



传统奶豆腐源乳酸乳球菌直投式发酵剂的优化及应用

景安琪¹, 张凤梅¹, 孙立山², 吴楠¹, 双全¹

(1. 内蒙古农业大学 食品科学与工程学院, 呼和浩特 010018; 2. 正蓝旗长虹乳制品厂, 内蒙古 锡林郭勒盟 027200)

摘要:以菌株D655(*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*)为实验菌株,以甘油、山梨醇、脱脂乳、葡萄糖、菊粉、海藻糖、谷氨酸钠和谷胱甘肽为保护剂,以冻干存活率为评价指标,通过单因素试验选择较好的3种保护剂进行Box-Behnken响应面优化试验,用优化后的直投式发酵剂制作奶豆腐,对其理化指标及电子舌滋味测定。结果表明当菌株冻干保护剂为脱脂乳、海藻糖和谷氨酸钠,且其质量浓度分别为5.5、5.5和18 g/100 mL时,菌株冻干存活率最高为88.68%,相对标准偏差RSD%为2.83%,此配比为菌株D655最佳保护剂方案,制作改进式奶豆腐后测得理化指标、鲜味及丰富度优于市售奶豆腐,为后续奶豆腐研究奠定了基础。

关键词:改进式奶豆腐;直投式发酵剂;冻干保护剂;响应面法;存活率

中图分类号:TS251.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-2230(2021)08-0016-05

doi:10.19827/j.issn1001-2230.2021.08.003

Optimization and Application of *Lactococcus Lactis* Directed Vat Set from Traditional Mongolian Hurood's

JING Anqi¹, ZHANG Fengmei¹, SUN Lishan², WU Nan¹, SHUANG Quan¹

(1. College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China; 2. Zhenglanqi Changhong Dairy Products Factory, Xilingol League 027200, China)

Abstract: Lactic acid bacteria D655 (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*) was used as the test bacteria. Survival rates of lyophilization was used as the evaluation index. Glycerol, sorbitol, skim milk, glucose, inulin, trehalose, sodium glutamate and glutathione were used as protective agents. Three better protectants were selected by single factor test to optimize Box-Behnken response surface methodology. Mongolian Hurood's was made with the optimized starter, and the physicochemical indexes and taste of electronic tongue were determined. The results showed that when the lyophilized protectants were skim milk, trehalose and sodium glutamate, their concentrations were 5.5 g/100 mL, 5.5 g/100 mL and 18 g/100 mL, the highest survival rate was 88.68%, RSD% was 2.83%. This ratio is the best protective agent for strain D655. The physicochemical indexes, umami and richness of the modified Mongolian Hurood's were better than those of the commercial Mongolian Hurood's. This laid a foundation for the follow-up study of Mongolian Hurood's.

Key words: improved mongolian hurood's; directed vat set(dvs); cryoprotectant; response surface method; survival rate

0 引言

目前,我国大部分企业仍需依靠购买进口发酵剂才能进行生产,存在着生产成本高、生产速率低等问题,因此自主研发相关直投式发酵剂至关重要。主流的直投式发酵剂通常采用真空冷冻干燥法^[1],可降低产品因热不稳定而造成的损失^[2],而且冷冻干燥过程中向菌悬液中添加冻干保护剂,可以有效防止外界压力对细胞膜磷脂双分子层的破坏,从而减少低温、高压等物理或化学伤害^[3-4],提高乳酸菌的存活率。

本实验前期从传统奶豆腐发酵乳中分离纯化出

一株优势菌株,编号为D655,经16s rRNA鉴定为乳酸乳球菌 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*,本实验通过选择甘油、山梨醇、脱脂乳、葡萄糖、菊粉、海藻糖、谷氨酸钠和谷胱甘肽作为单一保护剂进行研究,以冻干存活率为目标,结合Box-Behnken响应面分析法,选择出最优保护剂配比方案,并将直投式发酵剂用于奶豆腐生产,为后续研究奠定基础。

1 实验

1.1 材料与试剂

鲜牛乳由内蒙古正蓝旗长虹乳制品厂提供,乳酸菌D655分离自内蒙古正蓝旗长虹乳制品厂奶豆腐发酵乳。

MRS肉汤、MRS固体培养基,广东环凯生物科技有限公司;甘油,天津科贸化学试剂有限公司;山梨

收稿日期:2020-12-14

基金项目:内蒙古自治区科技计划项目(2019GG362)。

作者简介:景安琪(1995-),女,硕士研究生,研究方向为食品科学。

通讯作者:双全

醇,美国西格玛 sigma 公司;脱脂乳,北京酷来搏科技有限公司;葡萄糖,天津福晨化学试剂厂;菊粉,河南万邦实业有限公司;海藻糖、谷氨酸钠、谷胱甘肽,北京索莱宝科技有限公司;氯化钠,北京化工厂。

1.2 仪器与设备

KDC-140HR 高速冷冻离心机,安徽中科中佳科学仪器有限公司;SW-CJ-2FD 超净台,苏州安泰空气技术有限公司;BSA223S-CW 电子分析天平,德国 Sartorius 公司;FDU-2200 真空冷冻干燥机,日本 Eycla 公司;DW-86L728J 超低温保存箱,海尔集团;SX-500 全自动高压灭菌锅,日本 Tomy Digital Biology 公司;一次性注射器 20 mL,河南曙光健士医疗器械集团股份有限公司;0.22 μm 过滤器,天津市津腾实验设备有限公司;K9860 全自动凯氏定氮仪,济南海能仪器股份有限公司;SA 402B 电子舌,日本 Insent 公司。

1.3 方法

1.3.1 工艺流程及操作要点

新鲜牛乳→均质→杀菌→降温→接种→凝乳酶凝乳→切割→排乳清→堆酿→切碎加盐→热烫拉伸→冷却成型→包装

①均质:为防止杀菌过程中脂肪上浮,将新鲜牛乳取回后,放入洁净的均质机中进行均质;

②杀菌:均质后将牛乳放入 80 $^{\circ}\text{C}$ 的水浴锅中加热搅拌 15 min,取出后迅速冷却至 37 $^{\circ}\text{C}$ 。

③接种:提前 1 d 将单菌株按照 2% 的比例加入巴氏杀菌后的牛乳中,发酵至凝乳,制作成母发酵液。将母液按照 10% 的比例加入牛乳中进行酸化,控制发酵温度为 37~38 $^{\circ}\text{C}$,每隔二十分钟取样,测其酸度。

④凝乳酶凝乳,凝乳酶进行活化:称取 2 g 食品级 NaCl,用蒸馏水定容至 100 mL 容量瓶中制成质量分数为 2% 的盐水,灭菌后放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅,以 0.04 g/kg 计算称取凝乳酶的添加量,将称取的凝乳酶倒入小烧杯中,以凝乳酶:盐水=1:50 的比例量取预热好的盐水并倒入盛放凝乳酶的烧杯中进行活化,活化 30 min 后方可使用。待牛乳酸度达到 22~23 $^{\circ}\text{T}$,加入活化后的凝乳酶,迅速搅拌 1 min 并调高发酵温度至 42 $^{\circ}\text{C}$,静置凝乳 40 min。

⑤切割:凝乳块达适当硬度时,用食指斜向插入凝乳块中约 3 cm,当手指向上抬起时,如裂纹整齐,指上无小片凝乳残留且乳清透明时,即可开始进行切割。将凝乳块切成 1 cm^3 的小方块,在原温度下保持 10 min。

⑥排乳清:当乳清大量析出时,乳清分两次排除,第一次排除一半,搅拌 5 min,然后排除所有乳清。将干酪粒堆酿,堆酿期间每隔 10 min 将凝块上下翻转。

⑦堆酿加盐:将堆酿后的凝块切碎,加入原乳 3% 的食盐,搅拌均匀

⑧热烫、拉伸:将奶豆腐粒装入容器中,加入 85 $^{\circ}\text{C}$ 左右水,反复揉捏并拉伸折叠,凝块可拉成丝状即可。

⑨冷却、包装:将奶豆腐装入模具中,放入 5~10 $^{\circ}\text{C}$ 的高浓度盐水中使其硬化,30 min 后取出,进行真空包装。

1.3.2 菌株培养及冻干流程

将保藏的乳酸菌活化,按照体积分数为 3% 的接种量接种到 MRS 肉汤培养基中,37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温厌氧培养 24 h 后,在转速为 5 500 r/min 离心条件下离心 15 min,用质量分数为 0.85% 的生理盐水冲洗两次后,去除上清液,得到菌泥,加入与菌泥体积比为 2:1 的保护剂^[9],混匀后,于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 下预冷冻 12 h 后,真空冷冻干燥 24 h,得到冻干菌粉。

1.3.3 冻干存活率

将冻干后的乳酸菌粉加入与冻干前等体积的生理盐水(质量分数为 0.85%)进行复水,按照稀释涂布平板法接入 MRS 固体培养基中,37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温厌氧培养 48 h,用平板计数法计数,每组做 3 个平行。

冻干存活率计算公式^[10]:

$$a = \frac{m_1}{m_2} \times 100\%$$

式中: a 为冻干存活率; m_1 为冻干前活菌数; m_2 为冻干后活菌数。

1.3.4 单一保护剂

经查阅大量相关文献,将冻干保护剂分为多元醇类、糖类、氨基酸类、蛋白质/肽类和聚合物类这 5 大类,本试验依据这 5 大类冻干保护剂,从中选择甘油、山梨醇、葡萄糖、菊粉、海藻糖、谷氨酸钠、谷胱甘肽和脱脂乳作为冻干保护剂进行研究。根据白友菊^[11]研究中所述方法,略作改进,各因素水平如表 1 所示。

取一定量的上述保护剂,溶于质量分数为 0.85% 生理盐水中,配制成上表中的不同质量浓度的保护剂;脱脂乳于 110 $^{\circ}\text{C}$ 灭菌 10 min,其余物质通过孔径为 0.22 μm 过滤膜进行过滤除菌后备用。按照 1.3.1 中所述方法,进行单因素试验,以乳酸菌冻干存活率为依据,研究各种单一保护剂对乳酸菌存活率的影响^[7]。

表 1 不同保护剂浓度水平设计

g/100 mL

保护剂	质量浓度							
	3	6	9	12	15	18	21	24
甘油	3	6	9	12	15	18	21	24
山梨醇	3	6	9	12	15	18	21	24
脱脂乳	3	6	9	12	15	18	21	24
葡萄糖	3	6	9	12	15	18	21	24
菊粉	3	6	9	12	15	18	21	24
海藻糖	3	6	9	12	15	18	21	24
谷氨酸钠	3	6	9	12	15	18	21	24
谷胱甘肽	3	6	9	12	15	18	21	24

1.3.5 响应面法优化复合保护剂

根据单因素的实验结果,选择脱脂乳、海藻糖、谷氨酸钠3个因素的3个水平,显著中心为零水平,高水平 and 低水平比零水平高或者低1/2个原始实际步长,用Box-Behnken法优化设计实验,以冻干存活率为响应值来确定最佳冻干保护剂的配比研究,响应面水平表如表2所示,每组实验做3组平行,取平均值作为实验结果。

表2 Box-Behnken设计因子及水平 g/100 mL

编码	因素	水平		
		-1	0	1
A	脱脂乳	4.5	6	7.5
B	海藻糖	4.5	6	7.5
C	谷氨酸钠	16.5	18	19.5

1.3.6 直接式发酵剂制作奶豆腐与市售奶豆腐对比

根据响应面法筛选出最佳冻干保护剂配方后,将冻干菌粉D655用无菌质量分数为0.85%的生理盐水复水,以3%的接种量接入脱脂乳中,按照1.3.2中工艺流程制作改进式奶豆腐。以长虹乳制品厂生产的市售奶豆腐为对照组,根据国标中规定方法测定水分、蛋白质、脂肪及灰分,用电子舌对滋味进行测定分析。

1.4 数据处理

实验数据采用Excel、SPSS进行处理分析,用Origin 2018进行图片处理制作,用Design-Expert 11进行响应面模型拟合分析。

2 结果与分析

2.1 单一保护剂

单因素试验结果如图1所示。

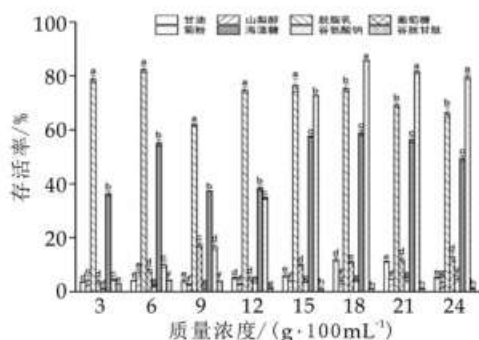


图1 不同保护剂对菌株D655冻干存活率的影响

由图1可知,保护剂为脱脂乳、海藻糖、谷氨酸钠的存活率显著高于其他组别($P < 0.05$)。当保护剂为6 g/100 mL脱脂乳时出现峰值,为82.44%,这与许娜等人^[9]的研究结果相似;在谷氨酸钠质量浓度为18%时,菌株D655的冻干存活率出现最高值为85.72%;大量试验研究发现乳酸菌在海藻糖中存活率较高,是较优质的冻干保护剂,并经研究发现海藻糖能和细胞膜中的某些成分形成氢键作用,取代水的位置,保护细胞膜的稳定性^[9],提高乳酸菌的存活率,通过试验研究发现,当海藻糖质量浓度为6 g/100 mL和18 g/100 mL

时,存活率出现两次峰值,分别为55.12%和58.91%,但考虑到实际应用及成本费用等因素,尽量选择低成本、高效率的保护剂,因此,最终选择以脱脂乳(6 g/100 mL)、海藻糖(6 g/100 mL)和谷氨酸钠(18 g/100 mL)3种冻干保护剂及其质量浓度为中心因子,进行后续响应面优化组合试验。

2.2 响应面优化冻干保护剂

在单因素试验结果基础上,以脱脂乳(A)、海藻糖(B)和谷氨酸钠(C)为自变量,以冻干存活率(Y)为响应值,利用Design-Expert11设计三因素三水平实验表,结果如表3所示;对菌株D655进行实验,得到的响应面分析结果如表4所示。经回归拟合后得到菌株D655冻干存活率的回归方程:

$$Y = 86.26 - 2.61A - 4.89B + 4.84C + 3.57AB - 0.175AC + 5.55BC - 6.84A^2 - 6.47B^2 - 13.12C^2$$

表3 Box-Behnken实验设计与结果

编号	脱脂乳A	海藻糖B	谷氨酸钠C	存活率/%
1	0	0	0	90.52
2	0	0	0	88.24
3	1	1	0	67.94
4	0	0	0	83.54
5	1	0	1	68.74
6	-1	0	1	73.42
7	-1	0	-1	63.52
8	1	-1	0	71.86
9	-1	1	0	66.92
10	0	-1	-1	71.6
11	-1	-1	0	85.1
12	0	1	-1	51.96
13	1	0	-1	59.54
14	0	-1	1	70.28
15	0	0	0	83.14
16	0	0	0	85.88
17	0	1	1	72.86

表4 D655冻干存活率的方差分析

方差来源	平方和SS	自由度	均方MS	F值	P值	显著性
模型	1814.96	9	201.66	31.99	<0.0001	**
脱脂乳A	54.50	1	54.50	8.64	0.0217	*
海藻糖B	191.69	1	191.69	30.40	0.0009	**
谷氨酸钠C	187.02	1	187.02	29.66	0.0010	**
AB	50.84	1	50.84	8.06	0.0251	*
AC	0.1225	1	0.1225	0.0194	0.8931	-
BC	123.43	1	123.43	19.58	0.0031	**
A ²	196.96	1	196.96	31.24	0.0008	**
B ²	176.23	1	176.23	27.95	0.0011	**
C ²	724.72	1	724.72	114.95	<0.0001	**
残差	44.13	7	6.30			
失拟项	4.79	3	1.60	0.1623	0.9165	-
误差	39.35	4	9.84			
总和	1859.09	16				
R ² =0.9763						
R ² _{adj} =0.9457						

注:**为影响极显著($P < 0.01$);*为影响显著($P < 0.05$);-为影响不显著。

由表4可知,模型 $P < 0.0001$,说明该回归模型极显著,且失拟项大于0.05,证明试验误差较小,且 A^2 , B^2 和 C^2 的 P 值均小于0.05,影响显著,可以用该模型来反映3种因素之间的交互作用以及对乳酸菌D655冻干存活率的影响^[10]。从表中也可看出,对菌株D655冻干存活率影响因素分别是海藻糖(B) $>$ 谷氨酸钠(C) $>$ 脱脂乳(A)。

图2反映了所有响应的残差与线性均无重大偏差,表明残差呈正态分布。由图3可以看出,实际值在预测值标准线两侧均匀分布,表明实验实际值和模型预期值契合度高,拟合程度良好,这也验证了模型的统计假设^[11]。

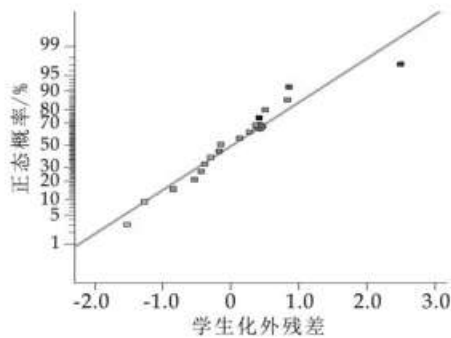


图2 残差率的正态分布

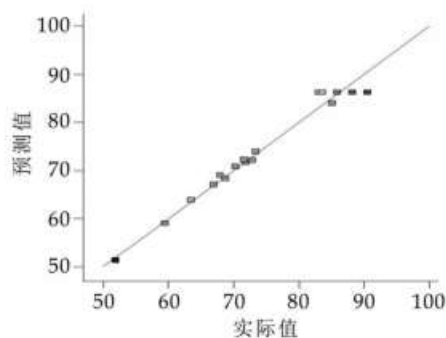
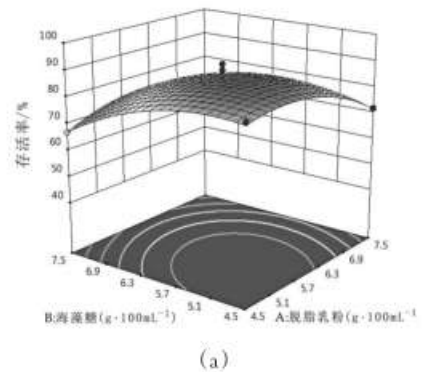


图3 预测值与实际值的关系

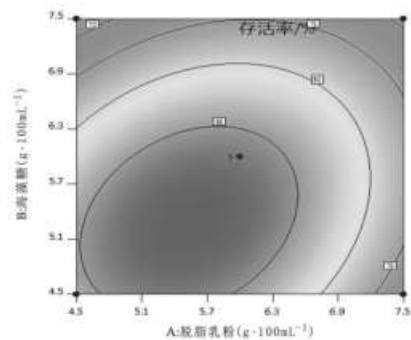
响应面图和等高线图可以反映两因素之间的交互作用,响应面越陡峭说明两自变量间的交互作用对响应值影响程度越大,相反,则不显著,同时等高线越接近椭圆,两因素的交互作用越显著,越接近圆形则交互作用越不显著^[12-14]。

由图4可以看出,因素AB和因素BC的响应面曲面陡峭,等高线接近椭圆,因此因素AB和因素BC之间是有显著的交互作用($P < 0.05$);且存活率随着保护剂的增加呈先上升后下降的趋势,这可能是由于高质量浓度的保护剂可以加速细胞内的蛋白质聚合,形成较强的玻璃化结构,反而不利于细胞的保存,且复水效果不好^[15],当海藻糖为低质量浓度时,存活率随着脱脂乳质量浓度增加呈先上缓慢升至某一值后缓慢下降的趋势;将海藻糖质量浓度固定时,存活率随着谷氨酸钠增加呈上升至某一值后迅速下降的趋势。且通过响应面图形可看出,谷氨酸钠上升幅度比海藻

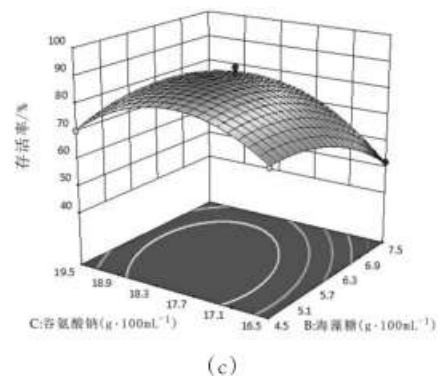
糖,说明谷氨酸钠对存活率的影响更大,这与方差分析结果一致。



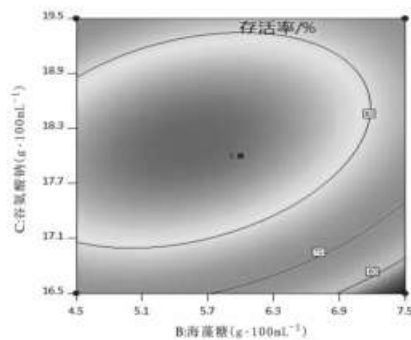
(a)



(b)



(c)



(d)

图4 3种因素交互作用的响应面及等高线

2.3 验证实验

根据建立模型进行参数优化分析,以冻干存活率最高值为优化目标,得到冻干菌株D655的最佳保护剂方案为:脱脂乳质量浓度 5.548 g/100 mL,海藻糖质量浓度 5.371 g/100 mL,谷氨酸钠质量浓度 18.145 g/100 mL,参照曾慧慧等人研究根据试验条件修正配方^[16],修正得到菌株D655最佳保护剂方案为,脱脂乳质量浓度 5.5 g/100 mL,海藻糖质量浓度 5.5 g/100 mL,谷氨酸钠质量分浓度 18 g/100 mL。按照修正后的最佳方案进行验证实验,重复3次,得到结果如表5所示。

表5 验证实验结果

实际值/%	平均值/%	预测值/%	标准偏差	RSD/%
89.31	88.68	87.92	2.51	2.83
89.26				
87.48				

菌株D655组的平均冻干存活率为88.68%,预测值为87.92%,RSD%为2.83%,预测值与实际值接近,表明此配方为最优组合。

2.4 直投式发酵剂制作奶豆腐与市售奶豆腐对比

图5为奶豆腐实试验组与对照组理化指标对比结果。

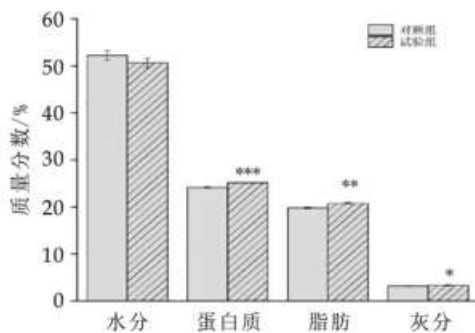


图5 实验组与对照组理化指标对比

由图5可知,对实验组及对照组进行独立样本T检验,实验组与对照组奶豆腐水分分别为50.28%和52.36%,无显著差异($P>0.05$);实验组蛋白质质量分数25.16%,显著高于对照组($P<0.001$),说明在制作奶豆腐过程中,排出乳清较为清澈,蛋白质流失较少;实验组的脂肪质量分数为20.8%,对照组为19.8%,显著高于对照组;实验组与对照组分质量分数分别为3.32%和3.19%,实验组显著高于对照组($P<0.05$),可能是由于实验组水分质量分数比对照组低,因此灰分质量分数上升。

国外已经开始运用电子舌技术在奶酪品质及制作过程中品质的监测,但国内相关研究较少。本实验为验证实验组与市售奶豆腐滋味是否存在差异,应用电子舌系统检测两组奶豆腐的6种基本滋味和3种回味,各滋味得分结果如图6所示。

由图6可知,实验组与对照组具有相似滋味得分轮廓,差异很小,无法看出二者的区别。方差分析结果如表6所示。

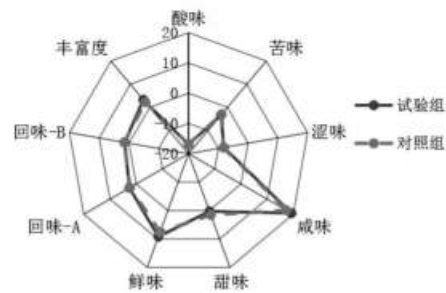


图6 实验组与对照组的滋味

由表6可以看出,实验组与对照组在酸味、苦味、涩味、回味-A及回味-B无显著差异($P>0.05$),说明实验组与对照组均无不良风味,而实验组在咸味及甜味与对照组有显著差异($P<0.01$),可能是由于实验组在浸泡完盐水后,立即取出进行测试,表面盐水浓度过高,导致咸味值高,后续可通过工艺优化来解决此问题;实验组的鲜味值显著高于对照组($P<0.05$),可能是因为添加了发酵乳酸菌液,乳酸菌将大分子的蛋白质分解,产生各种游离氨基酸,如天冬氨酸、谷氨酸等,因此鲜味有所提高^[17],同理,实验组的丰富度也显著高于对照组($P<0.001$)。

表6 改进式奶豆腐与市售奶豆腐各滋味指标差异性分析

指标	实验组	市售奶豆腐	P值
酸味	-16.99±0.31	-16.84±0.00	0.5570
苦味	-3.32±0.28	-2.96±0.00	0.2148
涩味	-8.14±0.74	-8.31±0.00	0.7730
咸味	19.28±0.37	17.30±0.00	0.0016
甜味	0.26±0.07	1.06±0.18	0.0035
鲜味	9.18±0.32	7.51±0.00	0.0176
回味-A	2.59±0.64	2.36±0.00	0.4873
回味-B	1.45±0.39	1.61±0.00	0.5938
丰富度	3.27±0.15	2.21±0.00	0.0005

直投式发酵剂发酵的奶豆腐在滋味方面与市售奶豆腐相似,脂肪、蛋白质、灰分的含量优于市售传统奶豆腐,可对直投式发酵剂替代传统奶豆腐生产进行更深入的研究。

3 结论

以菌株D655的冻干存活率为指标,通过单因素实验,确定了3种保护剂及其质量浓度:脱脂乳6 g/100 mL,海藻糖6 g/100 mL,谷氨酸钠18 g/100 mL;通过响应面分析法,确定保护剂最佳配方为脱脂乳5.5 g/100 mL,海藻糖5.5 g/100 mL,谷氨酸钠18 g/100 mL,此条件下冻干存活率最高,为88.68%。

将直投式发酵剂用于改进式奶豆腐后测得水分、蛋白质、脂肪及灰分分别为50.28%,25.16%,22.8%及3.76%,与市售奶豆腐相比有所提高;电子舌测得改进式奶豆腐的与市售奶豆腐得分轮廓相似,在鲜味及丰富度优于市售奶豆腐。

(下转第45页)

- 2201-2212.
- [25] Zhang D, Wen J, Zhou J, et al. Milk Fat Globule Membrane Ameliorates Necrotizing Enterocolitis in Neonatal Rats and Suppresses Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Response in IEC-6 Enterocytes[J]. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 2019, 43(7): 863-873.
- [26] Jantscher-Krenn E, Zherebtsov M, Nissan C, et al. The human milk oligosaccharide disialyllacto-N-tetraose prevents necrotizing enterocolitis in neonatal rats[J]. *Gut*, 2012, 61(10): 1417-1425.
- [27] 张琦敏, 倪妮妮, 张欣, 等. 母乳成分影响婴儿肠道屏障功能的研究进展[J]. *食品科学*, 2020, 41(09): 194-203.
- [28] 王婧瑜, 柴艳敏, 单春华. 鞘氨醇-1-磷酸与免疫细胞的调节[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2017, 33(09): 872-878.
- [29] Park E J, Suh M, Ramantujam K, et al. Diet-induced changes in membrane gangliosides in rat intestinal mucosa, plasma and brain[J]. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2005, 40(4): 487-495.
- [30] Park E J, Suh M, Thomson B, et al. Dietary ganglioside decreases cholesterol content, caveolin expression and inflammatory mediators in rat intestinal microdomains[J]. *Glycobiology*, 2005, 15(10): 935-942.
- [31] Park E J, Suh M, Thomson B, et al. Dietary ganglioside inhibits acute inflammatory signals in intestinal mucosa and blood induced by systemic inflammation of *Escherichia coli* lipopolysaccharide[J]. *Shock*, 2007, 28(1): 112-117.
- [32] Hang W, Ke-Yin C, Wei L, et al. Sphingosine-1-Phosphate Induces the Migration and Angiogenesis of Epc3 Through the Akt Signaling Pathway via Sphingosine-1-Phosphate Receptor 3/Platelet-Derived Growth Factor Receptor- β [J]. *Cellular & molecular biology letters*, 2015, 20(4): 597-611.
- [33] Nilsson A. Role of Sphingolipids in Infant Gut Health and Immunity[J]. *Journal of Pediatrics*, 2016, 173: 53-59.
- [34] Martin C, Patel M, Williams S, et al. Human breast milk-derived exosomes attenuate cell death in intestinal epithelial cells[J]. *Innate Immunity*, 2018, 24(5): 278-284.
- [35] Wang X, Yan X, Zhang L, et al. Identification and Peptidomic Profiling of Exosomes in Preterm Human Milk: Insights Into Necrotizing Enterocolitis Prevention[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2019, 63(13): 1801247.

(上接第20页)

实验结果表明,此配方冻干保护剂有效的提高了乳酸菌的存活率,且直投式发酵剂制作奶豆腐在滋味方面基本无差异,理化指标显著优于市售奶豆腐,为后续高效率且低成本的优质奶豆腐开发奠定了基础。

参考文献:

- [1] 华晓曼,贾冬梅,王雨珊,等. 发酵乳制品直投式发酵剂生产现状与研究进展[J]. *中国乳品工业*, 2016, 44(07): 23-27.
- [2] Stefanello R F, Nabeshima E H, Iamanaka B T, et al. Survival and stability of *Lactobacillus fermentum* and *Wickerhamomyces anomalus* strains upon lyophilisation with different cryoprotectant agents[J]. *Food research international*, 2019, 115(JAN.): 90-94.
- [3] 白友菊. 传统发酵型泡菜中乳酸菌的分离筛选及直投式发酵剂的制备[D]. 武汉: 华中农业大学, 2016.
- [4] Abdelwahed W, Degobert G, Fessi H. A pilot study of freeze drying of poly(ϵ -caprolactone) nanocapsules stabilized by poly(vinyl alcohol): Formulation and process optimization[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2006, 309(1-2): 178-188.
- [5] 陈合, 齐康儒, 李轶超, 等. 响应面法优化两歧双歧杆菌益生元类冻干保护剂[J]. *中国酿造*, 2017, 36(05): 81-84.
- [6] 隋春光, 梁金钟, 王凤青. 植物乳杆菌 Lp-S2 直投式发酵剂及其离心、冷冻干燥工艺研究[J]. *食品与机械*, 2016, 32(11): 174-177.
- [7] 朱奇奇, 张驰翔, 王周, 等. 降胆固醇植物乳杆菌 L4 菌冻干保护剂的响应面优化研究[J]. *食品科技*, 2016, 41(11): 2-7.
- [8] 许娜, 刘青梅, 杨性民. 响应面法优化鼠李糖乳杆菌冻干保护剂配方的研究[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(01): 207-210.
- [9] 张英华, 霍贵成, 郭鸽. 海藻糖对乳酸菌冷冻干燥保护机理的研究[J]. *食品与发酵工业*, 2007, (07): 148-151.
- [10] 文鹏程, 王军, 任发政, 等. 牧区奶干渣组合式发酵剂响应面法优化[J]. *农业机械学报*, 2014, 45(08): 241-247.
- [11] Lakshminarayanan T S, Madhusudhan B. Statistical modelling for optimized lyophilization of *Lactobacillus acidophilus* strains for improved viability and stability using response surface methodology[J]. *AMB Express*, 2018, 8(1): 129.
- [12] 乔丽洁, 王安平, 阿依夏古丽·巴斯卡, 等. 响应面法优化天山岩黄芪多糖提取工艺[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(01): 59-65.
- [13] Gao P, Xia W S, Li X Z, Liu S Q. Optimization of the maillard reaction of xylose with cysteine for modulating aroma compound d formation in fermented tilapia fish head hydrolysate using response surface methodology[J]. *Food Chemistry*, 2020, 331: 127353.
- [14] 何晓燕. 植酸提取工艺条件的优化及其对鲜切苹果保鲜效果的研究[D]. 成都: 西华大学, 2011.
- [15] 熊涛, 黄锦卿, 宋苏华, 等. 植物乳杆菌真空冷冻干燥保护剂配方优化[J]. *南昌大学学报(理科版)*, 2010, 34(06): 561-565.
- [16] 曾慧慧, 樊自强, 杨莉, 等. 响应面法优化海南眼树莲中三萜类化合物的提取工艺[J]. *热带农业科学*, 2020, 40(09): 94-104.
- [17] 李露芳. 电子舌技术在酱油滋味评价中的应用研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2019.

(上接第29页)

- and Cow Cleanliness on Bacterial and Somatic Cell Counts of Bulk Tank Milk[J]. *Journal of Dairy Research*, 2011, 78(4): 436-441.
- [10] 韩永霞. 牛乳中芽胞杆菌的动态变化及部分生物学特性的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2006.
- [11] 王林林, 何光华, 储小军, 等. 乳制品生产过程中耐热菌分离鉴定与抑菌效果评价[J]. *中国乳品工业*, 2016, 44(08): 12-16.
- [12] 刘波, 陶天申, 葛慧斌, 等. 芽胞杆菌第一卷·中国芽胞杆菌研究进展[M]. 北京: 科学出版社, 2015: 80-92.
- [13] 刘润身, 孙军德, 王艳. 乳品污水蛋白降解细菌及其产酶条件的筛选[J]. *沈阳农业大学学报*, 2005, 36(2): 171-174.
- [14] 康博燕. 乳品生产环境中微生物的调查与分析[D]. 大连: 大连工业大学, 2013.