

黑麦花粉肽的制备及对发酵乳杆菌 B153 的增殖效果

Preparation of rye pollen peptides and their promotion of proliferation of *Lactobacillus fermentum* B153

智文博 鲁杏茹 吕 静 曾贝贝 李带根

ZHI Wenbo LU Xingru LU Jing ZENG Beibei LI Daigen

(厦门元之道生物科技有限公司, 福建 厦门 361100)

(Xiamen Yuanzhidao Biotechnology Co., Ltd., Xiamen, Fujian 361100, China)

摘要: [目的] 探究黑麦花粉肽对益生菌增殖的影响, 促进黑麦花粉的开发利用。[方法] 通过对黑麦花粉原料进行破壁酶解处理得到了平均相对分子质量为 691 的黑麦花粉肽产品, 并通过添加黑麦花粉肽前后发酵乳杆菌 B153 的生长状况和产酸情况对黑麦花粉肽促进 B153 增殖效果进行研究。[结果] 添加黑麦花粉肽后 B153 的 24 h 生长情况和耐酸效果都有提升, 活菌数对数值明显提高, 培养 24 h 后对数值提高至 8.7; 乳酸浓度显著提高, 最大乳酸质量浓度为 13 mg/mL。[结论] 黑麦花粉肽能够改善发酵乳杆菌 B153 的生长状况和产酸性能。

关键词: 发酵乳杆菌; 黑麦花粉肽; 乳酸菌增殖; 乳酸; 氨基酸

Abstract: [Objective] This study aimed to explore the effects of rye pollen peptide on the proliferation of probiotics and promote the development and utilization of rye pollen. [Methods] In this study, A rye flower peptide product with an average relative molecular mass of 691 was obtained by wall-breaking enzymatic treatment of rye pollen raw material. The growth and acid production of *Lactobacillus fermentum* B153 before and after the addition of rye pollen peptide were also studied to investigate the effect of rye pollen peptide in promoting the proliferation of B153. [Results] The experimental data showed that the 24-h growth and acid tolerance of B153 were improved after the addition of rye pollen peptide, and the logarithmic value of the number of viable bacteria was significantly increased to 8.7 after 24 h of incubation; The lactic acid concentration was significantly increased, and the maximum lactic acid mass concentration was 13 mg/mL. [Conclusion] Rye pollen peptide can improve the

growth condition and acid production of *L. fermentans* B153.

Keywords: *L. fermentum*; rye pollen peptide; proliferation of lactic acid bacteria; lactate measurement; amino acid determination

发酵乳杆菌(*L. fermentum*)是中国发酵食品中较为常见的天然优质益生菌^[1], 其发酵产物具有良好的抗氧化活性^[2-3], 对于调节肠道菌群平衡^[4]、提高免疫力^[5]等具有积极影响。但这些益生作用要在活菌数到达一定数量级才能够明显表现出来, 因此如何有效促进益生菌增殖成为当前研究热点之一^[6]。据报道, 蛋白质和肽类在乳酸菌生长过程中具有补充氮源^[7]、提高菌体 pH 耐受度^[8]以及提高部分胞内酶活性^[9]等效果, 有助于促进益生菌的生长。目前已有研究证实淮山多肽^[10]、豌豆多肽^[11]等具有促进益生菌增殖的效果。

黑麦花粉(rye pollen)于 2023 年被批准为新食品原料^[12]。黑麦花粉肽是以干燥的黑麦花粉为原料经过提取花粉蛋白、蛋白酶解制备得到的^[13]。目前中国对黑麦花粉提取物的研究还不够完善, 已有研究结果表明黑麦花粉提取物具有较强的抗氧化特性^[14], 在降血脂^[14-15]、保护生殖器官^[16]等方面有良好功效, 但是黑麦花粉肽对益生菌的增殖作用鲜有报道。

研究拟分析黑麦花粉肽的氨基酸组成, 测定添加黑麦花粉肽前后发酵乳杆菌发酵液中活菌数、pH 值、乳酸浓度等指标的变化, 探究黑麦花粉肽体外促进发酵乳杆菌增殖的效果, 以为黑麦花粉肽的开发和利用提供參考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

发酵乳杆菌 B153 (*Lactobacillus fermentum* B153, B153): 福建省农业科学院农业工程技术研究所;

黑麦花粉: 西安国豪生物科技有限公司;

作者简介: 智文博(1998—), 男, 厦门元之道生物科技有限公司工程师, 硕士。E-mail: 20083200210043@hainanu.edu.cn

收稿日期: 2023-12-01 **改回日期:** 2024-04-09

牛肉膏、蛋白胨、酵母膏：生物试剂，北京奥博星生物技术有限责任公司；

葡萄糖、无水乙酸钠、磷酸氢二钾、硫酸镁、硫酸锰、吐温 80、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠等：分析纯，西陇科学股份有限公司；

乳酸：纯度 $\geq 90\%$ ，上海麦克林生化科技股份有限公司；

硼酸：分析纯，上海麦克林生化科技股份有限公司；

邻苯二甲醛(OPA)：纯度 98%，上海阿拉丁生化科技股份有限公司；

17 种氨基酸混标溶液、羟脯氨酸标准溶液：天津阿尔塔科技有限公司；

3-巯基丙酸：纯度 99%，成都西亚化工股份有限公司；

芴甲氧羰酰氯(FMOC)：纯度 98%，成都西亚化工股份有限公司；

碱性蛋白酶 37071：40 万 U/g，诺维信(中国)生物技术有限公司；

木瓜蛋白酶(80 万 U/g)、纤维素酶(2 万 U/g)、果胶酶(3 万 U/g)：南宁庞博生物工程有限公司；

柱前衍生试剂 A：0.1 mol/L 硼酸缓冲液，pH 10.0；

柱前衍生试剂 B：10 mg OPA 溶于 1 mL 溶液(0.15 mL 甲醇，0.15 mL 硼酸缓冲液，0.7 mL 超纯水)与 0.1% 3-巯基丙酸溶液等比例混合；

柱前衍生试剂 C：1% 的 FMOC 乙腈溶液；

MRS 液体培养基：蛋白胨 10.0 g，牛肉膏 10.0 g，酵母膏 5.0 g，柠檬酸二铵 2.0 g，葡萄糖 20.0 g，吐温 80 1.0 mL，无水乙酸钠 5.0 g，磷酸氢二钾 2.0 g，硫酸镁 0.58 g，硫酸锰 0.25 g，蒸馏水 1 000 mL，充分溶解后灭菌使用。

1.2 仪器与设备

电热鼓风干燥箱：101-E 型，北京市永光明医疗仪器厂；

高效液相色谱仪：LC-16 型，岛津仪器(苏州)有限公司；

电热恒温培养箱：DHP-600 型，北京市永光明医疗仪器厂；

单人净化工作台：SW-CJ-1D 型，浙江孚夏医疗科技有限公司；

立式高压蒸汽灭菌器：LDZF-75L 型，上海申安医疗器械厂。

1.3 方法

1.3.1 黑麦花粉肽制备工艺及相对分子质量的测定 准确称取 50.0 g 黑麦花粉充分溶解在 500 mL 水中，分别用质量分数 0.1% 的纤维素酶和果胶酶对原料预处理 1 h。向得到的酶解液中分别加入质量分数 0.1% 的碱性蛋白

酶 37071 和 0.05% 木瓜蛋白酶酶解 2 h 即得黑麦花粉肽粗产品。

参考 GB/T 22492—2008《大豆肽粉》的方法进行黑麦花肽的相对分子质量测定。液相色谱柱规格为：TSKgel G2000SWXL 300 mm $\times$ 7.8 mm，5 μ m。检测波长 220 nm，流量 0.5 mL/min，进样量 10 μ L，等度洗脱 30 min。

1.3.2 黑麦花粉肽的氨基酸组成 取约 0.025 g 黑麦花粉肽置于平底玻璃试管中，加入 10 mL 浓盐酸，氮吹 5 min 封管，迅速置于 110 $^{\circ}$ C 烘箱消化 24 h。冷却至室温，过滤并加水定容至 50 mL。取混合液 1 mL 在电热板上完全蒸干后溶解在 1 mL 纯水中，过膜后待进样。

参考裴玉等^[17]的方法采用 OPA-FMOC 联用柱前衍生法测试样品中的氨基酸组成。液相色谱柱采用 GL InertSustain C₁₈ 柱(4.6 mm $\times$ 150 mm，3 μ m)，流动相 A 为 40 mmol/L 磷酸盐溶液(2.4 g 磷酸二氢钠和 2.84 g 磷酸氢二钠定容至 1 L，用磷酸调至 pH 7.0)，流动相 B 为乙腈—甲醇—水($V_{\text{乙腈}} : V_{\text{甲醇}} : V_{\text{水}} = 45 : 45 : 10$)，柱温 40 $^{\circ}$ C，采用 338 nm 和 262 nm 双通道波长检测，流量 1.100 mL/min。自动衍生程序为：① 吸取 10 μ L 衍生试剂 A(硼酸缓冲液)，② 吸取 2 μ L 衍生试剂 B(OPA 和 3-巯基丙酸混合液)，③ 吸取 2 μ L 衍生试剂 C(FMOC)，④ 吸取 10 μ L 待测样品在空气中充分反应 2 min 后进样分析。洗脱梯度见表 1。

1.3.3 菌株活化与传代 取出 B153 并在 4 $^{\circ}$ C 下解冻，抽取 200 μ L 解冻完全的菌液转移到 5 mL 新鲜 MRS 液体培养基中，37 $^{\circ}$ C 静置培养 24 h。重复传代 3 次，以第三代菌液为活化后的种子液。以下试验接种量均按体积分数接种 2%。

1.3.4 菌株生长曲线和 pH 变化曲线测定 分别在对照组(MRS 液体培养基)和试验组(含有黑麦花粉肽 1 g/L

表 1 17 种氨基酸分离时间程序

Table 1 Separation time program for 17 kinds amino acids

时间/min	流动相 B/%	
	甘氨酸、苏氨酸	其余 15 种氨基酸
0.0~1.0	10~8	10~12
1.0~2.5	8	12
2.5~8.0	8~10	16~27
8.0~10.0	10~20	27~31
10.0~13.0	20~36	31~36
13.0~25.0	38~74	38~70
25.0~27.0	74~80	70~100
27.0~30.0	80~100	100
30.0~35.0	10	10

的 MRS 液体培养基)中接入活化后的 B153,充分摇匀以后分装于无菌试管中,37 ℃ 恒温培养。每隔 2 h 取出一组并测定菌液的 OD_{600 nm} 和 pH 值。

1.3.5 发酵液活菌数测定 根据菌株的生长曲线,选取对照组和试验组在培养 4,10,16,24 h 后的菌液进行梯度稀释后,采用涂布计数法对各组进行活菌数测定。

1.3.6 发酵液乳酸含量测定 参考 GB 5009.157—2016《食品安全国家标准 食品中有机酸的测定》的方法略作修改后进行菌液中乳酸质量浓度测定。液相色谱柱采用 Innoval ODS-2 C₁₈ 柱,规格为 4.6 mm×250 mm,5 μm。流动相为 0.1%磷酸水溶液—乙腈(V_{磷酸溶液}:V_{乙腈} = 98:2),等度洗脱 10 min 后将乙腈体积分数迅速升高至 100%保持 5 min,最后将流动相调整为 0.1%磷酸水溶液—乙腈稳定 10 min。柱温 35 ℃,流量 1.000 mL/min,检测波长 210 nm,进样量 10 μL。

表 2 黑麦花粉肽的相对分子质量分布

Table 2 Relative molecular mass distribution of rye pollen peptides

相对分子质量范围	>5 000	5 000~3 000	3 000~2 000	2 000~1 000	<1 000
占比/%	3.05	0.77	3.50	6.49	86.09

2.1.2 氨基酸组成 如表 3 所示,黑麦花粉肽中未检出胱氨酸、亮氨酸和羟基脯氨酸,含量较高的 3 种氨基酸为天冬氨酸、谷氨酸和脯氨酸,其中天冬氨酸和谷氨酸为酸性氨基酸,脯氨酸是植物花粉中的重要氨基酸^[19]。除此之外黑麦花粉肽中还有较高含量的精氨酸,含量为 1.18 g/100 g,精氨酸充足对植物应对高盐胁迫具有积极作用^[20]。经过 B153 发酵以后黑麦花粉肽中的氨基酸含量整体呈下降趋势,其中天冬氨酸、谷氨酸、精氨酸等显著降低。这表明了发酵乳杆菌对黑麦花粉肽中的某些特殊氨基酸代谢效果较强,也与 Liu 等^[21]和 Zhang 等^[22]的研究结果相一致。Liu 等^[21]的研究表明,特殊的氨基酸可以作为促进乳酸菌生长的营养因子,其中发酵乳杆菌对天冬氨酸和谷氨酸有明显的代谢活性。Zhang 等^[22]的研究表明,精氨酸和谷氨酸是发酵乳杆菌的必需营养素,天冬氨酸和谷氨酸是乳酸菌氨基酸合成和能量代谢过程中的重要底物。

2.2 黑麦花粉肽对益生菌 B153 生长的影响

由图 1 可知,在培养 2 h 以后 B153 迅速进入对数生长期,培养 10 h 以后进入稳定期。黑麦花粉肽能够明显促进 B153 的生长,随着培养时间的增加,试验组生长曲线逐渐高于对照组。此外,B153 不同发酵时间的 pH 变化曲线表明 pH 与生长曲线具有同步性,培养 2 h 后菌液的 pH 值迅速下降并在 10 h 稳定在 4.3 左右。在培养前期试验组的 pH 值高于对照组,培养 4 h 后试验组 pH 值迅速下降并在后续培养时间明显低于对照组,这可能与黑麦花粉肽中谷氨酸、天冬氨酸和精氨酸等营养因子有

1.4 数据处理

每组样品设置 3 个平行,用 SPSS 26.0 和 Excel 2019 进行数据处理并输出为平均数±标准差,液相分析软件为 LabSolutions 5.110,绘图软件为 OriginPro 2021 9.8。

2 结果与分析

2.1 黑麦花粉肽相对分子质量测定及氨基酸组成分析

2.1.1 相对分子质量 蛋白质、多肽等能够促进益生菌的增殖。其中寡肽作为乳酸菌的重要氮源影响了乳酸菌的转运系统,改善乳酸菌胞外蛋白酶的分泌以及其耐酸性能^[6]。孙媛媛等^[18]研究发现,发酵乳杆菌对寡肽类氮源具有偏好性。黑麦花粉经过酶解处理后得到的肽产品平均相对分子质量为 691,其中相对分子质量<1 000 占比 86.09%(见表 2),属于寡肽,这符合多肽促进发酵乳杆菌增殖的需求,同时也表明了酶解工艺对原料降解比较充分。

关,同时也预示着试验组具有更大的产酸能力。精氨酸和谷氨酸对于发酵乳杆菌应对酸胁迫具有重要意义。发

表 3 黑麦花粉肽的氨基酸组成[†]

Table 3 Amino acid composition of rye pollen peptides from rye before and after fermentation g/100 g

氨基酸名称	对照组	试验组
天冬氨酸	2.57±0.40 ^a	1.69±0.30 ^b
谷氨酸	1.95±0.23 ^a	1.09±0.47 ^b
丝氨酸	1.06±0.16	0.67±0.26
组氨酸	0.36±0.27	0.28±0.12
甘氨酸	0.32±0.03	0.31±0.01
苏氨酸	1.06±0.18	1.22±0.26
精氨酸	1.18±0.09 ^a	0.84±0.14 ^b
丙氨酸	1.47±0.81	0.99±0.04
酪氨酸	0.58±0.08 ^a	0.36±0.11 ^b
脯氨酸	1.90±0.18	1.59±0.70
胱氨酸	——	——
缬氨酸	0.79±0.26	0.53±0.12
甲硫氨酸	0.44±0.09	0.33±0.07
苯丙氨酸	0.37±0.07 ^a	0.25±0.02 ^b
异亮氨酸	0.99±0.19	0.66±0.32
亮氨酸	——	——
赖氨酸	0.93±0.52	0.44±0.16
羟基脯氨酸	——	——

[†] “——”表示未检出;同行不同字母代表差异显著(P<0.05)。

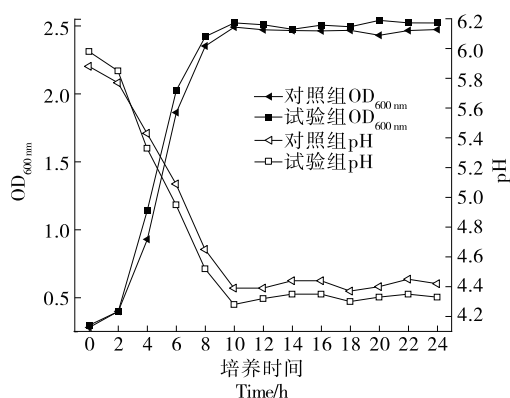


图1 B153 的生长曲线与 pH 变化曲线

Figure 1 Growth curve of B153 versus pH change curve

酵乳杆菌能够通过 ADI 通路应对外界的酸胁迫,即在发酵前期将精氨酸转化为瓜氨酸;在发酵中期精氨酸大量消耗,乳酸菌继续将瓜氨酸转化为鸟氨酸^[8],也与试验组发酵后 4~10 h pH 迅速超过对照组相一致。还有研究表明,发酵乳杆菌具有谷氨酸脱氢酶活性^[21],这意味着发酵乳杆菌也具有在低 pH 值环境下利用谷氨酸脱羧这一保护系统应对酸胁迫的潜力^[23]。整体上看,黑麦花粉肽具有促进 B153 增殖的效果。

2.3 黑麦花粉肽对益生菌 B153 活菌数的影响

如图 2 所示,黑麦花粉肽对 B153 有益生效果。在培养前期,试验组与对照组的活菌数无显著性差异,活菌数对数值约为 7.3;培养 10 h 后试验组的活菌数明显高于对照组,与对照组相比,试验组活菌数对数值由 8.2 提高至 8.7。Sun 等^[24]通过研究发酵乳杆菌胞外酶对哈尔滨红肠的消化效果,证实了发酵乳杆菌胞外酶对大分子蛋白质的降解作用。孙媛媛^[25]的研究也证明,将多肽与大分子氮源结合能够刺激发酵乳杆菌的胞外蛋白酶活性,提高菌株水解大分子蛋白的能力以达到增殖的效果。试验研究的黑麦花粉肽经过酶解处理后平均相对分子质量为 691,属于寡肽,确认了寡肽对发酵乳杆菌的增殖具有

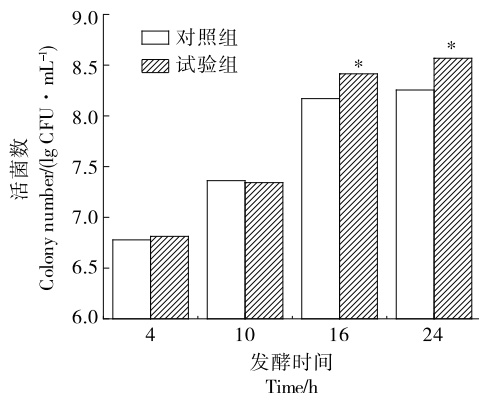
* 表示与对照组差异显著 ($P < 0.05$)

图2 B153 的活菌数变化

Figure 2 Changes in viable bacterial counts in B153

促进作用。

2.4 黑麦花粉肽对益生菌 B153 产酸能力的影响

如图 3 所示,在培养前期(0~9 h)试验组和对照组中的乳酸质量浓度无明显差异。发酵 12 h 后试验组中乳酸质量浓度显著高于对照组,发酵 48 h 后试验组中最终乳酸质量浓度可达 13 mg/mL。这与活菌数的变化趋势相一致,可能与黑麦花粉肽的氨基酸组成有关。一方面精氨酸、谷氨酸等营养因子对于发酵乳杆菌应对酸胁迫具有重要意义。谷氨酸还是发酵乳杆菌耐受低水分活度的关键物质,在高乳酸盐和低温环境下对维持细胞稳定具有积极作用^[22,26]。另一方面,天冬氨酸、谷氨酸等还是乳酸菌进行生物代谢的关键物质^[27],施盛超等^[28]的研究表明,天冬氨酸和谷氨酸的质量浓度升高能够明显促进乳酸菌生成乳酸。综合生长曲线、活菌数和 pH 变化曲线证实,黑麦花粉肽能够促进 B153 增殖并达到促进产酸的效果。

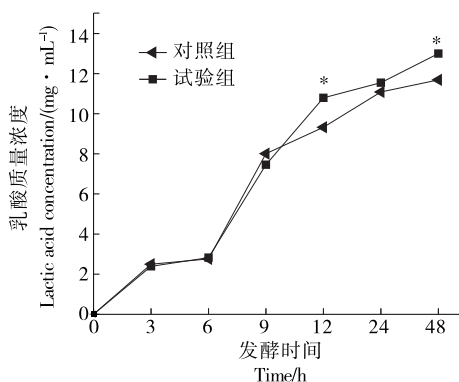
* 表示与对照组差异显著 ($P < 0.05$)

图3 不同发酵时间的乳酸质量浓度变化

Figure 3 Changes in lactic acid mass concentration at different fermentation times

3 结论

研究采用酶解法制备得到了平均相对分子质量为 691 的黑麦花粉肽,同时通过测定发酵乳杆菌 B153 生长曲线、活菌数、pH 变化曲线和乳酸质量浓度变化曲线,表明添加黑麦花粉肽能够有效提高发酵乳杆菌 B153 的活菌数和乳酸浓度,降低发酵乳杆菌 B153 发酵液的 pH,证实了寡肽类氮源黑麦花粉肽具有促进发酵乳杆菌 B153 增殖的效果。此外,根据发酵前后黑麦花粉肽中氨基酸组成变化讨论了黑麦花粉肽中精氨酸、谷氨酸和天冬氨酸在促进发酵乳杆菌 B153 增殖中的作用,寡肽中的氨基酸等营养因子能够维持乳酸菌在酸性环境中的稳态发育,促进了乳酸菌代谢物的生成。

黑麦花粉肽能够促进发酵乳杆菌 B153 的增殖,但是黑麦花粉肽中具体功能成分还不明确,关键肽段有待进一步的挖掘,其在体内经过胃肠消化后对益生菌的作用

机制也有待后续深入研究。

参考文献

- [1] 敖晓琳, 蒲彪, 蔡义民, 等. 发酵乳杆菌及其益生特性研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2015, 34(2): 121-127.
AO X L, PU B, CAI Y M, et al. Research progress of *Lactobacillus fermentum* and its probiotic characteristic [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2015, 34(2): 121-127.
- [2] YANG T S, YANG J S, TANG K, et al. Antioxidative properties analysis of gastrointestinal lactic acid bacteria in Hainan black goat and its effect on the aerobic stability of total mixed ration [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 974925.
- [3] 束文秀, 吴祖芳, 翁佩芳, 等. 植物乳杆菌和发酵乳杆菌对胡柚汁发酵品质及其抗氧化性的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(2): 152-158.
SHU W X, WU Z F, WENG P F, et al. Comparison of quality characteristics and antioxidant activity of the fruit juice of *Citrus paradisi* cv. Changshan huyou fermented by *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus fermentum* [J]. Food Science, 2019, 40(2): 152-158.
- [4] 易若琨, 刘佳, 冯霞, 等. 发酵乳杆菌 CQPC04 减轻小鼠血栓形成和调节肠道菌群的效果[J]. 食品科学, 2023, 44(1): 149-159.
YI R K, LIU J, FENG X, et al. Effect of *Lactobacillus fermentum* CQPC04 on reducing thrombosis and regulating intestinal flora in mice [J]. Food Science, 2023, 44(1): 149-159.
- [5] 刘潇潇. 复合益生元对发酵乳杆菌 DALI02 肠道定殖与免疫调节的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2022: 61-62.
LIU X X. Effects of compound prebiotics on intestinal colonization and immune regulation of *Limosilactobacillus fermentum* DALI02 [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2022: 61-62.
- [6] ZHANG C, ZHANG Y X, LI H, et al. The potential of proteins, hydrolysates and peptides as growth factors for *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*: current research and future perspectives[J]. Food & Function, 2020, 11(3): 1 946-1 957.
- [7] ARAKAWA K, MATSUNAGA K, TAKIHIRO S, et al. *Lactobacillus gasseri* requires peptides, not proteins or free amino acids, for growth in milk[J]. Journal of Dairy Science, 2015, 98(3): 1 593-1 603.
- [8] VRANCKEN G, RIMAUX T, WOUTERS D, et al. The arginine deiminase pathway of *Lactobacillus fermentum* IMDO 130101 responds to growth under stress conditions of both temperature and salt[J]. Food Microbiology, 2009, 26(7): 720-727.
- [9] FEDERICAL M, CAMILLA L, ERASMO N, et al. Effect of protein hydrolysates on growth kinetics and aminopeptidase activities of *Lactobacillus* [J]. Current Microbiology, 2014, 68(1): 82-87.
- [10] 李山林. 淮山多肽体外促进益生菌生长作用的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2022: 44-45.
LI S L. Promoting effects of peptides from Chinese yam on the growth of bifidobacteria in vitro [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2022: 44-45.
- [11] 潘芬, 杨敏, 刘梦阳, 等. 豌豆蛋白酶解产物促进益生菌生长活性研究[J]. 中国食品学报, 2019, 19(2): 27-36.
PAN F, YANG M, LIU M Y, et al. Growth-stimulating effects of pea protein hydrolysates on probiotics [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(2): 27-36.
- [12] 国家卫生健康委员会. 解读《关于蓝莓花色苷等 14 种“三新食品”的公告》[EB/OL]. (2023-05-06) [2023-12-23]. https://zwfw.nhc.gov.cn/kzx/tzgg/sptjjxpzsp_224/202305/t20230508_2511.html.
National Health Commission of the People's Republic of China. Announcement regarding 14 "New-Generation Foods", including blueberry anthocyanins [EB/OL]. (2023-05-06) [2023-12-23]. https://zwfw.nhc.gov.cn/kzx/tzgg/sptjjxpzsp_224/202305/t20230508_2511.html.
- [13] STEWART G A, TURNER K J, BALDO B A, et al. Standardization of rye-grass pollen (*Lolium perenne*) extract[J]. International Archives of Allergy and Immunology, 1988, 86(1): 9-18.
- [14] ANDREASEN M F, LANDBO A K, CHRISTENSEN L P, et al. Antioxidant effects of phenolic rye (*Secale cereale* L.) extracts, monomeric hydroxycinnamates, and ferulic acid dehydromers on human low-density lipoproteins [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(8): 4 090-4 096.
- [15] SEPPANEN T, LAAKSO I, WOJCICKI J, et al. An analytical study on fatty acids in pollen extract [J]. Phytotherapy Research, 1989, 3(3): 115-116.
- [16] CHIAVAROLI A, SIMONE S C D, ACQUAVIVA A, et al. Protective effects of pollenaid plus soft gel capsules' hydroalcoholic extract in isolated prostates and ovaries exposed to lipopolysaccharide [J]. Molecules, 2022, 27(19): 6 279.
- [17] 裴玉, 应旭辉, 谢媛媛, 等. OPA-FMOC 联用柱前衍生 HPLC 法测定水牛角药材中氨基酸含量[J]. 南开大学学报(自然科学版), 2013, 46(6): 58-63, 80.
PEI Y, YING X H, XIE Y Y, et al. Determination of amino acids in bubali cornu by HPLC with precolumn derivation [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis, 2013, 46(6): 58-63, 80.
- [18] 孙媛媛, 崔树茂, 唐鑫, 等. 发酵乳杆菌的生长限制性因素分析及高密度培养工艺优化[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(6): 1-10.
SUN Y Y, CUI S M, TANG X, et al. Growth limiting factors of *Lactobacillus fermentum* and optimization of its high-density cultivation [J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(6): 1-10.
- [19] 刘思嘉. 脯氨酸代谢途径对乌菜细胞质雄性不育系花粉发育的影响[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2018: 38-39.
LIU S J. Effects of proline metabolic pathway on pollen development of cytoplasmic male sterile lines in Wucai [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2018: 38-39.

(下转第 36 页)

- 2023, 38(4): 136-142.
- HE X M, PANG Y Y, YANG X Y, et al. Study on the changing law of absorption and scattering characteristics of vegetable oil during thermal oxidation based on double integrating sphere technique[J]. Chinese Journal of Cereals and Oils, 2023, 38(4): 136-142.
- [13] 庞妍妍, 陈敏, 王蓓, 等. 基于吸收与散射特性的掺伪山茶油检测研究[J]. 粮食科技与经济, 2020, 45(11): 90-94, 130.
- PANG Y Y, CHEN M, WANG B, et al. Study on the detection of adulterated camellia oil based on absorption and scattering characteristics[J]. Food Science and Technology and Economy, 2020, 45(11): 90-94, 130.
- [14] PRAHL S A, GEMERT M J C, WELCH A J. Determining the optical properties of turbid media by using the adding-doubling method[J]. Applied Optics, 1993, 32(4): 559-568.
- [15] 张灵枝, 黄艳, 于英杰, 等. 基于近红外光谱技术的六大茶类快速识别[J]. 食品与生物技术学报, 2024, 43(1): 48-59.
- ZHANG L Z, HUANG Y, YU Y J, et al. Rapid identification of six major tea species based on near-infrared spectroscopy[J]. Journal of Food and Biotechnology, 2024, 43(1): 48-59.
- [16] CENTNER V, MASSART D L, DE NOORD O E, et al. Elimination of uninformative variables for multivariate calibration [J]. Analytical Chemistry, 1996, 68(21): 3 851-3 858.
- [17] 王菲菲, 刘彭, 孙凤伟, 等. 基于支持向量机和压力传感器的水果分类系统[J]. 食品与机械, 2023, 39(9): 83-88.
- WANG F F, LIU P, SUN F W, et al. A fruit classification system based on support vector machine and pressure sensor[J]. Food & Machinery, 2023, 39(9): 83-88.
- [18] LIU Y, DING H, HUANG Z, et al. Distributed and robust support vector machine [J]. International Journal of Computational Geometry and Applications, 2021, 30(3): 213-233.
- [19] 乔森, 张磊, 母芳林. 基于电子鼻与 LightGBM 算法判别葡萄酒品种的研究[J]. 食品与机械, 2020, 36(5): 76-79.
- QIAO M, ZHANG L, MU F L. Research on discriminating wine varieties based on electronic nose and LightGBM algorithm[J]. Food & Machinery, 2020, 36(5): 76-79.
- [20] 熊东阳, 张林, 李国庆. 基于最大熵模型的遥感土地利用多分类研究[J]. 自然资源遥感, 2023, 35(2): 140-148.
- XIONG D Y, ZHANG L, LI G Q. A study of remote sensing land use multiclassification based on maximum entropy model [J]. Remote Sensing of Natural Resources, 2023, 35(2): 140-148.
- [21] ZHANG Y, GUO W. Moisture content detection of maize seed based on visible/near-infrared and near infrared hyperspectral imaging technology[J]. International Journal of Food Science and Amp; Technology, 2020, 55(2): 631-640.
- [22] 赵钊阳, 姚恒喆. 利用近红外光谱及电子鼻技术快速无损鉴别长期冻藏猪肉[J]. 食品与生物技术学报, 2021, 40(3): 89-96.
- ZHAO J Y, YAO H C. Rapid and non-destructive identification of long-term frozen pork using near-infrared spectroscopy and electronic nose technology[J]. Journal of Food and Biotechnology, 2021, 40(3): 89-96.
-
- (上接第 11 页)
- [20] 张俊杰. 干旱胁迫对夏玉米光合作用与抗氧化系统的影响及 L-精氨酸的调控效应[D]. 郑州: 河南农业大学, 2023: 38-39.
- ZHANG J J. Effects of drought stress on photosynthesis and antioxidant system of summer maize and regulation effect of L-arginine [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2023: 38-39.
- [21] LIU S Q, HOLLAND R, CROW V L. The potential of dairy lactic acid bacteria to metabolise amino acids via non-transaminating reactions and endogenous transamination[J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 86(3): 257-269.
- [22] ZHANG K N, ZHANG Z C, GUO X X, et al. Changes in nutrient consumption patterns of *Lactobacillus fermentum* mediated by sodium lactate[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2023, 103(4): 1 775-1 783.
- [23] 冷聪. *Streptococcus thermophilus* MN-ZLW-002 培养过程中关键氨基酸代谢途径蛋白表达变化研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2019: 56-57.
- LENG C. Study of changes in protein expression in the key amino acids metabolic pathways in *Streptococcus thermophilus* MN-ZLW-002 during culture [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2019: 56-57.
- [24] SUN F D, HU Y Y, YIN X Y, et al. Production, purification and biochemical characterization of the microbial protease produced by *Lactobacillus fermentum* R6 isolated from Harbin dry sausages[J]. Process Biochemistry, 2020, 89: 37-45.
- [25] 孙媛媛. 异型发酵乳杆菌高密度培养及提高其冻干存活率的方法[D]. 无锡: 江南大学, 2021: 29-30.
- SUN Y Y. High-density cultivation of heterofermentive lactobacillus and methods to improve the freeze-drying survival rate[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021: 29-30.
- [26] STEFANELLO R F, NABESHIMA E H, IAMANAKA B T, et al. Survival and stability of *Lactobacillus fermentum* and *Wickerhamomyces anomalus* strains upon lyophilisation with different cryoprotectant agents [J]. Food Research International, 2019, 115: 90-94.
- [27] FERNANDEZ M, ZUNIGA M. Amino acid catabolic pathways of lactic acid bacteria[J]. Critical Reviews in Microbiology, 2006, 32(3): 155-183.
- [28] 施盛超, 刘志豪, 王永红. 拟干酪乳杆菌全合成培养基氨基酸及维生素组分优化研究[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(18): 24-30.
- SHI S C, LIU Z H, WANG Y H. Optimization of amino acids and vitamins components in complete chemical defined medium of *Lactobacillus paracasei*[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(18): 24-30.