

香蕉低聚糖对双歧杆菌增殖条件的优化

范媛媛¹, 罗诗泳¹, 苏雪群¹, 王娟²

(1. 顺德出入境检验检疫局综合技术服务中心, 广东 佛山 528303; 2. 华南理工大学 食品学院, 广东 广州 510641)

摘要: 探寻香蕉低聚糖对双歧杆菌的最佳增殖条件。以香蕉低聚糖为碳源, 以双歧杆菌的数量为指标, 在单因素试验的基础上, 采用响应曲面法研究低聚糖添加量、初始菌液浓度、培养时间对双歧杆菌增殖数量的影响, 建立各种因素与双歧杆菌增殖数量关系的数学回归模型。结果表明: 当以香蕉低聚糖为碳源时, 对双歧杆菌增殖的最佳条件为: 培养时间为 41 h, 低聚糖添加量为 4.5 g/L, 菌液浓度为 1.8×10^6 CFU/mL, pH 值为 7.30。在此条件下, 进行 3 次重复试验, 实际测得的双歧杆菌数量为 8.6×10^8 CFU/mL, 取对数后得 8.965, 与预测值的相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 值为 0.166 %。本试验所得模型合适, 回归方程对试验拟合度好, 其最佳优化条件适合于双歧杆菌的增殖。

关键词: 香蕉; 低聚糖; 双歧杆菌; 增殖; 优化

Optimal Conditions of Banana Oligosaccharide on the Proliferation of Bifidobacterium Adolescentis

FAN Yuan-yuan¹, LUO Shi-yong¹, SU Xue-qun¹, WANG Juan²

(1. The Comprehensive Technology Service Center of Shunde Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Foshan 528303, Guangdong, China; 2. College of Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510641, Guangdong, China)

Abstract: To study the optimal conditions of banana oligosaccharide on the proliferation of bifidobacterium adolescentis. Using banana oligosaccharide as carbon source, the quantity of bifidobacterium adolescentis as the measure, based on the single-factor experiment, the effect of culture time, additive amount of banana oligosaccharides, initial bacterial concentration and pH of basic medium was studied by the response surface methodology (RSM). Regression model between the quantity of bifidobacterium adolescentis and the four factors was built. Results showed that banana oligosaccharides as carbon source, the optimal conditions of bifidobacterium adolescentis proliferation was achieved as follows: culture time of 41 h, additive amount of banana oligosaccharides of 4.5 g/L, bacterial concentration of 1.8×10^6 CFU/mL, pH of basic medium of 7.30. under this condition, three times repeated experiments were carried out, the actual measured number of bifidobacterium adolescentis was 8.6×10^8 CFU/mL, and the logarithm was 8.965, the predicted relative standard deviation (RSD) value was 0.166 %. This experimental model was suitable, the regression equation had good fitting fitness, and the optimal optimization condition was suitable for the proliferation of bifidobacterium adolescentis.

Key words: banana; oligosaccharide; bifidobacterium adolescentis; proliferation; optimal

引文格式:

范媛媛, 罗诗泳, 苏雪群, 等. 香蕉低聚糖对双歧杆菌增殖条件的优化[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(16): 185-191

FAN Yuanyuan, LUO Shiyong, SU Xuequn, et al. Optimal Conditions of Banana Oligosaccharide on the Proliferation of Bifidobacterium Adolescentis[J]. Food Research and Development, 2019, 40(16): 185-191

低聚糖是指由3个~10个单糖分子通过糖苷键聚合而成的糖类化合物,是一类重要的生物信息分子,有多方面的生物功能,如增强免疫力、促进益生菌增殖、改善肠道微生态环境、抗氧化、增加某些必需矿物质元素的吸收等等。在健康人体消化道中的500多种细菌中,其数量达100兆以上,其中双歧杆菌是人体肠道内正常的菌群,是人类研究最广泛的益生菌,可以调节肠道菌群、预防和治疗腹泻及便秘、排除毒素、提高机体免疫力、抗癌等生理保健功能。双歧杆菌数量的减少或消失是“不健康”状态的标志,双歧杆菌是人体健康的晴雨表。双歧杆菌是有益菌,是人类研究最广泛的益生菌之一。经研究发现,低聚糖与益生菌协同作用,可以更好的发挥二者的在改善肠道微生态环境、预防和治疗腹泻及便秘等方面的生理功能^[1-5]。

目前功能性低聚糖已成为生物技术方面研究亮点,而国内研究主要集中在壳低聚糖、果低聚糖、魔芋低聚糖及一些中药提取物中的低聚糖,针对香蕉中低聚糖的研究却相对匮乏,而香蕉低聚糖属于功能性低聚糖,不仅是双歧杆菌、乳酸菌等一些益生菌的增殖因子,而且它是替代蔗糖的新型功能性糖源^[6-11]。除Wang等报道了香蕉低聚糖、香蕉抗性淀粉、膳食纤维的润肠通便功能,并设计动物实验证实大蕉低聚糖具有促进肠道蠕动的效果外,有关香蕉低聚糖对乳杆菌增殖效果的研究却未见报道^[12-18]。

文中以香蕉低聚糖为碳源,以纯度大于75%的低聚果糖为阳性对照,探寻香蕉低聚糖是否对双歧杆菌有增殖作用,以及双歧杆菌的最佳增殖条件及规律,为微生态制剂的研制、微胶囊保健食品的开发、以及集营养、保健、食疗于一体的功效食品的生产提供基础数据和理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料

香蕉低聚糖(低聚糖含量:79.28%);华南理工大学食品科学与工程学院实验室自制;青春双歧杆菌(ATCC 15703);广东环凯微生物科技有限公司;低聚果糖(纯度>75%);广州菲博生物科技有限公司;基础培养基(不含葡萄糖)、双歧杆菌琼脂培养基:广东环凯微生物科技有限公司。

1.1.2 试剂与培养基的配制

试验组:10 mL基础培养基+(2 g/L~10 g/L)的香蕉低聚糖+1 mL一定浓度的双歧杆菌菌悬液。

阴性对照组:10 mL基础培养基+0 g/L的香蕉低聚糖+1 mL一定浓度的双歧杆菌菌悬液。

阳性对照组:10 mL基础培养基+4 g/L的低聚果糖+1 mL一定浓度的双歧杆菌菌悬液。

1.2 仪器与设备

SANYO MIR-153多功能培养箱:日本三洋公司;ESCO CLASS II Type A2生物安全柜:新加坡艺思高科技有限公司;Symbiosis Acolyte菌落计数仪:英国Symbiosis公司;BUGBOX厌氧工作站:UK SUSKINN TECHNOLOGY LTD。

1.3 方法

1.3.1 香蕉低聚糖的提取、纯化及含量测定

用超声波法辅助提取香蕉低聚糖,粗提液经过凝胶柱层析纯化后,采用蒽酮-硫酸法测定低聚糖含量^[19-21]。

1.3.2 基础培养基的配制

大豆蛋白胨 5.0 g、酵母粉 10.0 g、胰胨 5.0 g、无机盐液 40 mL(每1 L含 K_2HPO_4 1.0 g、 KH_2PO_4 1.0 g、 $CaCl_2$ 0.2 g、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.48 g、 $NaHCO_3$ 10.0 g、 $NaCl$ 2.0 g、L-半胱氨酸 0.5 g)、蒸馏水 1 L^[22]。121 °C高压灭菌 30 min, pH值调至 7.0~8.0。

1.3.3 制备菌悬液

无菌条件下,将标准菌株活化,即将青春双歧杆菌(ATCC 15703)标准菌株接种于无菌平皿内,及时将15 mL~20 mL冷却至46 °C双歧杆菌琼脂培养基倾注于平皿,混合均匀后,于36 °C厌氧培养箱中培养48 h,从培养后的平板中挑取适量的菌落,接种于无菌生理盐水,搅拌均匀后,进行梯度稀释,再用无菌吸头吸取1 mL菌悬液接种于无菌平皿内,同上操作后进行培养、计数^[23-25]。根据计数结果,选取浓度在 10^4 CFU/mL~ 10^8 CFU/mL的菌悬液备用。

1.3.4 培养时间对双歧杆菌增殖数量的影响

将不同质量浓度的香蕉低聚糖(2、4、6、8、10 g/L)和1 mL的 5.2×10^6 CFU/mL的菌悬液,分别加入10 mL的pH 7.5的基础培养基中;同时做阴性、阳性对照组。混匀,于 (36 ± 1) °C厌氧培养48 h,双歧杆菌在24 h内增殖缓慢,培养期间,选取不同的时间点计数(12、24、28、32、36、40、44、48 h),每个时间点做3个平行,取平均值。

1.3.5 香蕉低聚糖的添加量对双歧杆菌增殖数量的影响

在pH 7.5、接种量为1 mL的 5.2×10^6 CFU/mL的双歧杆菌菌悬液的基础培养基中,添加浓度为2、4、6、8、10 g/L的香蕉低聚糖, (36 ± 1) °C厌氧培养40 h,分别测定双歧杆菌的菌落数,取对数后与添加量作图,比较

不同香蕉低聚糖添加量对双歧杆菌增殖数量的差异,得出最佳低聚糖的添加量。

1.3.6 初始菌液浓度对双歧杆菌增殖数量的影响

将 1 mL 不同浓度的双歧杆菌菌悬液 (10^4 、 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 CFU/mL) 和 4 g/L 的香蕉低聚糖加入 10 mL 的 pH 7.5 的基础培养基中,混匀, (36 ± 1) °C 厌氧培养 40 h, 分别测定不同浓度的菌悬液中双歧杆菌的菌落数。每个浓度做 3 个平行,取平均值。可知双歧杆菌菌落数最高时的初始菌液浓度。

1.3.7 基础培养基的初始 pH 值对双歧杆菌增殖数量的影响

将 4 g/L 的香蕉低聚糖和 1 mL 的 5.2×10^6 CFU/mL 的菌悬液, 分别加入 10 mL 的 pH 值为 5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0 的基础培养基中,混匀,于 (36 ± 1) °C 厌氧培养 40 h, 分别测定不同 pH 值的菌悬液中双歧杆菌的数量。每个 pH 值做 3 个平行,取平均值。可知此双歧杆菌菌落数最高时的基础培养基初始 pH 值。

1.3.8 Box-Behnken 中心组合试验设计

按照 Box-Behnken 的中心组合试验设计原理,选择对双歧杆菌增殖有显著影响的 4 个因素: 培养时间(A)、低聚糖添加量(B)、初始菌液浓度对数值(C)和基础培养基初始 pH 值(D),进行四因素三水平的响应面

分析试验,每个处理测定 3 次,取平均值。试验设计因素水平见表 1。

表 1 因素水平编码表

Table 1 Factors and levels of Box-Behnken design

水平	因素			
	A 培养时间/h	B 低聚糖添加量/(g/L)	C 初始菌液浓度/(CFU/mL)	D 基础培养基初始 pH 值
-1	36	2	105	7.0
0	40	4	106	7.5
1	44	6	107	8.0

1.4 数据统计分析

利用统计分析软件 Design Expert 建立回归模型,确定双歧杆菌最佳增殖数量的条件及各因素与响应值之间的真实关系,并对双歧杆菌增殖规律的数学模型进行方差分析,以验证真实值与预测值之间及检验方程的有效性。建立各因素间的回归优化响应曲面图,并对各因素间的交互作用进行方差分析与优化,通过回归模型得出双歧杆菌的最佳增殖条件。

2 结果与分析

2.1 培养时间对双歧杆菌增殖数量的影响

以双歧杆菌菌落数的对数与培养时间作图见图1。

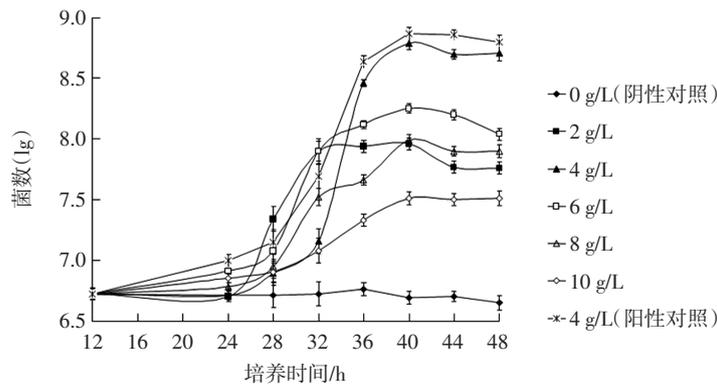


图 1 培养时间对青春双歧杆菌增殖数量的影响

Fig.1 Effect of culture time on the proliferation of bifidobacterium adolescentis

由图 1 可知,不同质量浓度的香蕉低聚糖(2、4、6、8、10 g/L),对双歧杆菌的增殖作用都是在培养 40 h 左右达到高峰,然后双歧杆菌的生长进入稳定期。阴性对照组在 48 h 的培养期间内,菌落数变化无显著性差异($P>0.05$),阳性对照组在 36 h 起,双歧杆菌数量可达到 10^8 数量级,在 40 h 达到高峰。此外,阳性对照组的菌数大于香蕉低聚糖添加量为 4 g/L 的培养液中的菌数。说明香蕉低聚糖作为碳源对双歧杆菌的增殖作用没有低聚果糖强。

2.2 低聚糖添加量对双歧杆菌增殖数量的影响

以双歧杆菌菌落数的对数与低聚糖的添加量作图见图 2。

由图 2 可知,不同浓度的香蕉低聚糖对双歧杆菌的体外生长有不同程度的影响。当低聚糖的添加量为 4 g/L 时,双歧杆菌的增殖数量最多,可达到 10^8 数量级;当低聚糖的添加量为 10 g/L 时,双歧杆菌的增殖数量明显最低,说明高浓度的低聚糖对双歧杆菌的生长有抑制作用。这可能是由于高浓度的低聚糖造成培

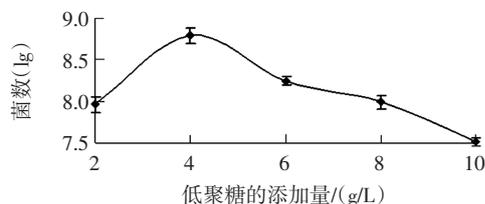


图2 香蕉低聚糖的添加量对青春双歧杆菌增殖数量的影响

Fig.2 Effect of additive amount of banana oligosaccharide on the proliferation of bifidobacterium adolescentis

培养基的碳源量过高,双歧杆菌在代谢发酵后产酸,使培养基偏酸,造成了高渗透压的环境,双歧杆菌细胞脱水,从而抑制了生长。由此说明,低聚糖作为双歧杆菌的生长增殖因子有一定的浓度作用范围,过高或过低都不适宜双歧杆菌的生长^[26-28]。

2.3 初始菌液浓度对双歧杆菌增殖数量的影响

以双歧杆菌菌落数的对数与初始菌液浓度作图见图3。

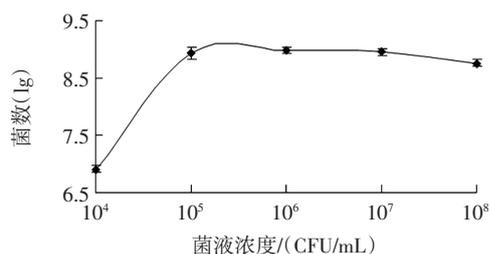


图3 初始菌液浓度对青春双歧杆菌增殖数量的影响

Fig.3 Effect of concentration of bacteria suspensions on the proliferation of bifidobacterium adolescentis

由图3可知,不同浓度的初始菌液浓度对双歧杆菌的体外生长有不同程度的影响。在香蕉低聚糖的浓度为4 g/L、基础培养基的pH值为7.5时,初始菌液的浓度为10⁶时,双歧杆菌的数量达到10⁸数量级;当初始菌液浓度为10⁵时,双歧杆菌的数量基本达到最大值。当初始菌液浓度小于10⁵时,适应期较长;当初始菌液浓度大于10⁶时,双歧杆菌的增殖速度较慢,基本维持在10⁸数量级。这可能是由于培养基的营养物质和能量有限,菌液浓度过高时,菌体间会产生竞争性抑制,导致菌体数量的平衡或降低,从而使增殖速度减缓甚至停止。

2.4 基础培养基的初始pH值对益生菌增殖数量的影响

以双歧杆菌菌落数的对数与初始pH值作图见图4。

由图4可知,香蕉低聚糖的浓度为4 g/L、菌悬液的浓度为10⁶ CFU/mL时,对双歧杆菌的增殖效果最好

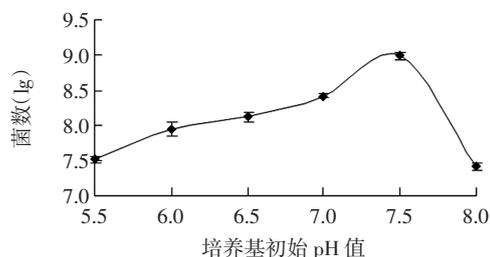


图4 基础培养基的初始pH值对青春双歧杆菌增殖数量的影响

Fig.4 Effect of pH of basic medium on the proliferation of bifidobacterium adolescentis

的基础培养基的pH值为7.5。当pH值小于7.0时,双歧杆菌的增殖速度慢、数量少,可能是由于培养基的酸度过高,不利于双歧杆菌的生长繁殖,所以延滞期长,而双歧杆菌生长又会产生乳酸等酸性物质,导致增殖数量一直比较低;当pH值为8.0时,培养基呈碱性,不利于其生长繁殖^[26-28]。

2.5 响应面试验结果与分析

2.5.1 响应面回归模型的建立与分析

响应面试验结果见表2,对表2数据进行回归分析,得二次多项式回归方程:

$$Y = -147.09858 + 1.39075A + 0.29441B + 2.55171C + 32.41279D + 0.0040625AB - 0.011450AC - 0.033978AD + 0.012500BC + 2.06779 \times 10^{-15}BD - 0.11409CD - 0.013121A^2 - 0.060395B^2 - 0.10368C^2 - 2.07041D^2$$

为了检验方程的有效性,对双歧杆菌增殖规律的数学模型进行方差分析,方差分析结果见表3。

表2 响应面试验设计与结果

Table 2 Box-Behnken design and test results

试验号	A 培养时间/h	B 低聚糖添加量/(g/L)	C 初始菌液浓度/(CFU/mL)	D 基础培养基初始pH值	双歧杆菌数量的对数(lg)
1	36	2	7	7.5	8.56
2	40	4	7	7.5	8.65
3	40	4	7	7	8.62
4	40	4	5	7	8.46
5	40	4	6	7.5	8.81
6	40	4	7	8	7.86
7	40	4	6	7	8.52
8	44	6	6	7.5	8.36
9	44	6	5	7	8.46
10	36	2	6	7.5	8.32
11	40	4	6	8	7.69
12	40	4	6	7.5	8.79
13	44	6	6	7.5	8.59

续表 2 响应面试验设计与结果

Continue table 2 Box-Behnken design and test results

试验号	A 培养时间/h	B 低聚糖添加量/(g/L)	C 初始菌液浓度/(CFU/mL)	D 基础培养基初始 pH 值	双歧杆菌数量的对数(lg)
14	44	6	6	8	7.84
15	40	4	5	8	7.89
16	40	4	7	7.5	8.35
17	40	4	5	7.5	8.56
18	40	4	6	7.5	8.88
19	44	6	7	7.5	8.69
20	36	2	5	7.5	8.31
21	36	2	6	8	7.61
22	40	4	5	7.5	8.36
23	40	4	6	8	7.86
24	44	6	6	7	8.75
25	40	4	6	7	8.35
26	36	2	6	7	8.21
27	40	4	6	7.5	8.83
28	36	2	6	7.5	8.22
29	40	4	6	7.5	8.86

表 3 回归模型方差分析

Table 3 The variance analysis of regression equation

来源	总和	自由度	均方	F 值	P>F	显著性
模型	3.70	14	0.26	72.89	<0.000 1	***
A 培养时间	0.21	1	0.21	57.74	<0.000 1	***
B 低聚糖添加量	0.11	1	0.11	31.50	<0.000 1	***
C 初始菌液浓度	0.022	1	0.022	6.08	0.027 2	*
D 基础培养基初始 pH 值	1.46	1	1.46	402.36	<0.000 1	***
AB	0.0042	1	0.0042	1.17	0.298 3	
AC	0.0073	1	0.0073	2.01	0.177 7	
AD	0.020	1	0.020	5.57	0.033 3	*
BC	0.0025	1	0.0025	0.69	0.420 0	
BD	8.8×10^{-16}	1	8.882×10^{-16}	2.453×10^{-13}	1.000 0	
CD	0.014	1	0.014	3.93	0.067 5	
A ²	0.29	1	0.29	78.89	<0.000 1	***
B ²	0.37	1	0.37	102.77	<0.000 1	***
C ²	0.070	1	0.070	19.24	0.000 6	**
D ²	1.70	1	1.70	470.70	<0.000 1	***
残差	0.051	14	0.003 6			
失拟项	0.045	10	0.004 5	3.41	0.124 1	
纯误差	0.005 3	4	0.001 33			
总离差	3.75	28				

R²=0.986 5

注:“***”表示非常显著(P<0.001);“**”表示极显著(P<0.01);“*”表示显著(P<0.05)。

方差分析中模型 P 值<0.0001 说明回归方程是极显著的(P<0.01),相关系数 R²=0.986 5 说明响应值的变化有 98.65 %来源于所选变量,即培养时间、低聚糖添加量、初始菌液浓度对数值和基础培养基 pH 值。失拟项不显著,说明模型合适,回归方程对试验拟合情况好,可以较好的描述各因素与响应值之间的真实关系,可以利用该回归方程代替试验真实点对试验结果进行分析。

一次项中培养时间、低聚糖添加量和基础培养基 pH 值的 P 值均小于 0.001,说明这 3 个因素对结果的影响非常显著,且这 3 个因素的平方项的 P 值也小于 0.001,说明这 3 个因素的平方项对结果的影响也非常显著。一次项中初始菌液浓度的 P 值为 0.027 2,小于 0.05,说明其对结果的影响显著。6 个交互项中只有培养时间和基础培养基 pH 值交互作用的 P 值小于 0.05,说明二者交互作用对结果影响显著。

2.5.2 响应面交互作用的分析与优化

各因素的交互作用对双歧杆菌增殖数量的影响见图 5~图 10。

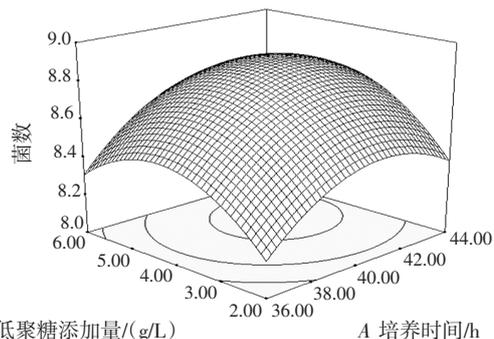


图 5 培养时间与低聚糖添加量的交互作用对双歧杆菌增殖数量的影响

Fig.5 Effect of culture time and additive amount of banana oligosaccharide on the proliferation of bifidobacterium adolescentis

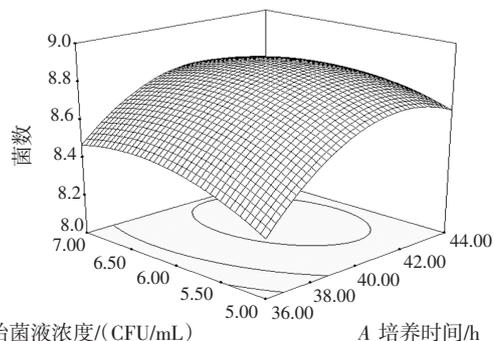


图 6 培养时间与初始菌液浓度的交互作用对双歧杆菌增殖数量的影响

Fig.6 Effect of culture time and concentration of bacteria suspensions on the proliferation of bifidobacterium adolescentis

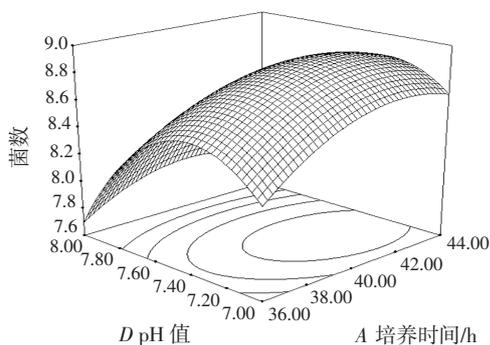


图7 培养时间与培养基的初始 pH 值的交互作用对双歧杆菌增殖数量的影响

Fig.7 Effect of culture time and pH of basic medium on the proliferation of bifidobacterium adolescentis

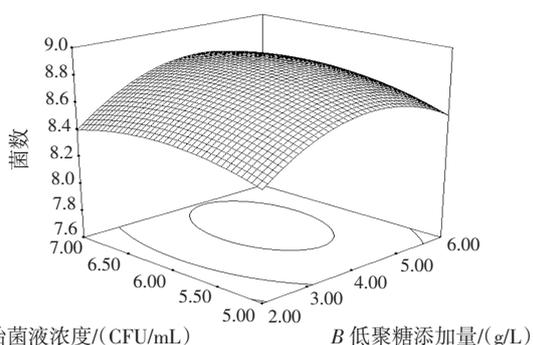


图8 低聚糖添加量与初始菌液浓度的交互作用对双歧杆菌增殖数量的影响

Fig.8 Effect of additive amount of banana oligosaccharide and concentration of bacteria suspensions on the proliferation of bifidobacterium adolescentis

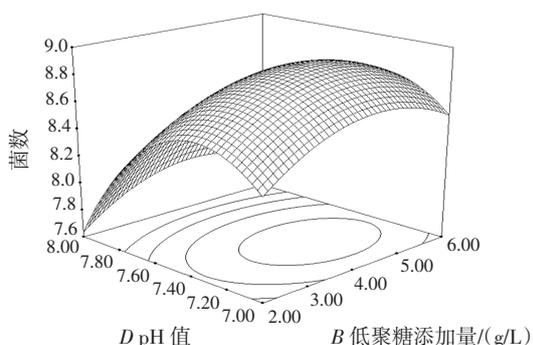


图9 低聚糖添加量与培养基的初始 pH 值的交互作用对双歧杆菌增殖数量的影响

Fig.9 Effect of additive amount of banana oligosaccharide and pH of basic medium on the proliferation of bifidobacterium adolescentis

响应曲面坡度越陡峭,说明响应值对于该因素的改变越敏感,而曲面坡度越平滑,说明该因素的改变对响应值的影响也就越小^[29]。由各因子间的回归优化响应曲面图和方差分析可知,培养时间(A)与低聚糖添加量(B)、培养时间(A)与初始菌液浓度对数值(C)、

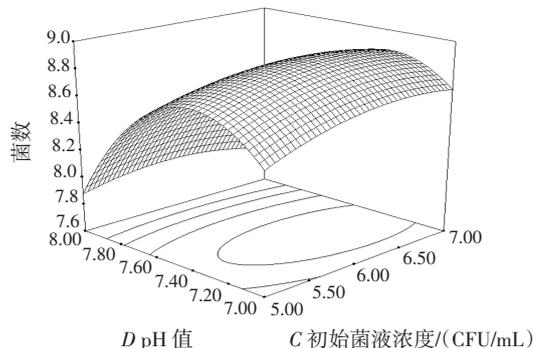


图10 初始菌液浓度与培养基的初始 pH 值的交互作用对双歧杆菌增殖数量的影响

Fig.10 Effect of concentration of bacteria suspensions and pH of basic medium on the proliferation of bifidobacterium adolescentis

低聚糖添加量(B)与初始菌液浓度对数值(C)、低聚糖添加量(B)与基础培养基初始 pH 值(D)、初始菌液浓度对数值(C)与基础培养基初始 pH 值(D)的交互作用对双歧杆菌的增殖影响不显著,培养时间(A)与基础培养基初始 pH 值(D)的交互作用对双歧杆菌的增殖影响显著。

2.5.3 最佳增殖条件的验证

通过回归模型得出的双歧杆菌最佳体外增殖条件为:培养时间为 41.49 h,低聚糖添加量为 4.48 g/L,初始菌液浓度的对数为 6.26,即菌液浓度为 1.82×10^6 CFU/mL,基础培养基初始 pH 7.31。在此条件下模型的预测值为 8.944。考虑到实际操作,将最佳条件调整为:培养时间为 41 h,低聚糖添加量为 4.5 g/L,菌液浓度为 1.8×10^6 CFU/mL, pH 7.30。在此条件下,进行 3 次重复试验,实际测得的双歧杆菌数量为 8.6×10^8 CFU/mL,取对数后得 8.965,与预测值的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)值为 0.166%,提示此模型和方法的可行性和有效性较好。

3 结论

方程与实际操作所确定的双歧杆菌最佳增殖条件为:培养时间 41 h,低聚糖添加量为 4.5 g/L,菌液浓度为 1.8×10^6 CFU/mL,基础培养基初始 pH 值为 7.30。在此条件下,进行 3 次重复试验,实际测得的双歧杆菌数量为 8.6×10^8 CFU/mL,取对数后得 8.965,与预测值的 RSD 值为 0.166%。提示此模型和方法的可行性和有效性较好,本试验所得模型合适,回归方程对试验拟合度好,其最佳优化条件适合于双歧杆菌的增殖。

参考文献:

- [1] 刘重阳,陈东风. 肠道菌群在炎症性肠病发病中的作用[J]. 重庆

- 医学, 2009, 38(10): 1251-1253
- [2] 何梅, 洪洁, 杨月欣, 等. 抗性淀粉对大鼠肠道菌群的影响[J]. 卫生研究, 2005, 34(1): 85-87
- [3] 张玲. 双歧杆菌作用的研究进展[J]. 医学综述, 2009, 24(17): 2556-2721
- [4] 杭苏琴. 甘露寡糖对断奶仔猪肠道微生物的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2007: 52-57
- [5] 励慧敏, 韩锦华. 大豆蛋白和大豆低聚糖在食品加工中的应用[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(7): 159-161
- [6] 李平兰, 张麓, 江汗湖. 双歧杆菌增殖因子——低聚糖的功能及在食品上的应用[J]. 中国微生态学杂志, 1998, 10(4): 239-24
- [7] 陈瑞娟. 新型低聚糖的介绍[J]. 食品与发酵工业, 1993(2): 82-90
- [8] 马丽娜, 罗白玲, 史俊杰, 等. 常见几种功能性低聚糖对肠道菌群调节机制的研究进展[J]. 微生物学免疫学进展, 2017, 45(6): 89-92
- [9] 汪雨亭, 陈挺强, 王娟. 香蕉低聚糖的通便功能评价[J]. 食品工业科技, 2017, 38(3): 357-360
- [10] 唐雪娟. 香蕉低聚糖的分离、结构鉴定及品种比较[D]. 广州: 华南理工大学, 2014: 1-4
- [11] 易晓敏, 唐雪娟, 王娟. 香蕉低聚糖随成熟度的变化及基理化性质研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(4): 1-5
- [12] 张俊黎, 王宇, 于红霞, 等. 低聚果糖对动物通便功能研究[J]. 预防医学情报杂志, 2007, 35(12): 534-536
- [13] 陈荷凤, 张坚, 范佳, 等. 低聚糖对双歧杆菌增殖效果的研究[J]. 食品研究与开发, 2004, 25(1): 51-54
- [14] 方序, 陈敏. 双歧杆菌增殖因子——异麦芽低聚糖[J]. 发酵科技通讯, 1996, 25(4): 10-12
- [15] 安晓华, 薛邦禄, 王波, 等. 玉米低聚糖对双歧杆菌增殖与发酵的影响[J]. 中国微生态学杂志, 2016, 28(3): 280-283
- [16] 肖仔君, 陈惠音, 杨汝德. 复合低聚糖对短双歧杆菌增殖作用的初步研究[J]. 食品工业科技, 2005, 26(7): 102-106
- [17] 于济洋, 李新华, 王秋, 等. 响应面法优化以菊芋全粉为碳源的双歧杆菌增殖培养条件[J]. 食品科学, 2013, 34(23): 261-265
- [18] 孙鹏, 赵旭博, 孙先锋, 等. 响应面法优化长双歧杆菌增殖培养基[J]. 食品科学, 2013, 34(5): 207-212
- [19] 王娟, 程燕锋, 苏锦明, 等. 香蕉低聚糖的分离纯化及理化性质研究[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(12): 176-179
- [20] 唐雪娟, 王淼, 王娟. 超声波法与温水法提取低聚糖的比较[J]. 广东农业科学, 2013, 48(22): 111-114
- [21] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1997: 12-14
- [22] 刘露, 张雁, 池建伟, 等. 山药低聚糖对2种双歧杆菌的体外促生长作用[J]. 食品科学, 2017, 38(6): 130-135
- [23] 王娟, 汪雨亭, 杨公明. 香蕉不溶性膳食纤维的理化特性与通便功能研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(2): 337-341
- [24] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品卫生微生物学检验双歧杆菌检验: GB/T 4789.34-2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016
- [25] 熊德鑫. 临床厌氧菌检验手册[M]. 北京: 中国科技出版社, 1994: 27
- [26] 李淼, 张晓楠, 马莲菊, 等. 褐藻胶寡糖对双歧杆菌体外生长影响的研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(11): 16-18
- [27] 郝林华, 陈靠山, 李光友. 牛蒡寡糖对双歧杆菌体外生长促进作用[J]. 海洋科学进展, 2005, 23(3): 347-352
- [28] 李艳丽, 许少春, 柳永, 等. 低聚木糖制备及其对益生菌体外增殖作用[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2011, 37(3): 245-251
- [29] 马英丽, 赵桦, 王霞, 等. 响应面法优化蜜橘果实中生物碱的超声提取工艺研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(1): 224-229

收稿日期: 2018-10-17

汲取中国智慧、弘扬中国精神、传播中国价值，
传承发展中华优秀传统文化。