

青春双歧杆菌的耐氧驯化及不同低聚糖对其增殖效果的影响

Aerobic acclimation of *Bifidobacterium adolescentis* and the effect on its proliferation of different oligosaccharides

黎雁泽 陈夏菁 张士昂 金欣 徐磊 姚笛

LI Yan-ze CHEN Xia-jing ZHANG Shi-ang JIN Xin XU Lei YAO Di

(黑龙江八一农垦大学食品学院, 黑龙江 大庆 163319)

(College of Food Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China)

摘要:为改善青春双歧杆菌在发酵产品中活菌数低、菌种功效弱的情况,对厌氧青春双歧杆菌进行耐氧驯化,采用无氧有氧交替驯化法,在驯化过程中逐渐增加青春双歧杆菌培养液的氧分压,测定青春双歧杆菌驯化前后生理特性,并对比大豆低聚糖、低聚木糖、低聚麦芽糖对青春双歧杆菌增殖的影响。结果表明,青春双歧杆菌在耐氧驯化后对氧气的敏感程度下降,有氧条件下生长能力达标,产酸能力得到提升,菌体驯化前后形态基本一致,耐氧青春双歧杆菌代谢产生的乙酸与乳酸比值较厌氧青春双歧杆菌更适宜发酵,在3种低聚糖中,低聚木糖对青春双歧杆菌增殖作用明显,可作为青春双歧杆菌良好的双歧因子。耐氧驯化后的青春双歧杆菌有着优良的生理特性,能够作为潜在的益生菌菌种深入研究其功能并可应用于发酵食品中。

关键词:青春双歧杆菌;耐氧驯化;低聚糖

Abstract: In order to improve the situation on low number of living bacterium and the weak strain effect on *Bifidobacterium adolescentis* in fermented products, the anaerobic *B. adolescentis* was oxygen-resistant domesticated, by using anaerobic and aerobic alternating domesticated method, and the partial pressure of oxygen in the culture medium of *B. adolescentis* was gradually increased in the process of acclimation. The physiological charac-

teristics before and after the domestication of *B. adolescentis* was determined and the effects on its proliferation of the soybean oligosaccharides, xylooligosaccharide and oligomeric maltose were compared. The results showed that the sensitive degree to oxygen in *B. adolescentis* after domestication decreased, growth ability under aerobic conditions reached standard and capacity of producing acid improved. Bacterial morphology was not changed before and after the domestication. Compared to anaerobic *B. adolescentis*, the ratio of acetic acid to lactic acid produced by *B. adolescentis* metabolism was more suitable in fermentation process. Among the three oligosaccharides, xylooligosaccharide had obvious effect on the proliferation of *B. adolescentis* and could be used as a good bifidus factor. The oxygen-resistant *B. adolescentis* has excellent physiological characteristics, which can be used as a potential kinds of probiotics for further studying its function and applied in fermented food.

Keywords: *Bifidobacterium adolescentis*; oxygen-resistant domestication; oligosaccharides

目前,多数人群处于亚健康状态,主要原因是膳食、肠道菌群失衡的共同影响^[1-4],如菌群多样性降低、单一化等,便会使有害菌数量增加^[5-6],菌群结构改变同样可导致机体发生免疫抑制,对环境应激能力下降,进而引发代谢问题,如便秘、过度肥胖、糖尿病、肿瘤、心血管疾病、结肠癌等^[7-8]。

青春双歧杆菌作为一种益生菌,可治疗慢性腹泻、便秘,还具有抗衰老作用。可以使人体肠道内酸性增强,减少有害菌群数量,调节肠道菌群向良性方向发展^[9]。青春双歧杆菌在肠道中起到了生物屏障的作用,供给营养,促进代谢^[10-11];代谢产物主要是乙酸和乳酸,还可产生多种有机酸,如丙酸、异丁酸和丁酸等短链脂肪酸^[12],青春双歧杆菌的代谢物和抗菌物质对致病菌有着很强的拮

基金项目:国家级大学生创新创业训练计划项目(编号:201810223008);黑龙江省自然科学基金项目(编号:LH2019C049);农垦总局攻关项目(编号:HNK12KF-13);黑龙江八一农垦大学青年创新人才项目(编号:CXRC2017010);黑龙江八一农垦大学博士启动计划项目(编号:XDB-2017-12)

作者简介:黎雁泽,男,黑龙江八一农垦大学在读本科生。

通信作者:姚笛(1980—),女,黑龙江八一农垦大学副教授,博士。

E-mail: yaodi0226@163.com

收稿日期:2019-05-13

抗作用^[13]。肠道菌群在正常情况下可以保持相对平衡,在失衡情况下功能性低聚糖可以改善肠道菌群。有研究^[14]证明,持续摄入低聚糖短期内可大量繁殖益生菌并抑制有害菌,帮助肠道恢复原有平衡状态。近年来国内外学者向无害、无毒的益生菌制剂方向展开研究,就是为了获得能够维持肠道内菌群平衡的益生菌产品^[15-16]。

青春双歧杆菌是一种严格厌氧菌,这使其在益生菌发酵产品的应用方面存在局限。目前有关青春双歧杆菌的研究主要集中在青春双歧杆菌生长条件的优化、青春双歧杆菌抑菌机理等方面,而对青春双歧杆菌耐氧驯化前后生理特性的变化及其对青春双歧杆菌增殖因子的影响等方面的研究还未见报道。试验拟以青春双歧杆菌(ATCC 15703)为出发菌种,通过对驯化前后青春双歧杆菌各项指标的测定和不同低聚糖对青春双歧杆菌增殖效果的影响,探讨青春双歧杆菌在耐氧驯化前后的变化情况,旨在为青春双歧杆菌的进一步开发利用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 菌种来源

青春双歧杆菌(ATCC15703):中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心。

1.1.2 试剂及培养基

蛋白胨、牛肉浸粉、酵母浸粉、MRS 培养基:青岛海博生物技术公司;

低聚木糖、木聚糖、D-木糖、半胱氨酸盐酸盐:北京陆桥生物技术公司;

葡萄糖、磷酸氢二钾、柠檬酸氢二胺、乙酸钠、硫酸镁、硫酸锰、吐温 80、NaOH、HCl 等:分析纯,天津大茂化学试剂厂;

CMRS 培养基:在 MRS 培养基中加入 0.01% 的半胱氨酸盐酸盐制得;

改良 MRS 培养基:基于 MRS 培养基用大豆低聚糖、低聚麦芽糖、低聚木糖分别等量代替 MRS 培养基中的葡萄糖而制得。

1.1.3 仪器设备

紫外—可见分光光度计:A360 型,上海翱艺仪器有限公司;

立式压力蒸汽灭菌器:LDZM-80KCS 型,上海甲安医疗器械厂;

电热恒温培养箱:DNP-9052 型,上海精宏实验设备有限公司;

电热恒温培养箱:DHG-9145A 型,上海一恒科学仪器有限公司;

离心机:H1650-W 型,长沙湘仪离心机仪器有限公司;

厌氧培养箱:YQX-II 型,上海新苗仪器有限公司;

厌氧培养盒:2.5 L,日本三菱气体化工有限公司;

pH 计:PHS-C 型,上海仪电科学仪器股份有限公司;

高效液相色谱:U3000 型,赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 青春双歧杆菌的活化 将厌氧青春双歧杆菌在 MRS 培养基中活化,37 °C 厌氧培养 48 h,之后继续在厌氧条件下连续传 3 代,活化后的青春双歧杆菌进行耐氧驯化。

1.2.2 青春双歧杆菌的驯化 将活化后的青春双歧杆菌先在厌氧条件下连续传代,而后通过逐步增加液体培养基中的氧分压,使青春双歧杆菌渐渐适应有氧环境。具体操作:取存于螺口试管液深 10 cm 的 CMRS 培养基,接种 10 μ L 青春双歧杆菌菌液,37 °C 下厌氧培养 24 h;取菌液 10 μ L 接种于液深 16 cm 的 MRS 培养基,37 °C 下有氧培养 24 h;之后取菌液 10 μ L 接种于液深 10 cm 的 CMRS 培养基,37 °C 下厌氧培养 24 h;再取菌液 10 μ L 接种于液深 13 cm 的 MRS 培养基,37 °C 下有氧培养 24 h;之后取菌液 10 μ L 接种于液深 10 cm 的 CMRS 培养基,37 °C 下厌氧培养 24 h;再取菌液 10 μ L 接种于液深 10 cm 的 MRS 培养基,37 °C 下有氧培养 24 h;如此反复 5 次,最后将有氧培养下液深 10 cm 的 MRS 培养基连续传代培养,得耐氧驯化青春双歧杆菌。

1.2.3 菌株特性检测

(1) 革兰氏染色和镜检:参考张冬花等^[17]的方法,对驯化过程中的青春双歧杆菌采用革兰氏染色法和镜检,观察菌体的大小、颜色、分叉状态等是否符合双歧杆菌属的基本形态特征。

(2) 青春双歧杆菌菌液吸光度的测定:用紫外—可见分光光度计在 600 nm 波长下测定青春双歧杆菌菌液吸光度,记录青春双歧杆菌驯化过程中吸光度的变化情况。

(3) 测定青春双歧杆菌菌液 pH 值:用 pH 计对青春双歧杆菌驯化过程中的 pH 值进行测定。

(4) 青春双歧杆菌的菌体形态和 16S rRNA 测序鉴定:对青春双歧杆菌进行革兰氏染色并镜检,观察驯化前后的菌体形态变化,同时对其 16S rRNA 基因进行 PCR 扩增^[18],扩增后的产物进行测序和对比分析。

1.2.4 菌液有机酸含量测定 取驯化前后青春双歧杆菌培养液,10 000 $\times$ g 离心 5 min,取上清液,过 0.22 μ m 滤膜后进样,色谱柱为 synchronis C₁₈,Dim 250 mm $\times$ 4.6 mm,5 μ m,梯度淋洗程序共持续 30 min,前 10 min 和后 3 min 的流动相为 2% 的乙腈和 98% 的磷酸二氢钾水溶液(流速 0.5 mL/min),10~27 min 时流动相为 20% 的

乙腈和 80% 的磷酸二氢钾水溶液(流速 0.8 mL/min),柱温 30 ℃,在 210 nm 波长下检测吸收峰^[19]。

1.2.5 还原糖含量测定 采用 DNS 比色法,在紫外分光光度计 560 nm 波长下作出葡萄糖标准曲线,根据标准曲线求得青春双歧杆菌培养液中还原糖的含量^[20]。

2 结果与分析

2.1 耐氧驯化前后青春双歧杆菌的吸光度和 pH 值

2.1.1 菌液吸光度 由表 1 可以看出,驯化前的青春双歧杆菌在有氧培养条件下 $OD_{600\text{ nm}}$ 不足 0.10,而在厌氧条件下 $OD_{600\text{ nm}}$ 可达 1.75。经 5 次耐氧驯化后,青春双歧杆菌菌液吸光度值达到了 1.07,说明较驯化前青春双歧杆菌菌数有大幅度提升。同时,有氧培养和厌氧培养下菌液的吸光度值之比不断增大,表明在驯化过程中青春双歧杆菌的耐氧能力也在不断提升。

2.1.2 pH 值 在循环驯化过程中,随着传代次数的增加,菌液 pH 值不断下降,青春双歧杆菌的耐酸能力也在不断提升,从表 1 可以看出在驯化结束前菌液 pH 值已经稳定至 4.5 附近,这有助于青春双歧杆菌作为益生菌通过胃部酸性环境,从而作用于肠道,并且驯化后的耐氧青春双歧杆菌可为发酵食品的生产提供优良菌株。

表 1 青春双歧杆菌驯化过程中吸光度和 pH 值的变化情况

Table 1 Changes of absorbance and pH value in the acclimated process of *B. adolescentis*

循环传代次数	$OD_{600\text{ nm}}$			pH 值
	有氧培养	厌氧培养	有氧培养/ 厌氧培养	
第 1 次	0.094	1.754	0.053	6.55±0.08
第 2 次	0.274	1.694	0.162	5.93±0.23
第 3 次	0.556	1.721	0.323	5.58±0.18
第 4 次	0.873	1.644	0.531	5.29±0.12
第 5 次	1.074	1.683	0.638	4.50±0.17

2.2 耐氧驯化前后青春双歧杆菌形态特征的比较

耐氧驯化前后青春双歧杆菌的菌落和菌体形态对比结果如表 2 和图 1、2 所示,可以看出青春双歧杆菌在耐氧驯化前后的形态保持一致,且驯化前后菌体的 16S rRNA 基因序列一致,可以确定青春双歧杆菌菌株在耐氧驯化后未发生变异。

2.3 驯化前后青春双歧杆菌菌液中的有机酸含量

厌氧菌的培养一般以糖类或醇类为碳源,在青春双歧杆菌的生长代谢中,会将碳源分解成乳酸、乙酸、丙酸、丁酸等有机酸,因此,研究测定耐氧驯化前后青春双歧杆菌代谢不同有机酸含量的变化情况。图 3 为乳酸、乙酸、丙酸、丁酸混合标准品的紫外吸收峰谱图,图 4、5 分别为

表 2 耐氧驯化前后青春双歧杆菌菌体形态特征

Table 2 Morphological characteristics of *B. adolescentis* before and after aerobic domestication

培养条件	镜检形态	菌落形态	革兰氏染色
厌氧	多为棒状杆菌,有 Y 型、V 型,两端不规则	乳白色或白色、透明、圆形、边缘完整	阳性
	体积较厌氧培养时小、菌体较短、两端规则	乳白色或白色、菌落较小、不透明、圆形、边缘完整	
有氧			

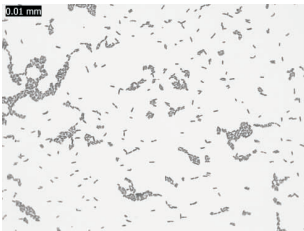


图 1 耐氧驯化前青春双歧杆菌菌体形态
Figure 1 Morphology of *B. adolescentis* before aerobic domestication (×1 000)

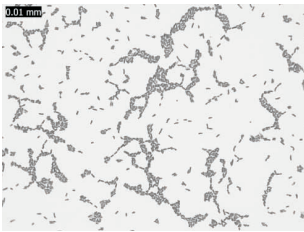


图 2 耐氧驯化后青春双歧杆菌菌体形态
Figure 2 Morphology of *B. adolescentis* after aerobic domestication (×1 000)

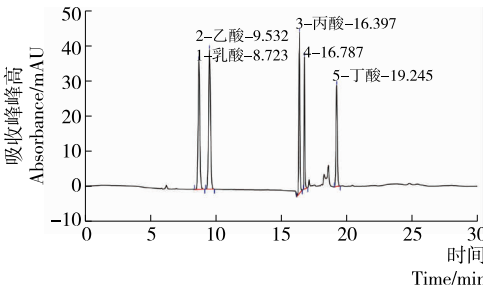


图 3 4 种有机酸标准品色谱图
Figure 3 Chromatogram of four standard organic acids

耐氧驯化前后青春双歧杆菌代谢有机酸吸收峰谱图。对比图 3~5 可以看出,驯化前后青春双歧杆菌代谢产生的乳酸、乙酸、丙酸、丁酸的出峰时间符合标准品出峰时间,确定青春双歧杆菌驯化前后有机酸种类无显著变化。

根据各标准品峰面积绘制标准曲线,根据标准曲线

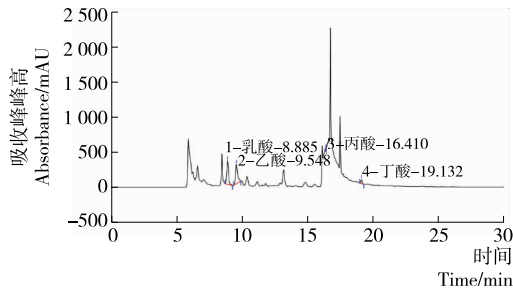


图 4 驯化前青春双歧杆菌不同有机酸色谱图
Figure 4 Chromatogram of different organic acids of *B. adolescentis* before domestication

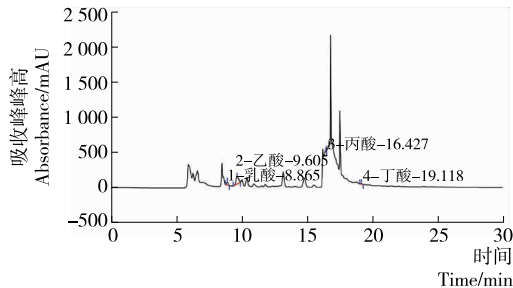


图 5 驯化后青春双歧杆菌不同有机酸色谱图
Figure 5 Chromatogram of different organic acids of *B. adolescentis* after domestication

计算有机酸含量,结果如表 3 所示。由表 3 可以看出,驯化后青春双歧杆菌代谢乙酸和乳酸的含量下降幅度较大,丙酸含量变化不明显。经耐氧驯化后,青春双歧杆菌代谢的 4 种有机酸总量下降,而乙酸与乳酸的摩尔数之比上升,青春双歧杆菌生长的最佳摩尔比为 2.0~4.0^[17],而驯化后的青春双歧杆菌代谢乙酸与乳酸摩尔比为 3.74,在最佳范围之间,有利于青春双歧杆菌的生长繁殖,在发酵食品的生产方面具有一定优势。

表 3 青春双歧杆菌驯化前后有机酸含量

Table 3 Content of organic acids before and after the domestication of *B. adolescentis* g/L

青春双歧杆菌	乳酸	乙酸	丙酸	丁酸
驯化前	8.75	9.20	0.27	1.96
驯化后	1.29	4.84	0.24	0.47

2.4 不同低聚糖对驯化前后青春双歧杆菌增殖效果的影响

2.4.1 青春双歧杆菌在不同低聚糖培养基中 $OD_{600\text{ nm}}$ 和 pH 青春双歧杆菌在 3 种低聚糖培养基中的 $OD_{600\text{ nm}}$ 值和 pH 值如表 4 所示,总体上驯化后比驯化前 $OD_{600\text{ nm}}$ 值稍有下降,主要是由于青春双歧杆菌为专性厌氧菌,虽然经过耐氧驯化但生长状况和厌氧培养下的菌株仍存在差距;驯化后比驯化前 pH 值降低,主要源于耐氧驯化的青

表 4 青春双歧杆菌在不同低聚糖培养基中吸光度和 pH 的变化情况
Table 4 Changes in the absorbance and pH of *B. adolescentis* in different oligosaccharide cultures

低聚糖	$OD_{600\text{ nm}}$		pH	
	驯化前	驯化后	驯化前	驯化后
大豆低聚糖	1.023	0.729	5.03	4.59
低聚木糖	1.535	1.178	5.74	4.26
低聚麦芽糖	0.647	0.433	5.28	4.83

春双歧杆菌提高了自身的耐酸、产酸能力。并且低聚木糖培养基中的青春双歧杆菌生长情况和产酸能力均强于大豆低聚糖、低聚麦芽糖培养基中的。
2.4.2 驯化前后青春双歧杆菌在不同低聚糖培养基中的还原糖含量 通过 DNS 比色法绘制葡萄糖标准曲线,将试验中测得的 $OD_{560\text{ nm}}$ 值,代入葡萄糖标准曲线方程($y = 0.012\ 5x - 0.139\ 3, R^2 = 0.995\ 2$)计算葡萄糖含量,在 3 种低聚糖培养基中青春双歧杆菌菌液还原糖含量如表 5。

表 5 驯化前后青春双歧杆菌在不同低聚糖培养基中还原糖含量
Table 5 Reducing sugar content of *B. adolescentis* in different oligosaccharide cultures before and after domestication g/L

低聚糖种类	驯化前	驯化后
大豆低聚糖	13.332	15.692
低聚木糖	7.492	8.612
低聚麦芽糖	16.492	17.852

从表 5 中也可以看出:在低聚木糖培养基中青春双歧杆菌生长后,菌液还原糖含量最低,碳源利用率最高,由此可知低聚木糖是良好的促双歧杆菌生长因子。龚芳红等^[21]研究表明人体每天食用 0.7 g 低聚木糖 17 d 后,双歧杆菌所占比例由 8.5% 提高到 17.9%,21 d 后提高到 26.2%;徐海燕等^[22]研究了低聚木糖对双歧杆菌及肠道菌群生长的影响,结果表明,低聚木糖是对青春双歧杆菌有明显增殖效果的低聚糖,同时也印证了 Crittenden 等^[19]比较多种低聚糖对厌氧菌发酵特性的研究。不同低聚糖对双歧杆菌都有着一定的增殖效果,但低聚木糖是其中最优良的一种,适合作为双歧因子。

3 结论

试验探讨了青春双歧杆菌的耐氧驯化及低聚糖对青春双歧杆菌增殖的影响,通过改变氧分压,逐步提高青春双歧杆菌对氧气的耐受力。同时培养基中添加低聚糖可以对青春双歧杆菌的增殖起到促进作用;驯化后的青春双歧杆菌在有氧条件下生长能力达标,产酸能力得到提升,菌体驯化前后形态一致,耐氧青春双歧杆菌代谢产生的乙酸与乳酸比值较厌氧青春双歧杆菌更适宜发酵,因

此,耐氧青春双歧杆菌特性良好。后续可进一步对多种低聚糖共同影响青春双歧杆菌的增殖效应,以及改善耐氧青春双歧杆菌生长条件进行研究。

参考文献

- [1] ZHOU Sheng-min, WANG Yue-qiang, JIANG Yuan-rong, et al. Dietary intake of structured lipids with different contents of medium-chain fatty acids on obesity prevention in C57BL/6J mice[J]. *Journal of Food Science*, 2017, 82(8): 1 968-1 977.
 - [2] QIAO Yi, SUN Jin, DING Yin-yi, et al. Alterations of the gut microbiota in high-fat diet mice is strongly linked to oxidative stress[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013, 97(4): 1 689-1 697.
 - [3] XU Peng-fei, FAN Hong, WANG Jia-lin, et al. DBZ is a putative PPAR α agonist that prevents high fat diet-induced obesity, insulin resistance and gut dysbiosis[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 2017, 1 861(11): 2 690-2 701.
 - [4] LEE N K, KIM S Y, HAN K J, et al. Probiotic potential of *Lactobacillus* strains with anti-allergic effects from kimchi for yogurt starters[J]. *Food Science and Technology*, 2014, 58(1): 130-134.
 - [5] KIM H J, KIM H Y, LEE S Y, et al. Clinical efficacy and mechanism of probiotics in allergic diseases[J]. *Korean Journal of Pediatrics*, 2013, 56(9): 369-376.
 - [6] WANG Jing-hua, BOSE S, KIM G C, et al. Flos Lonicera ameliorates obesity and associated endotoxemia in rats through modulation of gut permeability and intestinal microbiota[J]. *Plos One*, 2014, 9(1): e86117.
 - [7] 李少慧, 张英春, 张兰威, 等. 乳酸菌及其代谢产物对肠道炎症的调控作用研究进展[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(18): 366-369.
 - [8] FLANAGAN L, SCHMID J, EBERT M, et al. Fusobacterium nucleatum associates with stages of colorectal neoplasia development, colorectal cancer and disease outcome[J]. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2014, 33(8): 1 381-1 390.
 - [9] 汪孟娟, 徐海燕, 辛国芹, 等. 人体益生菌种类及其功能的最新研究[J]. *畜牧与饲料科学*, 2013, 34(1): 62-66.
 - [10] 徐营, 李霞, 杨利国. 双歧杆菌的生物学特性及对人体的生理功能[J]. *微生物学通报*, 2001, 28(6): 94-96.
 - [11] 居述林, 王雪奇, 马向前, 等. 两歧双歧杆菌培养基成分的改进[J]. *复旦学报: 自然科学版*, 1998(2): 186-190.
 - [12] 文姝, 刘欣, 袁杰利, 等. 乳酸杆菌、双歧杆菌代谢产物的气相色谱分析[J]. *中国微生态学杂志*, 2004, 16(4): 221-221.
 - [13] 黄红莹, 马远方, 杜耀武, 等. 青春型双歧杆菌的抗菌作用及其成分分析[J]. *中国微生态学杂志*, 2006, 18(2): 100-101.
 - [14] PEREZCONESA D, LOPEZ G, ROS G. Fermentation capabilities of bifidobacteria using nondigestible oligosaccharides, and their viability as probiotics in commercial powder infant formula[J]. *Journal of Food Science*, 2010, 70(6): 279-285.
 - [15] 李平兰. 长寿老人源双歧杆菌优良菌株的筛选及生理功能研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2004: 8-9.
 - [16] 孟祥晨. 双歧杆菌生理功能特性及其应用的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2002: 5-8.
 - [17] 张芩花, 于湛, 王滨蕾, 等. 双歧杆菌厌氧培养及耐氧驯化的研究[J]. *中国乳品工业*, 1996(3): 13-15.
 - [18] 沈永才, 袁佩娜. 16S rRNA 荧光定量 PCR 法检测双歧杆菌[J]. *中国微生态学杂志*, 2001, 13(2): 66-69.
 - [19] 刘晨明, 曹宏斌, 曹俊雅, 等. 梯度洗脱高效液相色谱法快速检测厌氧菌代谢物中的有机酸[J]. *分析化学*, 2006, 34(9): 1 231-1 234.
 - [20] CRITTENDEN R, KARPPINEN S, OJANEN S, et al. In vitro fermentation of cereal dietary fibre carbohydrates by probiotic and intestinal bacteria[J]. *Journal of the Science of Food & Agriculture*, 2010, 82(8): 781-789.
 - [21] 龚芳红, 张德纯. 功能性低聚糖及其检测方法研究的现状[J]. *中国微生态学杂志*, 2009, 21(2): 177-180.
 - [22] 徐海燕, 辛国芹, 曹银生, 等. 低聚木糖对益生菌及人肠道菌群的影响[J]. *药学研究*, 2013, 32(9): 500-503.
-
- (上接第 226 页)
- [8] DONG Shi-yuan, PANYA Atikorn, ZENG Ming-yong, et al. Corrigendum to "Characteristics and antioxidant activity of hydrolyzed β -lactoglobulin-glucose Maillard reaction products" [Food Research International 46 (2012) 55-61][J]. *Food Research International*, 2013, 51(2): 992-992.
 - [9] 刘玥, 刘晓兰, 郑喜群, 等. 复合蛋白酶水解玉米谷蛋白产物的抗氧化活性研究[J]. *食品与机械*, 2015, 31(1): 141-145.
 - [10] 章银良, 张陆燕, 周文权, 等. 不同温度对酪蛋白-木糖模式美拉德反应产物抗氧化性的影响[J]. *现代食品科技*, 2014, 30(4): 211-219.
 - [11] 刘海梅, 陈静, 郝良文, 等. 葡萄糖-牡蛎酶解液美拉德反应体系的抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2018, 39(17): 47-52.
 - [12] 王军, 王忠合, 傅力, 等. 美拉德反应对金带细鲈鱼肉蛋白酶解物体内抗氧化性的影响[J]. *现代食品科技*, 2017, 33(4): 38-45.
 - [13] 江连洲, 张满元, 伍丹, 等. 葡聚糖糖基化处理对绿豆蛋白抗氧化性影响研究[J]. *中国食物与营养*, 2017, 23(10): 63-67.
 - [14] 赵晶, 马丹雅, 张筠, 等. 酪蛋白与还原糖美拉德反应产物抗氧化性的研究[J]. *食品工业科技*, 2011, 32(12): 187-189, 293.
 - [15] WANG Win-qiong, BAO Yi-hong, HEN Ying. Characteristics and antioxidant activity of water-soluble Maillard reaction products from interactions in a whey protein isolate and sugars system[J]. *Food Chemistry*, 2013, 139(1/2/3/4): 355-361.