

牧区奶干渣组合式发酵剂响应面法优化\*

文鹏程<sup>1</sup> 王 军<sup>1</sup> 任发政<sup>2</sup> 韩 玲<sup>1</sup> 王琳琳<sup>1</sup> 纪银莉<sup>3</sup>

(1. 甘肃农业大学食品科学与工程学院, 兰州 730070; 2. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083;  
3. 甘肃华羚生物技术研发中心, 兰州 730000)

**摘要:**以脱脂牦牛乳为试验材料,发酵3.5 h 滴定酸度为试验指标,在不同菌种最佳组合方式筛选的研究基础上,利用响应面 Box - Behnken 中心组合试验研究了4株筛自牧区、发酵性能优良的菌种:保加利亚乳杆菌(MGD1-3)、嗜热链球菌(MGB39-5)、嗜热链球菌(G81-1)、植物乳杆菌(BM5152)不同接种比例对牧区奶干渣发酵效果的影响。结果表明,优化得到最优组合式发酵剂为:MGD1-3 体积分数3.06%、MGB39-5 体积分数0.64%、G81-1 体积分数0.55%、BM5152 体积分数2.04%,滴定酸度为75.87°T。为了便于实际操作,确定最终体积接种比为:MGD1-3:MGB39-5:G81-1:BM5152=30:6:5:20,接种量体积分数为6.0%,该条件下进行3次平行试验,得到滴定酸度平均值为74.21°T;将接种优化后组合式发酵剂制成的奶干渣(试验组)与牧区采集奶干渣(对照组)进行感官与理化指标比较,结果表明该组合式发酵剂发酵性能优良。

**关键词:**奶干渣 乳酸菌 响应面 滴定酸度

**中图分类号:** TS252.4      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-1298(2014)08-0241-07

引言

奶干渣(藏语称曲拉)是青藏高原地区的牧民将牦牛乳脱脂分离、煮开、接种乳酸菌发酵使乳蛋白质凝固,经脱水干燥所得的奶干渣。在中国乃至世界上只有甘青川三省交界的青藏高原牧民有将牦牛乳制成奶干渣的生活习惯,是中国的独有资源<sup>[1]</sup>。奶干渣除了作为干粮直接食用外,大部分作为干酪素生产原料而被加工利用<sup>[2]</sup>。干酪素作为食品添加剂或品质改良剂被广泛应用于食品、医药、烟草、化妆品、皮革、轻纺和造纸等行业,是重要的食品、化工原料,目前国内外市场对干酪素的需求量较大,市场前景广阔<sup>[3-5]</sup>。然而,至今牧区仍沿用传统粗放式工艺制作奶干渣,尤其是发酵过程采用含乳酸菌乳清液进行粗放式发酵,杂菌污染严重并且无统一发酵温度和接种量,从而导致牦牛乳发酵速度缓慢、酪蛋白酸凝不完全、产生不良气味等问题的存在,进而影响奶干渣品质<sup>[6]</sup>。这不仅降低了奶干渣收购价,影响牧民收入,而且对其后续深加工也造成了一定的技术难题。因此,进行优质奶干渣组合式发酵剂的研究具有重要意义。

近年来国内外关于乳酸菌分类鉴别、生长代谢

以及发酵性能的研究报道诸多<sup>[7-8]</sup>,尤其在酸奶发酵过程中菌种对发酵速度、产品风味、抗氧化性及货架期影响的研究更是屡见不鲜<sup>[9-11]</sup>。然而,有关不同接种量配比的组合式发酵研究相对较少。Öner等研究了不同类型培养基、不同接种量的组合式发酵剂对可菲尔(牛奶发酵产物)的影响<sup>[12]</sup>。发酵速度缓慢是影响牧区奶干渣制作工艺的主要问题。发酵缓慢不仅使牦牛乳易变质,而且会造成牛乳中脂肪的氧化<sup>[13-14]</sup>,进而影响产品品质。因此,研究发酵性能优良、产酸快的组合式发酵剂,确定不同菌种的最佳配比及接种量,对提高奶干渣收购价降低其加工成本均具有极为重要的经济意义。

本文主要在牧区粗放式发酵制作奶干渣工艺的基础上进行最佳组合式发酵剂的研究,采用保加利亚乳杆菌(MGD1-3)、嗜热链球菌(MGB39-5)、嗜热链球菌(G81-1)和植物乳杆菌(BM5152)4株菌在最优菌种组合筛选的基础上,进行响应面 Box - Behnken 中心组合试验设计,进行最优组合式发酵剂4株菌最佳接种比优化,得到最优组合式发酵剂。并将接种优化后组合式发酵剂制成的奶干渣(试验组)与牧区采集奶干渣(对照组)进行感官与理化指标比较和分析。

收稿日期: 2013-12-03    修回日期: 2014-01-11

\* 公益性行业(农业)科研专项经费资助项目(201303085)和国家国际科技合作专项资助项目(2011DFA32550)

作者简介: 文鹏程,讲师,博士,主要从事畜产品加工及贮藏研究,E-mail: wenpc@gsau.edu.cn

通讯作者: 韩玲,教授,博士生导师,主要从事畜产品加工及贮藏研究,E-mail: hanl@gsau.edu.cn

1 材料与方法

1.1 原料

脱脂牦牛乳样品采自甘南藏族自治州牧区,现场用电动式奶油分离机脱脂并进行巴氏杀菌,待冷却后放入恒温采样箱带回实验室 4℃ 保藏备用。

菌种 MGD1 - 3 ( *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* )、MGB39 - 5 ( *Streptococcus thermophilus* )、G81 - 1 ( *Streptococcus thermophilus* ) 和 BM5152 ( *Lactobacillus plantarum* ) 均筛自甘南藏族自治州牧区。

奶干渣(对照组样品)新鲜样品采自甘南藏族自治州牧区,带回实验室真空避光包装后 4℃ 条件下保藏待用。

1.2 仪器设备

TGL - 16M 型高速台式冷冻离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司);SW - CG - 2SD 型洁净工作台(苏净集团苏州安泰空气技术有限公司);SPX - 150 - II 型生化培养箱(上海跃进医疗器械有限公司);SP - 756P 型紫外可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司);FA2004B 型电子天平(上海佑科仪器有限公司);HH - 4 型恒温水浴锅(北京科伟永兴有限公司)。

1.3 工艺流程和技术要点

1.3.1 工艺流程

工艺流程:原料乳(脱脂:奶油分离机)→杀菌(低温杀菌 63℃、30 min)→冷却→接种发酵剂→装瓶→发酵(42℃、3.5 h)→脱水干燥→奶干渣。

1.3.2 技术要点

- (1)脱脂乳:采用电动式奶油分离机进行脱脂。
- (2)杀菌:将脱脂乳水浴加热到 63℃ 保温 30 min,进行低温杀菌。
- (3)发酵:待杀菌乳降温至 37℃,接种组合式发酵剂,用保鲜膜封口,置于 42℃ 恒温培养箱内进行发酵,观察凝乳状态并测定其滴定酸度<sup>[15]</sup>。
- (4)脱水干燥:对酸凝沉淀的蛋白质进行初步脱水,然后在阳光下自然风干。

1.4 试验预处理

菌种活化:开启菌种干粉安瓿管,加入适量生理盐水,溶解混匀,吸取 500 μL 菌液,分别接种于 5 mL MRS(用于杆菌)和 M17(用于球菌)的液体培养基试管中,在 37℃ 条件下恒温培养 24 h。在相同培养条件下传代 2 ~ 3 次,直至菌体达到对数生长期,进行活菌数测定,当活菌数达到 1 × 10<sup>8</sup> 个/mL 以上,进行单因素与响应面试验。单因素与响应面试验均以 42℃ 发酵 3.5 h 滴定酸度为终点<sup>[15]</sup>。

1.5 试验设计

1.5.1 最优组合菌种筛选

根据实验室前期研究,4 株菌发酵效果均良好。其中 MGD1 - 3 和 BM5152 产酸能力相对较好,G81 - 1 和 MGB39 - 5 抗氧化能力相对较好<sup>[16 - 17]</sup>。接种量一定的条件下,通过不同菌株组合试验,筛选相同时间内产酸速度最快,酪蛋白酸凝效果最佳的组合方式,从而减少奶干渣发酵时间。

由实验室前期试验结果,结合牧区当地实际情况,以体积分数为 6.0% 的接种量进行 4 株菌单菌及不同菌株等量组合接种于脱脂牦牛乳,42℃ 发酵 3.5 h,测定其滴定酸度<sup>[15]</sup>,筛选最佳发酵效果试验组,如表 1 所示。

表 1 不同菌种接种量(体积分数)组合设计

Tab.1 Design of different bacteria combination

| %   |          |           |         |        |
|-----|----------|-----------|---------|--------|
| 处理号 | MGD1 - 3 | MGB39 - 5 | G81 - 1 | BM5152 |
| 1   | 6.0      | 0         | 0       | 0      |
| 2   | 0        | 6.0       | 0       | 0      |
| 3   | 0        | 0         | 6.0     | 0      |
| 4   | 0        | 0         | 0       | 6.0    |
| 5   | 3.0      | 3.0       | 0       | 0      |
| 6   | 3.0      | 0         | 3.0     | 0      |
| 7   | 3.0      | 0         | 0       | 3.0    |
| 8   | 0        | 3.0       | 3.0     | 0      |
| 9   | 0        | 3.0       | 0       | 3.0    |
| 10  | 0        | 0         | 3.0     | 3.0    |
| 11  | 2.0      | 2.0       | 2.0     | 0      |
| 12  | 2.0      | 2.0       | 0       | 2.0    |
| 13  | 0        | 2.0       | 2.0     | 2.0    |
| 14  | 2.0      | 0         | 2.0     | 2.0    |
| 15  | 1.5      | 1.5       | 1.5     | 1.5    |

1.5.2 响应面最优接种比优化

由试验知,4 株菌按体积比 1 : 1 : 1 : 1 复配,以体积分数为 6.0% 的接种量接种于脱脂牦牛乳,42℃ 发酵 3.5 h<sup>[15]</sup>,产酸速度最快。然而 4 株菌之间复配比例以及交互作用需要进一步优化,为此利用 Design - Expert 8.05b 进行响应面 Box - Behnken 中心组合试验设计,以发酵 3.5 h 时的滴定酸度为试验指标,进行 4 株菌接种量对脱脂牦牛乳滴定酸度影响的响应面试验,寻找 4 株菌最佳接种量配比,如表 2 所示。

表 2 响应面设计因素与水平

Tab.2 Factors and levels of response surface design

| %  |          |           |         |        |
|----|----------|-----------|---------|--------|
| 编码 | 因素       |           |         |        |
|    | MGD1 - 3 | MGB39 - 5 | G81 - 1 | BM5152 |
|    | 体积分数 a   | 体积分数 b    | 体积分数 c  | 体积分数 d |
| -1 | 2.5      | 0.2       | 0.2     | 1.5    |
| 0  | 3.0      | 0.5       | 0.5     | 2.0    |
| 1  | 3.5      | 0.8       | 0.8     | 2.5    |

1.5.3 验证试验

将接种优化后组合式发酵剂制成的奶干渣(试验组)与牧区采集新鲜奶干渣(对照组)进行感官与理化指标比较与分析。

1.6 指标测定方法

1.6.1 滴定酸度

根据 GB5413.34—2010《乳和乳制品酸度的测定》,用 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液滴定法测定。

1.6.2 感官指标<sup>[15]</sup>

采用 10 人打分,取平均值,评分标准如表 3 所示。

表 3 感官评分标准(满分为 100 分)

| Tab.3 Sensory evaluation criteria (out 100) |               |       |
|---------------------------------------------|---------------|-------|
| 类别                                          | 评分标准          | 评分    |
| 气味(Q)                                       | 乳特有的香味        | 30~40 |
|                                             | 无明显乳香味,有一定臭味  | 20~30 |
|                                             | 浓酸臭味          | 0~20  |
| 色泽(S)                                       | 淡乳黄色并且发亮      | 40~50 |
|                                             | 黄色,发暗         | 20~40 |
|                                             | 黄褐色,发暗        | 0~20  |
| 杂质(Z)                                       | 无肉眼可见杂质       | 8~10  |
|                                             | 有肉眼可见杂质,但不明显  | 5~7   |
|                                             | 有明显杂质,如毛发、沙粒等 | 0~4   |
| 总分 $T=Q+S+Z$                                |               |       |

1.6.3 理化指标

脂肪测定:参照 GB5413.3—2010,乳品中脂肪的测定;蛋白质测定:参照 GB5009.5—2010;抗氧化值测定:POV 值的测定参照 GB/T 5009.37—2003《食用植物油卫生标准的分析方法》;TBARS 值测定参考文献[18-19]。

1.7 数据处理

采用 SPSS 19.0 和 Design-Expert 8.05b 进行数据处理及分析。

2 结果与分析

2.1 最佳菌种组合筛选

由图 1 可知,组合 15(MGD1-3:MGB39-5:G81-1:BM5152(体积比)=1:1:1:1)在相同发酵时间内产酸最快,该组合方式发酵效果相对其他方式较好,42℃ 发酵 3.5 h,其滴定酸度为 65.3°T。

2.2 响应面试验结果

利用软件 Design Expert 8.05b 的 Box-Behnken 中心组合设计,4 株菌 MGD1-3(A)、MGB39-5(B)、G81-1(C)、BM5152(D)进行响应面试验,其中 A、B、C 和 D 均为编码值,结果如表 4 所示。对表 4 数据进行回归分析,得到 4 株菌对脱脂牦牛乳发酵滴定酸度影响的二次多项回归方程为

$$Y = -25.9139 + 49.036A + 1.39B + 44.56C + 13.8D + 2.5AB - 6.17AC + 1.6AD + 1.94BC + 1.83BD - 3.17CD - 8.25A^2 - 10.83B^2 - 18.61C^2 - 4.45D^2$$

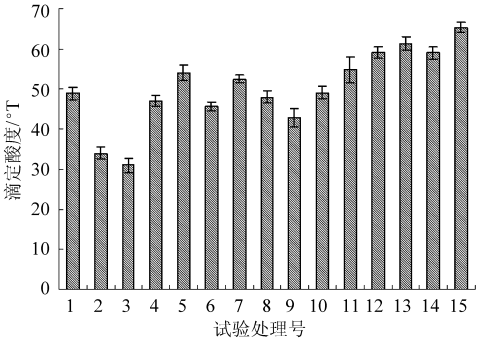


图 1 不同菌种组合对脱脂牦牛乳发酵滴定酸度的影响  
Fig.1 Effect of different lactobacillus combination for titratable acidity of skimmed yak milk

表 4 试验设计与结果

| Tab.4 Design and result of experiment |    |    |    |    |           |
|---------------------------------------|----|----|----|----|-----------|
| 序号                                    | A  | B  | C  | D  | 滴定酸度 Y/°T |
| 1                                     | -1 | -1 | 0  | 0  | 72.9      |
| 2                                     | 1  | -1 | 0  | 0  | 71.8      |
| 3                                     | -1 | 1  | 0  | 0  | 72.8      |
| 4                                     | 1  | 1  | 0  | 0  | 73.2      |
| 5                                     | 0  | 0  | -1 | -1 | 71.6      |
| 6                                     | 0  | 0  | 1  | -1 | 74.1      |
| 7                                     | 0  | 0  | -1 | 1  | 72.7      |
| 8                                     | 0  | 0  | 1  | 1  | 73.3      |
| 9                                     | -1 | 0  | 0  | -1 | 71.8      |
| 10                                    | 1  | 0  | 0  | -1 | 72.8      |
| 11                                    | -1 | 0  | 0  | 1  | 70.9      |
| 12                                    | 1  | 0  | 0  | 1  | 73.5      |
| 13                                    | 0  | 0  | -1 | 0  | 70.9      |
| 14                                    | 0  | 1  | -1 | 0  | 73.0      |
| 15                                    | 0  | -1 | 1  | 0  | 72.2      |
| 16                                    | 0  | 1  | 1  | 0  | 75.0      |
| 17                                    | -1 | 0  | -1 | 0  | 70.1      |
| 18                                    | 1  | 0  | -1 | 0  | 73.2      |
| 19                                    | -1 | 0  | 1  | 0  | 72.5      |
| 20                                    | 1  | 0  | 1  | 0  | 71.9      |
| 21                                    | 0  | -1 | 0  | -1 | 72.8      |
| 22                                    | 0  | 1  | 0  | -1 | 74.0      |
| 23                                    | 0  | -1 | 0  | 1  | 72.6      |
| 24                                    | 0  | 1  | 0  | 1  | 74.9      |
| 25                                    | 0  | 0  | 0  | 0  | 75.4      |
| 26                                    | 0  | 0  | 0  | 0  | 75.6      |
| 27                                    | 0  | 0  | 0  | 0  | 75.9      |
| 28                                    | 0  | 0  | 0  | 0  | 76.0      |
| 29                                    | 0  | 0  | 0  | 0  | 75.1      |

对上述回归模型进行方差分析如表 5 所示。结果表明,该回归模型极显著( $p < 0.0001$ )。回归模

型的决定系数  $R^2 = 0.913\ 3$ , 校正决定系数  $R^2_{Adj} = 0.826\ 7$ , 失拟项  $p = 0.098 > 0.05$ , 不显著, 说明该回归模型与试验数据拟合程度较高, 试验误差较小。因此, 可以用该模型分析和预测 4 株菌对脱脂牦牛乳发酵滴定酸度影响的大小。

表 5 回归方程各项的方差分析

| Tab. 5 Analysis of variance for fitted regression model |       |     |       |          |                     |     |
|---------------------------------------------------------|-------|-----|-------|----------|---------------------|-----|
| 方差来源                                                    | 平方和   | 自由度 | 均方    | <i>F</i> | <i>p</i> > <i>F</i> | 显著性 |
| 模型                                                      | 62.19 | 14  | 4.44  | 10.54    | <0.000 1            | * * |
| <i>A</i>                                                | 2.43  | 1   | 2.43  | 5.77     | 0.030 8             | *   |
| <i>B</i>                                                | 7.84  | 1   | 7.84  | 18.6     | 0.000 7             | * * |
| <i>C</i>                                                | 4.69  | 1   | 4.69  | 11.12    | 0.004 9             | * * |
| <i>D</i>                                                | 0.05  | 1   | 0.05  | 0.13     | 0.727 4             |     |
| <i>AB</i>                                               | 0.56  | 1   | 0.56  | 1.33     | 0.267 3             |     |
| <i>AC</i>                                               | 3.42  | 1   | 3.42  | 8.12     | 0.012 9             | *   |
| <i>AD</i>                                               | 0.64  | 1   | 0.64  | 1.52     | 0.238 2             |     |
| <i>BC</i>                                               | 0.12  | 1   | 0.12  | 0.29     | 0.598 3             |     |
| <i>BD</i>                                               | 0.3   | 1   | 0.3   | 0.72     | 0.411 1             |     |
| <i>CD</i>                                               | 0.9   | 1   | 0.9   | 2.14     | 0.165 5             |     |
| <i>A</i> <sup>2</sup>                                   | 27.59 | 1   | 27.59 | 65.47    | <0.000 1            | * * |
| <i>B</i> <sup>2</sup>                                   | 6.17  | 1   | 6.17  | 14.63    | 0.001 9             | * * |
| <i>C</i> <sup>2</sup>                                   | 18.2  | 1   | 18.2  | 43.18    | <0.000 1            | * * |
| <i>D</i> <sup>2</sup>                                   | 8.03  | 1   | 8.03  | 19.05    | 0.000 6             | * * |
| 残差                                                      | 5.9   | 14  | 0.42  |          |                     |     |
| 失拟项                                                     | 5.36  | 10  | 0.54  | 3.97     | 0.098               |     |
| 纯误差                                                     | 0.54  | 4   | 0.14  |          |                     |     |
| 总回归                                                     | 68.09 | 28  |       |          |                     |     |

注: \* \* 为差异极显著( $p < 0.01$ ); \* 为差异显著( $p < 0.05$ )。

对 4 株菌 MGD1-3、MGB39-5、G81-1 和 BM5152 的接种量 4 个因素, 两两交互作用分析, 得到交互因子的响应曲面图, 在等高线区域中心, 滴定酸度最高, 由中心向边缘逐渐减小。若底部投影为椭圆形, 则两因素交互作用显著, 由此可知图 2a (MGD1-3 和 G81-1) 具有交互性( $p < 0.05$ ), 其他菌株之间的交互作用均不具有显著性( $p > 0.05$ )。

通过回归方程对各因素求导, 得出 4 株菌 MGD1-3、MGB39-5、G81-1 和 BM5152 的最佳接种量体积分数分别为: 3.06%、0.64%、0.55% 和 2.04%, 滴定酸度为 75.87°T。为了便于实际操作, 确定 4 株菌最终体积接种比为: MGD1-3: MGB39-5: G81-1: BM5152 = 30: 6: 5: 20, 在该接种比例条件下按总量体积分数 6.0% 接种于脱脂牦牛乳中, 42℃ 发酵 3.5 h, 进行 3 次平行试验, 得到滴定酸度平均值为 74.21°T, 相对误差为 2.24%, 与 4 株菌按体积比 1: 1: 1: 1 混合接种相比, 其滴定酸度提高了 8.91°T。

2.3 发酵剂优化前后奶干渣品质比较

色泽是评价奶干渣品质的重要指标。由图 3 可明显看出, 接种优化组合式发酵剂所制得的奶干渣

色泽较好, 说明该组合式发酵剂发酵效果及性能均良好, 奶干渣在发酵过程氧化程度低。

2.3.1 发酵剂优化前后奶干渣感官指标

如表 6 所示, 试验组奶干渣色泽、气味均明显优于对照组, 尤其色泽明显优于对照组。Krkić 等研究指出, 牛乳干酪素不良色泽除了脂肪氧化与美拉德反应之外, 还与酶以及微生物作用有密切关系<sup>[18-19]</sup>, Liu 等研究了 10~40℃ 牛奶动力平衡性, 在此温度范围内酶以及易氧化物均处于相对动态平衡, 但随着微生物作用, 当 pH 值低于 4.8 时部分酶的活性开始受到抑制, 牛奶内部动态平衡逐渐被破坏, 氧化物质被氧化且产生不良气味<sup>[20]</sup>, 这与本研究发酵速度缓慢的对照组气味、色泽较差的结果是一致的。

表 6 感官指标比较

| Tab. 6 Sensory evaluation comparison of milk dried residue |                             |                             |
|------------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 检测结果                                                       | 试验组                         | 对照组                         |
| 气味                                                         | 38.2 ± 0.336 5 <sup>A</sup> | 25.5 ± 0.218 3 <sup>B</sup> |
| 色泽                                                         | 46.1 ± 0.094 7 <sup>a</sup> | 40.8 ± 0.025 8 <sup>b</sup> |
| 杂质                                                         | 10.0 ± 0.443 8              | 10.0 ± 0.095 6              |
| 总分                                                         | 94.3 ± 0.086 7 <sup>a</sup> | 76.3 ± 0.023 9 <sup>b</sup> |

注: 同行无字母表示差异不显著( $p > 0.05$ ), 不同小写字母表示差异显著( $p < 0.05$ ), 不同大写字母表示差异极显著( $p < 0.01$ ), 下表同。

2.3.2 发酵剂优化前后奶干渣理化指标

发酵剂优化前后制作奶干渣理化比较的结果如表 7 所示。由表可知, 试验组蛋白质含量显著增加了 6.54 g/(100 g) ( $p < 0.05$ ), POV 极显著的减少了 1.17 g/(100 g) ( $p < 0.01$ ), TBARS 显著减少了 0.39 mg/kg ( $p < 0.05$ ), 脂肪含量不具有显著性。

表 7 理化指标比较

| Tab. 7 Physical and chemical index comparison of milk dried residue |                              |                              |
|---------------------------------------------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 指标                                                                  | 试验组                          | 对照组                          |
| 脂肪质量分数/%                                                            | 4.62 ± 0.012 6               | 4.64 ± 0.024 9               |
| 蛋白质/(g·(100 g) <sup>-1</sup> )                                      | 78.27 ± 0.357 1 <sup>a</sup> | 71.43 ± 0.501 0 <sup>b</sup> |
| POV/(g·(100 g) <sup>-1</sup> )                                      | 0.44 ± 0.066 1 <sup>B</sup>  | 1.61 ± 0.076 3 <sup>A</sup>  |
| TBARS/(mg·kg <sup>-1</sup> )                                        | 1.62 ± 0.013 5 <sup>b</sup>  | 2.01 ± 0.021 9 <sup>a</sup>  |

蛋白质含量是评价奶干渣品质好坏的重要指标, POV 值和 TBARS 值是奶干渣制作过程中氧化程度的重要衡量指标。奶干渣氧化变质主要由脂肪氧化与美拉德反应所致<sup>[21-23]</sup>, 试验组 POV 值和 TBARS 值均低于对照组, 这与 Adhikari 等研究乳中脂肪氧化酸败程度随发酵时间延长而增大的结果是一致的<sup>[24-25]</sup>。

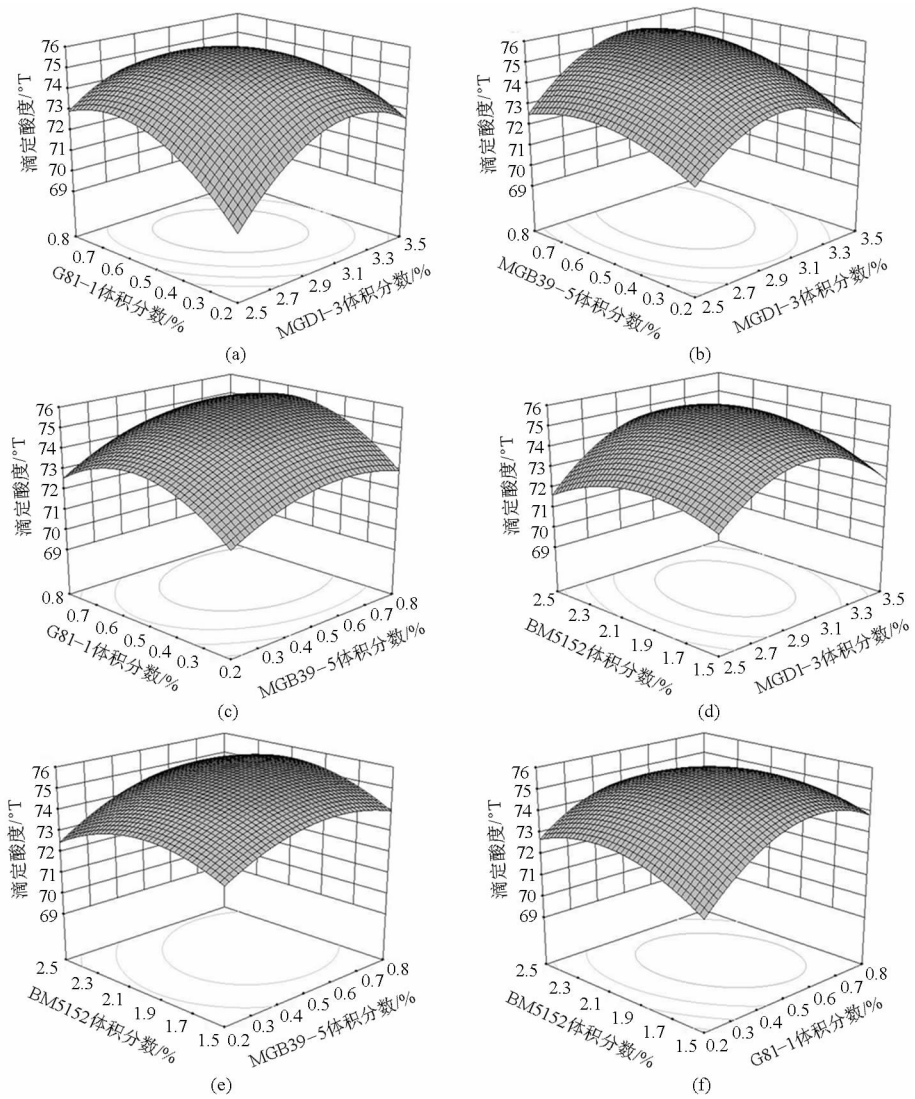


图 2 交互因子的响应曲面和等高线  
Fig.2 Interaction factor of response surface and contour



图 3 发酵剂优化前后奶干渣品质比较  
Fig.3 Comparison of milk dried residue produced pre- and post- optimization of fermentation starter  
(a) 试验组 (b) 对照组

3 结论

(1)通过响应面 Box - Behnken 中心组合试验设计,得到最优发酵剂组合为:MGD1 - 3 体积分数

3. 06%、MGB39 - 5 体积分数 0. 64%、G81 - 1 体积分数 0. 55%、BM5152 体积分数 2. 04%,滴定酸度为 75. 87°T。为了便于实际操作,确定最终体积接种比为:MGD1 - 3: MGB 9- 5: G81 - 1: BM5152 = 30: 6: 5: 20,

在此接种比例按总量体积分数 6.0% 接种于脱脂牦牛乳中,进行 3 次平行试验,得到滴定酸度平均值为 74.21°T,相对误差为 2.24%。

(2)通过发酵剂优化前后奶干渣感官指标和理

化指标比较分析,接种优化组合式发酵剂制成奶干渣感官指标与理化指标均明显优于对照组,说明该组合式发酵发酵性能良好。

参 考 文 献

1 余群力,甘伯中,敏文祥,等. 牦牛奶干渣精制干酪素工艺研究[J]. 农业工程学报,2005,21(7):140-144.  
Yun Qunli, Gan Bozhong, Min Wenxiang, et al. Processing technology for purifying casein made from Yak "Qula" [J]. Transactions of the CSAE, 2005, 21(7): 140-144. (in Chinese)

2 罗章,陈历俊,陈历水,等. 西藏乳及乳制品中乳酸菌与酵母菌分布[J]. 食品工业科技,2013,11(6):392-395.  
Luo Zhang, Chen Lijun, Chen Lishui, et al. Distribution of lactic acid bacteria and yeast in raw milk and fermented dairy products in Tibet[J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 11(6): 392-395. (in Chinese)

3 闫序东,王彩云,云战友,等.  $\alpha$ -乳白蛋白提取工艺研究及副产物功能性质评价[J]. 食品工业科技,2011,32(6):253-256.  
Yan Xudong, Wang Caiyun, Yun Zhanyou, et al. Process for producing  $\alpha$ -lactalbumin-enriched whey and evaluation of functional properties of rennet casein[J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(6): 253-256. (in Chinese)

4 Piresa M S, Orelana G A, Gatti C A. Rennet coagulation of casein micelles: action of  $\text{Ca}^{2+}$  and pH[J]. Food Hydrocolloids, 1999, 13(3): 235-238.

5 Fu N, Woo M W, Selomulya C, et al. Shrinkage behaviour of skim milk droplets during air drying[J]. Journal of Food Engineering, 2013, 116(1): 37-44.

6 司克辉,张丽,张敏. 甘肃省肃南牧区传统发酵牦牛乳优良乳酸菌株的筛选[J]. 甘肃农业大学学报,2011,46(3):112-116.  
Si Kehui, Zhang Li, Zhang Min. Screening of excellent lactic acid bacteria from traditional fermented yak milk in Sunan prefecture of Gansu Province[J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2011, 46(3): 112-116. (in Chinese)

7 Lin W H, Hwang C F, Chen L W, et al. Viable counts, characteristic evaluation for commercial lactic acidbacteria products[J]. Food Microbiology, 2006, 23(1): 74-81.

8 袁琳琳,梅俊,彭勇,等. 藏灵菇益生菌奶片的制作及其品质分析[J]. 农业工程学报,2013,29(11):278-285.  
Yuan Yilin, Mei Jun, Peng Yong, et al. Production and quality analysis of Tibetan kefir milk slice[J]. Transactions of the CSAE, 2013, 29(11): 278-285. (in Chinese)

9 Larsson C. Effects on product quality for probiotic yoghurts caused by long storage times during production[D]. Sweden:Linkoping University, 2009.

10 Oliveiraa M N, Sodini I, Remeuf F, et al. Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria[J]. International Dairy Journal, 2001, 11(11-12): 935-942.

11 Cakmakci S, Cetin B, Turgut T, et al. Probiotic properties, sensory qualities, and storage stability of probiotic banana yogurts [J]. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences, 2012, 36(3): 231-237.

12 Öner Z, Karahan A G, Çakmakçı M L. Effects of different milk types andd starter cultures on kefir[J]. GIDA, 2010, 35(3): 177-182.

13 Qiu C Y, Zhao M M, Sun W Z, et al. Changes in lipid composition, fatty acid profile and lipid oxidative stability during Cantonese sausage processing[J]. Meat Science, 2013, 93(3): 525-532.

14 Wood J D, Enser M, Fisher A V, et al. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: a review[J]. Meat Science, 2008, 78(4): 343-358.

15 杨丽丽,韩玲,张丽. 乳酸菌组合发酵菌种配方及其增殖培养基的优化[J]. 食品与发酵工业,2011,37(11):113-116.  
Yang Lili, Han Ling, Zhang Li. Formula of mixed fermentation of lactic acid bacteria and optimization of enrichment medium[J]. Food and Fermentation Industries, 2011, 37(11): 113-116. (in Chinese)

16 包秋华,吕婧,于洁,等. 四川牦牛奶和曲拉中九株乳酸菌的分子鉴定[J]. 食品与生物技术学报,2012,31(4):396-401.  
Bao Qiuhua, Lü Qiang, Yu Jie, et al. Molecular identification of nine strains lactic acid bacteria isolated from yak milk and triton in Sichuan[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2012, 31(4): 396-401. (in Chinese)

17 彦彬,贺银凤. 酸马奶中乳酸菌与酵母菌的共生发酵特性[J]. 食品科学,2012,33(7):131-137.  
Yan Bin, He Yinfeng. Symbiotic fermentation characteristics of lactic acid bacteria and yeast isolated from koumiss in inner Mongolia[J]. Food Science, 2012, 33(7): 131-137. (in Chinese)

18 Krkić N, Šojić B, Lazić V, et al. Lipid oxidative changes in chitosan-oregano coated traditional dry fermented sausage Petrovská klobása[J]. Meat Science, 2013, 93(3): 767-770.

19 Elmore J S, Campo M, Enser M, et al. The effect of lipid composition on meat-like model systems containing cysteine, ribose and polyunsaturated fatty acids[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(2):1126-1132.

20 Liu D Z, Weeks M G, Dunstan D E, et al. Temperature-dependent dynamics of bovine casein micelles in the range 10~40°C

[J]. Food Chemistry, 2013, 141(4): 4081–4086.

21 Jiang Z M, Wang L Z, Wu W, et al. Biological activities and physicochemical properties of Maillard reaction products in sugar-bovine casein peptide model systems[J]. Food Chemistry, 2013, 141(4): 3837–3845.

22 Gu F L, Kim J M, Hayat K, et al. Characteristics and antioxidant activity of ultrafiltrated Maillard reaction products from a casein-glucose model system[J]. Food Chemistry, 2009, 117(1): 48–54.

23 Fu L, Xu B T, Xu X R, et al. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits[J]. Food Chemistry, 2011, 129(2): 345–350.

24 Adhikari K, Heymann H, Huff H. Textural characteristics of low fat, full fat and smoked cheeses: sensory and instrumental approaches[J]. Food Quality and Preference, 2003, 14(3): 211–218.

25 Mao X Y, Ni J R, Sun W L, et al. Value-added utilization of yak milk casein for the production of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides: a review [J]. Food Chemistry, 2007, 103(4): 1282–1287.

## Optimization of Combined Fermentation Starter of Milk Dried Residue in Pastoral Areas by Response Surface Methodology

Wen Pengcheng<sup>1</sup> Wang Jun<sup>1</sup> Ren Fazheng<sup>2</sup> Han Ling<sup>1</sup> Wang Linlin<sup>1</sup> Ji Yinli<sup>3</sup>  
(1. College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China  
2. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China  
3. Gansu Hualing Bio-technical Research Center, Lanzhou 730000, China)

**Abstract:** Skimmed yak milk was selected for this research and the titratable acidity at 3.5 h as the test indicator. Box – Behnken central composite experiment was designed based on optimal combination of fermentation starters to research the effect of *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* (MGD1 – 3), *Streptococcus thermophilus* (MGB39 – 5), *Streptococcus thermophilus* (G81 – 1), and *Lactobacillus plantarum* (BM5152), which were screened from pastoral areas to the titratable acidity. The result showed that the optimal combination of fermentation starters was MGD1 – 3 3.06%, MGB39 – 5 0.64%, G81 – 1 0.55%, and BM5152 2.04% and the titratable acidity was 75.87°T. In order to facilitate the practical operation, the proportion of MGD1 – 3: MGB39 – 5: G81 – 1: BM5152 = 30: 6: 5: 20 and 6.0% of inoculum size based on volume fraction were selected. Under these conditions, the average titratable acidity was 74.21°T of three parallel trials. Compared with the sensory and physical and chemical indicators of milk dried residue came from optimized combination of fermentation starters and pastoral areas, the result showed that the optimized combination of fermentation starters was reliable.

**Key words:** Milk dried residue Lactic acid bacteria Response surface design Titratable acidity

(上接第 122 页)

## Self-propelled Crawler Directional Air-blowing Orchard Sprayer

Zhang Xiaohui Jiang Zongyue Fan Guoqiang Cao Longlong  
(College of Mechanical and Electronic Engineering, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

**Abstract:** A kind of self-propelled crawler directional air-blowing orchard sprayer was developed. The working principle and transmission line of the machine were introduced firstly. Adopting theoretical calculation, the design of whole structure and the technical parameters of the key components were determined. In order to achieve the directional spraying, the multi-degree of freedom framework was designed. The experiment showed that, compared with no wind spraying, the deposit rate of droplets increased by 42.9% and the coefficient of variation decreased by 18.5%. Compared with ordinary spraying, the number of droplets increased by 30.9% and the coefficient of variation decreased by 55.3%.

**Key words:** Orchard sprayer Crawler self-propelled Directional air-blowing spraying Experiment