

苹果渣多菌群益生菌发酵动力学分析

杨春敏

(广州工商学院物流系, 广东广州 510850)

摘要: 本文对苹果渣多菌群益生菌发酵动力学模型设计过程进行了研究。对发酵温度、接种量、装料量、培养基初始 pH 等因素设定不同水平进行实验, 对发酵过程中活菌数改变情况进行记录。在设定的发酵条件下, 采用 7L 发酵罐完成发酵, 并通过数据的拟合处理, 构造益生菌发酵动力学模型。通过 Origin 8.0 把动力学模型理论数据和实验数据进行比较, 验证模型有效性。结果表明: 发酵温度是 36 °C 时的活菌数量最高; 在装料量是 70 mL、接种量是 5%、培养基初始 pH 是 4.0 的情况下, 苹果渣多菌群益生菌发酵较好, 活菌数量是 6.71×10^8 cfu/mL; 设计模型理论值和实验值误差基本低于 8%。可以得出发酵环境如下: 温度是 36 °C, 装料量是 70 mL、接种量是 5%、培养基初始 pH 是 4.0, 设计模型可有效预测苹果渣多菌群益生菌发酵过程的变化。

关键词: 多菌群; 益生菌发酵; 动力学模型

文章编号: 1673-9078(2019)08-220-225

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.8.032

Kinetic Analysis of Fermentation of Probiotics from Apple Pulp

YANG Chun-min

(Logistics department, Guangzhou College of Technology and Business, Guangzhou 510850, China)

Abstract: In this work, the design process of fermentation kinetics model of probiotics from apple pulp was studied. The fermentation temperature, inoculation amount, feeding amount, initial pH of medium and other factors were investigated at different levels. The changes of viable bacteria in the fermentation process were recorded. Under the given fermentation conditions, 7 L fermentation tank was used to complete the fermentation, and the probiotic fermentation kinetic model was constructed by fitting the data. Origin 8.0 was used to compare the theoretical and experimental data of the dynamic model to verify the validity of the model. The results showed that the number of viable bacteria was the highest when the fermentation temperature was 36 °C. The optimum fermentation conditions were as follows: 70 mL, 5% inoculation and 4.0 initial pH. The number of viable bacteria in apple pulp was 6.71×10^8 cfu/mL. The error between theoretical and experimental values of the design model was less than 8%. In conclusion, the fermentation environment was as follows: the temperature of 36 °C, the loading amount of 70 mL, the inoculation amount of 5%, and the initial pH of the culture medium of 4.0. The design model could effectively predict the change of the fermentation process of probiotics in apple pomace.

Key words: multi-flora; probiotic fermentation; kinetic model

益生菌即机体摄入一定量后有助于宿主健康的活性微生物, 能够对肠道菌群进行调节, 还可提高免疫力, 降低胆固醇, 缓解口腔疾病等^[1,2]。因为现阶段市场存在的产品大都是益生菌发酵乳制品, 益生菌发酵会使乳制品具有高胆固醇, 随着人们对食品健康越来越重视, 开发新型非乳益生菌产品已经为当前研究的热点问题。近年来, 我国苹果种植面积逐渐扩大, 产量也随之上升^[3]。其中大约 1/4 左右用于生产浓缩苹果汁与果醋等副产品, 苹果渣产量很多。苹果渣中有丰富的维生素与苹果酸, 有助于微生物的直接吸收与利用, 然而因其蛋白质含量低, 对其余成分的利用产

收稿日期: 2019-04-14

基金项目: 广州工商学院高等教育改革项目 (ZL20171106); 广东省青年创新人才类项目 (2018KQNCX306)

作者简介: 杨春敏 (1983-), 女, 讲师, 研究方向: 食品微生物

生了一定的影响^[4,5]。所以需通过某种工艺, 对苹果渣进行益生菌发酵, 有效提升苹果渣中的蛋白质量含量。苹果渣经多菌益生菌发酵后, 果渣的营养价值大大提升, 益生菌及其代谢物的含量也有所提升, 迫切需要设计一种苹果渣益生菌发酵动力学模型, 实现对苹果渣益生菌的发酵过程的有效分析。

经大量研究表明, 苹果渣为益生菌发酵的良好载体, 当前研究大部分发酵菌种是就、单菌或者双菌发酵, 多菌群混合益生菌发酵的研究较少, 且现阶段有关益生菌发酵动力学的研究主要是有关酸奶发酵方面, 有关益生菌发酵果蔬汁动力学的研究并不全面^[6]。

岳国君^[6]提出基于 Logistic 模型模拟发酵产物动力学方法, 能够较为系统的对发酵产物动力进行分析, 但是对发酵过程的拟合的效果不佳, 准确性差。Casarotti S N^[7]对益生菌培养组合对发酵乳发酵影响

进行研究,此方法能够对不同发酵组合进行模拟,对益生菌发酵动力进行有效分析,但是与实时发酵过程变化情况相差较大。为此,本文对苹果渣多菌群益生菌发酵动力学分析,确定最优发酵温度, pH 值等参数,同时能够对发酵过程进行有效的分析。对苹果渣多菌群益生菌发酵过程的动态变化进行分析,对发酵过程进行控制,从而为发展多菌群益生菌产业提供技术支持。

1 材料和方法

1.1 材料和仪器

苹果渣:由嘉怡果蔬制品公司提供。

固态培养基:主要包括果渣、油渣和尿素,比例是 15:3:1,灭菌后基质含水量是 58%左右。

菌剂:主要含黑曲霉、乳酸杆菌、安琪酵母、芽孢杆菌、植物乳杆菌。

仪器与设备主要有:由海德机械生产的离心果汁机,由上海博迅医疗生物仪器股份有限公司生产的立式压力蒸汽灭菌器 BXM-30R,由上海能共实业有限公司生产的 HWS-500 智能恒温箱。

1.2 益生菌发酵苹果渣的制备

把黑曲霉斜面菌种添加至培养基,在 25 °C 温度环境下培养 4 d,以 3% 接种量添加至培养基塑料盘,在 25 °C 温度环境下培养 8 d,再与安琪酵母共同接种至固态发酵培养基中完成固态发酵,烘干后添加至乳酸杆菌、芽孢杆菌和植物乳杆菌掺混制成成品^[8,9]。

1.3 实验方法

1.3.1 益生菌发酵条件研究

为了确定发酵过程中的不同参数,对发酵温度、接种量、装料量、培养基初始 pH 设定各种水平进行实验^[10],发酵温度设置成 30 °C、33 °C、36 °C、39 °C 与 42 °C,接种量设置成 1%、3% 和 5%,装料量设置成 50 mL、70 mL 和 90 mL,培养基初始 pH 设置成 4、5 和 5.5,对发酵过程中活菌数改变情况进行记录。

1.3.2 益生菌发酵动力学模型建立

依据实验设定的发酵条件,选择最合理发酵温度、接种量、装料量以及培养基初始 pH。在此基础上,采用 7 L 发酵罐完成发酵,将转速设定成 90 rpm,再把 7 L 发酵罐灭菌冷却,将培养基倒入 7 L 发酵罐中灭菌,培养基冷却至 40 °C 时接入菌种,每隔一段时间对活菌数量、总糖含量与乳酸含量进行测定。仪器会自动对发酵时 pH 与溶氧进行记录,通过 Origin 8.0

完成对数据的拟合处理^[11,12],构造益生菌发酵动力学模型。

1.3.3 益生菌发酵动力学模型拟合检验

为了对苹果渣多菌群益生菌发酵动力学模型的误差进行检验,通过 Origin 8.0 把动力学模型理论数据和实验数据进行比较。

1.3.4 数据统计分析

采用软件 Design Expert 8.0 对试验数据进行统计分析,并基于 Origin 8.0 软件对相关数据进行分析预测,通过分析结果得到相关结论。

2 结果和讨论

2.1 益生菌发酵温度确定

在培养基中添加乳酸杆菌、芽孢杆菌和植物乳杆菌,设定发酵温度是 30 °C、33 °C、36 °C、39 °C 与 42 °C,接种量是 3%,装料量是 70 mL,首次在半小时后开始测量,之后每隔 4 h 对乳酸菌含量进行一次测量。菌种在 0 °C~4 °C 下是静止的,当温度升高后开始快数繁殖,通过相关学者研究可知,菌种数量与乳酸菌含量呈正相关^[13],因此将测定不同发酵温度下活菌数量问题转化检测为乳酸菌含量问题,选取最佳发酵温度。

分析图 1 可以看出,在发酵时间逐渐增加的情况下,乳酸菌含量也在一定程度上逐渐增加,活菌数量也随之增加,发酵温度是 30 °C、33 °C 与 42 °C 时乳酸菌含量显著低于发酵温度是 36 °C、39 °C 时的乳酸菌含量,而发酵温度是 39 °C 时活菌数量低于发酵温度是 36 °C 时乳酸菌含量,因此 36 °C 是最优发酵温度。

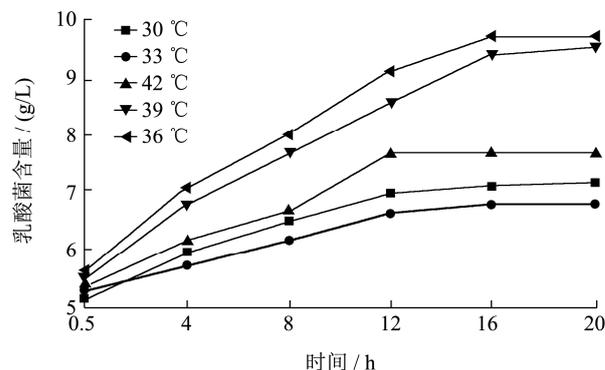


图 1 不同发酵温度下活菌数量变化情况

Fig.1 Changes in the number of viable bacteria at different fermentation temperatures

2.2 益生菌酵母培养条件优化结果

培养基初始 pH、装料量以及接种量对微生物生长起到了很关键的作用,例如培养基 pH 会对菌体生

长、目的蛋白的表达与活性产生影响,装料量会对微生物呼吸链相关的能量代谢产生影响,接种量会对菌体的生长代谢产生影响。根据相关学者的研究经验可知^[13],一般装料量的范围为 50~90 mL,接种量在 1%~5%,pH 值在 4~6 之间,为了能够获得益生菌酵母最佳培养条件,将设计 9 个不同处理组,完成上述三个因素完成优化,通过单因素试验对正交实验进行设计,对不同处理组活菌数量进行测定,实验处理用表 1 进行描述。实验结果用表 2 表示,分析表 1 与表 2,并对 R 值与 T 值进行比较可知,在装料量是 70 mL、接种量是 5%、培养基初始 pH 是 4.0 的情况下,苹果渣多菌群益生菌发酵较好,活菌数量是 6.71×10^8 cfu/mL。

表 1 正交试验设计和结果

Table 1 Orthogonal experimental design and results

实验号	装料量 /mL	接种量 /%	初始 pH	活菌数 /($\times 10^8$ cfu/mL)
1	50	1	4	6.12
2	50	3	5	6.03
3	50	5	6	6.15
4	70	1	5	6.29
5	70	3	6	6.31
6	70	5	4	6.71
7	90	1	6	5.92
8	90	3	4	5.28
9	90	5	5	6.42

表 2 正交试验结果

Table 2 Orthogonal test results

分析指标	益生菌酵母/P	乳酸杆菌 /L	酵母菌 /EM
T ₁	18.22	17.56	18.03
T ₂	18.51	18.21	19.1
T ₃	17.83	18.69	18.13
R	0.24	0.35	0.46

2.3 益生菌发酵动力学模型设计

2.3.1 菌体动力学模型设计

在设定发酵环境下,用过 7 L 发酵罐进行发酵,将转速设置成 80 rpm,仪器对发酵时的参数进行自动记录,每隔 4 h 进行一次取样,对活菌数量、总糖含量与乳酸含量进行测定。同时通过 Origin 8.0 完成对数据的拟合,设计菌体生长动力学模型。图 2 描述的是苹果渣多菌群益生菌发酵动力学曲线。

分析图 2 可以看出,总糖含量随时间的增加而降低,乳酸含量随时间的增加而升高,表明总糖量逐渐

被消耗降低,乳酸生成量也逐渐升高。0~4 h 范围内,活菌数量几乎未出现改变,当前菌体在适应生长环境,4 h 后菌体开始进入对数生长期,适应环境后菌体开始迅速繁殖。16 h 后菌体生长速度逐渐降低,当前处于稳定期,活菌数趋于稳定。

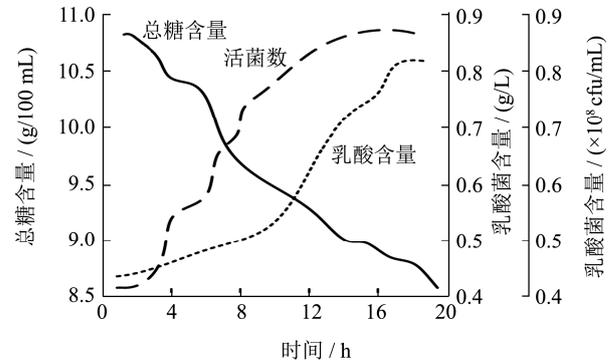


图 2 发酵动力学曲线

Fig.2 Fermentation kinetics curve

下面通过 logistic 方程对苹果渣多菌群益生菌发酵过程中菌体的生长学进行描述:

$$\frac{dX}{dt} = \delta_n X \left(1 - \frac{X}{X_n} \right) \quad (1)$$

该方程可积分如下:

$$X = \frac{X_0 X_n e^{\delta_n t}}{X_n - X_0 + X_0 e^{\delta_n t}} \quad (2)$$

式中: X 用于描述菌体浓度, 10^8 cfu/mL; X_0 用于描述最初菌体浓度; X_n 用于描述最高菌体浓度; t 用于描述发酵时间, h; δ 用于描述菌体比生长速率; δ_n 用于描述菌体最大比生长速率, h^{-1} ; dX/dt 用于描述微生物生长速度。

对菌体生长曲线进行非线性拟合,得到的拟合结果用图 3 进行描述。

经拟合处理后,相关系数 $R^2=0.9991$ 。不同参数最优拟合值标准差用表 3 进行描述。

表 3 Logistic 模型参数

Table 3 Logistic model parameters

参数	最优拟合值	标准差
X_n	9.5655	0.07821
X_0	0.00615	0.00203
δ_n	0.26231	0.01135

把不同参数带入上式,获取活菌数随时间改变的函数:

$$X = \frac{0.00615e^{0.26231t}}{9.5655 + 0.00615e^{0.26231t}} \quad (3)$$

分析图 3 可以看出,通过软件 Origin 8.0 绘制的菌体生长动力学非线性拟合曲线的相关系数 $R^2=0.9991$,拟合值和实验值可很好的吻合,改变趋势相同,表明该模型可有效对菌体在发酵时的生长情况

进行预测。

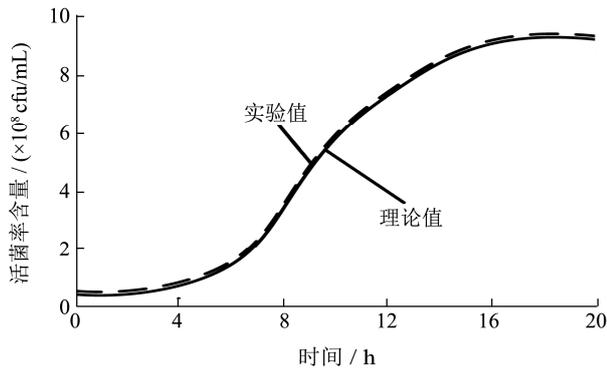


图3 菌体生长拟合曲线

Fig.3 Fitting curve of bacterial growth

2.3.2 产物生成动力学模型设计

依据 Leudeking 方程有:

$$\frac{dP}{dt} = \beta \frac{dX}{dt} + \gamma X \quad (4)$$

其中: P 用于描述产物浓度, g/L; X 用于描述生物量, 108 cfu/mL; β 用于描述和产物生长有关的产物合成常数; γ 用于描述产物合成常数。

苹果渣多菌群益生菌发酵过程属于产物生成和菌体生长部分偶联型, 也就是 $\beta \neq 0, \gamma \neq 0$, 当前菌体处于稳定状态, 也就是 $dX/dt=0, X=X_n, \gamma=dP/(dt \cdot X_n)$ 。

$$P = 0.003 \times \left[\frac{e^{0.3411t}}{0.9756 + 0.3362e^{0.3411t}} - 1 \right] + 0.0553 \times \ln(0.9756 + 0.3362e^{0.3411t}) \quad (6)$$

2.3.3 基质消耗动力学模型

在苹果渣多菌群益生菌发酵过程中, 基质消耗主要包括菌体生长、细胞维持生命活动消耗和生成代谢产物。基质消耗可通过和 luedeking-piret 相似的方程进行描述:

$$-\frac{dE}{dt} = \frac{1}{Y_{x/s}} \frac{dX}{dt} + X_n \quad (7)$$

式中: $Y_{x/s}$ 用于描述对基质的细胞得率系数, g/g; dE/dt 用于描述基质消耗速度。

E 的积分式可描述成:

$$E = E_0 + \frac{X_0}{Y_{x/s}} - \frac{X_0 dX e^{\delta_n t}}{Y_{x/s} (X_n - X_0 + X_0 e^{\delta_n t})} + \frac{X_n}{\delta_n} \ln \left(\frac{X_n - X_0 + X_0 e^{\delta_n t}}{X_n} \right) \quad (8)$$

通过上式对苹果渣多菌群益生菌发酵过程中消耗基质实验值进行非线性拟合处理, 结果用图 5 进行描述, 获取基质消耗量随时间改变的函数:

$$E = 5.61 - \frac{0.05e^{0.8t}}{5.23 + 0.009e^{0.8t}} - 0.012 \ln \left(\frac{5.42 + e^{0.8t}}{5.43} \right) \quad (9)$$

上述方程可有效体现基质消耗情况。

将 $t=0, P=0$ 当成初始条件, 经积分处理, 则有:

$$P = \beta C(t) + \gamma D(t) \quad (5)$$

式中:

$$C(t) = X_0 \left[\frac{e^{\delta_n t}}{1 - \frac{X_0}{X_n} (1 - e^{\delta_n t})} - 1 \right]$$

$$D(t) = \frac{X_n}{\delta_n} \ln \left[1 - \frac{X_0}{X_n} (1 - e^{\delta_n t}) \right]$$

将参数 $\delta_n, X_0, X_n, \gamma$ 代入式 (5), 以 $[P-\gamma D(t)]$ 对 $C(t)$ 作图, 见图 4, 获取的二者间的关系是 $[P-\gamma D(t)] = 0.0098C(t), R^2=0.8915$, 所以 $\beta=0.0098$ 。

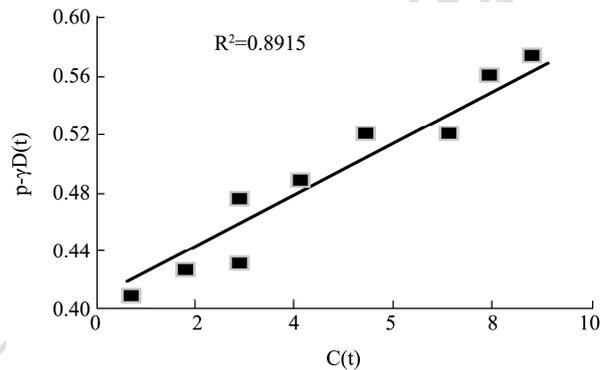


图4 拟线性法作图

Fig.4 Quasilinear mapping

获取的产物生成动力学模型如式 (6):

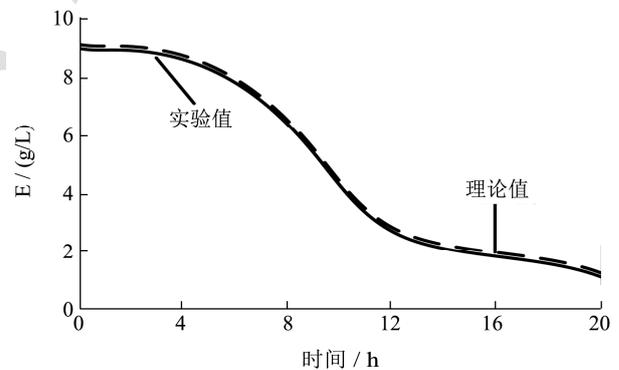


图5 基质消耗实验值和模型方程拟合曲线

Fig.5 Matrix consumption experimental value and model equation fitting curve

2.4 模型验证

为了检验本文设计模型的误差, 将实测值和模型预测值相比, 得到的结果用表 3 进行描述。分析表 3 可知, 采用本文设计的苹果渣多菌群益生菌发酵动力学模型计算值和实测值相对误差基本低于 8%, 尽管发酵后期基质消耗模型实测值和预测值误差高于 8%,

然而当前基质浓度低同时基本不变,当前残糖浓度对发酵结果的影响较小,所以本文设计的苹果渣多菌群

益生菌发酵动力学模型可有效描述益生菌发酵过程中菌类生长、底物消耗以及产物合成的改变规律。

表3 本文设计模型实测值和模型预测值比较结果

Table 3 Comparisons between the measured and predicted values of the model designed in this paper

t/h	X/g ⁻¹			E/g ⁻¹			P/U ⁻¹		
	实验值	理论值	误差/%	实验值	理论值	误差/%	实验值	理论值	误差/%
0	0.009±0.002	0.0085	5.88	5.61±0.06	5.81	3.44	-	-	-
4	0.08±0.007	0.086	6.98	5.69±0.05	7.22	3.32	-	-	-
8	0.71±0.05	0.76	6.58	5.03±0.09	7.08	7.06	126.59±7.21	136.25	7.09
12	3.59±0.09	3.41	5.28	2.24±0.11	5.42	2.58	479.56±6.13	499.16	3.93
16	5.23±0.25	5.11	2.35	0.53±0.08	2.52	6.75	725.31±5.62	768.56	5.63
20	5.49±0.23	5.42	1.29	0.28±0.05	1.59	18.87	931.15±11.22	971.46	4.15

为了验证本文设计的苹果渣多菌群益生菌发酵动力学模型的误差,通过 Origin 8.0 将拟合的动力学模型实验数据和理论数据相比,得到的结果用表 4 进行描述。分析表 4 可以看出,活菌数的实测值和理论值误差都低于 8%。在发酵初期,实测值较理论值相比较低,因为菌体生长速度慢,细胞不分裂,对外界环境的改变较为敏感,所以在发酵后期,理论值较实测值高,然而整个发酵过程误差值均低于 10%,表明该模型理论值与实测值可有效拟合。所以本文设计的苹果渣多菌群益生菌发酵动力学模型可有效体现益生菌发酵变化规律。

表 4 拟合的动力学模型实验数据和理论数据比较

Table 4 Comparisons of experimental and theoretical data of the kinetic model fitted

t/h	活菌数/(×10 ⁹ cfu/mL)		
	实验值	理论值	误差/%
0	0.0061	0.0065	6.15
4	0.022	0.0206	6.80
8	0.045	0.0423	6.38
12	0.115	0.1163	1.12
16	0.269	0.2826	4.81
20	0.655	0.6935	5.55

3 结论

3.1 设计了一种苹果渣多菌群益生菌发酵动力学模型,得出以下结论:在发酵时间逐渐增加的情况下,活菌数量也在一定程度上逐渐增加,发酵温度是 30℃、33℃与 42℃时活菌数量显著低于发酵温度是 36℃、39℃时的活菌数量,而发酵温度是 39℃时活菌数量低于发酵温度是 36℃时活菌数量,因此 36℃是最优发酵温度。在装料量是 70 mL、接种量是 5%、培养基初始 pH 是 4.0 的情况下,苹果渣多菌群益生菌发酵较好,活菌数量是 6.71×10⁸ cfu/mL。可以得出发

酵环境如下:温度是 36℃,装料量是 70 mL、接种量是 5%、培养基初始 pH 是 4.0。

3.2 设计了苹果渣多菌群益生菌发酵菌体生长模型、产物生成模型和基质消耗模型,对理论值和实验值进行比较,误差大部分低于 8%,说明设计的苹果渣多菌群益生菌发酵动力学模型能够有效描述发酵过程,很好的准确预测发酵过程的改变情况。

参考文献

- [1] 蒋军,周庆伍,李安军,等.茶香型苹果酒发酵特征及其动力学模型[J].食品工业科技,2014,35(15):134-138
JIANG Jun, ZHOU Qing-wu, LI An-jun, et al. Fermentation characters and kinetic models of tea-flavor cider [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(15): 134-138
- [2] 高印,王国军,来航线,等.益生菌发酵苹果渣对断奶仔猪生长性能、血清生化指标和粪便微生物菌群的影响[J].动物营养学报,2016,28(5):1515-1524
GAO Yin, WANG Guo-jun, LAI Hang-xian, et al. Probiotic fermented apple pomace affects growth performance, serum biochemical indicators and fecal microbial flora of weaned piglets [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2016, 28(5): 1515-1524
- [3] 赖文,张全林,任红宇.产细菌素戊糖乳杆菌 B8 发酵动力学模型的建立[J].中国酿造,2016,35(9):86-89
LAI Wen, ZHANG Quan-lin, REN Hong-yu. Establishment of fermentation kinetic models for bacteriocin-producing *Lactobacillus Pentosus* B8 [J]. China Brewing, 2016, 35(9): 86-89
- [4] 王勇,张锦玲,张立明,等.复合酵母菌固态发酵动力学模型的建立[J].饲料工业,2015,36(16):48-53
WANG Yong, ZHANG Jin-ling, ZHANG Li-ming, et al. Kinetic models for solid state fermentation by compound yeasts [J]. Feed Industry, 2015, 36(16): 48-53

- [5] Lazaridou A, Serafeimidou A, Biliaderis C G, et al. Structure development and acidification kinetics in fermented milk containing oat β -glucan, a yogurt culture and a probiotic strain [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 39(4): 204-214
- [6] 岳国君,刘文信,刘劲松,等. Logistic 模型模拟乙醇发酵产物动力学[J]. 农业工程学报, 2015, 31(5): 280-286
YUE Guo-jun, LIU Wen-xin, LIU Jin-song, et al. Product kinetics of logistic model to simulate ethanol fermentation [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2015, 31(5): 280-286
- [7] Casarotti S N, Monteiro D A, Moretti M M S, et al. Influence of the combination of probiotic cultures during fermentation and storage of fermented milk [J]. Food Research International, 2014, 59(4): 67-75
- [8] 马利云,龚国利,王娜. 纤维堆囊菌 SoF5-76 产埃博霉素 B 分批发酵动力学研究[J]. 生物技术通报, 2015, 31(2): 202-207
MA Li-yun, GONG Guo-li, WANG Na. Kinetics of batch fermentation of epothilone B by *Sorangium cellulosum* SoF5-76 [J]. Biotechnology Bulletin, 2015, 31(2): 202-207
- [9] Herrera Ponce A, Nevárez Morillón G, Ortega Rivas E, et al. Fermentation adaptability of three probiotic *Lactobacillus* strains to oat, germinated oat and malted oat substrates [J]. Letters in Applied Microbiology, 2015, 59(4): 449-456
- [10] 于晓萌,张京良,孙永超,等. 基于发酵优化和动力学建立 Levan 果聚糖生产的数字化模型[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(12): 20-25
YU Xiao-meng, ZHANG Jing-liang, SUN Yong-chao, et al. Establishment of digital model for levan production based on fermentation optimization and kinetics [J]. Food and Fermentation Industries, 2016, 42(12): 20-25
- [11] Peres C M, Alves M, Hernan dezendoza A, et al. Novel isolates of lactobacilli from fermented portuguese olive as potential probiotics: food science+technology science+technologie alimentaire [J]. LWT-Food Science and Technology, 2014, 59(1): 234-246
- [12] 谭云,黎继烈,王卫,等. 重组毕赤酵母产青霉素 G 酰化酶的分批发酵动力学研究[J]. 菌物学报, 2016, 35(1): 94-103
TAN Yun, LI Ji-lie, WANG Wei, et al. A kinetic study of batch fermentation for *Penicillin gacylase* enzyme production by recombinant *pichia pastoris* [J]. Mycosystema, 2016, 35(1): 94-103.
- [13] 李可义. 单菌种和混合菌种在发酵饲料中乳酸菌数量的动态变化研究[J]. 江西水产科技, 2017, 1: 8-9
LI Ke-yi. Study on the dynamic change of the number of lactic acid bacteria in fermented feed by single strain and mixed strain [J]. Jiangxi Aquatic Science and Technology, 2017, 1: 8-9

(上接第 260 页)

- [13] David Betancur-ancona, Teresita Sosa-espinoza, Jorge Ruiz-ruiz, et al. Enzymatic hydrolysis of hard-to-cook bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein concentrates and its effects on biological and functional properties [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2014, 49 (1): 2-8
- [14] Dehghan Hossein, Salehi Peyman, Amiri Mohammadn Sadegh. Bioassay-guided purification of alpha-amylase, alpha-glucosidase inhibitors and DPPH radical scavengers from roots of rheum turkes tanicum [J]. Industrial Crops and Products, 2018, 117: 303-309
- [15] Santos Angela-Alves-Dos, Deoti Junior-Romeo, Muller Gabriela, et al. Microwell plate-based method for the determination of reducing sugars with the DNS reagent [J]. Brazilian Journal of Food Technology, 2017, 20(10): e2015113
- [16] SONG Hai-zhao, HAN Wen, YAN Fu-jie, et al. Dietary *Phaseolus vulgaris* extract alleviated diet-induced obesity, insulin resistance and hepatic steatosis and alters gut microbiota composition in mice [J]. Journal of Functional Foods, 2016, 20: 236-244

(上接第 324 页)

- [14] 孙永海,万鹏,于春生. 基于 BP 神经网络的大米含水量近红外检测方法[J]. 中国粮油学报, 2008, 23(6): 193-197
SUN Yong-hai, WAN Peng, YU Chun-sheng. A near-infrared detection method of moisture content in rice based on BP neural network [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2008, 23(6): 193-197
- [15] 褚小立. 化学计量学方法与分子光谱分析技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2011
CHU Xiao-li. Chemical Metrology Methods And Molecular Spectroscopic Analysis Techniques [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2011