

# 冰淇淋中益生菌冷冻胁迫致菌体损伤 机制研究进展

张健, 郑义, 朱金锦, 刘心怡, 杨贞耐\*

(北京工商大学食品质量与安全北京实验室, 北京 100048)

**摘要:** 冰淇淋是优良的益生菌载体, 但其加工中的老化、凝冻和硬化等阶段性降温至冷冻的过程, 会造成益生菌生理损伤, 导致益生菌活力下降, 功能性变差。近年, 有关冰淇淋中冷冻胁迫致益生菌的损伤, 冰淇淋中益生菌活性的保护, 以及组学技术推动下的菌株损伤相关代谢研究取得了一定进展, 为研究影响冰淇淋中益生菌存活能力、菌体细胞膜特性及代谢酶活性, 明确冰淇淋基质中益生菌冷冻胁迫损伤的分子机制, 建立冰淇淋加工和贮藏过程中益生菌的保护策略提供了可能, 也为未来改善益生菌冰淇淋的功效和品质提供科学依据。

**关键词:** 益生菌冰淇淋; 代谢组学; 蛋白质组学; 控制策略

## Advances of cell injury mechanism by freezing stress during processing of probiotic ice cream

ZHANG Jian, ZHENG Yi, ZHU Jin-Jin, LIU Xin-Yi, YANG Zhen-Nai\*

(Beijing Laboratory for Food Quality and Safety, Beijing Technology & Business University, Beijing 100048, China)

**ABSTRACT:** Ice cream is a favorable probiotic carrier. However, the viability and functions of probiotic strains tend to be lowered in ice cream processing, including aging, freezing and hardening. Recently, progress of researches about the probiotics injury, protection and their metabolic changes in ice cream based on omics techniques have been made, which provides the possibility to specify survival ability, membrane properties, and key molecules of metabolic enzyme activities of probiotics in ice cream. These studies also facilitate to uncover the molecular mechanism of cell injury caused by freezing stress during the processing of probiotic ice cream and establish protective strategies for probiotics during processing and storage of ice cream, and provide a scientific basis for the improvement of functionality and quality of such product.

**KEY WORDS:** probiotic ice cream; metabolomics; proteomics; control strategy

## 1 引言

益生菌冰淇淋是指将益生菌以发酵剂或微生物添加剂的形式加入杀菌后浆料中, 经发酵或直接老化、凝冻、

硬化、冷藏工序制成的具有促进人体健康功效的冰淇淋产品<sup>[1]</sup>。冰淇淋是深受消费者欢迎的嗜好性食品, 其中含有丰富的乳质营养成分、各种维生素、膳食纤维等, 在冰淇淋中添加益生菌加工成益生菌冰淇淋可以进一步提高其功

基金项目: 国家自然科学基金项目(31571857)

**Fund:** Supported by the National Natural Science Foundation of China (31571857)

\*通讯作者: 杨贞耐, 教授, 主要研究方向为乳品加工及交叉学科的理论和应用。E-mail: yangzhennai@th.btbu.edu.cn

\*Corresponding author: YANG Zhen-Nai, Professor, Beijing Technology and Business University, No.11, Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100048, China. E-mail: yangzhennai@th.btbu.edu.cn

能性。据报道, 益生菌具有诸多有利于人类健康的功效, 包括抑制肠道病原菌生长和繁殖<sup>[2]</sup>、改善肠道消化功能<sup>[3]</sup>、缓解胃肠炎症<sup>[4]</sup>、减少龋齿发生<sup>[5]</sup>、降低乳糖不耐受和其它代谢性疾病发生的风险等<sup>[6]</sup>。但是, 益生菌要发挥其功效, 必须具有足够的活菌数量, 通常 FAO/WHO 建议益生菌产品每日的摄入量中活菌数不应低于  $10^6$  cfu/g。

## 2 冰淇淋中冷冻胁迫致益生菌的生理损伤

在益生菌冰淇淋加工过程中, 物料的低温老化处理会造成其中益生菌代谢应激性异常, 凝冻及冷冻保藏过程会进一步促进物料的急冻相变和冰晶的形成, 由此冷冻胁迫导致菌体细胞结构和胞内酶系的破坏, 会造成菌株致死或亚致死性损伤, 从而降低益生菌的数量和活力。因此, 如何在益生菌冰淇淋加工和贮藏过程中保持较高的活菌数, 保证摄入后益生菌在人体内发挥其健康有益作用, 仍是当前益生菌冰淇淋生产中急需研究解决的重要问题。研究表明, 冰淇淋物料老化 24 h 后, 其中嗜酸乳杆菌 La14、干酪乳杆菌 Lc11、婴儿双歧杆菌 B107 和两歧双歧杆菌 BB02 的活菌数降低 90%, 双歧杆菌的降幅最大<sup>[7]</sup>。硬质冰淇淋凝冻后, 鼠李糖乳杆菌 GG 的活菌数下降 52%<sup>[8]</sup>。硬化过程使嗜酸乳杆菌、两歧双歧杆菌、瑞特乳杆菌、格氏乳杆菌和鼠李糖乳杆菌的活菌数下降近 1 个数量级, 冷冻保藏后活菌数分别下降 2.23、1.68、1.54、1.23 和 1.77 个数量级<sup>[9]</sup>。其他种类冰淇淋中益生菌活菌数下降也较为严重。Favaro-Trindade 等<sup>[10]</sup>发现用嗜酸乳杆菌 74-2 和 LAC4 菌株制作的黄椰子水果冰淇淋冷冻保藏 105 d 后, 菌数下降 0.6~3.0 个数量级, 酸奶冰淇淋冷藏期间双歧杆菌活菌数下降 34%<sup>[11]</sup>。用植物乳杆菌、干酪乳杆菌和两歧双歧杆菌生产的益生菌冰淇淋, 90 d 保藏期后, 菌数分别下降 0.5、2.3 和 1.8 个数量级<sup>[12]</sup>。对于发酵型冰淇淋, 由于冰淇淋基质 pH<4.5, 在酸、冻双重胁迫下, 益生菌活菌数下降更为明显。Ravula 等<sup>[13]</sup>研究表明, 嗜酸乳杆菌和双歧杆菌菌株在发酵冰淇淋制作和保藏过程中的生物活性会大幅降低。此外, 低温贮藏不但降低冰淇淋中益生菌的活菌数, 还降低了菌株蛋白水解和降胆固醇能力, 影响了菌株的功能性<sup>[14]</sup>。

不同种类的益生菌在冰淇淋中的抗冷冻胁迫能力不同, 相同种类不同菌株间也表现出冷冻耐受差异, 因此筛选到具有良好冷冻耐受性的益生菌对产品开发尤为重要。如上所述, 诸多益生性乳杆菌在冰淇淋加工和冷藏中活菌数都出现了明显下降, 但 Nousia 等<sup>[15]</sup>研究表明, 凝冻过程对嗜酸乳杆菌 LMGP-21381 的活力无影响。德氏乳杆菌 UFV H2b20 在高脂、低脂和脱脂冰淇淋凝冻加工和保藏后 (-16 °C, 40 d) 菌数也无明显变化<sup>[16]</sup>。乳双歧杆菌 BBDB2 和 BB-12 在冰淇淋中的活力优于嗜酸乳杆菌 MJLA1, 鼠李糖乳杆菌 100-C 和副干酪乳杆菌副干酪亚种 01, 凝冻处理后有些双歧杆菌活菌数甚至出现小幅上升<sup>[17]</sup>。而芦志新等<sup>[7]</sup>

的研究结果表明, 婴儿双歧杆菌 B107、两歧双歧杆菌 BB02 在冷冻后, 菌数出现了大幅下降, 下降幅度超过嗜酸乳杆菌和干酪乳杆菌。同样, 在 El-Sayed 等<sup>[12]</sup>建立的冰淇淋模型中, 不同菌株的抗胁迫能力各有差异, 乳双歧杆菌 BB12 在冷冻保藏后活菌数降幅也超过了 2 个数量级。菌株的生长期和不同的菌株组合也会影响其在冰淇淋中的活力。Wetzel 等<sup>[18]</sup>研究表明, 稳定期收集并添加于冰淇淋的菌株代谢能力弱, 抗冷冻胁迫能力差。鉴于益生菌菌株抗冷冻胁迫上的差异和复杂性, 益生菌冰淇淋冷冻胁迫研究应该在株水平上有针对性地开展。

## 3 冰淇淋基质组成对益生菌的叠加损伤

除了益生菌菌株自身冷冻耐受能力差异导致的冰淇淋产品活菌数和功能性的变化, 冰淇淋基质高糖、高脂、高蛋白、富氧和多添加物的基料组成及由此形成的低水分活度、高渗透压、氧胁迫环境也会对益生菌产生保护或叠加损伤的作用<sup>[1]</sup>。Akin 等<sup>[19]</sup>研究了 15%、18%、21% 蔗糖含量对益生菌保藏期间活菌数的影响, 当蔗糖浓度为 18% 时菌体损伤最小。硬质冰淇淋, 当蔗糖和脂肪含量为 22% 和 10% 时, 鼠李糖乳杆菌 GG 的活菌数下降减少 52%。在冷冻甜品中加入乳清蛋白或酪蛋白水解物可有效地减少机制对嗜热链球菌、德氏乳杆菌保加利亚亚种、嗜酸乳杆菌和双歧杆菌的损伤。糖浓度增加会降低基料的水分活度和冰点, 减缓冰晶形成, 有利于菌株进入休眠状态, 减少冰晶形成对菌体的损伤, 但过高的糖含量使溶液渗透压升高, 反而会使菌株活力下降。抗冻蛋白(anti-freeze protein, AFP)也有类似的作用, 抗冻蛋白的作用途径有 2 条, 一是热滞蛋白(thermal hysteresis proteins, THP)通过增加溶液粘度, 来降低溶液冰点; 二是一些冰构蛋白(ice structuring protein, ISP)通过参与冰晶形成, 影响冰晶大小、形状和冰间结构来降低微区域的冰点。脂肪其对益生菌活力的影响并不确定。Alamprese 等<sup>[20]</sup>的研究中低脂对低温保藏冰淇淋中的益生菌活力无显著影响, Haynes 等<sup>[21]</sup>的研究显示低脂肪冰淇淋中具有较高的活菌数。

## 4 冰淇淋中益生菌的保护策略研究

通过调整冰淇淋配料的组成一定程度上可以提高其中益生菌对冷冻的耐受能力, 其作用效果因添加物或菌株的不同而有所差异。一般, 菊粉和果聚糖等大分子多糖具有一定的保护作用。但在 Roberfroid 等<sup>[22]</sup>的研究中, 加入不同量的菊粉(0、3%、6%)对冰淇淋中干酪乳杆菌和鼠李糖乳杆菌的活菌数无显著影响, 而且过多的菊粉使冰淇淋质构和风味明显劣化。体外菊粉发酵试验表明, 益生菌对短链菊粉的利用率高于长链菊粉, 因此, 菊粉的分子组成也会影响其对菌株的冷冻保护作用。冰淇淋中加入维生素、氨基酸和酪蛋白水解物对特定菌株也具有保护作用。添加维

生素 C 后, 两歧双歧杆菌和乳双歧杆菌在发酵型冰淇淋冷冻保藏 15 周, 菌株活力未显著下降<sup>[23]</sup>。酪蛋白水解物和半胱氨酸也能增强菌株冷冻胁迫的耐受<sup>[24, 25]</sup>。谷胱甘肽能抑制旧金山乳杆菌菌株关键酶和蛋白 (pyruvate kinase, GAPDH 和 LDH) 的表达量的下降趋势, 并显著提高胞内 ATP 水平<sup>[26]</sup>。对益生菌进行包埋处理, 然后添加至冰淇淋中也能有效地增强菌株的冷冻耐受能力。El-Sayed 等<sup>[27]</sup>将植物乳杆菌, 干酪乳杆菌和两歧双歧杆菌菌株包埋后, 低温保藏期间的活菌数增加 1 个数量级, 而且使用菊粉、乳果糖和果聚糖等作为包埋剂的效果较好。Homayouni 等研究表明, 在包埋和未包埋的益生菌冰淇淋中分别加入 1% 的抗性淀粉, 菌株的存活率提高 30%<sup>[28]</sup>。另外, 加入前对菌株进行碳源胁迫、冷休克和氧化胁迫处理也能够提高益生菌的冷冻胁迫耐受能力。嗜酸乳杆菌 28 °C 预培养 8 h 可以提高菌体的冷冻胁迫耐受能力, 胞内 4 个蛋白质表达量上调, 1 个下调, 上调的 ClpP 蛋白在热胁迫及氧化胁迫中均有出现, 负责分解错误折叠或损伤的蛋白。Streit 等<sup>[29]</sup>研究表明, 保加利亚乳杆菌 CFL 在 pH 5.15 条件下培养 30 min, 能有效改善菌株 -20 °C 保藏后的存活率, 表明酸应激和冷应激具有交叉应激效应。

## 5 组学技术在冰淇淋中益生菌损伤机制研究的应用

虽然, 诸多实验证明了冰淇淋加工和保藏中冷冻胁迫对菌株的损伤作用, 找到了一些影响菌株冷冻损伤的因素, 建立了部分菌株的冷冻保护措施, 但由于对冰淇淋基质中的菌株冻伤应激机制并不清楚, 相应的保护措施也没有明确的针对性, 效果也并不稳定。因此, 明确冰淇淋基质中菌株的冷冻应激机制, 是建立完善冰淇淋中益生菌冷冻保护措施的基础。据报道, 当温度降低时, 菌株胞内的部分氨基酸, 小分子核酸和小分子肽会分解, 导致这类小分子物质 (<1 kDa) 的表达量增加, 这些小分子同时刺激启动转录、蛋白表达, 能量代谢等多个系统, 是重要的低温感知、能量传递和信号传导因子<sup>[30]</sup>。因此, 明确冷冻胁迫下胞内小分子物质的变化, 对于了解冷应激下细胞低温感知, 能量代谢, 甚至细胞间通信等具有重要作用。近年来, 随着代谢组学技术的发展, 给高通量定量分析这些小分子物质的代谢情况, 明确其功能提供了可能<sup>[31]</sup>。同时, 随着蛋白质组学技术的进步, 比较蛋白质组学在益生菌对酸、盐和营养胁迫应激方面取得了一定进展<sup>[32, 33]</sup>, 因此, 利用蛋白质组学结合生物信息学分析冰淇淋基质中益生菌在冷冻胁迫条件下蛋白参与的应激机制具有了必要的技术基础<sup>[34]</sup>。利用 2DE 凝胶电泳结合 SELDI-TOF-MS 技术分析了低温胁迫下植物乳杆菌 L67 的差异蛋白表达, 共发现差异蛋白 22 个, 鉴定出的 13 个蛋白参与了菌株的生长, 能量代谢, 信号传导和转录<sup>[35]</sup>。Zhang 等<sup>[36]</sup>利用 2DE 电泳蛋白组学分析显示,

GSH 的冷冻保护作用主要通过干预菌株的代谢实现, GSH<sup>+</sup> 实验组  $\beta$ -葡萄糖磷酸变位酶蛋白表达量显著增加, 磷酸乙酰(催化乙酰-CoA、磷酸乙酰等能量代谢关键物质)和一些控制 DNA 复制, 蛋白翻译和转移的蛋白表达量也有差异。

## 6 结 语

至今, 有关冰淇淋基质中益生菌的功能和耐受机制的研究刚刚起步, 益生菌冰淇淋加工中采用的菌种如鼠李糖乳杆菌 GG、乳双歧杆菌 BB12 等的益生和加工特性数据大多在低温(冷却)或常温食品(酸奶、干酪和乳粉等)中获得, 对冰淇淋基质中益生菌的冷冻耐受和应激机制了解甚微, 相应冰淇淋中的菌株冷冻胁迫保护措施缺乏针对性, 这些都影响了益生菌冰淇淋功能性的界定和标称。近年来我国的冰淇淋产业以年增 20% 的速度快速发展, 2014 年我国冰淇淋产量 300 万吨, 冰淇淋总产值达到 368 亿元, 但是我国目前尚无益生菌冰淇淋的生产。未来明确冷冻胁迫对冰淇淋基质中益生菌形态学和菌体生理的影响, 采用代谢组学方法探明冰淇淋冷冻硬化处理后其中益生菌代谢产物的变化及其与菌体生理损伤的关系, 并采用蛋白质组学方法研究冰淇淋硬化处理后其中益生菌的蛋白质表达变化, 在上述研究基础上, 阐明益生菌冰淇淋加工过程冷冻胁迫导致菌体生理损伤和应激的分子机制, 建立降低冰淇淋基质中益生菌生理损伤的有效策略, 提高冰淇淋加工和贮藏过程中益生菌的存活能力。对于促进益生菌冰淇淋的研发、产品活菌数的标称和功能性界定、提升我国冰淇淋加工技术水平具有重要的理论和实际意义。

## 参考文献

- [1] Homayouni A, Azizi A, Javadi M, *et al.* Factors influencing probiotic survival in ice cream: a review [J]. Int J Dairy Sci, 2012, 7(1): 1-10.
- [2] McFarland LV. Deciphering meta-analytic results: a mini-review of probiotics for the prevention of paediatric antibiotic-associated diarrhoea and *Clostridium difficile* infections [J]. Benef Microbes, 2015, 6(2): 189-94.
- [3] Lahtinen SJ, Forssten S, Aakko J, *et al.* Probiotic cheese containing *Lactobacillus rhamnosus* HN001 and *Lactobacillus acidophilus* NCFM® modifies subpopulations of fecal lactobacilli and *Clostridium difficile* in the elderly [J]. Age, 2012, 34(1): 133-143.
- [4] Passariello A, Agricole P, Malfertheiner P. A critical appraisal of probiotics (as drugs or food supplements) in gastrointestinal diseases [J]. Curr Med Res Opin, 2014, (0): 1-10.
- [5] Singh R, Damle S G, Chawla A. Salivary mutans streptococci and lactobacilli modulations in young children on consumption of probiotic ice-cream containing *Bifidobacterium lactis* Bb12 and *Lactobacillus acidophilus* La5 [J]. Acta Odontol Scand Suppl, 2011, 69(6): 389-394.
- [6] Oelschlaeger TA. Mechanisms of probiotic actions—a review [J]. Int J Med Microbiol, 2010, 300(1): 57-62.
- [7] 芦志新, 崔利敏, 杜瑞亭, 等. 益生菌在冰淇淋中的稳定性研究[J]. 中国乳品工业, 2009, 37(12): 14-18.

- Lu ZX, Cui LM, Du YT, *et al.* Study of probiotics stability in the ice cream [J]. *China Dairy Ind*, 2009, 37(12): 14–18.
- [8] Alamprese C, Foschino R, Rossi M, *et al.* Effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG addition in ice cream [J]. *Int J Dairy Technol*, 2005, 58(4): 200–206.
- [9] Salem M, Fathi F A, Awad RA. Production of functional ice cream [J]. *Dtsch Lebensmitt Rundsch*, 2006, 102(7): 326–330.
- [10] Favaro-Trindade CS, de Carvalho Balieiro JC, Dias PF, *et al.* Effects of culture, pH and fat concentration on melting rate and sensory characteristics of probiotic fermented yellow mombin (*Spondias mombin* L) ice creams [J]. *Food Sci Technol Int*, 2007, 13(4): 285–291.
- [11] Pinto SS, Fritzen-Freire CB, Muñoz IB, *et al.* Effects of the addition of microencapsulated *Bifidobacterium* BB-12 on the properties of frozen yogurt [J]. *J Food Eng*, 2012, 111(4): 563–569.
- [12] EL-Sayed HS, Salama HH, EL-Sayed S M. Production of Synbiotic Ice Cream [J]. *Int J ChemTech Res*, 2015, 7(1): 138–147.
- [13] Ravula RR, Shah NP. Viability of probiotic bacteria in fermented frozen dairy desserts [J]. *Food Australia*, 1998, 50(3): 136–139.
- [14] 冯思明. 冷冻对益生菌冰淇淋中菌种生物活性影响的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2010.
- Feng SM. Study on effects of freezing on biological activity of bacteria in probiotic ice cream [D] Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2010.
- [15] Nousia FG, Androulakis PI, Fletouris DJ. Survival of *Lactobacillus acidophilus* LMGP - 21381 in probiotic ice cream and its influence on sensory acceptability [J]. *Int J Dairy Technol*, 2011, 64(1): 130–136.
- [16] Dos Santos Leandro E, de Araújo EA, Da Conceição LL, *et al.* Survival of *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20 in ice cream produced with different fat levels and after submission to stress acid and bile salts [J]. *J Funct Foods*, 2013, 5(1): 503–507.
- [17] Heenan CN, Adams MC, Hosken RW, *et al.* Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2004, 37(4): 461–466.
- [18] Wetzel K, Menzel M, Heller KJ. Stress response in *Lactococcus lactis* and *Streptococcus thermophilus* induced by carbon starvation [J]. *Kieler Milchw Forsch*, 1999, 51(4): 319–332.
- [19] Akin MB, Akin MS, Kirmaci Z. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice cream [J]. *Food Chem*, 2007, 104(1): 93–99.
- [20] Alamprese C, Foschino R, Rossi M, *et al.* Survival of *Lactobacillus johnsonii* La1 and influence of its addition in retail-manufactured ice cream produced with different sugar and fat concentrations [J]. *Int Dairy J*, 2002, 12(2): 201–208.
- [21] Haynes IN, Playne MJ. Survival of probiotic cultures in low-fat ice-cream [J]. *Australian J Dairy Technol*, 2002, 57(1): 10–14.
- [22] Roberfroid MB, Van Loo JA, Gibson GR. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products[J]. *J Nutr*, 1998, 128(1): 11–19.
- [23] Favaro Trindade CS, Bernardi S, Bodini RB, *et al.* Sensory acceptability and stability of probiotic microorganisms and vitamin C in fermented acerola (*Malpighia emarginata* DC.) ice cream [J]. *J Food Sci*, 2006, 71(6): S492–S495.
- [24] Ravula RR, Shah N. Effect of acid casein hydrolysate and cysteine on the viability of yogurt and probiotic bacteria in fermented frozen dairy desserts [J]. *Australian J Dairy Technol*, 1998, 53(3): 175–179.
- [25] Teixeira JS, Seeras A, Sanchez-Maldonado AF, *et al.* Glutamine, glutamate, and arginine-based acid resistance in *Lactobacillus reuteri* [J]. *Food Microbiol*, 2014, 42: 172–180.
- [26] Zhang J, Li Y, Chen W, *et al.* Glutathione improves the cold resistance of *Lactobacillus sanfranciscensis* by physiological regulation [J]. *Food Microbiol*, 2012, 31(2): 285–292.
- [27] EL-Sayed HS, Salama HH, EL-Sayed SM. Production of synbiotic ice cream [J]. *Int J ChemTech Res*, 2015, 7(1): 138–147.
- [28] Homayouni A, Azizi A, Ehsani MR, *et al.* Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream [J]. *Food Chem*, 2008, 111(1): 50–55.
- [29] Streit F, Corrieu G, Béal C. Acidification improves cryotolerance of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CFL1 [J]. *J Biotechnol*, 2007, 128(3): 659–667.
- [30] Capozzi V, Fiocco D, Spano G. Responses of lactic acid bacteria to cold stress [M]. *Stress Responses of Lactic Acid Bacteria*. Springer, 2011: 91–110.
- [31] Alcántara C, Zúñiga M. Proteomic and transcriptomic analysis of the response to bile stress of *Lactobacillus casei* BL23 [J]. *Microbiology*, 2012, 158(Pt 5): 1206–1218.
- [32] Wang X, Qin J, Wang L, *et al.* A comparative proteomic analysis of *Bacillus coagulans* in response to lactate stress during the production of l-lactic acid [J]. *Biotechnol Lett*, 2014, 36(12): 2545–2549.
- [33] Belfiore C, Fadda S, Raya R, *et al.* Molecular basis of the adaption of the anchovy isolate *Lactobacillus sakei* CRL1756 to salted environments through a proteomic approach [J]. *Food Res Int*, 2013, 54(1): 1334–1341.
- [34] Novototskaya-Vlasova K, Petrovskaya L, Kryukova E, *et al.* Expression and chaperone-assisted refolding of a new cold-active lipase from *Psychrobacter cryohalolentis* K5 T [J]. *Protein Expr Purif*, 2013, 91(1): 96–103.
- [35] Song S, Bae D, Lim K, *et al.* Cold stress improves the ability of *Lactobacillus plantarum* L67 to survive freezing [J]. *Int J Food Microbiol*, 2014, 191: 135–143.
- [36] Zhang J, Li Y, Chen W, *et al.* Glutathione improves the cold resistance of *Lactobacillus sanfranciscensis* by physiological regulation [J]. *Food Microbiol*, 2012, 31(2): 285–292.

(责任编辑: 白洪健)

## 作者简介



张 健, 博士, 主要研究方向为乳制品加工技术。

E-mail: jian\_zh@outlook.com



杨贞耐, 教授, 主要研究方向为乳品加工及交叉学科的理论和应用。

E-mail: yangzhennai@th.btbu.edu.cn