

混菌固态发酵花生粕的工艺优化

姜晓阳^{1,2}, 胡迎芬^{1,*}, 郑靖义¹, 王刘昱¹, 李梦杰¹, 孙榕梓¹, 张 锋¹

(1. 青岛大学生命科学学院, 山东青岛 266071;

2. 青岛大学医学院, 山东青岛 266071)

摘 要:采用纳豆芽孢杆菌和红曲霉混合菌株固态发酵花生粕,以纳豆激酶的活力和 γ -氨基丁酸的含量为指标,通过单因素实验和正交试验对发酵的温度、时间、料水比、菌种比例、接种量进行优化,确定最佳工艺参数为:温度 31℃,发酵时间 46 h,料水比为 1:0.4 g/mL,菌种比例(纳豆芽孢杆菌:红曲霉)2:1,接种量 6%,在此条件下测定纳豆激酶的活力为(844.56 $\pm$ 13.80) U/g, γ -氨基丁酸含量为(105.25 $\pm$ 0.25) mg/g,对羟自由基清除率为 68.46% $\pm$ 0.16%,对 DPPH·清除率为 76.98% $\pm$ 0.95%,铁还原力的 OD 值为 0.481。

关键词:花生粕,纳豆芽孢杆菌,红曲霉,纳豆激酶, γ -氨基丁酸

Optimization of Solid-state Fermentation of Peanut Meal by Mixed Bacteria

JIANG Xiao-yang^{1,2}, HU Ying-fen^{1,*}, ZHENG Jing-yi¹, WANG Liu-yu¹,

LI Meng-jie¹, SUN Rong-zi¹, ZHANG Feng¹

(1. College of Life Science, Qingdao University, Qingdao 266071, China;

2. Medical College, Qingdao University, Qingdao 266071, China)

Abstract: The peanut meal was fermented in a solid state by a mixture of *Bacillus natto* and *Monascus*. The activity of nattokinase and the content of γ -aminobutyric acid were used as indicators. Through single factor experiment and orthogonal experiment, the fermentation temperature, time, feed-water ratio, strain proportion and inoculation amount were optimized. The optimum process parameters were determined as follows: Temperature 31℃, fermentation time 46 h, the ratio of material to water was 1:0.4 g/mL, the proportion of strains (*Bacillus natto*: *Monascus*) 2:1, inoculation 6%. Under these conditions, the activity of nattokinase was (844.56 $\pm$ 13.80) U/g, the content of γ -aminobutyric acid was (105.25 $\pm$ 0.25) mg/g, The hydroxyl radical scavenging rate was 68.46% $\pm$ 0.16%, the DPPH· clearance rate was 76.98% $\pm$ 0.95%, and the OD value of iron reducing power was 0.481.

Key words: peanut meal; *Bacillus natto*; *Monascus*; nattokinase; γ -aminobutyric acid

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2019)22-0120-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2019.22.022

引文格式: 姜晓阳, 胡迎芬, 郑靖义, 等. 混菌固态发酵花生粕的工艺优化[J]. 食品工业科技, 2019, 40(22): 120-124.

我国是花生生产大国, 每年近一半以上的花生用于榨油, 故每年能产生上百万吨的花生粕^[1-2]。花生粕含有丰富的蛋白质、糖类、膳食纤维和矿物质等营养物质^[3-4], 但是由于花生粕是在高温高压的条件下产生的, 其中的蛋白质和多糖易产生美拉德反应, 其营养价值与功能特性受到不同程度的影响^[5-7], 大大降低了其利用率。根据国家统计局公布的数据显示, 我国每年花生粕大多作为饲料, 花生粕利用的附加值低, 资源浪费严重^[8-9]。因此研究花生粕资源的高值化利用具有重要意义。

目前国内外采用微生物发酵的方式来提高原料的利用率和质量, 人们对微生物发酵技术的关注度

日益提高^[10-11], 微生物发酵不仅可以改变发酵物的风味和质地, 并且可以增加生物活性物质^[12]。对于发酵方式而言, 固态发酵的方式已从单菌发酵向混合菌发酵的方向发展^[13]。混菌发酵过程中, 不同微生物间具有互补性和协同性, 使酶促反应更加全面, 并且能同时得到多种生物活性物质^[14]。纳豆芽孢杆菌具有多种功能性活性物质, 其中的纳豆激酶具有降血栓, 预防和治疗心脑血管疾病和降血脂等功能^[15-17]。红曲具有活血祛瘀、化浊降脂等功能, 含有的 γ -氨基丁酸具有明显的降血压的作用, 并且是大脑的一种化学传递物质, 可以调节大脑兴奋与抑制等作用^[18-20]。但是目前利用纳豆芽孢杆菌和红曲霉

收稿日期: 2019-03-25

作者简介: 姜晓阳(1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 营养与疾病, E-mail: jxy9411011225@163.com。

* 通讯作者: 胡迎芬(1962-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 天然产物的开发利用及功能性, E-mail: qingdahyf2006@163.com。

基金项目: 山东省科技发展规划项目(2014GSF120011)。

混菌发酵的研究鲜有报道。

本研究以花生粕为原料,利用纳豆芽孢杆菌和红曲霉进行固态混菌发酵,以发酵物中纳豆激酶(NK)的活力和 γ -氨基丁酸的(GABA)含量为指标,探究发酵温度、发酵时间、料水比、菌种比例(纳豆芽孢杆菌:红曲霉)及接种量对发酵效果的影响,以确定最佳的发酵工艺条件。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

纳豆芽孢杆菌 分离于日本高野纳豆,由青岛大学食品工程实验室保存;红曲霉 来自于青岛大学食品工程实验室保存的菌种;花生粕 由青岛嘉里植物油厂提供;干酪素、 γ -氨基丁酸、氢氧化钠、硫酸铜、次氯酸钠、无水碳酸钠等试剂 均为国产分析纯。

721G 可见分光光度计 上海精密仪器有限公司; YXQ-LS-50SH 灭菌锅 上海博迅实验有限公司; CR21GIII 高速冷冻离心机 日本 Hitachi 有限公司; CHA-S 恒温振荡器 常州国宇仪器制造有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 培养基配制 纳豆芽孢杆菌液体培养基:蛋白胨 1.0%,牛肉膏 0.5%,氯化钠 0.3%,葡萄糖 1.0%,酵母膏 0.5%;红曲霉液体培养基:牛肉膏 3.0%,蛋白胨 0.8%,硝酸钠 0.8%,葡萄糖 3.0%,硫酸镁 0.1%,丙三醇 7.0%;固态发酵培养基:花生粕(湿重)10 g,蔗糖 0.15 g,硫酸镁 0.021 g,磷酸氢二钾 0.1 g,氯化钙 0.027 g,水根据试验设计要求添加,121 ℃高压灭菌 20 min。

1.2.2 种子液的制备 纳豆芽孢杆菌经斜面活化后刮入1~2环接入液体培养基中,37 ℃、160 r/min 的条件下振荡培养 18 h 作为发酵种子液,备用;红曲霉菌经过斜面活化后,加入 5 mL 蒸馏水,用无菌刮子将孢子轻轻挂下,按 2% 的比例接入装有 50 mL 培养基中于 30 ℃,150 r/min 摇床培养 4~5 d,制成发酵种子液,备用。

1.2.3 工艺流程 花生粕固体培养基经高压灭菌后,冷却至室温。在无菌条件下,将纳豆芽孢杆菌种子液和红曲霉种子液按一定比例混合喷洒于培养基中搅拌均匀,纱布封口,发酵后,加入一定量的水,4 ℃浸提 2 h,4000 r/min 离心 15 min,取上清液备用。

1.2.4 单因素实验 固定发酵条件:自然 pH 下,发酵温度为 34 ℃,发酵时间为 70 h,料水比(W/V) 1:0.5 g/mL,菌种比例(纳豆芽孢杆菌:红曲霉)为 1:1,接种量为花生粕(湿重)的 8%;依次改变发酵温度、发酵时间、料水比、菌种比例和接种量,考察各单因素对纳豆激酶活力与 γ -氨基丁酸含量的影响。各因素研究的水平设置分别为:发酵温度:28、31、34、37、40 ℃;发酵时间:34、46、58、70、82、94 h;料水比:1:0.2、1:0.3、1:0.4、1:0.5、1:0.6 g/mL;菌种比例(纳豆芽孢杆菌:红曲霉):1:3、1:2、1:1、2:1、3:1;接种量:2%、4%、6%、8%、10%。

1.2.5 正交试验设计 根据单因素实验结果,选择温度、时间、料水比、菌种比例和接种量等影响较为显著的因素进行正交试验,实验设计见表 1。

表 1 因素水平表

Table 1 Factor level table

水平	因素				
	A 温度 (℃)	B 时间 (h)	C 料水比 (g/mL)	D 菌种 比例	E 接种量 (%)
1	31	46	1:0.3	1:2	4
2	34	58	1:0.4	1:1	6
3	37	70	1:0.5	2:1	8

1.2.6 测定方法

1.2.6.1 纳豆激酶活力(NK)的测定 采用 Folin 酚法^[21-22]测定。酶活力单位的定义:温度为 40 ℃,环境 pH7.5 的条件下,1 min 水解酪蛋白产生 1 μ g 酪氨酸的纳豆激酶量为一个酶活力单位,以 1 U/g 表示。

纳豆激酶活力计算公式:

$$X = (A_{\text{样}} - A_{\text{对}}) \times K \times \frac{V}{T} \times N$$

其中:X 为纳豆激酶的活力,U/g;A_样 为样品液的光吸收值 OD₆₈₀;A_对 为对照液的光吸收值 OD₆₈₀;K 为标准曲线上光吸收值为 1 时的酪氨酸含量, μ g;V 为酶促反应的总体积,mL;T 为酶促反应的时间,min;N 为粗酶液的稀释倍数。

1.2.6.2 γ -氨基丁酸(GABA)含量的测定 采用 Berthelot 比色法^[23]进行测定。 γ -氨基丁酸含量的计算公式:

$$Y = \frac{m \times r \times q}{M}$$

其中:Y 为花生粕中 GABA 含量,mg/g;m 为样品液中 GABA 含量,mg/mL;r 为样品液的总体积,mL;q 为稀释倍数;M 为花生粕的质量,g。

1.2.6.3 抗氧化活性的测定 羟自由基清除率^[24]、DPPH^[25]、铁还原力^[26]等按照文献进行测定。

1.3 数据处理

采用 Origin 8.0 和 Excel 制图,SPSS 20.0 对数据进行处理。

2 结果与分析

2.1 酶活的标准曲线

纳豆激酶活力标准曲线见图 1,回归方程为 $y = 0.0072x - 0.0029$, $R^2 = 0.9987$ 。

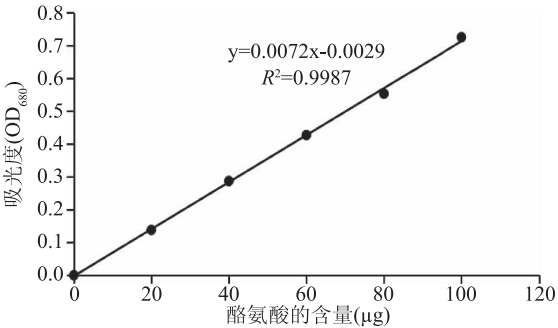
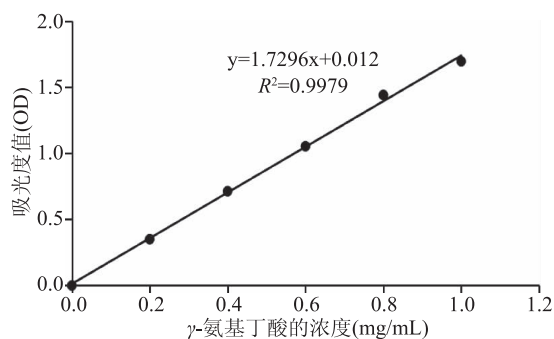


图 1 纳豆激酶活力标准曲线

Fig.1 Nattokinase activity standard curve

2.2 γ -氨基丁酸的标准曲线

γ -氨基丁酸的标准曲线见图 2,回归方程为 $y = 1.7296x + 0.012$, $R^2 = 0.9979$ 。

图2 γ -氨基丁酸标准曲线Fig.2 Standard curve of γ -aminobutyric acid

2.3 单因素实验结果

2.3.1 发酵温度对发酵效果的影响 由图3可以看出,在28~40℃,NK先上升后下降的趋势,当发酵温度为34℃时达到最高;GABA也呈先上升后下降的趋势,34℃达到最高,这可能是因为菌种的生长对温度要求较高,特别是混合菌种,在适宜温度范围内,纳豆芽孢杆菌和红曲霉才能快速生长繁殖,产生大量的蛋白酶和 γ -氨基丁酸。综合发酵温度对这2个指标的影响,确定31~37℃作为正交试验发酵温度范围。

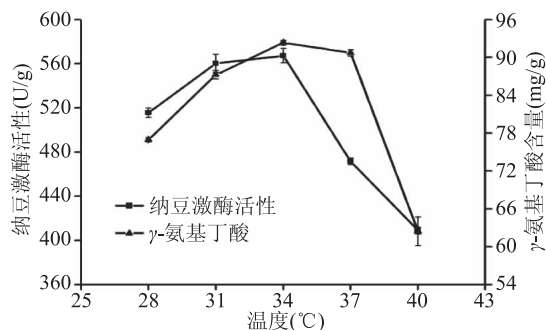


图3 发酵温度对发酵效果的影响

Fig.3 Effect of fermentation temperature on fermentation efficacy

2.3.2 发酵时间对发酵效果的影响 由图4可以看出,在34~94h,NK先上升后下降的趋势,当发酵时间为58h时达到最高,在发酵初期,纳豆芽孢杆菌大量生长繁殖,分泌的酶量多,随着发酵时间的延长,分泌量逐渐降低;GABA的发展趋势与NK相似,这可能是随着培养时间延长,菌种进入衰亡期,菌分泌的代谢产物逐渐减少。综合发酵时间对这2个指标的影响,确定46~70h作为正交试验发酵时间范围。

2.3.3 料水比对发酵效果的影响 由图5可以看出,最适的料水比是1:0.4 g/mL,在此条件下,NK活性和GABA含量均达到最大。固态发酵过程中水分是一个至关重要的因素,水分含量的高低影响着营养物质的溶解和培养基的透气性,从而影响菌种的生长。故选择1:0.3~1:0.5 g/mL作为正交试验的水平范围。

2.3.4 菌种比例对发酵效果的影响 由图6可以看出,最适的菌种比例(纳豆芽孢杆菌:红曲霉)是1:1。菌种混合比例对花生粕发酵产物的影响较为明显。随着纳豆芽孢杆菌:红曲霉比例的增加,NK和GABA均呈现先增加后降低的趋势,纳豆芽孢杆菌:红曲霉为1:1时达到最高点。原因可能是无论哪种菌种比

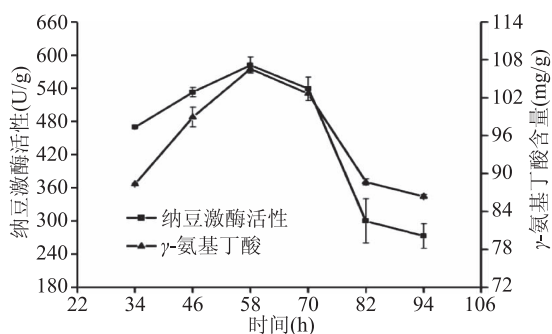


图4 发酵时间对发酵效果的影响

Fig.4 Effect of fermentation time on fermentation efficacy

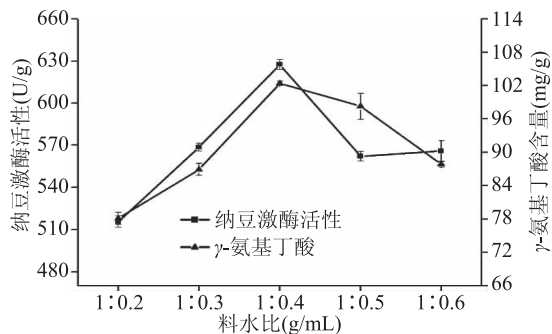


图5 料水比对发酵效果的影响

Fig.5 Effect of material-water ratio on fermentation efficacy

例多,对相互的生长有明显的抑制作用,影响了生物活性物的分泌。故选择菌种比例(纳豆芽孢杆菌:红曲霉)1:2~2:1作为正交试验的水平范围。

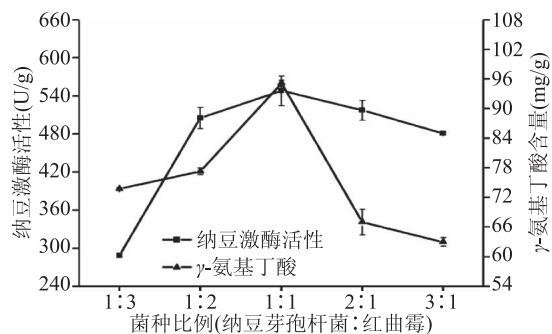


图6 菌种比例对发酵效果的影响

Fig.6 Effect of strain ratio on fermentation efficacy

2.3.5 接种量对发酵效果的影响 由图7显示可知,接种量在2%~10%的范围内,NK和GABA含量基本上都是先上升后下降的趋势,6%的接种量最高。随着接种量的增加,两种菌分泌的活性物较多,能较好的利用底物的营养物质,故所产生的发酵物慢慢增加,在达到6%之后,出现逐渐下降的趋势,可能是由于菌量的增加,消耗的营养物质较多,导致菌的生长受到了影响。综合该因素对纳豆激酶活力和 γ -氨基丁酸含量的影响,选择4%~8%作为正交试验水平范围。

2.4 正交试验的结果

在单因素实验基础上,设计 $L_{18}(3^5)$ 的正交试验,优化最佳发酵工艺参数组合。正交试验的结果如表2所示。

表2 正交试验设计及结果
Table 2 Orthogonal test design and results

试验号	A	B	C	D	E	NK(U/g)	GABA(mg/g)
1	1(31℃)	1(46 h)	1(1:0.3)	1(1:2)	1(4%)	512.94	103.93
2	1	2(58 h)	2(1:0.4)	2(1:1)	2(6%)	652.05	99.35
3	1	3(70 h)	3(1:0.5)	3(2:1)	3(8%)	474.72	94.02
4	2(34℃)	1	1	2	2	621.00	98.41
5	2	2	2	3	3	521.64	98.62
6	2	3	3	1	1	439.53	100.84
7	3(37℃)	1	2	1	3	460.93	88.94
8	3	2	3	2	1	356.90	79.69
9	3	3	1	3	2	460.23	60.35
10	1	1	3	3	2	614.79	100.93
11	1	2	1	1	3	585.12	100.60
12	1	3	2	2	1	552.00	91.28
13	2	1	2	3	1	554.76	106.16
14	2	2	3	1	2	440.91	99.08
15	2	3	1	2	3	422.97	102.26
16	3	1	3	2	3	374.67	84.63
17	3	2	1	3	1	394.11	88.58
18	3	3	2	1	2	501.63	86.92
NK	K ₁ 565.270	523.182	499.395	490.177	468.373		
	K ₂ 500.135	491.788	540.502	496.598	548.435		
	K ₃ 424.745	475.180	450.253	503.375	473.342		
	R 140.525	48.002	90.249	13.198	80.062		
GABA	K ₁ 98.352	97.167	92.355	96.718	95.080		
	K ₂ 100.895	94.320	95.212	92.603	90.840		
	K ₃ 81.518	89.278	93.198	91.443	94.845		
	R 19.377	7.889	2.857	5.275	4.240		

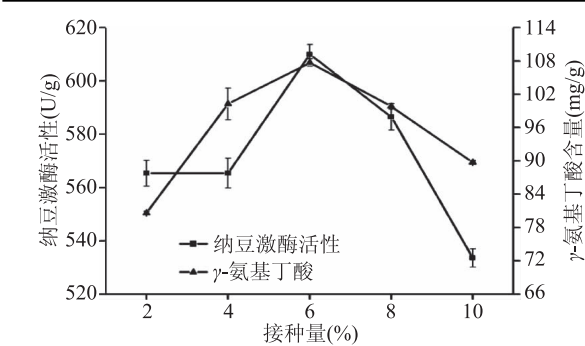


图7 接种量对发酵效果的影响

Fig.7 Effect of inoculum size on fermentation efficacy

由表2可以看出,正交试验各因素对花生粕发酵物中纳豆激酶活力影响程度大小顺序依次为:温度>料水比>接种量>时间>菌种比例,得到的最佳工艺参数:A₁B₁C₂D₃E₂,即温度31℃,时间46 h,料水比1:0.4 g/mL,菌种比例(纳豆芽孢杆菌:红曲霉)2:1,接种量6%。对γ-氨基丁酸含量的影响程度大小顺序依次为:温度>时间>菌种比例>接种量>料水比,得到的最佳工艺参数是:A₂B₁C₂D₁E₁,即温度34℃,时间46 h,料水比1:0.4 g/mL,菌种比例(纳豆芽孢杆菌:红曲霉)1:2,接种量4%。

由表2可知,以发酵花生粕中纳豆激酶活力和γ-氨基丁酸含量为指标,进行正交试验得到的最佳

工艺参数有所不同,各个指标的各个因素具有不同的影响程度。综合考虑单因素实验、正交试验结果及经济性等方面,主要以纳豆激酶活性为主要参考指标。通过分析,时间为46 h和料水比为1:0.4 g/mL对于两个指标都是最佳的水平,其他的指标以纳豆激酶活性为主要参考,温度31℃,菌种比例(纳豆芽孢杆菌:红曲霉)2:1,接种量6%作为指标的最佳水平,即A₁B₁C₂D₃E₂。由于筛选出的最佳组合不在实验设计中,需要做实验进行验证。

将A₁B₁C₂D₃E₂进行三次平行验证,得到发酵液中NK的活力为(844.56±13.80)U/g, GABA含量为(105.25±0.25)mg/g,此结果优于其他试验的结果,原因为对于NK的活力而言A₁B₁C₂D₃E₂组合中发酵时间短,菌种比例中纳豆芽孢杆菌所占的比例较多,多种因素综合起来有利于NK的活力;另外通过正交试验分析温度在31和34℃下GABA含量均高,而A₁B₁C₂D₃E₂和A₂B₁C₂D₃E₁中时间、料水比和菌种比例均相同,所以测得GABA的含量相差不大。因此A₁B₁C₂D₃E₂为最佳的工艺条件,即温度31℃,时间46 h,料水比1:0.4 g/mL,菌种比例(纳豆芽孢杆菌:红曲霉)2:1,接种量6%。在此条件下对羟自由基清除率为68.46%±0.16%,对DPPH·清除率为76.98%±0.95%,铁还原力的OD值为0.481。

3 结论

以发酵花生粕中的纳豆激酶活力和 γ -氨基丁酸的含量为指标,通过单因素实验和正交试验,优化纳豆芽孢杆菌和红曲霉混合菌固体发酵花生粕的工艺参数为:温度 31℃,时间 46 h,料水比 1:0.4 g/mL,菌种比例(纳豆芽孢杆菌:红曲霉)2:1,接种量 6%,测得 NK 的活力为 (844.56 ± 13.80) U/g, GABA 含量为 (105.25 ± 0.25) mg/g,对羟自由基清除率为 68.46% $\pm$ 0.16%,对 DPPH·清除率为 76.98% $\pm$ 0.95%,铁还原力的 OD 值为 0.481。

利用纳豆芽孢杆菌和红曲霉混菌发酵花生粕,不仅能获得纳豆激酶,还可以得到 γ -氨基丁酸、抗氧化肽等功能性的生物活性物,提高花生粕的附加值,为花生产业的发展提供了新的思路。

参考文献

- [1] 李建军,蔡桢,汪天明,等.花生粕营养成分分析[J].安徽农业科学,2012,40(7):3999-4000.
- [2] 赵强,赵三虎,赵二劳.花生粕中功能活性成分提取工艺研究进展[J].中国粮油学报,2018(7):138-146.
- [3] Shen N, Qin Y, Wang Q, et al. Production of succinic acid from sugarcane molasses supplemented with a mixture of corn steep liquor powder and peanut meal as nitrogen sources by *Actinobacillus succinogenes* [J]. Letters in Applied Microbiology, 2015, 60(6):544-551.
- [4] 于森,王小鹤,鲁明.花生加工及其副产物利用研究[J].农业科技与装备,2013(7):55-57.
- [5] 宁庆鹏.花生粕功能多肽的研究[D].太原:山西大学,2016.
- [6] 刘庆芳,蒋竹青,贾敏,等.花生粕综合利用研究进展[J].食品研究与开发,2017(7):202-205.
- [7] Guanghui Z, Yujie C, Qing K, et al. Detoxification of Aflatoxin B1 by *Zygosaccharomyces rouxii* with solid state fermentation in peanut meal[J]. Toxins, 2017, 9(1):42.
- [8] 柳杰,张晖,王立,等.花生粕固态发酵生产高蛋白饲料菌种的筛选[J].中国油脂,2010,35(6):16-18.
- [9] Tong Pan, Hongyu Xiang, Taotao Diao, et al. Effects of probiotics and nutrients addition on the microbial community and fermentation quality of peanut hull[J]. Bioresource Technology, 2019, 273:144-152.
- [10] 冯林.微生物发酵工程的应用[J].数字化用户,2016

(上接第 119 页)

- properties of probiotic and pathogen strains [J]. European Food Research and Technology, 2008, 226:1065-1073.
- [12] Bernet M F, Brassar T D, Neeser J R, et al. Adhesion of human bifidobacterial strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen cell interactions [J]. Applied Environmental Microbiology, 1993, 59(12):4121-4128.
 - [13] 张红丹,杜茜,张正坤,等.放线菌 769 抑菌谱及液体培养生长曲线的测定[J].中国植保导刊,2010,30(7):5-9.
 - [14] Kos B, Suskovic J, Vukovic S, et al. Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92 [J].

(46):117-119.

- [11] 韩丙倩,管军军,杨国浩,等.一步法混菌固态发酵豆粕的工艺研究[J].中国油脂,2014(1):19-22.
- [12] 熊玮彦.微生物发酵作用对传统酿造食品的安全性影响[J].广东科技,2013(16):260-261.
- [13] 陈文伟,黄光荣,贾振宝,等.非水相中热反应型花生香精的制备[J].中国油脂,2013,38(12):67-71.
- [14] 陈曦,赵建国.混株发酵混合酒糟生产含酶蛋白饲料的研究[J].中国酿造,2006(5):30-33.
- [15] 容艳筠,邓毛程.纳豆芽孢杆菌在食品中的研究现状和应用进展[J].技术与市场,2017(7):146-147.
- [16] 高雄瑞,闫巧珍,邢颖,等.冷榨核桃粕固态发酵制备纳豆激酶[J].中国食品学报,2018,18(3):103-113.
- [17] Meng Y, Dong G, Zhang C, et al. Calcium regulates glutamate dehydrogenase and poly- γ -glutamic acid synthesis in *Bacillus natto* [J]. Biotechnology Letters, 2016, 38(4):673-679.
- [18] 刘栋,王萍,周智伟,等.红曲霉发酵青稞中添加辅料对 γ -氨基丁酸含量的影响[J].粮油食品科技,2018,26(1):68-72.
- [19] Lu W, Xu X. Research status and application prospects of *Monascus* sp [J]. Agricultural Science & Technology, 2015, 16(1):192-196.
- [20] Zhang Y, Dong H T, Duan L, et al. HDAC4 gene silencing alleviates epilepsy by inhibition of GABA in a rat model [J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2019, 15:405-416.
- [21] 魏晖,马川兰.纳豆生产中油脂对枯草杆菌产纳豆激酶的影响研究[J].中外食品工业(下),2014(4):1-3.
- [22] 李小丽.纳豆芽孢杆菌分离及纳豆激酶活性的研究[D].合肥:安徽农业大学,2009.
- [23] 胡珊,王小波,戴甄,等.产 γ -氨基丁酸红曲菌种的筛选及其发酵工艺条件研究[J].食品与发酵科技,2011,47(4):64-67.
- [24] 明强强.微生物固态发酵花生粕制备抗氧化肽的研究[D].济南:山东师范大学,2014.
- [25] 崔燕玲,张慧敏,袁杨,等.花生粕酵解物及其美拉德产物的抗氧化性能分析[J].食品研究与开发,2018,39(4):20-25.
- [26] Terlabie N N, Sakyi-Dawson E, Amoah-Awua W K. The comparative ability of four isolates of *Bacillus subtilis* to ferment soybeans into dawadawa [J]. International Journal of Food Microbiology, 2006, 106(2):145-152.

Applied Microbiology and Biotechnology, 2003, 94:981-987.

- [15] 向鑫玲,张英春,马放,等.乳酸杆菌的表面特性及其黏附能力的研究[J].食品工业科技,2016,37(7):126-130,136.
- [16] 李清,刘小莉,王英,等.植物乳杆菌表面性质及对 Caco-2 细胞的黏附[J].食品科学,2015,36(9):97-101.
- [17] Shakirova L, Grube M, Gavare M, et al. *Lactobacillus acidophilus* La5 and *Bifidobacterium lactis* Bb12 cell surface hydrophobicity and survival of the cells under adverse environmental conditions [J]. J Ind Microbiol Biot, 2013, 40(1):85-93.