

# 4种富锌乳酸菌抗氧化活性及体外消化稳定性研究

## Antioxidant activities of 4 types of zinc-rich lactic acid bacteria and their stability in simulated gastrointestinal tract

郑金熊 游丽君

ZHENG Jin-xiong YOU Li-jun

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东 广州 510640)

(School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou, Guangdong 510640, China)

**摘要:**以4种富锌乳酸菌(保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、发酵乳杆菌、干酪乳杆菌)为研究对象,进行乳酸菌富锌培养的工艺优化,并测定发酵上清液的抗氧化活性,采用体外模拟消化法分析其消化稳定性和生物利用率。结果表明:富锌乳酸菌最佳加锌时间为接种10 h后,锌离子浓度为50  $\mu\text{g/mL}$ 。富锌培养可提高乳酸菌上清液的抗氧化活性,其中经牡蛎多肽锌培养的乳酸菌上清液自由基(ABTS 自由基、DPPH 自由基、超氧阴离子自由基)清除活性均高于其他富锌乳酸菌的。由牡蛎多肽锌富锌培养的保加利亚乳杆菌胃肠道释放率为 $(3.46 \pm 0.17)\%$ ,且生物利用率最高为 $(29.78 \pm 0.42)\%$ 。综上,保加利亚乳杆菌是潜在的优势富锌菌株,经牡蛎多肽锌富锌培养的保加利亚乳杆菌具有良好的体外抗氧化活性、胃肠道消化稳定性和生物利用率。

**关键词:**乳酸菌;牡蛎多肽锌;抗氧化活性;消化稳定性;生物利用率

**Abstract:** 4 types of lactic acid bacteria (*Lactobacillus bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. casei*, and *L. casei*) were selected in this study. First, the zinc-rich culture process of lactic acid bacteria was optimized, and then the antioxidant activity of the fermentation supernatant of them was measured, and the digestion stability and bioavailability were further analyzed by *in vitro* simulated digestion. The results showed that the optimal of zinc addition time for zinc-rich lactic acid bacteria was 10 hours after inoculation, and the zinc ion concentration was 50  $\mu\text{g/mL}$ . The antioxidant activity of lactic acid bacteria supernatant could be improved by zinc-rich culture. Four different types of lactic

acid bacteria cultured with oyster polypeptide zinc had higher supernatant free radical scavenging activity than that from other zinc sources. The gastrointestinal release rate of *L. bulgaricus* cultured with oyster peptide-zinc chelates was  $(3.46 \pm 0.17)\%$ , and the bioavailability was the highest  $(29.78 \pm 0.42)\%$ . In summary, *L. bulgaricus* was a potential dominant zinc-rich strain. *L. bulgaricus* cultured with the zinc-rich zinc oyster peptide had good *in vitro* antioxidant activity, gastrointestinal digestive stability, and bioavailability.

**Keywords:** lactic acid bacterial; oyster peptide-zinc complex; antioxidant activity; digestive stability; bioavailability

锌是人体重要的微量元素,是约300多种关键酶系的重要组成部分,存在于所有组织和体液中<sup>[1]</sup>。此外,锌元素在人体内还参与了多种生理活动,如有氧氧化<sup>[2]</sup>、细胞信号传导途径、自由基清除和细胞代谢<sup>[3]</sup>、DNA合成以及介导先天免疫细胞的正常功能<sup>[4]</sup>。无机锌具有刺激胃肠道、吸收利用率低等缺点。近年来,将微生物作为微量元素载体通过膳食摄入以补充机体所需微量元素锌,成为了锌补充的新途径<sup>[5]</sup>。

乳酸菌(Lactic acid bacteria, LAB)是一类非致病、具安全性的微生物,其中绝大部分都是人体必不可少的且具有特殊生理活性的菌群,分布于人体肠道中<sup>[6]</sup>。乳酸菌具有整肠、抑菌<sup>[7]</sup>、体内外抗氧化<sup>[8]</sup>和抗衰老等生理功能。此外,乳酸菌对金属离子具有良好的吸附作用<sup>[9]</sup>,包括人体所需的多种微量元素,如锌、铁、铜等。

以乳酸菌为载体,对微量元素进行富集的研究日趋热门。乳酸菌细胞壁主要由肽聚糖、磷壁酸、多糖和蛋白质组成,这些组分构成致密的网状结构,在与锌离子结合过程中起关键性作用<sup>[10]</sup>。此外,乳酸菌细胞表面具有多种可以络合锌离子的基团,如一COOH、—NH<sub>2</sub>、—SH和—OH等<sup>[11]</sup>。与传统方式制备的锌补充食品、药物相比,

**基金项目:**广东省自然科学基金(编号:2019A1515011670)

**作者简介:**郑金熊,男,华南理工大学在读硕士研究生。

**通信作者:**游丽君(1982—),女,华南理工大学副教授,博士。

E-mail: feyolijun@scut.edu.cn

**收稿日期:**2020-01-30

富锌乳酸菌具有制备工艺简单、转化成本低、安全性好以及益生性强等优点。杨靖鹏等<sup>[12]</sup>发现,富锌培养后发酵上清液抗氧化活性和菌体耐胆盐活性均有所提高。

课题组前期研究发现,由无机锌富锌培养的富锌乳酸菌其锌离子容易在胃肠道消化过程中释放,从而刺激胃肠道甚至在体内富集。试验拟对4种乳酸菌进行富锌培养,优化其富锌培养条件,并比较4种乳酸菌发酵上清液的抗氧化活性;采用模拟胃肠道消化方法分析富锌乳酸菌消化稳定性和生物利用率,旨在为富锌产品的开发利用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

牡蛎多肽锌(COP2-Zn):将牡蛎多肽与硫酸锌以肽/锌的质量比15:1混合,除去游离锌离子,冻干即得COP2-Zn,实验室自制;

MRS培养基:上海晶都生物技术有限公司;

胃蛋白酶(2 500 U/mg)、胰酶(1 500 U/mg)等:美国Sigma公司;

保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus bulgaricus*)、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)、发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*)、干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*):广东省农业科学院;

冷冻高速离心机:5417R型,德国Eppendorf公司;

水平层流单人净化工作台:HS-840U3型,苏州净化设备有限公司;

立式压力蒸汽灭菌锅:YXQ-LS-50SII型,上海博迅实业有限公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 乳酸菌富锌培养工艺优化

(1) 菌种的活化与培养:取预冻存于甘油管中的4株乳酸菌菌株(保加利亚乳杆菌、发酵乳杆菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌),并在MRS固体培养基上划线,37℃厌氧培养36 h,挑取乳酸菌单菌落并接种至MRS液体培养基中,备用。

(2) 乳酸菌生长曲线及最佳加锌时间:将生长良好的4种乳酸菌以2%接种量接种至MRS培养液中,于37℃恒温培养箱中培养,以4℃冰箱中培养为空白对照,每隔2 h取出至4℃冰箱保藏。采用比浊法测定 $OD_{600\text{ nm}}$ 并绘制乳酸菌生长曲线<sup>[13]</sup>。

(3) 锌浓度的筛选:以活化后的保加利亚乳杆菌、干酪乳杆菌、嗜酸乳杆菌、发酵乳杆菌为测试菌,MRS培养基中活化2代后,以接种量2%接种至含硫酸锌的(锌离子浓度0,50,100,150,200 mg/mL)MRS培养基中,37℃恒温培养箱培养24 h。测定 $OD_{600\text{ nm}}$ 及培养基pH值。

(4) 不同富锌乳酸菌的制备:选取牡蛎多肽锌、硫酸

锌、葡萄糖酸锌作为锌源,保加利亚乳杆菌、发酵乳杆菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌为测试菌。按2%接种量接种乳酸菌,37℃培养10 h后,分别加入不同来源的锌,继续培养至32 h。4℃,6 000 r/min离心10 min,收集菌体,用PBS清洗2次,离心,得湿菌体,冻干后为乳酸菌干菌体。

#### 1.2.2 富锌乳酸菌发酵上清液的抗氧化活性

(1) 乳酸菌发酵上清液的制备:取经富锌培养12 h后的发酵培养液,用双蒸水稀释至 $10^9$  Cells/mL。10 000 r/min离心15 min,上清液过0.22  $\mu\text{m}$ 滤膜,得稀释的发酵上清液。

(2) ABTS自由基清除率的测定:分别配置7 mmol/L的ABTS溶液和4.9 mmol/L的过硫酸钾,按体积比1:1混合,4℃冰箱避光储存12~16 h得ABTS<sup>+</sup>溶液。用无水乙醇将储备液稀释至 $OD_{734\text{ nm}}$ 为 $(0.7 \pm 0.02)$ ,即ABTS工作液。准确移取0.5 mL乳酸菌培养基上清液,稀释至5 mL,向2 mL工作液中加入20  $\mu\text{L}$ 样品,混匀,避光静置30 min,测定 $OD_{734\text{ nm}}$ ,以50%乙醇调零,以20  $\mu\text{L}$ 样品和2 mL工作液为对照,根据文献<sup>[14]</sup>,按式(1)计算ABTS自由基清除率。

$$R = \left(1 - \frac{A_s}{A_c}\right) \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

$R$ ——ABTS自由基清除率,%;

$A_s$ ——样品组的吸光度值;

$A_c$ ——空白组的吸光度值。

(3) DPPH自由基清除率的测定:将DPPH粉末溶解于无水乙醇,配制0.2 mmol/L的DPPH溶液。分别取1 mL乳酸菌发酵上清液及DPPH工作液于试管中,震荡并混匀,避光静置30 min,测定 $OD_{517\text{ nm}}$ ,以50%乙醇溶液调零,以1 mL样品稀释液和1 mL无水乙醇为样品对照,以1 mL DPPH工作液和1 mL蒸馏水为空白对照,根据文献<sup>[15-16]</sup>,按式(2)计算DPPH自由基清除率。

$$R = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_c}\right) \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

$R$ ——DPPH自由基清除率,%;

$A_i$ ——样品溶液与DPPH溶液混合后测定的吸光度值;

$A_j$ ——样品溶液与无水乙醇混合后测定的吸光度值;

$A_c$ ——样品溶液与蒸馏水混合后测定的吸光度值。

(4) 超氧阴离子自由基清除率的测定:配制100 mmol/L的Tris-HCl缓冲溶液,调节最终pH为8.2,将邻苯三酚溶解于10 mmol/L盐酸溶液中,使其浓度为3 mmol/L,并于25℃水浴20 min。移取4.5 mL Tris-HCl溶液,依次加入2 mL乳酸菌发酵上清液、3 mL蒸馏

水、0.5 mL 邻苯二酚溶液,震荡,混匀。于 325 nm 下每隔 30 s 测一次吸光度值,持续反应 4.5 min。以 Tris-HCl 溶液代替样品为空白对照,计算样品组与空白组吸光度值的平均变化率,根据文献[17],按式(3)计算超氧阴离子自由基清除率。

$$R = \frac{\Delta_{\text{空白}} - \Delta_{\text{样品}}}{\Delta_{\text{空白}}} \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

$R$ ——超氧阴离子自由基清除率,%;

$\Delta_{\text{空白}}$ ——空白组的吸光度随时间的变化率, $\text{min}^{-1}$ ;

$\Delta_{\text{样品}}$ ——样品组的吸光度随时间的变化率, $\text{min}^{-1}$ 。

### 1.2.3 富锌乳酸菌的体外模拟胃肠道消化稳定性

(1) 模拟胃液配制:0.35 g 胃蛋白酶溶解于 100 mL 0.2% 的无菌生理盐水中,用浓盐酸调节 pH 为 2.0,过 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜除菌。

(2) 模拟肠液配制:0.1 g 胰蛋白酶,0.9 g 胆盐溶解于无菌溶剂(1.1 g  $\text{NaHCO}_3$ 、0.2 g  $\text{NaCl}$  和 100 mL 蒸馏水,用 0.5 mol/L  $\text{NaOH}$  调节 pH 为 8.0),过 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜除菌。

(3) 活力损失率的测定:用生理盐水将冻干的 4 种富锌乳酸菌稀释至  $10^9$  Cells/mL,按 10% 接种量接种至 pH 2.0 的模拟胃液中,混匀,37  $^{\circ}\text{C}$  下分别厌氧培养 0,3,6 h,以 2% 接种量接种于 MRS 培养基中,厌氧培养 24 h,测定  $OD_{600\text{ nm}}$ 。模拟胃消化 3 h 后,吸取 1 mL 消化液接种至 9 mL 模拟肠液中,分别于 0,6,12 h 取样,以 2% 接种量接种于 MRS 培养基中,厌氧培养 24 h,测定  $OD_{600\text{ nm}}$ 。按式(4)计算活力损失率。

$$R = \frac{OD_0 - OD_t}{OD_0} \times 100\%, \quad (4)$$

式中:

$R$ ——细胞活力损失率,%;

$OD_0$ ——经消化 0 h,培养 24 h 后测定的吸光度值;

$OD_t$ ——经消化  $t$  h,培养 24 h 后测定的吸光度值。

1.2.4 富锌保加利亚乳杆菌的生物利用率以及胃肠道释放率 按 1.2.1(4)的方法制备保加利亚乳杆菌菌体,测定富锌培养基中及发酵上清液的锌含量。将冻干后的富锌乳酸菌菌粉加入到 10 mL 模拟胃液中消化 3 h,4  $^{\circ}\text{C}$ ,6 000 r/min 离心 10 min,收集菌体,用 PBS 清洗 2 次,离心,得湿菌体。测定模拟胃液及离心后胃液上清液锌浓度。将胃消化后的湿菌体加入到 10 mL 模拟肠液中消化 6 h,4  $^{\circ}\text{C}$ ,6 000 r/min 离心 10 min,收集菌体,用 PBS 清洗 2 次,离心,得肠消化后的湿菌体。测定模拟肠液及离心后肠液上清液锌浓度。分别按式(5)~(7)计算模拟胃肠道消化胃释放率、肠释放率及锌的生物利用率。

$$R_1 = \frac{m_4 - m_3}{m_1 - m_2} \times 100\%, \quad (5)$$

$$R_2 = \frac{m_6 - m_5}{m_1 - m_2} \times 100\%, \quad (6)$$

$$R_3 = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\%, \quad (7)$$

式中:

$R_1$ ——胃释放率率,%;

$R_2$ ——肠释放率率,%;

$R_3$ ——生物利用率,%;

$m_1$ ——富锌培养基中锌含量,mg;

$m_2$ ——发酵上清液锌含量,mg;

$m_4$ ——模拟胃液离心后上清液锌含量,mg;

$m_3$ ——模拟胃液中锌含量,mg;

$m_5$ ——模拟肠液离心后上清液锌含量,mg;

$m_6$ ——模拟肠液中锌含量,mg。

## 1.3 数据处理

所有试验均重复 3 次,结果以“平均值 $\pm$ 标准差”表示。采用 SPSS 软件的单因素方差分析(ANOVA)中 LSD 最小显著差法对试验结果进行显著性分析。采用 Origin 2019b、Excel 2007 软件绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 乳酸菌生长曲线

由图 1 可知,培养 10 h 后,4 种乳酸菌均开始进入对数生长期,继续培养 12 h 达到稳定期,且其生长周期分布类似。研究<sup>[12]</sup>表明,对数生长期的乳酸菌生长旺盛,富锌能力强,有机锌或无机锌的转化利用率高。因此,最佳加锌时间为培养第 10 h。

### 2.2 锌浓度的筛选

由图 2 可知,随着溶液中锌离子浓度的增加,保加利亚乳杆菌的生长先促进后被抑制,当富锌培养浓度为 50 mg/mL 时, $OD_{600\text{ nm}}$  达最大值 1.95,发酵培养液 pH 值降至 4.8。当锌离子浓度为 0~200  $\mu\text{g/mL}$  时,嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌、发酵乳杆菌的生长均受到不同程度的抑

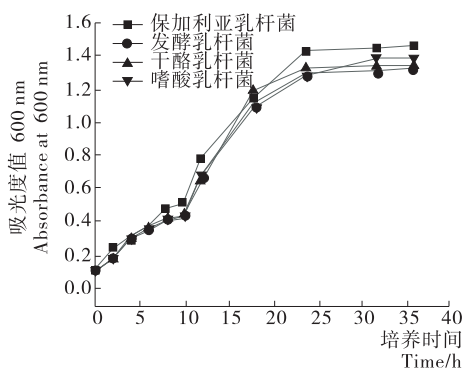


图 1 4 种不同乳酸菌的生长曲线

Figure 1 Growth curves of four different kinds of lactic acid bacteria

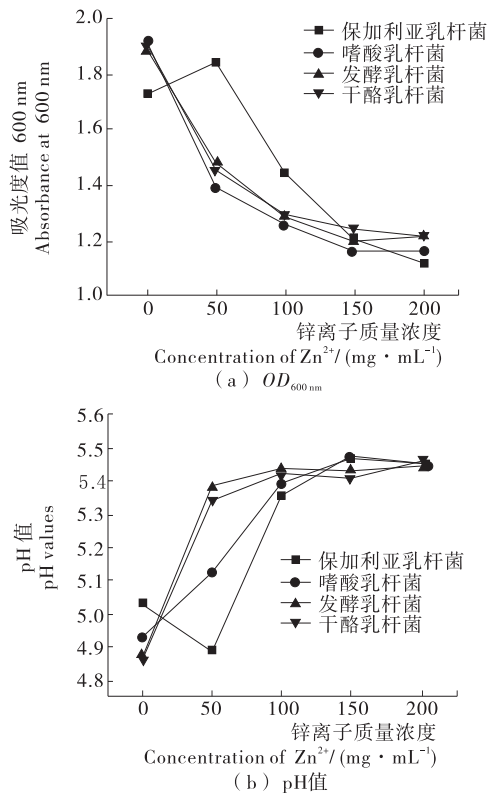


图2 富锌浓度对乳酸菌生长的影响

Figure 2 Effects of different zinc concentrations on lactic acid bacteria-rich zinc culture

制,与杨靖鹏等<sup>[18]</sup>的结果相似。这可能是由于锌离子浓度过高时,锌离子吸附达饱和,对细胞具有毒害作用。因此,选择 50 mg/mL 作为富锌培养浓度。

### 2.3 富锌乳酸菌发酵上清液的抗氧化活性

#### 2.3.1 ABTS自由基清除活性

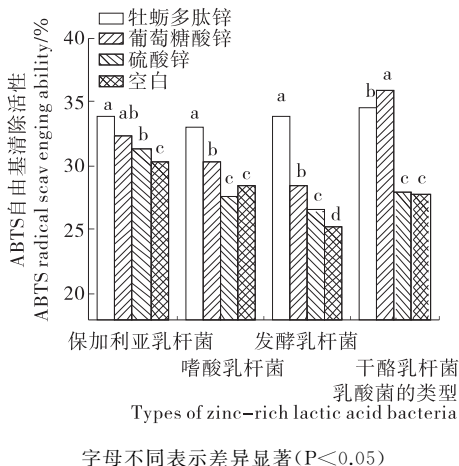


图3 富锌乳酸菌发酵上清液的 ABTS 自由基清除活性

Figure 3 ABTS free radical scavenging activities of lactic acid bacterial cultured with different zinc sources

乳酸菌上清液清除 ABTS 自由基活性显著提高 ( $P < 0.05$ ),干酪乳杆菌的 ABTS 自由基清除率最高为  $(36.73 \pm 0.53)\%$ ,比空白组提高了 8.27%。这可能是由于锌离子参与了乳酸菌的抗氧化酶系如超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽酶等的合成<sup>[19]</sup>。牡蛎多肽锌富锌培养的乳酸菌具有良好的抗氧化活性,且显著高于葡萄糖酸锌、硫酸锌处理的乳酸菌 ( $P < 0.05$ )。综上,富锌培养可以显著提高乳酸菌上清液的 ABTS 自由基清除活性。

2.3.2 DPPH 自由基清除活性 由图 4 可知,经富锌后的乳酸菌上清液 DPPH 自由基清除活性显著提高 ( $P < 0.05$ )。其中硫酸锌处理组和牡蛎多肽锌处理组的抗氧化活性高于葡萄糖酸锌处理组,牡蛎多肽锌处理的保加利亚乳杆菌 DPPH 自由基清除率为  $(10.50 \pm 0.17)\%$ ,高于该锌源富集的其他菌株。综上,富锌培养可以显著提高乳酸菌上清液的 DPPH 自由基清除活性。

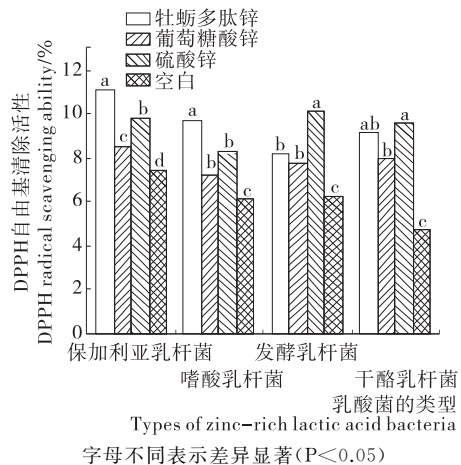


图4 富锌乳酸菌发酵上清液的 DPPH 自由基清除活性

Figure 4 DPPH free radical scavenging activities of lactic acid bacterial cultured with different zinc sources

2.3.3 超氧阴离子自由基清除活性 由图 5 可知,与空白组相比,牡蛎多肽锌培养的乳酸菌上清液超氧阴离子自由基清除活性显著提高 ( $P < 0.05$ )。经硫酸锌富锌培养的乳酸菌抗氧化活性高于牡蛎多肽锌组和葡萄糖酸锌组,其中干酪乳杆菌清除率最高为  $(53.17 \pm 0.39)\%$ ,保加利亚乳杆菌清除率最高为  $(47.29 \pm 0.63)\%$ ;嗜酸乳杆菌清除率最高为  $(48.17 \pm 0.79)\%$ 。研究<sup>[20]</sup>表明,乳酸菌抗氧化活性的提高可以改善由于各种因素引起的胃肠道氧化应激紊乱,保证肠道功能的稳定。综上,经富锌培养后乳酸菌的体外抗氧化活性显著提高。

#### 2.4 富锌乳酸菌的消化稳定性

2.4.1 模拟胃消化稳定性 由图 6(a)可知,不同乳酸菌经模拟胃液消化后的细胞活力损失率提高;经模拟胃消



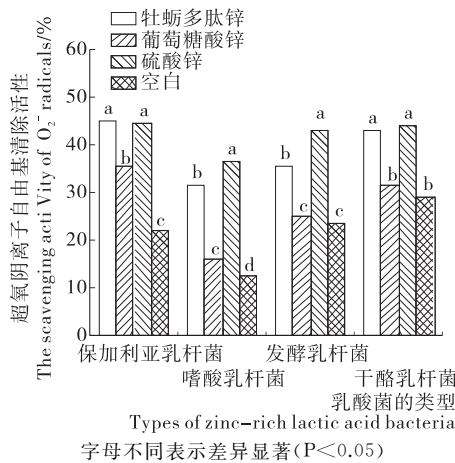


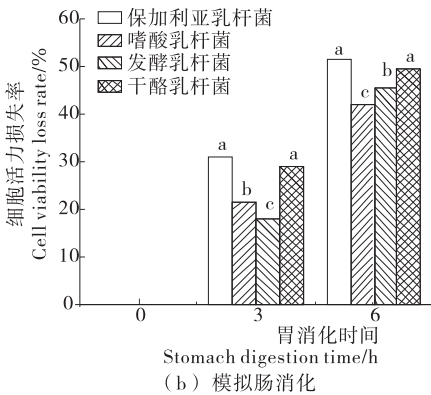
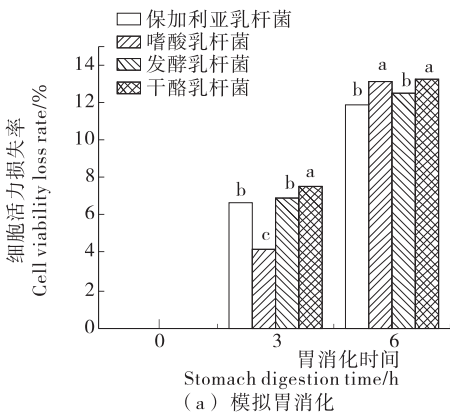
图 5 富锌乳酸菌发酵上清液的超氧阴离子自由基清除活性  
Figure 5 Superoxide anion free radicals scavenging activities of lactic acid bacterial cultured with different zinc sources

化 3 h 后,保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、发酵乳杆菌及干酪乳杆菌的活力损失率分别为 $(6.69 \pm 0.18)\%$ 、 $(4.14 \pm 0.32)\%$ 、 $(6.93 \pm 0.42)\%$ 、 $(7.56 \pm 0.19)\%$ 。当胃消化时间延长至 6 h 时,乳酸菌活力损失率变化缓慢。综上,富锌培养后乳酸菌的耐胃酸活性得到保留,具有一定的耐胃酸活性。

2.4.2 模拟肠消化稳定性 由图 6(b)可知,经模拟肠道消化后,乳酸菌活力损失率提高;培养 6 h 后,保加利亚乳杆菌活力损失率为 $(31.07 \pm 0.26)\%$ ,继续消化至 12 h 后,保加利亚乳杆菌的活力损失率最低,为 $(48.53 \pm 0.43)\%$ 。这可能是由于经模拟胃液消化后,乳酸菌的结构完整性遭到破坏,再经模拟肠液消化后其结构变得松散,因此死亡率提高<sup>[21]</sup>。

2.5 保加利亚乳杆菌的富锌能力和生物利用率

研究<sup>[22]</sup>表明,乳酸菌富锌的过程包含乳酸菌的表面吸附和细胞吸收两个步骤。由表 1 可知,牡蛎多肽锌乳酸菌的生物利用率为 29.78%,显著高于葡萄糖酸锌和硫酸锌的,可能是无机锌吸附在小肠上皮细胞表面,阻止了锌离子进入细胞转化,从而降低其生物利用率。同时,模拟胃肠道消化过程中,硫酸锌富锌培养的乳酸菌更容易



字母不同表示差异显著(P<0.05)

图 6 富锌乳酸菌的模拟胃肠道消化稳定性

Figure 6 Simulated gastrointestinal digestive stability of zinc-rich lactic acid bacteria

发生解离,其中硫酸锌富锌培养的保加利亚乳杆菌总释放率为 15.67%,分别为牡蛎多肽锌和葡萄糖酸锌的 3.60, 2.88 倍。锌离子的释放会在胃肠道内发生蓄积,刺激胃肠道黏膜引起胃肠道功能紊乱。综上,牡蛎多肽锌可以作为乳酸菌富锌的优质锌源。

3 结论

以富锌乳酸菌为研究对象,优化乳酸菌富锌培养条件,并测定 4 种富锌乳酸菌的抗氧化活性和胃肠道体外消化稳定性以及生物利用率。结果表明,保加利亚乳杆菌是一种潜在的优势富锌菌,且富锌培养后其抗氧化活

表 1 保加利亚乳杆菌胃肠道锌释放率和生物利用率<sup>†</sup>

Table 1 Gastrointestinal zinc release rate and bioavailability of zinc-rich *Lactobacillus bulgaricus* cultured with different zinc sources %

| 锌源    | 胃释放率               | 肠释放率              | 总释放率               | 生物利用率              |
|-------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| 牡蛎多肽锌 | $3.46 \pm 0.17^c$  | $0.88 \pm 0.12^b$ | $4.34 \pm 0.16^b$  | $29.78 \pm 0.37^a$ |
| 硫酸锌   | $13.99 \pm 0.33^a$ | $1.68 \pm 0.17^a$ | $15.67 \pm 0.21^a$ | $20.78 \pm 0.64^c$ |
| 葡萄糖酸锌 | $4.89 \pm 0.28^b$  | $0.54 \pm 0.29^b$ | $5.43 \pm 0.35^b$  | $24.96 \pm 0.53^b$ |

<sup>†</sup> 字母不同表示差异显著(P<0.05)。

性显著提高。牡蛎多肽锌可以作为一种安全的锌来源,其富锌培养后的乳酸菌具有较强的体外抗氧化活性,较好的生物利用率和较低的肠释放率。后续将对富锌乳酸菌的益生性和体内消化稳定性以及潜在的生理活性进一步研究。

### 参考文献

- [1] 王英杰. 锌在酶中发挥功能的几种方式[J]. 生命的化学, 1994, 8(1): 45-52.
- [2] 李筠, 邓西平, 郭尚洙, 等. 转铜/锌超氧化物歧化酶和抗坏血酸过氧化物酶基因甘薯的耐旱性[J]. 植物生理与分子生物学报, 2006, 32(4): 451-457.
- [3] GODWIN M A, MAHITHASHRI K, BHAGAT M, et al. Metal incorporated g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> nanosheets as potential cytotoxic agents for promoting free radical scavenging in cancer cell lines[J]. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2019, 19(9): 5 448-5 455.
- [4] BURCH R E, HAHN H K, SULLIVAN J F. Newer aspects of the roles of zinc, manganese, and copper in human nutrition[J]. Clinical Chemistry, 2019, 9(4): 4-12.
- [5] 张青松. 乳酸菌对锌的富集特性及富锌乳酸菌对小鼠结肠炎的缓解作用[D]. 无锡: 江南大学, 2018: 11-21.
- [6] 陈漪汶, 方若楠, 朱剑锋, 等. 5种乳酸菌及其灭活态体外抗氧化能力的比较研究[J]. 食品工业科技, 2019, 40(11): 85-90, 97.
- [7] SEKAR A, KIM M, JEONG H C, et al. Strain selection and optimization of mixed culture conditions for lactobacillus pentosus K1-23 with antibacterial activity and aureobasidium pullulans NRRL 58012 producing immune-enhancing  $\beta$ -glucan[J]. Journal of Microbiology & Biotechnology, 2018, 28(5): 697-706.
- [8] SUO Hua-yi, ZHAO Xin, QIAN Yu, et al. Lactobacillus fermentum suo attenuates HCl/Ethanol induced gastric injury in mice through its antioxidant effects[J]. Nutrients,

2016, 8(3): 155-162.

- [9] 刘文群, 黄丽婵, 韩伟. 乳酸菌同时富集硒铬锌的初步研究[J]. 食品与机械, 2007, 23(2): 45-46.
- [10] BLACKWELL K J, SINGLETON I, TOBIN J M. Metal cation uptake by yeast: A review[J]. Applied Microbiology Biotechnology, 1995, 43(4): 579-584.
- [11] 翟齐啸. 乳酸菌减除镉危害的作用及机制研究[D]. 无锡: 江南大学, 2015: 2-13.
- [12] 杨靖鹏, 张利, 李尧, 等. 乳酸菌对于无机锌的富集及其生物活性研究[J]. 中国食品学报, 2018, 18(6): 17-21.
- [13] 李艳, 杨晶, 姚瑶, 等. 基于主成分分析法的降血脂乳酸菌筛选[J]. 中国乳品工业, 2018, 46(5): 18-20.
- [14] 张香美, 赵玉星, 闫晓晶, 等. 1株具抑菌和抗氧化活性乳酸菌的筛选及鉴定[J]. 食品科学, 2018, 39(2): 261-265.
- [15] 郭慧芬, 田建军, 景智波, 等. 新疆熏马肠中具有较高抗氧化活性乳酸菌的筛选鉴定[J]. 食品科技, 2017, 48(8): 25-30.
- [16] 张馨元, 徐梁棕, 汪少芸. 大豆分离蛋白肽-硒螯合物的制备及结构、抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2018, 34(4): 163-167.
- [17] 王曦, 罗霞, 许晓燕, 等. 不同乳酸菌菌株抗氧化能力的比较研究[J]. 食品科学, 2010, 15(9): 204-208.
- [18] 杨靖鹏. 乳酸菌对微量元素的富集及其生物活性评估[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2017: 13-29.
- [19] MRVČIĆ J, PREBEG T, BARIŠIĆ L, et al. Zinc binding by lactic acid bacteria[J]. Food Technology Biotechnology, 2009, 47(4): 381-388.
- [20] 李维, 孙开济, 孙玉丽, 等. 乳酸菌缓解肠道氧化应激研究进展[J]. 动物营养学报, 2016, 28(1): 27-32.
- [21] 陈明, 柯文灿, 张娟, 等. 青藏高原牦牛酸奶中具有抗氧化活性乳酸菌的体内外益生特性[J]. 食品科学, 2017, 38(23): 178-183.
- [22] 张明. 乳酸菌吸附锌离子的条件优化及富锌乳酸菌对断奶仔猪生长的影响[D]. 广州: 华南农业大学, 2012: 11-43.

(上接第 119 页)

定性、抗干扰能力和模型失配鲁棒性,发酵温度误差为 $\pm 0.08\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、控制精度为 0.67%,满足啤酒发酵温度控制要求。试验主要研究发酵温度控制及设备监控,未涉及啤酒制造过程中的能源与资源管理,下一步将利用西门子 B.Data 软件设计啤酒制造能源管理系统,实现企业信息化管理和绿色生产。

### 参考文献

- [1] 卢万银. 基于模糊控制技术的啤酒快速发酵控制[J]. 酿酒科技, 2012(9): 90-92.
- [2] 杜金钊, 巨里, 赵殿轩. 模糊控制在啤酒发酵温度控制中的应用[J]. 自动化技术与应用, 2013, 32(9): 108-110, 117.
- [3] 高锦, 章家岩, 冯旭刚. 基于 Smith 预估补偿的啤酒发酵温度控制策略[J]. 食品与机械, 2019, 35(8): 115-120.
- [4] 宁奎伟, 李明辉. 基于遗传算法的控制参数整定及其在温度

控制中的应用[J]. 包装工程, 2016, 37(5): 141-145.

- [5] 胡亚南, 祈广利, 霍蛟飞. 基于模糊 PID 的 FDM 型 3D 打印机喷头温度控制系统[J]. 包装工程, 2017, 38(19): 173-178.
- [6] 王磐, 洪苑乾, 黄汉英, 等. 基于 PLC 的模糊 PID 控制器在热风干燥箱上的应用[J]. 食品与机械, 2016, 32(12): 100-104.
- [7] 赵世海, 韩雪. 基于模糊神经网络 PID 的焙烘机温度控制[J]. 天津工业大学学报, 2019, 38(4): 83-88.
- [8] 李鑫, 张煜星, 高博. 基于 S7-1200 PLC 的啤酒发酵温度控制系统[J]. 食品与机械, 2018, 34(4): 116-120.
- [9] 王大鹏, 王涛, 苏孝国. 基于 TIA Portal 环境的 S7-1200 的 OPC 通讯[J]. 可编程控制器与工厂自动化, 2014(9): 97-101.
- [10] 成咏华, 张冉. 基于 PLC 的煤矿空压机变频调速系统优化设计[J]. 煤矿机械, 2019, 40(4): 173-175.
- [11] 吕宁, 徐佳, 彦鲁奇. 啤酒发酵系统温度优化控制仿真研究[J]. 计算机仿真, 2016, 33(5): 355-358.