第 32 卷第 5 期 四川理工学院学报(自然科学版) Vol. 32 No. 5
2019 年 10 月 Journal of Sichuan University of Science & Engineering(Natural Science Edition) Oct. 2019
文章编号:1673-1549(2019)05-0014-08 DOI:10.11863/j.suse.2019.05.03

抗幽门螺杆菌便餐粉配方优化及其体外抑菌研究

邱俊杰[a], 孙礼进[a], 张忠宝[b], 李 浩[b], 张 智[a]

(四川轻化工大学 a. 生物工程学院;b. 化学工程学院, 四川 自贡 643000)

摘 要:为制备抗幽门螺杆菌便餐粉,将实验室制备的高免蛋液(由 UreB、BabA2 和 FlaA 免疫产蛋鸡后制备而成,含 UreB-BabA2-FlaA-IgY)通过喷雾冷冻干燥技术获得高免蛋粉。在原有配方的基础上,通过单因素实验研究木糖醇添加量、麦芽糊精添加量和高免蛋粉添加量对便餐粉品质指标(休止角、堆积密度、结块率、流动性、挂壁)的影响。在单因素实验基础上,以口感评分为指标,通过正交试验设计获得便餐粉最佳组合。通过间接 Elisa 法分析便餐粉的效价稳定性,将便餐粉与幽门螺杆菌菌液共培养,测定 OD_{600} 值分析其抑菌效果。结果表明当麦芽糊精添加量为 20%、木糖醇添加量为 10%、高免蛋粉添加量为 15% 时,便餐粉的品质最佳,37 ℃条件下,便餐粉效价在 4 个月内无显著性变化,60 mg/mL 的便餐粉可有效抑制幽门螺杆菌的生长。成功研制出抗幽门螺杆菌便餐粉。

关键词:幽门螺杆菌;配方优化;抑菌作用

中图分类号:TS201.4 **文献标志码:**A

引 言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)是胃炎、胃溃疡、胃癌等多种疾病的致病因子。Hp 感染率极高,在全球感染率超过 50% 以上,在不同的国家和地区,感染率也大不相同,在发达国家感染率为 30% ~50%,而发展中国家感染率高达 80% 以上,并且感染人群偏向低龄化[1]。幽门螺杆菌感染已于 2015 年被定性为传染性疾病[2]。临床上治疗 Hp 的感染,多采用抗生素多联疗法,但维持时间短,而且长期用药容易造成肠道菌群混乱和耐药性的增加,从而导致治疗 Hp 的感染更加困难[3-4]。

Hp 的感染与其结构有着极大的关系[5-6],目前已经熟知的致病因子主要有鞭毛、黏附素、脲酶、空泡毒素、中性粒细胞激活蛋白(Neutrophil-activating protein, NAP)等。鞭毛主要为 Hp 提供动力,使其可以快速穿过胃酸,到达中性的粘液层;尿素酶通过将尿素分解形成氨和二氧化碳,在菌体周围形成氨云保护层,从而可以抵御胃酸对菌体的损伤,并有利于菌体定植胃黏膜上;当 Hp 到达胃黏膜时,黏附素将与胃黏膜上皮细胞的受体紧密结合,继而损伤上皮细胞;空泡毒素可以使靶细胞发生空泡化,细胞骨架重排,细胞死亡等形态学的改变。这些致病因子的发现有利于对 Hp 治疗提供新的靶点,如 Hp 血型抗原结合粘附素(Blood group antigen binding adhesion, BabA2)、尿素酶 B 亚单位(urease B subunit, UreB)

收稿日期:2019-06-21
基金项目:四川省科技厅人才创新计划(2017RZ0083)
作者简介:邱俊杰(1995-),男,四川大竹人,硕士生,主要从事食品工程方面的研究,(E-mail)991143917@qq.com
通信作者:张 智(1977-),男,四川乐山人,副教授,博士后,主要从事分子免疫学方面的研究,(E-mail)1216993544@qq.com

和鞭毛蛋白 A 亚单位(Flagellin A subunit,FlaA)等作为疫苗的应用已被建立。

卵黄抗体(Yolk antibody,IgY)是鸟类在受到某种抗原刺激时,在血液中形成特异性抗体,并将这些抗体转移到卵黄中,其本质是卵黄免疫球蛋白。特异性 IgY 通过直接与病原菌的靶点相结合,改变其整体结构,从而达到抑制作用,此外在消化酶的作用下,一部分 IgY 被分解成小肽(Fab),被机体吸收进入血液后,可与血液中的病原体黏附素结合,从而使其失去致病性。国内外研究者已经对 IgY 的优越性特性有了清楚的认识,已被广泛应用于食品,疾病预防,免疫检测等多个领域[7-9]。

但 IgY 存在于卵黄液中,单纯的提取 IgY,耗时耗力,成本高,而且造成大量蛋白质资源的损失,甚至会污染环境。此外,鸡蛋在贮存过程中,由于受外界湿度,温度以及贮存方式等的影响,容易发生腐败变质[10]。

基于此,本文将高免蛋液(BabA2、UreB 和 FlaA 免疫产蛋鸡制备)制备成高免蛋粉,与其他配料混合,开发一种具有抗幽门螺杆菌功能的便餐粉,不仅对治疗和预防 Hp 的感染具有重要的社会价值,还能形成新的经济增长点。

1　材料和方法

1.1　材料与仪器

3,3′,5,5′-四甲基联苯胺 (3,3′,5,5′-tetramethylbenzidine, TMB)单组份显色液(碧云天生物科技公司),HRP 标记的山羊抗鸡抗体(美国 Sigma 公司),新生胎牛血清(Invitrogen 公司),高免鸡蛋(四川轻化工大学生物制药教研室实验室制备),Hp 液体培养基、Hp 选择性添加剂(青岛海博生物技术有限公司),其他化学试剂均为分析纯。

YQX-II 型微需氧培养箱(美国 Gene Science),DHp-9160B 型电热恒温培养箱(上海琅玕实验设备有限公司),YC-3000 型喷雾冷冻干燥机(上海雅程仪器设备有限公司)。

1.2　方法

1.2.1　高免蛋粉制备

收集高免鸡蛋,清水洗净蛋壳,去蛋清留蛋黄,称重放入 65 ℃烘箱杀菌 40 min,冷却至室温备用。按照 YC-3000 喷雾冷冻干燥机说明书进行物料器的安装,打开通风循环通道,关闭出水孔,保持密闭状态,将制冷机的循环泵打开循环 10 min 后开始制冷,待物料器内的温度降至 -35 ℃,安装进料设备,设定蠕动速度为 25 r/min,保持物料温度为 -15 ℃以下,结束进料后,打开冷井阀门,关闭风机,关闭物料器两侧阀门,打开真空机及真空阀门,至物料器内真空度小于 150 Pa,冷井温度达 -40 ℃,开始加热,设定温度为 50 ℃,工作数小时后,关闭加热,物料温度在时间段内不再上升时关机取料,蛋黄粉称重。

1.2.2　便餐粉制作工艺

将燕麦米、糯米通过膨化工艺熟化;葛根洗净,加入适量水,放入高压蒸汽灭菌锅中,121 ℃熟化 20 min 后立即取出,将其放置于 100 ℃烘箱中烘干后,放入粉碎机中将其粉碎,过 100 目筛网,即得葛根粉。将燕麦粉、糯米粉,葛根粉,紫薯粉,脱脂奶粉,麦芽粉按照一定的比例混合均匀,在以上配方的基础上,添加木糖醇,麦芽糊精和高免蛋粉,即得便餐粉,参考马永轩[11]等方法,通过单因素和正交实验优化配方改善便餐粉的品质。

1.2.3　便餐粉品质指标的测定

(1) 休止角的测定:将洁净玻璃放置于水平实验台上,将洁净的漏斗放置于铁架台上,垂直悬空,下端距离玻璃面 3 cm,准确称取便餐粉 3 g,缓慢倒入玻璃漏斗,让其自然滑落,测定堆积物的直径和高度,各测量 3 次取平均值,按照 $\tan\theta = 2 \times h/d$ 求其休止角。

(2) 堆积密度的测定:准确称量便餐粉 20 g,缓慢倒入 100 mL 洁净量筒中,测定体积,重复三次求其平均值,按照质量/体积即得堆积密度。

(3) 结块率的测定:准确称量便餐粉 30 g,加入 65 ℃的温水,搅拌至无干粉存在,静置冷却至室温,用 20 目筛进行过滤,滤渣用水洗净,吹风机吹干后,将干结物块与筛网共同称重,总质量减去筛网质量即为结块率,重复三次。

(4) 管道流动性的测定:准确称量便餐粉 30 g,加入 65 ℃的温水 105 mL,搅拌至无干粉存在,静置冷却至室温,缓慢倒入鼻饲管中,记录 5 min 流出的总体积,计

算出流动速率(单位时间流出的体积 mL/min),重复 3 次。

(5) 管道挂壁的测定:准确称量便餐粉 30 g,加入 65 ℃的温水 105 mL,搅拌至无干粉存在,静置冷却至室温,缓慢倒入鼻饲管中,待其全部流出后,带鼻饲管称重,总质量减去鼻饲管质量即为管道挂壁重量,重复 3 次。

1.2.4 单因素试验设计

参照 1.2.3 的方法,分别测定木糖醇、麦芽糊精和高免蛋粉添加量对便餐粉休止角、堆积密度、结块率、管道流动性和挂壁量的影响。

1.2.5 正交实验设计

在单因素试验的基础上,以木糖醇、麦芽糊精和高免蛋粉的添加量为因素,通过 SPSS17.0 软件设计 $L_9(3^3)$ 正交表,见表 1,测定每组配方的休止角、堆积密度、结块率、管道流动量以及挂壁量,并将每组配方冲调后随机邀请人员进行品尝打分,评分标准见表 2,对配方进行优选。

表 1 正交因素水平表

水平	因素		
	A 麦芽糊精添加量/%	B 高免蛋粉添加量/%	C 木糖醇添加量/%
1	10	10	10
2	20	15	15
3	30	20	20

表 2 评分标准

项目	标准
气味(25%)	具有燕麦葛根香味,无生涩味 20~25 分;具有燕麦葛根香味且有少许生涩味 10~19 分;有异味 10 分以下
色泽(15%)	颜色均匀一致 10~15 分;颜色不均匀 10 分以下
口感(30%)	口感润滑,无涩口感 20~30 分;口感润滑且有少许涩口感 10~19 分;入口有杂质,涩口 10 分以下
冲调性(30%)	无结块现象 20~30 分;有少许结块现象 10~19 分;大量结块 10 分以下

1.2.6 便餐粉效价稳定性测定

优选出最佳配方后,将便餐粉用全自动包装机包装后,分别放入 -20 ℃、4 ℃、37 ℃、65 ℃,通过间接 Elisa 法测定便餐粉和高免蛋粉的 OD_{450} 值,具体如下:用 pH =9.6 的磷酸盐缓冲液将 UreB 蛋白稀释至 10 ug/mL 作为包被液,加入 96 孔板,每孔 100 μL,4 ℃静置 12 h,PBST 洗涤,每次 3 min,重复三次;加入 5% 脱脂奶粉于 37 ℃封闭 1.5 h,PBST 洗涤同上;将便餐粉和高免蛋粉稀释 2500 倍后加入 96 孔板,每孔 100 μL,37 ℃孵育 2 h,PBST 洗涤同上;加入二抗(HRP 标记的山羊抗鸡抗体),每孔 100 μL,37 ℃反应 1 h,PBST 洗涤同上;加入 TMB 单组份显色液,每孔 100 μL 于暗处显色 5 min;最后加入 1 mol/L H_2SO_4 终止反应,酶标仪 450 nm 测定吸光度,$P/N > 2.1$ 为阳性(见公式 1)。

$$P/N = (A_{待测样品} - A_{空白对照}) / (A_{待测阴性对照样品} - A_{空白对照}) \quad (1)$$

1.2.7 便餐粉体外抑菌实验

Hp 的培养:按照 Hp 固体培养基的配方灭菌后,冷却至 50 ℃左右,加入 1/100 的 Hp 选择性添加剂(含 1 mg/mL头孢磺啶,0.5 mg/mL 两性霉素,1 mg/mL 万古霉素,2 mg/mL 甲氧苄啶),7% 的胎牛血清,于超净工作台凝固 30 min,取 -80 ℃保存的 Hp 菌种 50 μL 涂布于培养基上,于微需氧培养箱(85% N_2,10% O_2,5% CO_2)中培养 5~7 天,挑取单菌落于 Hp 液体培养基中,37 ℃微需氧培养 5~7 天,调整 Hp 菌液浓度为 10^8 CFU/mL,备用。

将便餐粉溶于 Hp 灭菌液体培养基中,0.22 μm 滤膜过滤除菌,将其与等体积浓度为 10^8 CFU/mL Hp 菌液混合,调整便餐粉的浓度分别为 20 mg/mL、40 mg/mL 和 60 mg/mL,最后均加入 1/100 的 Hp 选择性添加剂,7% 的胎牛血清,放入 37 ℃微需氧条件培养。每隔 12 h 在超净工作台收集样品 200 μL,600 nm 测定吸光度。

1.2.8 统计学方法

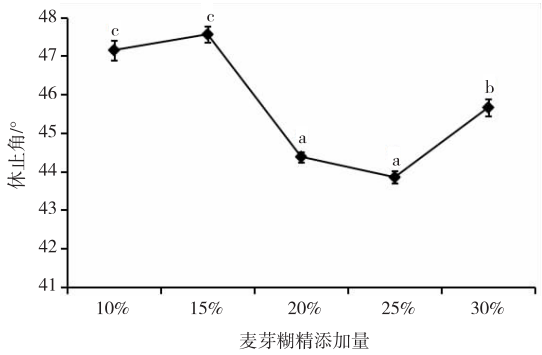
结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,SPSS17.0 统计软件进行统计学分析,组间差异显著性采用独立样本 t 检验评估。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 单因素试验结果

2.1.1 麦芽糊精对便餐粉品质指标的影响

(1) 麦芽糊精添加量为 20% 和 25% 的休止角显著低于 10%、15% 和 30%(44.38 ±0.14°、43.85 ±0.16° vs 47.15 ±0.25°、47.56 ±0.21°、45.66 ±0.23°,$P < 0.05$),如图 1 所示。



注:图中小写字母表示 0.05 水平下的差异显著性,下同

图 1　麦芽糊精添加量对便餐粉休止角的影响

(2) 随着麦芽糊精添加量的增大,便餐粉的各组堆积密度之间无显著性差异,如图 2 所示。

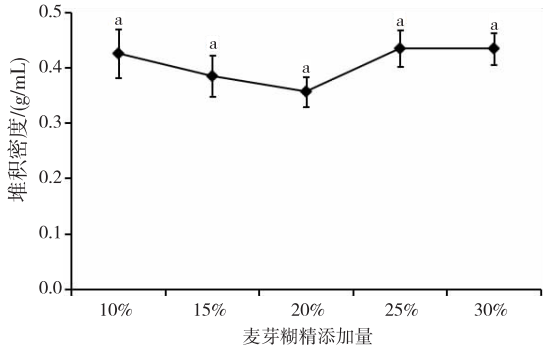


图 2　麦芽糊精添加量对便餐粉堆积密度的影响

(3) 随着麦芽糊精添加量的增加,便餐粉的结块率从 26.70% ±1.10% 降低到 15.26% ±0.88% 各组之间呈显著性差异($P<0.05$),如图 3 所示。

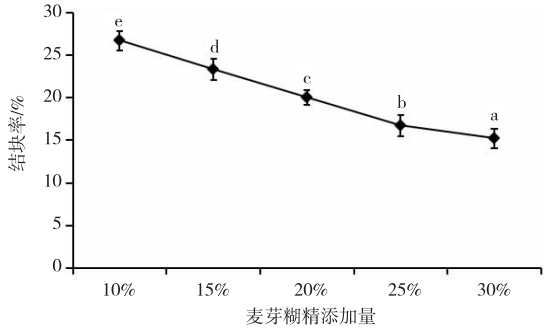


图 3　麦芽糊精添加量对便餐粉结块率的影响

(4) 随着麦芽糊精添加量的增大,便餐粉的流量从(13.03 ±0.05) mL/min 升高到(18.65 ±0.04) mL/min,如图 4 所示。

(5) 麦芽糊精添加量从 10% 增加到 15% 时,挂壁量从(2.78 ±0.52) g 增加到(2.99 ±0.67) g 当添加量超过 20% 时,挂壁量无显著性差异,如图 5 所示。

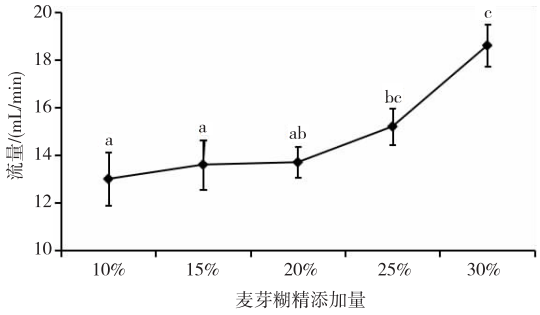


图 4　麦芽糊精添加量对便餐粉流动性的影响

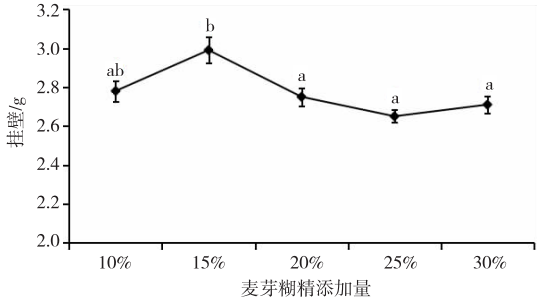


图 5　麦芽糊精添加量对便餐粉挂壁的影响

2.1.2　高免蛋粉对便餐粉品质指标的影响

(1) 高免蛋粉添加量从 5% 增加到 20% 时,休止角由 46.32 ±0.42°增加到 48.66 ±0.55°($P<0.05$),添加量大于 20% 时,粉体休止角无显著性差异,如图 6 所示。

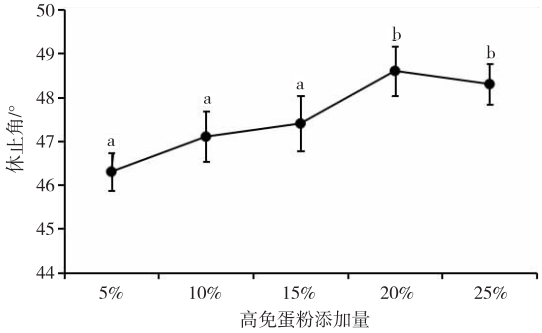


图 6　高免蛋粉添加量对便餐粉休止角的影响

(2) 随着高免蛋粉添加量从 10% 增加到 15%,堆积密度由(0.43 ±0.04) g/mL 降低为(0.35 ±0.03) g/mL ($P<0.05$),添加量超过 15% 时,各组堆积密度之间无显著性差异,如图 7 所示。

(3) 随着高免蛋粉添加量的增加,结块率由 19.34% ±0.54% 增加到 26.53% ±0.44%,15% 的与 20% 的结块率呈现显著性差异(20.71% ±0.52% vs 24.34% ±0.56%,$P<0.05$),添加量超过 20% 时,各组结块率无显著性差异,如图 8 所示。

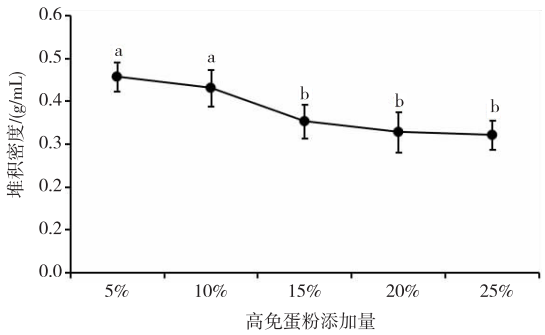


图 7 高免蛋粉添加量对便餐粉堆积密度的影响

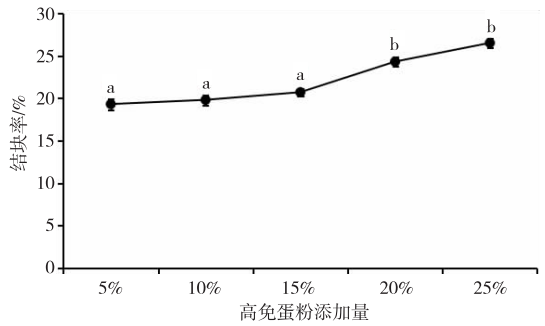


图 8 高免蛋粉添加量对便餐粉结块率的影响

(4) 高免蛋粉添加量为 10% 时,流量为(16.57 ± 0.19) mL/min,显著高于 5%、15%、20% 和 25% 的流量($P<0.05$),如图 9 所示。

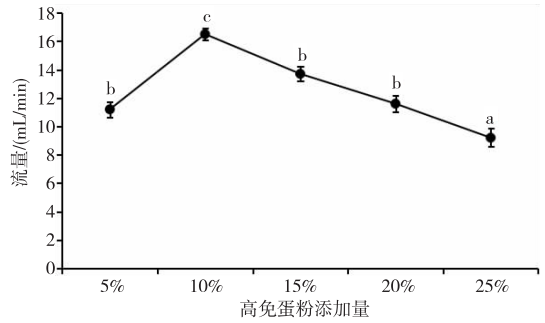


图 9 高免蛋粉添加量对便餐粉流动性的影响

(5) 高免蛋粉添加量低于 15% 时,各组挂壁量无显著性差异,20% 的挂壁量显著高于 15%((2.75 ± 0.19) g vs (2.24 ± 0.14) g,$P<0.05$),添加量超过 20% 时,各组挂壁量无显著性差异,如图 10 所示。

2.1.3 木糖醇对便餐粉品质指标的影响

(1) 随着木糖醇的增加,休止角 46.43 ± 1.23°降低至 40.01 ± 1.09°,各组之间呈显著性差异($P<0.05$),如图 11 所示。

(2) 随着木糖醇添加量的增加,各组堆积密度并无显著性差异,如图 12 所示。

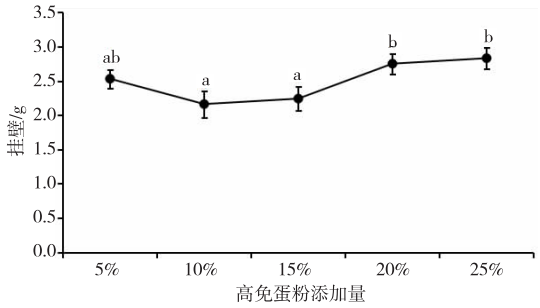


图 10 高免蛋粉添加量对便餐粉挂壁的影响

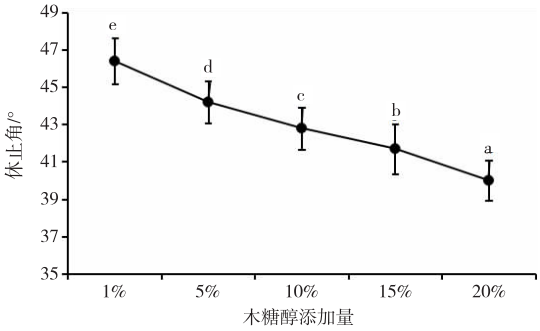


图 11 木糖醇添加量对便餐粉休止角的影响

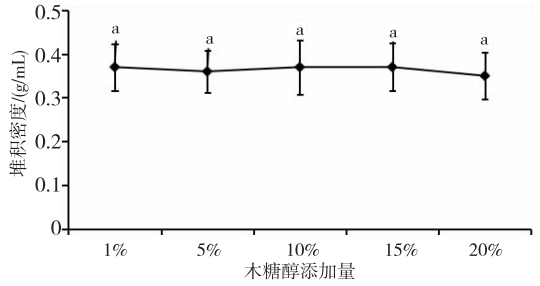


图 12 木糖醇添加量对便餐粉堆积密度的影响

(3) 木糖醇添加量为 10% 时,结块率最小为 6.70% ± 0.06%,与 1%、5%、15% 和 20% 添加量呈显著性差异($P<0.05$),如图 13 所示。

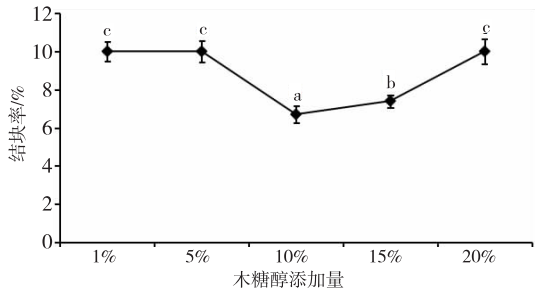


图 13 木糖醇添加量对便餐粉结块率的影响

(4) 木糖醇添加量为 10% 和 15% 的流量显著高于 1%、5% 和 20% 的流量((19.74 ± 1.15) mL/min、

(18.46 ± 1.22) mL/min vs (10.44 ± 0.88) mL/min、(12.51 ± 0.88) mL/min、(12.33 ± 0.83) mL/min,$P < 0.05$),如图 14 所示。

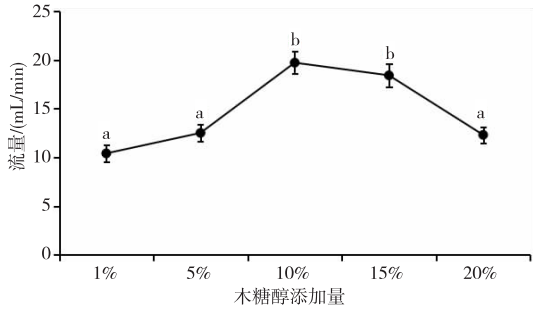


图 14　木糖醇添加量对便餐粉流动性的影响

(5) 随着木糖醇添加量的增加,各组挂壁量之间无显著性差异,如图 15 所示。

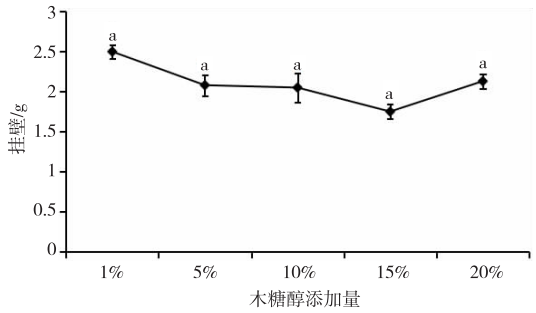


图 15　木糖醇添加量对便餐粉挂壁的影响

2.2　正交实验结果

三个因素对便餐粉综合得分的影响顺序为:高免蛋粉 > 麦芽糊精 > 木糖醇,最佳组合为 $A_2B_2C_1$,即麦芽糊精添加量为 20%,高免蛋粉添加量为 15%,木糖醇添加量为 10%,见表 3。

表 3　正交实验结果

实验号	A 麦芽糊精添加量/%	B 高免蛋粉添加量/%	C 木糖醇添加量/%	评分
1	3	3	1	81.30
2	1	2	3	86.70
3	3	1	3	81.60
4	1	3	2	78.40
5	2	3	3	84.80
6	3	2	2	88.30
7	2	2	1	89.60
8	2	1	2	86.20
9	1	1	1	85.20
K_1	250.30	253.00	256.10	
K_2	260.60	264.60	252.90	
K_3	251.20	244.50	253.10	
k_1	83.40	84.30	85.40	
k_2	86.90	88.20	84.30	
k_3	83.70	81.50	84.40	
R	3.50	6.70	1.10	

各组的品质指标的测定,见表 4。通过 SPSS17.0 软件分析评分与五个指标之间的相关性,休止角,结块率与评分呈显著性负相关($P < 0.05$),流动性与评分呈极显著性负相关($P < 0.01$),见表 5。

表 4　各组品质指标测定

实验号	休止角/°	堆积密度/(g/mL)	结块率/%	流动性/(mL/min)	挂壁/g
1	43.8	0.343	14.2	15.2	2.23
2	42.3	0.334	15.2	16.9	2.44
3	44.6	0.338	16.4	15.9	2.41
4	43.6	0.358	16.2	15.1	2.14
5	43.7	0.331	15.3	15.2	2.33
6	41.5	0.323	12.8	18.4	2.22
7	42.3	0.342	13.7	17.2	2.09
8	42.7	0.337	14.5	17.4	2.17
9	43.7	0.316	15.8	16.2	2.31

表 5　得分与指标之间的相关性

指标	休止角/°	堆积密度	结块率	流动性	挂壁
评分	−0.765*	−0.569	−0.676*	0.813**	−0.094

*:相关性显著($P < 0.05$);**:相关性极显著($P < 0.01$)

2.3　便餐粉效价稳定性检测

连续测定 4 个月同一批次的高免蛋粉及便餐粉 OD_{450} 值,如图 16 与图 17 所示。高免蛋粉和便餐粉在 4 ℃和 37 ℃时的各组 OD_{450} 值无显著性差异,在 65 ℃时的 OD_{450} 值均显著低于 4 ℃和 37 ℃($P < 0.05$)。经 P/N 计算,高免蛋粉在 65 ℃条件下 2 个月后效价已成阴性($P/N < 2.1$),而便餐粉效价在 4 个月检测期内均为阳性($P/N > 2.1$)。

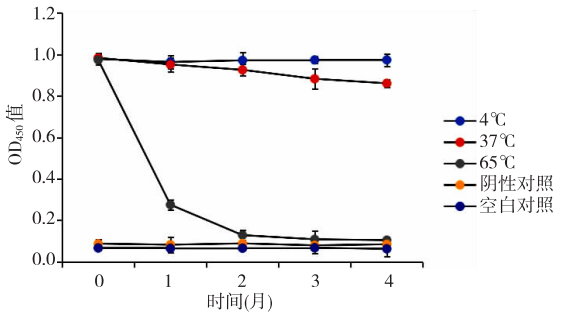


图 16　温度对高免蛋粉效价影响

2.4　便餐粉体外抑菌

随着便餐粉浓度的增加,同一时刻的 OD_{600} 值逐渐降低($P < 0.05$),当便餐粉浓度达 60 mg/mL 时,在 72 h 内,各组的 OD_{600} 值无显著性差异,如图 18 所示。

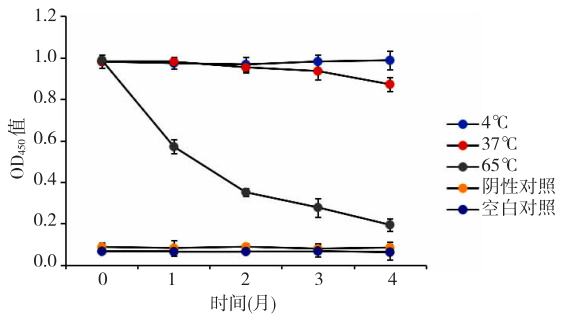


图 17 温度对便餐粉效价的影响

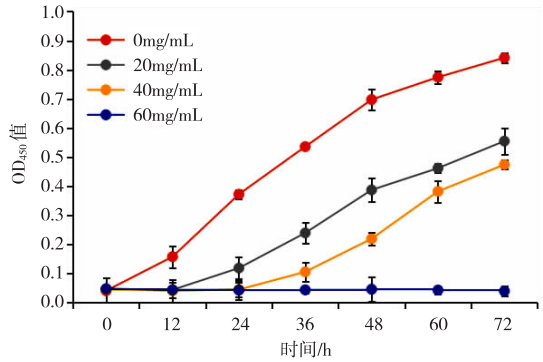


图 18 便餐粉体外抑菌结果

3 讨 论

目前高免蛋液干燥的方法主要是热风喷雾干燥,许多研究者利用此干燥方法获得的高免蛋粉可以代替抗生素治疗某些疾病[12],但在此过程中,高温会影响 IgY 的活性。在本研究中,采用喷雾冷冻干燥生产的高免蛋粉,在常温下 4 个月内保持高效价,并且所得的产物为粉末状,复水性好,乳化性强(未发表数据)。说明喷雾冷冻干燥更适合高免蛋液的工业化生产,与其他研究者得出结论一致[13-14]。

通过膨化技术获得的膨化粉稠度高,更有利于便餐粉口感的调节,但遇水容易形成糊化层,不易溶解,形成结块[11]。市场上的粉剂产品多采用添加食品添加剂的方法加快粉剂溶解,众所周知,食品添加剂的副作用众多。因此本研究通过调整配方的添加量优化便餐粉的冲调性和溶解性,单因素实验发现麦芽糊精和木糖醇可以降低便餐粉结块率,可能是破坏了糊化层的形成,高免蛋粉由于油脂含量高结合膨化粉糊化层的形成,导致结块率提高。通过正交实验得出高免蛋粉,木糖醇和麦芽糊精对便餐粉品质的影响程度,并且得出了休止角、结块率、流动性与综合得分的相关性,为便餐粉的进一步优化奠定了基础,同时也为其他粉剂产品的研发提供了新的思路。

通过持续监测高免蛋粉和便餐粉的 OD_{450} 值,我们发现,高免蛋粉与便餐粉在低温环境下,效价可维持更长时间,所以此便餐粉适于低温保存,并且在 65 ℃的条件下,便餐粉的效价可维持 4 个月以上,而高免蛋粉仅能维持 2 个月左右,推测便餐粉中的配料对 IgY 存在保护作用,体外抑菌实验表明便餐粉可抑制 Hp 的生长,并且当浓度达到 60 mg/mL 时,即可在时间段内达到完全抑制的效果。说明了制备出的便餐粉具有治疗 Hp 感染的潜能。

参 考 文 献:

[1] MALFERTHEINER P,MEGRAUD F,O'MORAIN C A,et al.Management of Helicobacter pylori infection the Maastricht V/Florence Consensus Report[J].Gut,2016,66(1):6-30.

[2] SUGANO K,TACK J,KUIPERS E J,et al.Kyoto global consensus report on Helicobacter pylori gastritis[J].Gut,2015,64(9):1353-1367.

[3] ZHANG Y X,ZHOU L Y,SONG Z Q,et al.Primary antibiotic resistance of Helicobacter pylori strains isolated from patients with dyspeptic symptoms in Beijing: A prospective serial study[J]. World Journal of Gastroenterology,2015,21(9):2786-2792.

[4] HU Y,ZHU Y,LU N H.Primary antibiotic resistance of Helicobacter pylori in China[J].Digestive Diseases and Sciences,2017,62(5):1146-1154.

[5] LI H,ZHANG B,HU X,et al.Serum Helicobacter pylori FliD antibody and the risk of gastric cancer[J].Oncotarget,2016,7(16):22397-22408.

[6] SOUOD N,SARSHAR M,DABIRI H,et al.The study of the oipA and dupA genes in Helicobacter pylori strains and their relationship with different gastroduodenal diseases[J].Gastroenterol Hepatol Bed Bench,2015,8(S1):47-53.

[7] AKBARI M R,AHMADI A,MIRKALANTARI S,et al. Anti-Vibrio,cholerae,IgY antibody inhibits mortality in suckling mice model[J].Journal of the National Medical Association,2018,110(1):84-87.

[8] BORGES I P,SILVA M F,SANTIAGO F M,et al.Antiparasitic effects induced by polyclonal IgY antibodies anti-phospholipase A_2 from Bothrops pauloensis venom[J].Int J Biol Macromol,2018,112:333-342.

[9] 况小灵.抗龋齿卵黄免疫球蛋白预防青少年龋齿的临床效果[J].医疗装备,2018,31(22):90-91.

[10] KAROUI R,KEMPS B,BAMELIS F,et al.Development of a rapid method based on front-face fluorescence spectroscopy for the monitoring of egg freshness:2-evolution of egg yolk[J].European Food Research and Technology,2006,223(2):180-188.

[11] 马永轩,魏振承,张名位,等.改善营养糊冲调性和流动性的配方优化和工艺研究[J].中国粮油学报,2013,28(7):81-87.

[12] 柳昭君,郭培红,徐乐,等.抗黄颡鱼“红头病”功能性蛋粉的制备及其应用[J].淡水渔业,2016,46(5):70-74.

[13] 李桂珍,王爱富,李舜,等.抗猪流行性腹泻病毒卵黄抗体制剂的研究及其临床应用[J].中国兽医杂志,2018,(11):3-6.

[14] 胥伟,向涛,王海滨,等.不同干燥方式对蛋黄粉理化性质的影响[J].中国家禽,2014,36(4):24-27.

Optimization of Instant Food Against *Helicobacter pylori* and Its Bacteriostatic Activity in Vitro

QIU Junjie[a], *SUN Lijin*[a], *ZHANG Zhongbao*[b], *LI Hao*[b], *ZHANG Zhi*[a]

(a. School of Biological Engineering;b. School of Chemical Engineering, Sichuan University of Science & Engineering, Zigong 643000, China)

Abstract: To prepare an instant food against *Helicobacter pylori*, the high-immunity egg powder(including UreB-BabA2-FlaA-IgY) is obtained by the spray freeze drying technology. On the basis of the original formula, the effects of xylitol addition, maltodextrin addition and high-immunity egg powder addition on the quality indexes (including Rest angle, bulk density, agglomeration rate, fluidity and the pipe wall) of instant food are studied by single factor experiment. On the basis of a single factor experiment, taste score as an indicator, the optimum combination of instant food is obtained by orthogonal experiment design. Analysis of potency stability of instant food by indirect Elisa method, by co-cultivating the instant food with *Helicobacter pylori*, bacteriostatic effect is determined by measuring OD_{600} value. The results show instant food is of the best quality when the maltodextrin, xylitol and high-immunity egg powder are added at 20%, 10% and 15%, respectively. There is no significant change in the potency of the meal powder under 37 ℃ for 4 months. In vitro, the instant food of 60 mg/mL can effectively inhibit the growth of *Helicobacter pylori*. The instant food against *Helicobacter pylori* is successfully prepared.

Key words: *Helicobacter pylori*; formula optimization; bacteriostasis action