71.200	69.400	79.100	79.100	
k_2	74.933	79.033	75.467	78.200	
k_3	77.167	74.867	68.733	66.000	
R	5.967	9.633	10.367	13.100	

表2结果显示,壁材质量浓度、芯材质量浓度、处理温度和处理时间对双歧杆菌的存活率影响依次为处理时间>处理温度>芯材质量浓度>壁材质量浓度,最优处理组合为 $A_3B_2C_1D_1$ 。按照最优组合:壁材质量浓度100g/L、芯材质量浓度60g/L、处理温度60℃、处理时间1min进行验证实验,测得该条件下的菌体存活率为85.6%,验证了最优组合结果的可靠性。因此,为了在喷雾干燥过程中提高菌体存活率和活菌数,应调低热风、减少菌粉在塔内的停留时间。

2.6 进风温度、排风温度、塔壁温度及流速对喷雾干燥后活菌数的影响

采用喷雾干燥中试设备进行实验,梯度设置进风温度,排风温度通过进样流速进行调节,结果如表3所示,进风温度从150℃逐渐调节到110℃,通过进样流速的控制排风温度从85℃降低到61℃,菌粉的活菌数提高了2(lg(CFU/g))。因此,在喷雾干燥过程中为保证高活菌数,应将进风温度适当降低,同时通过流速控制排风温度,并维持在低温度范围。当进风温度为(108±2)℃、排风温度(61±3)℃、塔壁温度(50±3)℃、进样流速

600mL/min时,喷雾干燥后活菌数最高,达 4.4×10^9 CFU/g,经重复验证结果一致,工艺参数稳定。

表3 温度与流速对喷雾干燥菌粉活菌数的影响

Table 3 Effects of drying temperature and flow velocity on viable cell count of *Bifidobacterium longum* powder produced by spray drying

进风温度/℃	排风温度/℃	塔壁温度/℃	进样流速/(mL/min)	活菌数/(CFU/g)
150±2	85±3	79±2	780	5.4×10^7
130±2	78±3	70±2	760	2.9×10^8
120±2	75±3	65±2	690	6.8×10^8
108±2	61±3	50±3	600	4.4×10^9

2.7 真空冷冻干燥和喷雾干燥制备的长双歧杆菌菌粉的性能比较

2.7.1 干燥菌粉的活菌数、存活率、水分含量及包埋率的比较

表4 真空冷冻干燥与喷雾干燥后菌粉性能比较

Table 4 Comparison of properties between freeze-dried and spray-dried bacteria powder

指标	真空冷冻干燥菌粉	喷雾干燥菌粉
干燥菌粉的活菌数/(10^9 CFU/g)	7.98	4.4
存活率/%	90.9	82.2
包埋率/%		71.9
含水量/%	3.8	5.6

由表4可知,真空冷冻干燥法制备的菌粉活性较高,无论是活菌数还是存活率都较高,含水量也比较低,有利于菌粉保藏。喷雾干燥法制备的菌粉活性略低,但是包埋率较好(真空冷冻干燥过程未进行包埋,故没有包埋率),能够有效保护菌体。

2.7.2 4℃保藏不同时间后菌粉活性的比较

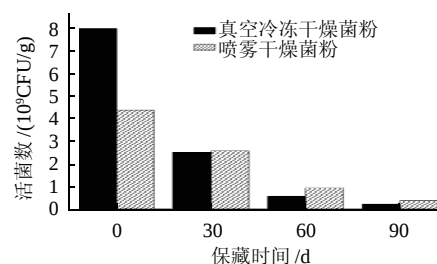


图4 菌粉4℃保藏不同时间后活菌数的变化

Fig.4 Changes in viable bacterial count of *Bifidobacterium longum* Bi-05 powder during storage at 4℃

由图4可见,随保藏时间的延长,菌粉的活菌数

逐渐下降。真空冷冻干燥制备的菌粉活性下降较快(保藏 90d 后为 2.5×10^8 CFU/g), 喷雾干燥法制备的菌粉活性下降较慢(保藏 90d 后为 4×10^8 CFU/g), 这可能与喷雾干燥过程中的包埋有关。因此, 如果将包埋技术与真空冷冻干燥技术相结合, 对长双歧杆菌的保护和保藏效果可能会得到提高。

3 结 论

通过对真空冷冻干燥和喷雾干燥长双歧杆菌工艺参数进行的研究和比较发现, 利用真空冷冻干燥法制备的长双歧杆菌活性菌粉的活菌数为 7.98×10^8 CFU/g、存活率 90.9%、含水量 3.8%、4℃ 保藏 90d 后活菌数为 2.5×10^8 CFU/g; 利用喷雾干燥法制备的活性菌粉的活菌数为 4.4×10^9 CFU/g、存活率 82.2%、包埋率 71.9%, 含水量 5.6%、4℃ 保藏 90d 后活菌数为 4×10^8 CFU/g。两种干燥方法都可得到活性较好的长双歧杆菌干燥菌粉, 但是在实际操作过程中喷雾干燥法具有明显的优势: 1) 真空冷冻干燥 20L 样品, 所需的冻干时间约 24h, 而喷雾干燥 20L 样品, 喷雾时间还不到 30min, 由此可见喷雾干燥能耗较少、生产效率较高。2) 以笔者进行的实际加工成本为例, 真空冷冻干燥每次的费用约 1600 元人民币, 而喷雾干燥每次的费用还不到 1000 元人民币(以上均不含原料费), 可见喷雾干燥的生产成本较低。3) 真空冷冻干燥过程是分批冻干, 而喷雾干燥可以连续进料。

目前针对长双歧杆菌喷雾干燥工艺及菌体存活率的研究并不多见, 而在真空冷冻干燥领域的研究相对较多^[21-22], 通过本研究证实了喷雾干燥法在菌粉制备方面的优越性, 从生产实践角度来看, 其更具有实现产品的连续化、扩大化生产和应用的巨大价值, 应该得到重视并进一步推广使用。

参考文献:

- [1] 胡会萍. 益生菌及其在功能食品中的应用[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(2): 173-175.
- [2] D'AIMMO M R, MOEDSTO M, BIAVATI B. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria and *Bifidobacterium* spp. isolated from dairy and pharmaceutical products[J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 115(1): 35-42.
- [3] RODRÍGUEZ-HUEZO M E, DURÁN-LUGO R, PRADO-BARRAGÁN L A, et al. Pre-selection of protective colloids for enhanced viability of *Bifidobacterium bifidum* following spray-drying and storage, and evaluation of aguamiel as thermoprotective prebiotic[J]. Food Research International, 2007, 40(10): 1299-1306.
- [4] PALACIOS M C, HAROS M, ROSELL C M, et al. Selection of phytate-degrading human bifidobacteria and application in whole wheat dough fermentation[J]. Food Microbiology, 2008, 25(1): 169-176.
- [5] 吕志勇, 吕志刚. 双歧杆菌的保健功能及其产品研发[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(19): 5031-5032.
- [6] KAILASAPATHY K, HARMSTORF I, PHILLIPS M. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* in stirred fruit yogurts[J]. Food Science and Technology, 2008, 41(7): 1317-1322.
- [7] 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.
- [8] ZHAO Min, ZHANG Fan, WANG Wei, et al. Preparation technology of *Bifidobacterium bifidum* freeze-dried powder and microencapsulation and study on its characters[J]. Journal of Biotechnology, 2008, 136(1): 506-518.
- [9] 曹永梅, 许时婴. 微胶囊化双歧杆菌产品的特性[J]. 食品工业, 2001 (3): 28-29.
- [10] SZILÁRD K, JUDIT M R, QUANG D N, et al. Changes of microbial population and some components in carrot juice during fermentation with selected *Bifidobacterium* strains[J]. Process Biochemistry, 2008, 43: 816-821.
- [11] 王凌华, 孟春英, 唐涌谦. 双歧杆菌冻干工艺研究及保护剂的筛选[C]// 第九届全国生物化工学术会议. 天津, 2000: 266-269.
- [12] 谭颖端, 梁淑娃, 蓝碧锋, 等. 双歧杆菌冻干工艺的研究[J]. 中国食品添加剂, 2006(4): 64-66; 70.
- [13] 文连奎, 冯永巍, 郭平, 等. 喷雾干燥与冷冻干燥玉米肽工艺的比较研究[J]. 食品科学, 2009, 30(20): 231-233.
- [14] 孙俊良, 赵瑞香, 王大红, 等. 嗜酸乳杆菌真空喷雾干燥微胶囊化技术的研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(5): 161-164.
- [15] 赵瑞香. 嗜酸乳杆菌及其应用研究[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 150-166.
- [16] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验[M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2003: 77-80.
- [17] 黄序. 微胶囊技术及片剂包衣技术在双歧杆菌保护中的应用[D]. 天津: 天津科技大学, 2002.
- [18] 黄序, 戚薇, 王建玲, 等. 肠溶性双歧杆菌微胶囊的初步研究[J]. 药物生物技术, 2002, 9(2): 105-109.
- [19] 李宁. 双歧杆菌微胶囊制备工艺及功能特性的研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2007.
- [20] 郝莹, 王卫卫, 马齐, 等. 冻干乳酸双歧杆菌微胶囊的制备及存活性能研究[J]. 食品科学, 2009, 30(9): 163-167.
- [21] BRIAN C S T, MARK R E. Spray drying, freeze drying, or freezing of three different lactic acid bacteria species[J]. Food Science, 1997, 62(3): 576-578.
- [22] 文连奎, 冯永巍, 郭平, 等. 喷雾干燥与冷冻干燥玉米肽工艺的比较研究[J]. 食品科学, 2009, 30(20): 231-233.