

糙米酵素混菌发酵工艺优化

Optimization on mixed fermentation process with brown rice ferment

张旭普¹ 白俊岩¹ 刘腾云¹ 吴荣荣² 程书梅¹

ZHANG Xu-pu¹ BAI Jun-yan¹ LIU Teng-yun¹ WU Rong-rong² CHENG Shu-mei¹

(1. 河北农业大学食品科技学院, 河北保定 071000; 2. 衡水学院生命科学系, 河北衡水 053000)

(1. College of Food and Technology, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071000, China;

2. Department of Food Science, Hengshui University, Hengshui, Hebei 053000, China)

摘要:为促进混合发酵的糙米酵素中酿酒酵母和植物乳杆菌快速生长,以活菌数为指标对传统糙米酵素发酵培养基组分进行优化,并研究各因素之间的交互作用。由预试验确定各组分适宜浓度范围后通过 Plackett-Burman 试验得出 3 个重要影响因子:蜂蜜、糙米和 NaCl。根据 3 个重要影响因子的效应大小设定最陡爬坡试验的方向和步长,采用 Box-Behnken 试验设计 3 因素 3 水平的响应面分析试验。优化后的混菌最佳发酵培养基的组成成分为蜂蜜 3.38 g/100 mL、糙米 10.71 g/100 mL、NaCl 0.24 g/100 mL、小麦芽 0.25 g/100 mL、大麦芽 0.50 g/100 mL、(NH₄)₂SO₄ 0.50 g/100 mL 和茶叶粉 0.025 g/100 mL。采用以上最佳发酵培养基进行验证实验得出活菌数为 5.35×10⁷ CFU/mL,是基础糙米酵素培养基活菌数(5.71×10⁶ CFU/mL)的 9.37 倍。验证实验说明响应面法优化得到的函数模型与实际数据较为拟合。

关键词:糙米酵素;培养基;活菌数;工艺优化

Abstract: The mixed fermentation process of enzymatic brown rice was optimized by the response surface method. In order to optimize the growth of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus plantarum* in short-term mixed fermented brown rice, the fermentation medium components of the traditional brown rice enzyme were optimized and the interaction between the constituent components was analyzed. Firstly, the main factors were analyzed by pre-experiment. The vital influencing factors of biomass, such as honey, brown rice and NaCl, were determined by Plackett-Burman test. The direction and step size of the steepest climbing test are set according to the three important factors effect intensity. Finally, the Box-Behnken test was used to design a 3-factor 3-level response surface analysis test. The optimum fermentation medium was honey 3.38 g/100 mL, brown

rice 10.71 g/100 mL, NaCl 0.24 g/100 mL, malt 0.25 g/100 mL, barley germ 0.5 g/100 mL, (NH₄)₂SO₄ 0.5 g/100 mL, tea powder 0.025 g/100 mL. After cultivating with the above culture medium, viable count was 5.35×10⁷ CFU/mL, which was close to the prediction, and was 9.37 times as much as that of basic medium with 5.71×10⁶ CFU/mL.

Keywords: enzymatic brown rice; medium; viable count; technical optimization

糙米(Brown rice)是指除了外壳之外都保留的全谷粒,其营养及保健价值均大于精白米^[1],但由于口感较粗,蒸煮耗时,不符合现代人饮食习惯,而加工成精白米造成食物资源浪费达 10%~20%^[2]。糙米酵素是在糙米中加入蜂蜜、麦芽等,采用酵母等发酵而成的功能性食品基料。微生物通过本身的中间代谢,使底物产生一系列的生物化学变化,不仅改善了口感^[3],而且在保留原有营养的基础上又通过微生物代谢产生了很多诸如 γ -谷维醇^[4-6]、GABA 和 GSH 等^[7-8] 生理活性物质。关于糙米酵素的研究国外起步较早,日本和美国已有众多相关发酵文献,部分酵素产品如米乳米露等已经面世并广泛销往港澳台等地^[2]。中国近年已有糙米酵素的研究报道,较多学者集中探讨了糙米酵素合适的发酵工艺条件,如陈庶来等^[1]以还原糖消耗量为指标优化了发酵时间,酵母活化时间及添加量;张丽萍等^[2]以酸度及感官评定为指标分别对配方及发酵工艺作了改进;吕美等^[3]以 GSH 为指标确定了糙米米糠的配比、加水量、蜂蜜添加量及玉米胚油的添加量。

但传统的糙米酵素发酵工艺存在几点缺憾:①原料未进行灭菌,只靠优势菌种发酵,发酵不易控制且易染菌^{[9]2-3};②处理工艺未经过糖化,很多不具有产淀粉酶的菌株不能有效利用糙米中的碳源,使得发酵不完全,发酵剂开发受限^{[9]3-5};③大部分糙米酵素的发酵采用固态或半固态发酵,相关参数不易控制^[2]。本实验室改进了以上部分工艺,利用

作者简介:张旭普,男,河北农业大学在读硕士研究生。

通信作者:程书梅(1970—),女,河北农业大学副教授,博士。

E-mail:516089669@qq.com

收稿日期:2017-08-30

酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)与本实验室保藏的植物乳杆菌 *L*₄₂ (*Lactobacillus plantarum*) 混合发酵^[10],在预试验的基础上^[11],利用PB试验(Plackett-Burman)^[12]、最陡爬坡试验^[13-14]和响应面BB试验(Box-Behnken)^[15]对混合发酵培养基进行优化,旨在较短的发酵时间内获得理论最大活菌数,以确保GABA与GSH等代谢产物的积累^[16-17]。通过改进糖化工艺使多菌种发酵成为可能,添加灭菌工艺使纯种发酵不易受影响,同时便于活菌计数排除杂菌干扰,并以活菌量作为发酵指标进行配方优化,旨在为后续的酵素生产工艺及产物测定研究提供参考。

1 材料与方 法

1.1 供试菌株

酿酒酵母:安琪酵母股份有限公司;

植物乳杆菌 *L*₄₂:由本实验室筛选及保藏。

1.2 材料与试剂

MRS肉汤:北京奥博星生物技术有限公司;

蛋白胨:北京双旋微生物培养基制品厂;

酵母浸粉:英国Oxoid公司;

蜂蜜:桂林周氏顺发食品有限公司;

糙米:黑龙江鹤岗市五谷农家养生坊;

大麦芽、小麦芽:烟台市帝伯仕啤酒技术有限公司;

云南大叶种晒青毛茶叶:云南品润有限公司;

NaCl、(NH₄)₂SO₄:分析纯,天津市福晨化学试剂厂。

1.3 培养基

YPD培养基(供酿酒酵母种子活化使用):酵母浸粉 10 g/L,蛋白胨 20 g/L,葡萄糖 20 g/L;

MRS培养基(供植物乳杆菌种子活化使用):根据瓶装说明称取 48 g/L,加热溶解后分装,121 °C 高压灭菌 15 min 后冷却备用;

基础发酵培养基:洋槐蜂蜜 8 g,发芽糙米粉 9 g,小麦芽粉 1 g,NaCl 为 1 g,晒青毛茶粉 0.1 g,加水至 100 mL,糖化液化后经巴氏灭菌冷藏,6 h 内接种。发酵液初始 pH 为 5.8,可溶性固形物含量为 11.0 °Brix。

1.4 仪器与设备

水浴恒温振荡器:LY20-A 型,上海龙跃仪器设备有限公司;

离心机:LD5-2A 型,北京京立离心机有限公司;

洁净工作台:SW-CJ-1FD 型,苏州安泰空气技术有限公司;

生化培养箱:SPX-250B-Z 型,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;

酸度计:PHS-25 型,上海仪电科学仪器有限公司。

1.5 工艺流程及操作要点

糙米发芽处理^[18-19]→干燥→粉碎(过 80 目筛)→培养基调配→糖化液化(升温程序:37 °C 保温 10 min;52 °C 保温 40 min;65 °C 保温 1 h;78 °C 保温 10 min)^[20-22]→冷却→200 目滤布过滤→离心取上清液(4 360×g,时间 15 min)→调配→巴氏杀菌(62 °C 保温 35 min,杀菌强度约 62.09 PU)^[23]→冷却→接种→发酵(12 h)→糙米酵素

1.6 可溶性固形物含量的测定

采用手持阿贝折光仪测定。

1.7 培养方法

用接种环分别挑取酿酒酵母和植物乳杆菌 *L*₄₂ 一环菌种于 YPD 种子培养基与 MRS 种子培养基的试管中,充分震荡,在 34 °C 培养箱中分别静置培养。根据已测定的生长曲线,在 10 h 和 15 h 时分别达到对数生长期末期取出,以 3 mL/100 mL(酵母约 1.71×10⁷ CFU/mL,乳酸约 2.15×10⁸ CFU/mL)接种量转接到含有糙米基础发酵培养基的三角瓶中,34 °C 恒温振荡培养 12 h 后取出,梯度稀释涂布于 MRS 平板计算活菌数^[24]。

1.8 试验设计

1.8.1 PB 试验设计 在预试验的基础上,以 7 种组分即蜂蜜、糙米、小麦芽、大麦芽、NaCl、(NH₄)₂SO₄ 和茶作为因素,选用试验次数 *N*=9 的试验方法进行 PB 试验设计,2 个虚拟变量用于误差估计,每个因子选取高低两个水平,高水平是低水平的 2 倍。根据结果分析,选取 3 个主要影响因素^[25]。

1.8.2 最陡爬坡试验 根据 PB 试验得到的最优一阶方程,以及实际试验情况确定 3 个重要影响因素的爬坡方向和步长,从而得到 3 个因子的最佳组合浓度范围以逼近最大响应区域^[26]。

1.8.3 响应面试验设计(RSM) PB 试验确定了 3 个主要影响因素,最陡爬坡试验确定了最大响应区域以及响应区域的中心点,根据 Box-Behnken 的中心组合设计原理,取 3 个主要影响因素的 3 个水平,设计 3 因素 3 水平的 Box-Behnken 试验^[27-29]。

1.8.4 数据分析 试验处理均包含 3 个平行试验,取值为 3 个试验的平均值。Plackett-Burman 试验设计和 Box-Behnken 试验设计采用 Design Expert.V8.0.6 软件完成。

2 结果与分析

2.1 Plackett-Burman 试验筛选重要影响因素

Plackett-Burman 试验因素和水平见表 1。以活菌数 (*Y*₁) 为响应值,试验设计及响应值见表 2。各因素的影响效果见表 3。

表 1 Plackett-Burman 试验因素和水平

Table 1 Two levels of variables used in the Plackett-Burman design

序号	F ₁ 蜂蜜	F ₂ 糙米	F ₃ 小麦芽	F ₄ 大麦芽	F ₅ NaCl	F ₆ (NH ₄) ₂ SO ₄	F ₇ 茶叶	F ₈ 空项	F ₉ 空项
-1	3	5	0.25	0.25	0.25	0.5	0.025	-	-
1	6	10	0.50	0.50	0.50	1.0	0.050	-	-

g/100 mL

表 2 Plackett-Burman 试验设计及响应值
Table 2 Plackett-Burman design and response value

序号	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇	F ₈	F ₉	Y ₁ / (×10 ⁷ CFU·mL ⁻¹)
1	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	3.88
2	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	3.86
3	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	2.49
4	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	2.56
5	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	3.71
6	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	3.10
7	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	5.87
8	1	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	3.52
9	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	4.65
10	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	3.76
11	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	4.43
12	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	1	5.13

表 3 Plackett-Burman 试验各因素对活菌数的影响效果

Table 3 Results of regression analysis of PB design

序号	因素	系数统计	F 值	P 值	显著性
模型			8.80	0.026 4	显著
F ₁	蜂蜜	-0.46	15.68	0.013 6	2
F ₂	糙米	0.59	24.96	0.006 1	1
F ₃	小麦芽	-0.15	1.67	0.230 9	5
F ₄	大麦芽	0.29	5.96	0.067 5	4
F ₅	NaCl	-0.43	13.20	0.017 7	3
F ₆	(NH ₄) ₂ SO ₄	-0.023	0.039	0.957 0	7
F ₇	茶叶	-0.042	0.13	0.756 0	6

由表 3 可知,该模型高度显著(0.01<P<0.05),其中各试验因素对活菌数影响的显著性顺序为糙米>蜂蜜>NaCl>大麦芽>小麦芽>茶叶>(NH₄)₂SO₄,糙米具有极显著影响(P<0.01),蜂蜜和 NaCl 具有高度显著效应(0.01<P<0.05),故因此选取糙米、蜂蜜和 NaCl 添加量作为响应面试验的研究因素。通过系数分析得到关于 Y₁ 的最优一阶

方程:

$$Y_1 = +3.91 - 0.46F_1 + 0.59F_2 - 0.15F_3 + 0.29F_4 - 0.43F_5 - 0.023F_6 - 0.042F_7 \quad (1)$$

该方程拟合 R²=0.939 1,能较好地模拟和解释 PB 试验的结果。本模型的精密性(Adeq Precision)为 9.965>4,从而进一步说明该模型较为可靠。

2.2 最陡爬坡试验逼近最大响应区域

根据 PB 试验得到的最优一阶方程可知,对活菌数有正效应的因素为糙米和大麦芽,说明这 2 个因素在高水平时混菌增殖更为有利。对活菌数有负效应的因素为蜂蜜、小麦芽、NaCl、(NH₄)₂SO₄和茶叶,说明这 5 个因素在低水平时对混菌增殖更为有利。各试验因素对响应值 Y₁影响的显著性顺序为糙米>蜂蜜>NaCl>大麦芽>小麦芽>茶叶>(NH₄)₂SO₄,其中糙米、蜂蜜和 NaCl 为显著影响因素,糙米应在现有质量浓度上继续增大,蜂蜜和 NaCl 应在现有质量浓度上继续减少,其余因素按照其正负效应选取适当浓度,即大麦芽、小麦芽、茶叶和 (NH₄)₂SO₄ 质量浓度分别为 0.25、0.50、0.025、0.50 g/100 mL 设计最陡爬坡试验,水平和结果见表 4。

表 4 最陡爬坡试验路径设计及结果

Table 4 Experimental designs of the steepest ascent and corresponding responses

序号	A 蜂蜜/ (10 ⁻² g·mL ⁻¹)	B 糙米/ (10 ⁻² g·mL ⁻¹)	C NaCl/ (10 ⁻² g·mL ⁻¹)	活菌数/ (×10 ⁷ CFU·mL ⁻¹)
1	5.0	6.5	0.45	3.67
2	4.5	7.5	0.40	4.79
3	4.0	8.5	0.35	4.90
4	3.5	9.5	0.30	5.07
5	3.0	10.5	0.25	5.18
6	2.5	11.5	0.20	4.96
7	2.0	12.5	0.15	4.61
8	1.5	13.5	0.10	4.26
9	1.0	14.5	0.05	3.02

在第5组试验即蜂蜜、糙米、NaCl添加量分别为3.00, 10.50, 0.25 g/100 mL时,活菌数最大,因此选取第5组试验中各显著影响因子浓度作为响应面试验的中心点。

2.3 Box-Behnken 试验设计

根据 Plackett-Burman 试验获得的 3 个重要影响因素以及最陡爬坡试验得到的最佳质量浓度,分别选取 3 个水平,以活菌数作为响应值(Y_2)设计 3 因素 3 水平的 Box-Behnken 试验。各因素及水平见表 5,试验设计及结果见表 6。

表 5 Box-Behnken 试验因素及水平

Table 5 Box-Behnken experiments design g/100 mL

序号	A 蜂蜜	B 糙米	C NaCl
-1	2.5	9.5	0.20
0	3.0	10.5	0.25
1	3.5	11.5	0.30

表 6 Box-Behnken 试验设计及响应值

Table 6 Box-Behnken design and response value

序号	A	B	C	$Y_2 /$ ($\times 10^7 \text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$)
1	-1	-1	0	4.41
2	-1	1	0	4.53
3	0	-1	-1	4.90
4	0	1	1	5.05
5	0	0	0	5.33
6	1	0	1	4.60
7	0	0	0	5.17
8	0	0	0	5.43
9	0	1	-1	4.63
10	0	-1	1	4.43
11	1	-1	0	4.35
12	-1	0	-1	4.45
13	-1	0	1	4.69
14	1	1	0	4.90
15	0	0	0	5.55
16	1	0	-1	5.03
17	0	0	0	5.25

2.3.1 二次回归模型与方差分析 通过软件 Design Expert. V8.0.6 对 BB 试验 17 组数据进行回归分析,并经过回归方程拟合,得到各试验因子对响应值影响的函数表达式为:

$$Y_2 = +5.35 + 0.10A + 0.13B - 0.030C + 0.11AB - 0.17AC + 0.22BC - 0.43A^2 - 0.37B^2 - 0.22C^2. \quad (2)$$

利用方差分析对回归方程进行 F 检验, F 值为 16.52,且大于 F 的概率低于 0.000 6,说明该方程是显著的,模型可信度高。其中 A、B、AC、BC、 A^2 、 B^2 、 C^2 对响应值影响显著,表明三因素对试验结果的影响不是简单的线性关系,模型的 $R^2 = 0.955 0$,调整后为 0.897 2,说明该模型能较好地模拟和验证试验结果,预测拟合度 $\text{Pred-}R^2$ 为 0.814 2,说明它与校正决定系数保持一致,能够解释试验结果;变异系数 $C.V. \% = 2.56$,置信度比较高;本模型精密度 (Adeq Precision) = 10.199 > 4,说明模型可以反映真实的试验值。Box-behnken 试验方差分析见表 7。

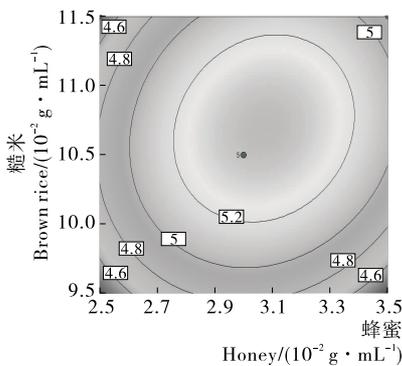
为直观说明蜂蜜、糙米和 NaCl 对于混菌发酵活菌数的影响,运用软件 Design Expert. V8.0.6 做出 3 个重要影响因子之间交互作用的响应曲面图和等高线图,见图 1~3。

表 7 Box-Behnken 试验方差分析†

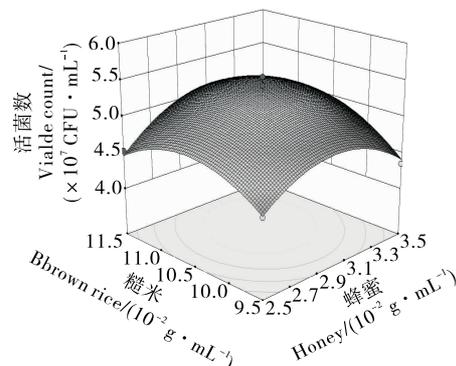
Table 7 Results of regression analysis of Box-Behnken design

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	2.30	9	0.26	16.52	0.000 6
A	0.080	1	0.080	5.17	0.057 3
B	0.13	1	0.13	8.40	0.023 1
C	7.20E-003	1	7.20E-003	0.46	0.517 3
AB	0.046	1	0.046	2.98	0.127 7
AC	0.11	1	0.11	7.25	0.031 0
BC	0.20	1	0.20	12.79	0.009 0
A^2	0.78	1	0.78	50.09	0.000 2
B^2	0.57	1	0.57	37.07	0.000 5
C^2	0.21	1	0.21	13.67	0.007 7
残差项	0.11	7	0.015		
失拟项	0.019	3	6.43E-003	0.29	0.832 3
误差	0.089	4	0.022		
总和	2.41	16			

† R^2 为 0.955 0; $\text{Adj-}R^2$ 为 0.897 2; $\text{Pred-}R^2$ 为 0.814 2。



(a) 等高线图



(b) 曲面图

图 1 糙米与蜂蜜对活菌数交互影响的曲面图和等高线图

Figure 1 The surface and contour maps of the interaction effects of brown rice and honey on Y_2

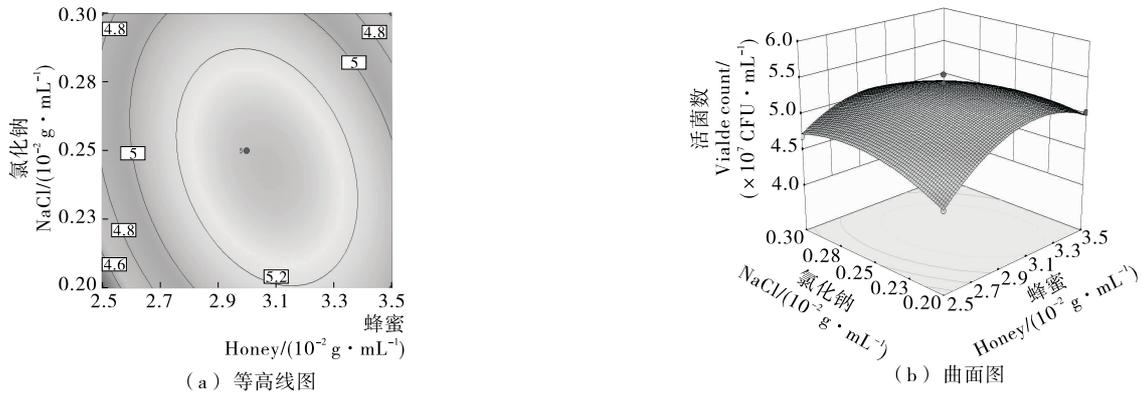


图 2 蜂蜜和 NaCl 对活菌数交互影响的曲面图和等高线图

Figure 2 The surface and contour maps of the interaction effects of honey and NaCl on Y_2

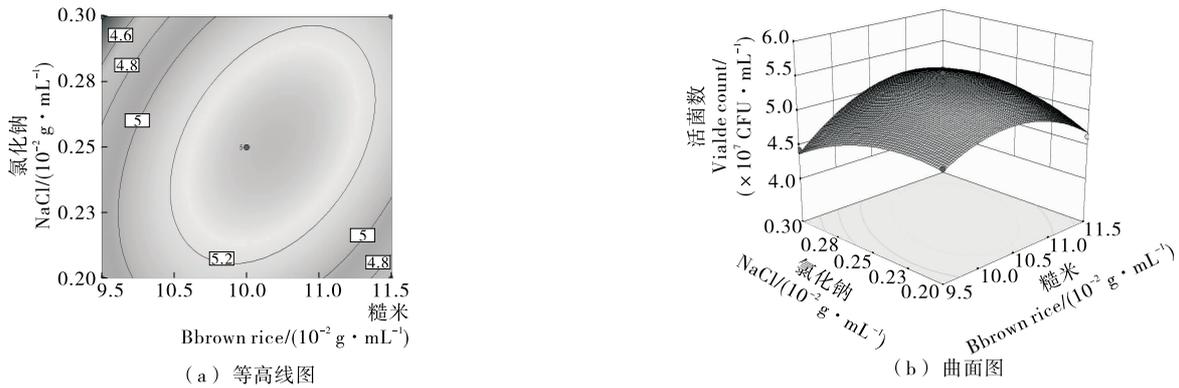


图 3 糙米和 NaCl 对活菌数交互影响的曲面图和等高线图

Figure 3 The surface and contour maps of the interaction effects of brown rice and NaCl on Y_2

2.3.2 重要影响因素最终质量浓度的确定及结果验证 通过 Design Expert.V8.0.6 分析可知蜂蜜、糙米和 NaCl 最佳编码值分别为 0.756, 0.198, -0.260, 分别对应实际值为 3.38, 10.71, 0.24 g/100 mL, 为了验证模型准确性, 采取优化后的增殖培养基即蜂蜜 3.38 g/100 mL、糙米 10.70 g/100 mL、NaCl 0.24 g/100 mL、小麦芽 0.25 g/100 mL、大麦芽 0.50 g/100 mL、 $(NH_4)_2SO_4$ 0.50 g/100 mL、茶叶粉 0.025 g/100 mL 进行混菌发酵 12 h, 含有活菌数为 5.35×10^7 CFU/mL, 基本与响应面预测的活菌数 (5.21×10^7 CFU/mL) 接近, 是基础糙米酵素培养基活菌数 (5.71×10^6 CFU/mL) 的 9.37 倍。

3 结论

目前糙米酵素大多只采用酵母单菌发酵且工艺流程相对简单, 难以进行科学量化评价。本试验在前人探究的基础上增加了糖化和巴氏灭菌工艺, 并对酿酒酵母和植物乳杆菌混合发酵作了相关研究, 确定蜂蜜、糙米、NaCl、小麦芽、大麦芽、 $(NH_4)_2SO_4$ 、茶叶粉添加量分别为 3.38, 10.71, 0.24, 0.25, 0.50, 0.50, 0.025 g/100 mL。由试验结果可知蜂蜜、糙米和 NaCl 的比例和交互作用对混菌活菌数影响较大, 说明合适的碳氮比, 渗透压以及生长因子的作用是酵母和植物乳杆菌发酵良好的关键。本研究可为混菌发酵糙米酵素提供参考, 同时为发酵生产相关产品提供试验基础与理论依据。

但由于本试验采用涂布平板进行菌落计数, 操作繁琐且容错率低, 后续试验可考虑采用活菌染色后显微镜计数以加

强试验模型精确度; 同时本试验仅以活菌数为指标来评价酵素产品发酵工艺, 对得出的产品中生理活性物质未进行研究, 后续可对此进行更深入的研究, 从而优化得到功能性与口感风味兼顾的平衡功能性饮料。

参考文献

- [1] 陈庶来, 杨小明, 刘伟民, 等. 糙米酵素发酵工艺的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(7): 275-277.
- [2] 牛广财, 朱丹, 李志江, 等. 我国糙米酵素的研究进展[J]. 中国酿造, 2010(1): 12-14.
- [3] 吕美, 齐森, 贾磊, 等. 糙米酵素的发酵工艺[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(10): 111-113.
- [4] NEWMAN R K, BETSCHART A A, NEWMAN C W, et al. Effect of full-fat or defatted rice bran on serum cholesterol[J]. Plant Foods Hum Nutr, 1992, 42: 37-43.
- [5] HEE S, PARK B S, LEE H G. Hypocholesterolemic action of fermented brown rice supplement in Cholesterol-fed rat Cholesterol-lowering action of fermented brown rice[J]. J Food Sci, 2005, 70(8): 527-531.
- [6] HEGSTED M, WINDHAUSER S. Stabilized rice bran and oat bran lower cholesterol in human[J]. Nutrition Research, 1993, 13: 387-389.
- [7] 李飞, 隋新, 苏红, 等. 不同发酵条件对糙米酵素中活性成分的影响[J]. 中国酿造, 2016, 35(11): 162-165.
- [8] 李志江, 牛广财, 鹿保鑫, 等. 糙米酵素发酵工艺条件的研究

- [J]. 中国酿造, 2008(22): 65-67.
- [9] 袁周率. 糙米酵素产品的研发及其抗细胞凋亡作用的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2015.
- [10] 傅亮, 王丽丽, 田利春. 发酵型营养米乳的研制[J]. 食品与机械, 2006, 22(5): 103-105.
- [11] 胡渊, 刘成国, 黄茜, 等. 干酪乳杆菌增殖培养基的优化研究[J]. 食品与机械, 2014, 30(2): 21-22.
- [12] MILLE A, SITTER R. Using the folded-over 12-run plackett-burman design to consider interactions [J]. *Technometrics*, 2001, 43: 44-54.
- [13] 韩玉洁, 谢应根, 王永华, 等. 响应面分析法优化 L-乳酸发酵培养基的研究[J]. 食品与机械, 2006, 22(4): 54-56.
- [14] 宋一恒, 谢定, 钟海雁. 响应面法优化酵母富硒发酵条件[J]. 食品与机械, 2009, 25(6): 125-129.
- [15] 刘丽莎, 陶国琴, 郭宏, 等. 响应面法优化豆乳链球菌增殖培养基[J]. 食品科学, 2014, 35(11): 124-128.
- [16] 梁宝东, 魏海香, 江均平. L-乳酸细菌发酵培养基的优化[J]. 食品与机械, 2008, 24(1): 41-45.
- [17] 魏敏, 张斌, 王宁宇, 等. 副干酪乳杆菌耐乳酸的驯化及增殖培养基的优化[J]. 食品与机械, 2014, 30(2): 25-30.
- [18] 杨椰. 发芽糙米研发进展[J]. 粮油食品科技, 2011(3): 19-23.
- [19] 金增辉. 糙米酵素及其产品开发[J]. 粮食与油脂, 2002(4): 14-16.
- [20] 王志坚. 糖化工艺主要技术参数的确定[J]. 山东食品发酵, 2002(2): 41-44.
- [21] 朱凤娇, 陈叶福, 王希彬, 等. 上面发酵高粱啤酒的工艺研究[J]. 现代食品科技, 2017, 33(9): 1-6.
- [22] 管敦仪, 唐是雯. 《啤酒工业手册(修订版)(精)》新版发行[J]. 食品与发酵工业, 2008(8): 17.
- [23] 唐建民, 王福泉, 陆培基, 等. 格瓦斯饮料的巴氏消毒效果的初步观察[J]. 食品科学, 1983(9): 38-39.
- [24] 周德庆. 微生物学教程[M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 2008: 151-152.
- [25] 滕国生, 刘勇, 武丽达, 等. 响应面优化 L-赖氨酸培养基[J]. 食品与机械, 2015, 31(5): 256-260.
- [26] TRUPKIN S, LEVIN L, FORCHIASSIN F. Optimization of a culture medium for ligninolytic enzyme production and synthetic dye decolorization using response surface methodology [J]. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2003, 30: 682-690.
- [27] AMBAT P, AYYANNA C. Optimizing medium constituents and fermentation conditions for citric acid production from palmyrajaggery using response surface method [J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2001, 17: 331-335.
- [28] 鲁晶晶, 王远亮, 谢梦琴. 植物乳杆菌 LJ-3 产细菌素的响应面优化[J]. 食品与机械, 2014, 30(5): 242-246.
- [29] PURI S. Optimization of alkaline protease production from *Bacillus sp.* by Response Surface Methodology [J]. *Current Microbiology*, 2009, 4: 286-290.

(上接第 128 页)

- [14] 张美芳, 何玲, 冯金霞, 等. 银杏叶提取液复合涂膜对鲜切苹果品质的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(10): 263-267.
- [15] 王晶英, 敖红, 张杰, 等. 植物生理生化实验技术及原理[M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2003: 8-10.
- [16] 凌关庭. 抗氧化食品与健康[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 191.
- [17] CROSSETTI R, STEFFEN F P. The antioxidant activity of standardized extract of *Ginkgo biloba* (EGb761) in rats [J]. *Phytother Res*, 2001, 15(5): 449-451.
- [18] 李凤梅, 周庆新, 李文香, 等. 丁香提取液与壳聚糖复合对草莓保鲜效果的影响[J]. 青岛农业大学学报: 自然科学版, 2008, 25(4): 298-300.
- [19] 程绍玲, 杨迎花. 银杏叶活性成分提取研究进展[J]. 林产化工通讯, 2005, 39(1): 34-37.
- [20] 丁东, 张展鹏, 权美平. 银杏叶提取物的化学成分、生物活性及应用研究进展[J]. 江苏调味副食品, 2015(3): 5-8.
- [21] GU Qiu-han, CHEN Chen, ZHANG Zheng-ping, et al. *Ginkgo biloba* extract promotes osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells in a pathway involving Wnt/beta-catenin signaling [J]. *Pharmacol Res*, 2015, 97(7): 70-78.
- [22] 田青亚, 巩丽丽. 银杏内酯研究进展[J]. 中南药学, 2016, 14(8): 838-841.
- [23] 何钢, 刘嵬, 李会萍, 等. 银杏叶多糖分离纯化、结构鉴定及抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(22): 81-86.

(上接第 153 页)

- [7] 张新宇, 张笛, 王琳, 等. 绞股蓝皂苷提取纯化工艺研究进展[J]. 食品工业科技, 2014, 35(18): 378-382, 386.
- [8] 程铁群, 张帆, 周守标, 等. 超声-微波联合提取绞股蓝皂苷工艺优化及协同作用分析[J]. 食品与机械, 2016, 32(9): 135-140.
- [9] 陈铁壁, 肖乐, 杨盟盟, 等. 金桂花中总黄酮的微波辅助提取工艺优化[J]. 食品与机械, 2015, 31(3): 185-188.
- [10] 曾红亮, 黄灿灿, 常青, 等. 金柑多糖微波辅助提取工艺优化及抑菌效果[J]. 食品与机械, 2016, 32(9): 154-160.
- [11] 黄琦, 王启越, 李颖, 等. 石榴皮总多酚的微波辅助提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(12): 46-51, 61.
- [12] 师萱, 阎语, 梁旭明, 等. 银耳菌糠黑色素微波辅助提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品与机械, 2016, 32(12): 161-165, 174.
- [13] 赵文婷. 藜麦皮总皂苷的提取纯化及其抗氧化和免疫增强作用[D]. 太谷: 山西农业大学, 2015: 12.
- [14] 陈洪彬, 杨敏, 宋露露, 等. 龙须菜多酚提取工艺及其体外抗氧化活性[J]. 食品与机械, 2017, 33(4): 139-143, 194.
- [15] 白海娜, 王振宇, 刘瑞海, 等. 白藜芦醇与黑木耳多糖协同清除 ABTS 自由基活性的研究[J]. 现代食品科技, 2014, 30(3): 64-68.
- [16] 王晓波, 李金芳, 王梅, 等. 山竹壳总黄酮抗氧化及抑制亚硝化作用研究[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(6): 9-13.
- [17] 吴德智, 郑强, 李安, 等. 缙草总黄酮超声辅助双水相提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2017, 33(5): 162-167.
- [18] 蒋玉蓉, 袁俊杰, 孙雪婷, 等. 藜麦叶片多糖最佳提取工艺及抗氧化性研究[J]. 中国食品学报, 2017, 17(2): 110-118.