芸豆酵素复合发酵工艺优化

Optimization on fermentation technology of kidney bean enzyme

王 迪1 王 颖1,2 张艳莉1 刘淑婷1 佐兆杭1

 $WANG\ Di^1$ $WANG\ Ying^{1,2}$ $ZHANGN\ Yan-li^1$ $LIU\ Shu-ting^1$ $ZUO\ Zhao-hang^1$

- (1. 黑龙江八一农垦大学食品学院,黑龙江 大庆 163319;
- 2. 国家杂粮工程技术研究中心,黑龙江 大庆 163319)
- (1. College of Food Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China;
 - 2. National Coarse Cereals Engineering Research Center, Daqing, Heilongjiang 163319, China)

摘要:利用乳酸菌和酵母菌复合菌系制备酵素,通过多菌种单因素试验优化发酵菌种条件并确定复合发酵接种顺序及发酵时间。结果表明:最优发酵方式为先接种酵母菌预发酵后再接种乳酸菌,最佳复合发酵条件为装瓶量30 mL(250 mL)、pH 5.0、接种 0.20%酵母菌、30% 振荡培养 24 h;再接种 3.0% 复合乳酸菌(植物乳杆菌:嗜酸乳杆菌为 1:1),37 % 培养 24 h;4 % 低温静置发酵 24 h,酵素产香。该条件得到的芸豆酵素上清液色泽通透呈黄色,气味清冽,活菌数显著增加,超氧化物歧化酶活力(SOD)达 224.09 U/mL。

关键词:芸豆;酵素;复合发酵;超氧化物歧化酶活力

Abstract: Lactic acid bacteria and yeast were used to prepare enzymes, and the single factor experiment of multiple strains was optimized to determine the inoculation sequence and fermentation time of the complex fermentation. Results: the optimal inoculation order was inoculated yeast first, and then lactic acid bacteria. The optimal compound fermentation condition was: inoculated with 0.20% yeast under the condition of bottling volume of 30 mL(250 mL) and pH 5.0, and shaking incubated at 30 °C for 24 h. Then 3.0% lactobacillus complex was inoculated (lactobacillus plantarum to lactobacillus acidophilus was 1:1) and cultured at 37 °C for 24 h with stationary fermented at low temperature of 4 °C for 24 h, to the enzyme yield incense. The results showed that the enzyme supernatant of kidney bean was yellow, chilly smell, and the number of viable bacteria increased significantly with the activity of superoxide dismutase (SOD)

基金项目:国家科技部重点研发计划(编号:2017YFD0401203); 黑龙江省科技厅项目(编号:TDJH201806);黑龙江省特色杂粮学科项目(编号:201705);杂粮产品加工技术中试与转化项目(编号:HNK135-05-02)

作者简介:王迪·女,黑龙江八一农垦大学在读硕士研究生。 通信作者:王颖(1979一),女,黑龙江八一农垦大学教授,博士。 E-mail:wychen156@163.com

收稿日期:2019-05-11

reaching 224.09 U/mL.

Keywords: kidney beans; enzyme; compound fermentation; superoxide dismutase activity

芸豆作为一类典型的低钠高钾镁类食品,富含蛋白质、碳水化合物、脂肪、膳食纤维等人体必需的营养物质^[1-2],还含有多种球蛋白、碱性皂体及活性肽等成分^[3],具有极高的食用及药用价值。

酵素在中国、日本等亚洲国家风靡。中国生物发酵 产业协会发布的《酵素产品分类导则》标准中,将酵素定 义为以动物、植物和食用菌等为原料,经微生物发酵制得 的含有特定生物活性成分的可食用的酵素产品[4]。按照 原料种类,可分为单一酵素和复合型酵素,生产原料多为 蔬菜、水果、谷物及药食同源类物质,常通过自然发酵或 人工接种两种方式制成[5]。酵素作为营养机能食品生理 功能突出,可通过调节内源性胆固醇的合成,有效改善由 于肥胖造成的脂肪组织的慢性和全身性低度炎症[6-8]; 还具有美白抗氧化[9]、消炎抗菌[10]、解酒护肝、清肠助消 化等生理功能。秦松等[11]研究了混合菌种发酵的植物酵 素显著提高三酰甘油的活性,保护小鼠酒精性肝损伤,验 证植物酵素的抗氧化性。Aruoma等[12]研究表明,木瓜 酵素对经 H₂ O₂ 氧化后造成 DNA 损伤的嗜铬细胞瘤 (PC12)细胞有调节作用,改善细胞形态并提高细胞生命 力。战伟伟等[13]对蓝靛果椰子复合酵素发酵工艺进行优 化,优化后 SOD 酶活力为 56.74 U/mL。中国目前尚未 见芸豆酵素复合发酵工艺优化相关的研究。试验拟以黑 龙江地区主产芸豆为原料制备酵素,探讨最优发酵工艺, 提高芸豆附加值,深度挖掘生理功能,为植物酵素产品未 来发展提供技术参考及理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

紫花芸豆:黑龙江省黑河市;

白砂糖:市售;

安琪牌活性干酵母:湖北安琪酵母股份有限公司;

植物乳杆菌(LP)、保加利亚乳杆菌(LB):东北农业大学菌库:

嗜酸乳杆菌(LA)、鼠李糖乳杆菌(LR):中国工业微生物菌种保藏中心;

耐高温 α -淀粉酶(酶活力 2.0×10^4 U/g)、糖化酶(酶活力 1.0×10^4 U/g):上海源叶生物科技有限公司;

SOD 酶活力检测试剂盒:南京建成生物工程研究所。

1.2 仪器与设备

电子天平: BS224S型, 赛多利斯科学仪器有限公司; 料理机: JYL-Y912型, 九阳股份有限公司;

pH 计:S220 型,瑞典波通仪器公司;

电热鼓风干燥箱: DGG-9023A型,上海森信实验仪器有限公司;

可见分光光度计: V-5100B型, 上海元析仪器有限公司;

数显电热恒温水浴锅: HH-1S型,上海达洛科学仪器有限公司;

电热恒温培养箱: DRP-9082型,上海培因实验仪器有限公司;

立式压力蒸汽灭菌器: YXQ-30SII型,济南捷岛分析 仪器有限公司;

台式高速离心机: TG16-WS型, 常州金胜仪器制造有限公司;

超净工作台: BCV-6S1 型,浙江赛德仪器设备有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 工艺流程

芸豆去皮清洗→打浆均质→液化→糖化→离心→灭 菌→接种→发酵→后发酵

酵母菌、乳酸菌

- 1.3.2 菌种的活化与培养 取 4 ℃下斜面保存的乳酸菌于 MRS 液体培养基中,37 ℃下厌氧培养 24 h,菌悬液待用。活性干酵母于 10 倍体积蒸馏水中溶解,30~35 ℃恒温水浴锅中活化 30 min,菌液待用。
- 1.3.3 发酵基质的制备 紫花芸豆清洗后去皮,按 1:3 (g/mL)料水比打浆。 α -淀粉酶和糖化酶双酶法进行水解,通过前期预试验获得液化和糖化条件。液化条件: α -淀粉酶添加量 200 μ L/100 mL、pH 6.0、酶解温度 97 $^{\circ}$ C、时间 20 min;糖化条件:加酶量 200 μ L/100 mL、pH 4.5、温度 60 $^{\circ}$ C、时间 30 min。酶解液于高速离心机中以 1.0×10⁴ r/min 离心 15 min,得到芸豆清汁。调清汁 pH 为 5.0,添加 8%白砂糖后灭菌备用。

1.3.4 接种与发酵

(1) 乳酸菌发酵:芸豆清汁中接种 3.0%不同种乳酸菌,37 ℃培养 36 h,其他条件相同。

- (2) 酵母菌发酵:30 mL 芸豆清汁装于 250 mL 锥形瓶中,接种 0.20%酵母菌,30 ℃条件下,180 r/min 振荡培养 28 h。
- (3) 复合发酵:按照 1.3.7 接种发酵芸豆清汁,发酵后 4 ℃低温静置使其产香。

1.3.5 酵母菌单独发酵工艺优化

- (1) 发酵时间:在初始装瓶量 30 mL、pH 5.0、接种量 0.20%的条件下,分别发酵 8,16,24,32,40 h,测定发酵液 SOD活力及酵母菌活菌数。
- (2)接种量:在初始装瓶量 30 mL、pH 5.0 的条件下,分别接种 0.10%,0.15%,0.20%,0.25%,0.30%酵母菌,发酵 24 h 后测定发酵液 SOD 活力及活菌数。
- (3) 装瓶量: 在初始装瓶量 30 mL、pH 5.0、接种量 0.20% 的条件下,250 mL 锥形瓶中分别装 30,40,50,60, 70 mL 发酵液后接种酵母菌,发酵 24 h 后测定 SOD 活力及活菌数。

1.3.6 乳酸菌单独发酵工艺优化

- (1) 发酵菌种及发酵时间:保证芸豆清汁初始pH 5.0,接种 3.0%不同乳酸菌菌液于芸豆清汁中,37 ℃下分别发酵 6,12,18,24,30,36 h,结束后测定发酵液中活菌数。
- (2) 接种量:在初始 pH 5.0、发酵温度 37 ℃条件下,分别接种 1.0%,1.5%,2.0%,2.5%,3.0%,3.5% 菌液,LB、LA、LR 和 LP 分别于发酵 12,18,24,30 h 后测定发酵液活菌数。
- (3) 复配比例及发酵时间: 在初始 pH 5.0、发酵温度 37 ℃条件下,将上述两种最优乳酸菌分别按 3:1,2:1,1:1,1:2,1:3 比例接种,分别于发酵 18,24,30 h 时测定发酵液活菌数。
- 1.3.7 复合发酵 分别采用 3 种方式进行复合发酵: ① 先接种 0.20%酵母菌,30 ℃条件下以 180 r/min 振荡培养进行预发酵,接种 3.0%复合乳酸菌,37 ℃培养一定时间;② 先接种 3.0%乳酸菌进行预发酵,后接种 0.20%酵母菌;③ 同时接种 0.20%酵母菌和 3.0%乳酸菌,37 ℃培养。以 SOD 活力为指标,确定最佳发酵时间及接种顺序。

1.3.8 测定项目及方法

- (1) 乳酸菌活菌数:按 GB 4789.35—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验》执行。
 - (2) 酵母菌菌体浓度:采用血球计数板法[14]。
 - (3) SOD 酶活力:采用 SOD 酶活力试剂盒测定。

1.4 数据处理

试验均进行 3 次重复操作,采用 Origin 8.0、Design Expert 软件对数据进行处理与分析。

2 结果与分析

2.1 酵母菌单独发酵工艺优化

2.1.1 发酵时间的确定 酶活是衡量发酵体系是否达到

成熟的指标之一,是酵素行业广泛测试的营养指标^[15]。因后期考察芸豆酵素对肥胖方面的影响,故选用 SOD 活力作为参考指标。由图 1 可知,随着发酵时间的延长,酵母菌活菌数显著升高,24 h后趋于稳定。SOD 活力也呈现显著上升至稳定的趋势。发酵液中的营养物质是酵母菌发酵必备代谢基质,其利用率显著提高,未满足酵母菌生长发酵条件,活菌数不再增多。因此确定发酵时间为 24 h。

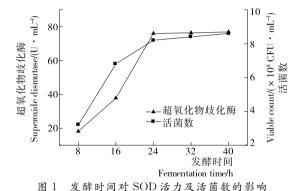


Figure 1 Effects of fermentation time on SOD activity and number of viable bacteria

2.1.2 接种量的确定 由图 2 可知,随着接种量的增加,发酵液中 SOD 活力及活菌数逐渐提高,当接种量为 0.20%时,SOD 活力和酵母菌浓度分别达到 78.82 U/mL 和 8.5×10⁸ CFU/mL,当接种量超过 0.20%时,活菌数及 SOD 活力显著降低。酵母菌发酵主要利用碳源产生次级代谢产物,碳源缺乏阻碍酵母菌的繁殖与发酵,其生长速率低于衰亡速率,故酵母菌降低。因此确定酵母菌接种量为 0.20%。

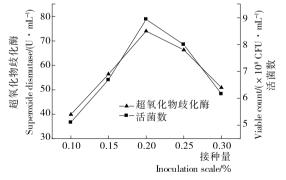


图 2 接种量对 SOD 活力及活菌数的影响 Figure 2 Effects of inoculation amount on SOD activity and viable bacteria count

2.1.3 装瓶量的确定 由图 3 可知, SOD 活力与活菌数 随装瓶量的增加而显著降低。酵母菌产酶与发酵液中溶 氧量密切相关,随着装瓶量增加,体系中溶氧量减少,酵母菌生长受到限制,无氧条件下发酵产生乙醇。后期试验需在不同发酵时间多次取样,且从经济角度考虑确定装瓶量为 30 mL。

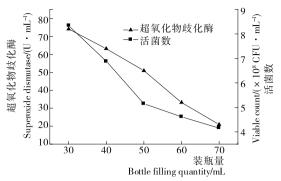


图 3 装瓶量对 SOD 活力及活菌数的影响

Figure 3 Effects of bottling amount on SOD activity and viable bacteria count

2.2 乳酸菌单独发酵工艺优化

2.2.1 菌种的选择 由图 4 可知, LA 活菌数在 18 h 时达到最大,可达 1.86×10^{10} CFU/mL,说明在发酵过程中其生长性能较好,此时高于其他 3 种乳酸菌活菌数。LB 活菌数在 12 h 达最大,其迟缓期较短,进入对数生长期较快。LP 在 30 h 时得到最大活菌数,虽发酵时间最长,但高于其他 3 种乳酸菌。综上,LB、LA、LR 和 LP 最优发酵时间分别为 12,18,24,30 h。

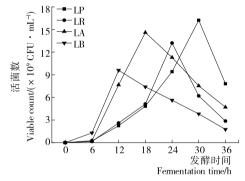


图 4 不同菌种发酵过程中活菌数的变化

Figure 4 Changes in the number of viable bacteria during the fermentation of different strains

2.2.2 接种量的确定 由图 5 可知,LB 在 1.5%的接种量时活菌数达到最高。当接种量为 2.0%时,LR 活菌数最高,可达到 14.3×10° CFU/mL。LP 和 LA 最佳接种量均为 3.0%,且此时活菌数均高于 LB 和 LR 的最大活菌数。乳酸菌具有维持微生态平衡、提高生物效价及控制机体内毒素等生理功能,含量越高其价值越高。考虑乳酸菌之间可能存在共生作用,将具有较高活菌数的 LA 和 LP 按一定比例复配发酵,以期芸豆酵素具备更高生理活性。乳酸菌接种量过多时活菌数下降,由于过量乳酸菌在发酵过程中产酸抑制其本身的生长,取 3.0%作为复配菌种发酵的接种量。

2.2.3 复配比例及发酵时间的确定 由图 6 可知,LP与LA的比例为1:3 时,发酵18 h高于24 h和30 h的活菌

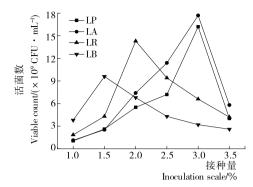


图 5 不同菌种的接种量对活菌数的影响 Figure 5 Effect of inoculation amount of different strains on viable count

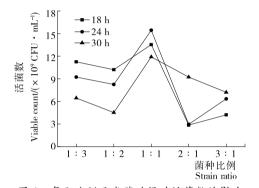


图 6 复配比例及发酵时间对活菌数的影响 Figure 6 Effects of mixture ratio and fermentation time on the number of viable bacteria

数,此时复配菌种中 LA 所占比例更大,发酵 18 h 达到 LA 对数生长期,菌数积累。复配菌种发酵 30 h 时,LA 进入生长衰退期,此时 LP 适应新环境后快速繁殖并积累 发酵产物,生长速度快。LP 和 LA 以 1:1 比例复配,发酵 24 h 达最大活菌数,此时活菌数与发酵时间无关,可能是两种菌间存在共生作用,相互利用产生有机酸及次生代谢产物[16]。因此最佳发酵时间 24 h,复配比例为1:1。

2.3 复合发酵

与厌氧发酵的乳酸菌不同,酵母菌正常增殖发酵需要发酵液溶氧量充足[17]。酵母菌与乳酸菌发酵温度存在差异,同时接种无法达到益生菌各自最优条件。若先接种乳酸菌,酵母菌生长不良,发酵液感官评定较差。由于乳酸菌对营养物质的利用率较高,酵母菌未利用碳源产生相关代谢产物,发酵液发酵不完全,且乳酸菌发酵时间过长,乳酸菌活力会自溶或衰亡。故选择先接种酵母菌进行预发酵,后接种乳酸菌的发酵方式。

由图 7 可知,接种酵母菌 24 h,发酵液 SOD 活力达最高并趋于稳定,此时接种乳酸菌进行后续发酵。24~48 h时 SOD 活力显著升高,可达 224.09 U/mL。酵母菌与乳酸菌之间存在互利共生作用。酵母菌产生出具有中链脂肪酸的甘露糖,促进了乳酸菌的生长,而乳酸菌代谢产物乳糖又为酵母菌的生长提供了碳源。乳酸菌还可通过丙

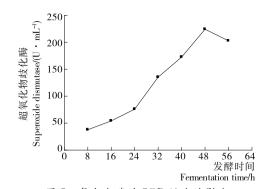


图 7 复合发酵对 SOD 活力的影响 Figure 7 Effects of compound fermentation on SOD activity

酮酸盐裂解酶将丙酮酸盐转化为甲酸盐,或者将柠檬酸盐分解为乳酸盐、乙酰甲基原醇、双乙酰、2,3-丁二醇等芳香物质,使发酵体系产香[18]。研究[19]表明,在高渗透压、高温、较低 pH值等环境下,酵母菌会产生"交叉保护",其实是酵母菌与乳酸菌共生体系中存在一种适应反应机制,这种机制一旦被激活,会促使酵母菌提升对外界环境的抵抗能力。故在发酵体系中,益生菌未产生自溶现象,二者紧密联系,达到互利共生的状态,芸豆发酵液形成稳定的平衡体系。

3 结论

试验以紫花芸豆为发酵原料,经酵母菌、复合乳酸菌多菌种共同发酵得到 SOD 活力较高的芸豆酵素产品。酵母菌单独发酵情况下发酵时间、接种量及装瓶量的试验条件优化,并优化乳酸菌发酵菌种、接种量及复配比例和发酵时间,确定植物乳杆菌和嗜酸乳杆菌以1:1比例复合发酵。采用先酵母菌进行预发酵后接种乳酸菌的发酵顺序,最优发酵条件为:在pH 5.0、接种量 0.20%、装瓶量 30 mL(250 mL)的条件下,30℃振荡培养 24 h;再接种1.5%植物乳杆菌和1.5%嗜酸乳杆菌,37℃培养 24 h;4℃低温静置 24 h 使酵素产香。在此条件下,SOD 活力可达 224.09 U/mL,益生菌发酵产生次生代谢产物,反应体系走向成熟。后期将对芸豆酵素功能特性进行研究,以探究其生理功能。

参考文献

- [1] 杜双奎, 王华, 聂丽洁. 芸豆淀粉理化特性研究[J]. 中国粮油学报, 2012, 27(8): 31.
- [2] 任海伟,朱冬梅,王玉丽,等. 芸豆肽的抗氧化活性研究[J]. 食品科学,2010,31(21):105-109.
- [3] 刘淑婷,王颖,佘铁军,等.黑龙江地区不同品种芸豆淀粉的物化特性研究[J].农产品加工,2018(19):22-25,28.
- [4] 中国发酵产业协会. T/CBFIA 08001—2016 酵素产品分类导则[S/OL]. (2017-03-06) [2019-09-07]. http://down.food-mate.net/standard/sort/12/50624.html.

(下转第236页)

相似性系数 (GS) 变异范围为 0.392~0.963, 平均值为 0.659, 在遗传相似系数 0.60 水平上将 69 份菜豆种子材料分为两大组群, 在遗传相似系数 0.67 处两个组群还共分为 4 个亚组群, 表明普通菜豆种质遗传多样性丰富。后续将进行构建普通菜豆品种分子身份证, 从而利用普通菜豆分子身份证构建和遗传多样性分析为优质亲本选配、品种鉴定和菜豆品质的监督与管理提供帮助。

参考文献

- [1] 雷蕾. 普通菜豆核心种质遗传结构及多样性研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2018: 1-3.
- [2] SINGH S P. Broadening the genetic base of common bean cultivars: A review[J]. Crop Sci, 2001, 41(6): 1 659-1 675.
- [3] 陈明丽, 王兰芬, 赵晓彦, 等. 普通菜豆基因组学及抗炭疽 病遗传研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(6): 941-947.
- [4] DELGADO-SALINAS A, BIBLER R, LAVIN M. Phylogeny of the genus Phaseolus (*Leguminosae*): A recent diversification in an ancient landscape[J]. Syst Bot, 2006, 31 (4): 779-791.
- [5] BITOCCHI E, NANNI L, BELLUCCI E, et al. Mesoamerican origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109(14): 788-796.
- [6] 陈禅友,宋利平,胡志辉.菜豆种质盐溶蛋白遗传多态性分析[J]. 江汉大学学报:自然科学版,2011,39(3):86-92.
- [7] MEDRAOUI L, ATER M, BENLHABIB O, et al. Evaluation of genetic variability of sorghum (Sorghum bicolor L. Moench) in northwestern Morocco by ISSR and RAPD

- markers[J]. Comptes Rendus-Biologies, 2007, 330(11): 789-797.
- [8] BLAIR M W, PANAUD O, MCCOUCH S R. Inter simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of microsatellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. TAG Theoretical and Applied Genetics, 1999, 98: 780-792.
- [9] 栾非时,崔成焕,王金陵. 菜豆种质资源形态标记的研究[J]. 东北农业大学学报,2001,32(2):134-138.
- [10] GUPTA S K, BANSAL R, GOPALAKRISHNA T. Development and characterization of genic SSR markers for mungbean (*Vigna radiate* (L.) Wilczek) [J]. Euphytica, 2014, 195(2): 245-258.
- [11] 姜俊烨,杨涛,王芳,等. 国内外蚕豆核心种质 SSR 遗传多样性对比及微核心种质构建[J]. 作物学报,2014,40(7): 1311-1319.
- [12] 从夕汉,施伏芝,阮新民,等. 东南亚 62 个籼型水稻亲本 SSR 遗传多样性分析[J]. 核农学报, 2016, 30(5): 859-868.
- [13] 李正玲, 胡琳, 王会伟, 等. 河南省同名小麦地方品种 SSR 遗传多样性分析 [J]. 麦类作物学报, 2016, 36(5): 560-570.
- [14] 易红梅,王凤格,赵久然,等. 玉米品种 SSR 标记毛细管电泳荧光检测法与变性 PAGE 银染检测法的比较研究[J]. 华北农学报,2006,21(5):64-67.
- [15] 张赤红,曹永生,宗绪晓,等.普通菜豆种质资源形态多样性鉴定与分类研究[J].中国农业科学,2005(1):27-32.
- [16] 冯国军. 黑龙江优质菜豆种质资源研究及育种策略[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2008: 38-40.

(上接第 209 页)

- [5] FENG Yan-jun, ZHANG Min, MUJUNDAR A S, et al. Recent research process of fermented plant extract: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 65: 40-48.
- [6] KISHIDA T, MIZUSHIGE T, NAGAMOTO M, et al. Lowering effect of an isoflavone-rich fermented soybean extract on the serum cholesterol concentrations in female rats, with or without ovariectomy, but not in male rats[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2006, 70(7): 1 547-1 556.
- [7] LIM K H, HAN J H, LEE J Y, et al. Assessment of antidiabetogenic potential of fermented soybean extracts in streptozotocin-induced diabetic rat[J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50(11): 3 941-3 948.
- [8] 白浩,文佳嘉,费爽雯,等. 酵素的功能与综合应用研究进展[J]. 食品工业,2017(6):270-272.
- [9] 费鹏, 杨同香, 赵胜娟, 等. 怀山药酵素粉的制备及抗氧化作用[J]. 食品与机械, 2018, 34(8): 209-212, 226.
- [10] 张旭普, 白俊岩, 刘腾云, 等. 糙米酵素混菌发酵工艺优化[J]. 食品与机械, 2017, 33(12): 180-185.
- [11] 秦松,王君,高志鹏,等. 奇魅植物酵素对小鼠酒精性肝损伤

保护作用的研究[J]. 重庆医学, 2016, 45(10): 1 323-1 325.

- [12] ARUOMA O I, COLOGNATO R, FONTANA I, et al. Molecular effects of fermented papaya preparation on oxidative damage, MAP Kinase activation and modulation of the benzo[a] pyrene mediated genotoxicity [J]. Biofactors, 2010, 26(2): 147-159.
- [13] 战伟伟,魏晓宇,高本杰,等. 蓝靛果椰子复合酵素发酵工艺优化[J]. 中国酿造,2017(1): 191-195.
- [14] 江洁, 刘晓兰, 薛振磊, 等. 乳酸菌和酵母菌共生发酵茶饮料的研制[J]. 食品科学, 2001, 22(1): 44-46.
- [15] 于晓艳,任清,卢舒娴,等. 微生物酵素主要功效酶活力的测定[J]. 食品科技,2008,33(7):193-196.
- [16] 洪厚胜,朱曼利,李伟,等. 葡萄果渣酵素的发酵工艺优化 及其理化特性[J]. 食品科学,2019,40(8):71-80.
- [17] 李凡, 吕兵. 白首乌酵素发酵工艺的优化[J]. 食品工业科技, 2019, 40(3): 185-190.
- [18] 张梦梅, 刘芳, 胡凯弟, 等. 酵素食品微生物指标与主要功效酶及有机酸分析[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(9): 195-200.
- [19] 赵芳芳, 莫雅雯, 蒋增良, 等. 功能性微生物酵素产品的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(7): 283-287.