

杜 磊,杨利玲,孔雪丽. 高产香乳酸菌菌株的选育[J]. 江苏农业科学,2017,45(21):285-288.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.21.080

高产香乳酸菌菌株的选育

杜 磊,杨利玲,孔雪丽

(安阳工学院生物与食品工程学院,河南安阳 455000)

摘要:以从市售酸奶花花牛中分离出的 10 株保加利亚乳杆菌和 10 株嗜热链球菌为研究对象,通过紫外诱变后,采用碘滴定法和邻苯二胺比色法,筛选出高产乙醛和高产双乙酰的菌株,最终确定最佳诱变参数为紫外照射波长 365 nm、垂直照射距离 15cm、照射时间为 120 s。筛选出的高产乙醛菌株为 L-2.2、L-2a、L-2D 菌株,产乙醛量分别为 13.51、16.52、14.46 $\mu\text{g/mL}$,相比出发菌株(12.65 $\mu\text{g/mL}$)分别增加了 6.8%、30.6%、14.3%。筛选出的高产双乙酰菌株为 S-1.4、S-1d 菌株,产双乙酰量分别为 3.36、4.16 $\mu\text{g/mL}$,相比出发菌株(2.96 $\mu\text{g/mL}$)分别增加了 13.5%、40.5%。通过对酸奶中保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌这 2 株主要产香菌株产香特性的研究,为高产香酸奶的生产提供了理论依据。

关键词:保加利亚乳杆菌;嗜热链球菌;紫外诱变;乙醛;双乙酰

中图分类号: TS252 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)21-0285-04

近年来,随着科学技术和人民生活水平的提高,人们对酸奶营养成分的关注意识逐步增强,对酸奶的外观特性(风味、口感、品质)也是越来越重视。但是酸奶具有良好的风味和营养价值,这无疑使其在快节奏的生活中占据了越来越重要的地位。各种各样的添加剂赋予了酸奶良好的风味,但是人们更为担心的是这些添加剂会给人带来的负面影响,于是对乳酸菌的品质提出了更高要求。菌株的发酵性能直接影响到酸奶的发酵质量,对酸奶的产香也有很大的影响。应用于乳制品加工的发酵微生物主要是乳酸菌,构成牛乳主体香味的

物质主要是双乙酰、乙醛、二甲硫醇、脂肪酸、酮类、内酯等。其中,对乳制品香味起到主要调节作用的是双乙酰和乙醛。嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌分别为双乙酰和乙醛的主要产生菌种^[1-2]。本研究选取从市售酸奶中分离筛选出的产香性能较好的保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌作为出发菌株,通过紫外诱变,筛选出高产香菌株,并将其应用于酸奶发酵中,提高酸奶的品质。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

菌株:从市售花花牛酸奶中分离得到保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌。主要试剂:脱脂乳粉,食品级,内蒙古伊利实业集团股份有限公司;花花牛酸奶,食品级,河南花花牛乳业有

收稿日期:2016-06-20

基金项目:安阳工学院农产品加工与贮藏重点学科项目。

作者简介:杜 磊(1980—),男,河南安阳人,硕士,讲师,主要从事乳制品研究。E-mail:ayspwsx@163.com。

[12] Delgado J A. Quantifying the loss mechanisms of nitrogen [J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2002, 57(6): 389-398.

[13] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京:中国农业出版社, 2000.

[14] Singh J S, Raghubanshi A S, Singh R S, et al. Microbial biomass acts as a source of plant nutrients in dry tropical forest and savanna [J]. Nature, 1989, 338(6215): 499-500.

[15] 张春霞,郝明德,魏孝荣,等. 不同农田生态系统土壤微生物生物量碳的变化研究[J]. 中国生态农业学报, 2006, 14(1): 81-83.

[16] Srivastava S C, Singh J S. Microbial C, N and P in dry tropical forest soils: effects of alternate land - uses and nutrient flux [J]. Soil Biology & Biochemistry, 1991, 23(2): 117-124.

[17] Galloway J N, Aber J D, Erisman J W, et al. The nitrogen cascade [J]. Bioscience, 2003, 53(4): 341-356.

[18] Zheng H, Wang Z, Deng X, et al. Impacts of adding biochar on nitrogen retention and bioavailability in agricultural soil [J]. Geoderma, 2013, 206(9): 32-39.

[19] 周桂玉, 窦 森, 刘世杰. 生物炭结构性质及其对土壤有效养分和腐殖质组成的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(10): 2075-2080.

[20] Lehmann J, da Silva J J P, Steiner C, et al. Nutrient availability and leaching in an archaeological anthrosol and a ferralsol of the central amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments [J]. Plant and Soil, 2003, 249(2): 343-357.

[21] Thies J E, Rillig M C. Characteristics of biochar: biological properties [J]. Biochar for Environmental Management, 2009: 85-105.

[22] 高德才, 张 蕾, 刘 强, 等. 旱地土壤施用生物炭减少土壤氮损失及提高氮素利用率[J]. 农业工程学报, 2014, 30(6): 54-61.

[23] Sparling G P. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter [J]. Soil Research, 1992, 30(2): 195-207.

[24] Smith J L, Paul E A, Lefroy R D B, et al. The significance of soil microbial biomass estimations [M]// Bollag J M, Stotzky G. Soil Biochemistry. New York: Marcel Dekker, 1990: 359-396.

[25] 何振立. 土壤微生物量及其在养分循环和环境质量评价中的意义[J]. 土壤, 1997, 29(2): 61-69.

[26] 赵先丽, 程海涛, 吕国红, 等. 土壤微生物生物量研究进展[J]. 气象与环境学报, 2006, 22(4): 68-72.

限公司;葡萄糖,分析纯,天津北辰方正试剂厂;吐温 80、胰蛋白胨、牛肉膏、酵母浸膏,生物试剂,北京奥博星生物技术有限责任公司;磷酸氢二钾、硫代硫酸钠,分析纯,天津市北方化玻购销中心;乙酸钠,分析纯,北京北化化学品有限责任公司;硫酸镁,分析纯,北京 57601 化工厂;硫酸锰,分析纯,河南焦作市化工三厂;邻苯二胺,分析纯,三远化工有限公司。

1.2 仪器与设备

DZKW-S 电热恒温水浴锅,上海新苗医疗器械制造有限公司;LDZH-100KBS 立式压力蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂;XSP-1C 电子显微镜,浙江宁波市镇海中华电子仪表厂;ZXGP-A2160 电热恒温培养箱,上海智城分析仪器制造有限公司;TU-1810DASPC 分光光度计,上海精密科学仪器有限公司;22331 超高速冷冻离心机,德国艾本德股份公司;SW-CJ-2FD 垂直流双人单面超净工作台,上海新苗医疗器械制造有限公司;CBIO-UV8C 紫外线诱变箱,北京赛百奥科技有限公司。

1.3 试验方法

该试验的具体技术路线如下:从酸奶中分离出保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌^[3-5],从中选出产双乙酰和乙醛较好的菌株,经过增菌培养富集菌体,再离心获得菌体^[6],通过不同条件的紫外线诱变^[7-14]得到诱变菌株,并对其产香性能进行测定^[15-20],选出优良产香菌株。

1.3.1 主要培养基

1.3.1.1 脱脂乳培养基配制方法 按 1 g : 10 mL 的比例将适量的脱脂乳粉加蒸馏水溶解,密封置于灭菌锅中 115 °C 蒸汽灭菌 10 ~ 15 min,经高压灭菌后置于冰箱中备用。

1.3.1.2 MRS 培养基 固体 MRS 培养基:胰蛋白胨 10 g,酵母浸膏 5 g,牛肉膏 10 g,琼脂 20 g,磷酸氢二钾 2 g,乙酸钠 5 g,葡萄糖 20 g,吐温 80 1 mL,硫酸镁 0.58 g,硫酸锰 0.25 g,蒸馏水 1 L,121 °C 高压灭菌 20 min。液体 MRS 培养基的配制参照固体培养基,将上述固体 MRS 培养基中的琼脂去掉。

1.3.1.3 M17 培养基 固体 M17 培养基:胰蛋白胨 5 g,牛肉膏 5 g,酵母浸膏 5 g,硫酸镁 0.25 g,甘油 10 g,乳糖 3 g,磷酸氢二钾 5 g,琼脂 20 g,蒸馏水 1L。液体 M17 培养基只需将上述固体 M17 培养基中的琼脂去掉。

1.3.2 菌种分离 将菌种稀释成不同稀释梯度的菌悬液。用移液枪分别吸取 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 3 个试管中的菌悬液 0.1 mL 滴在 MRS、M17 2 种固体培养基表面中央位置,用无菌玻璃涂布棒将菌液均匀涂开,静置数分钟,使菌液浸入培养基。将平板倒置,放入恒温培养箱中 37 °C 培养 2 d。

1.3.3 保加利亚乳杆菌的诱变前准备 用上步中得到的保加利亚乳杆菌菌株制作发酵剂,并活化 3 代,以 2% 接种量将菌种接入灭菌脱脂乳中,37 °C 培养 16 h^[20],通过检测脱脂乳的酸度、产乙醛的量,确定产香性能好的菌株作为出发菌株。将纯化的出发保加利亚乳杆菌菌种接种至配制的 MRS 液体培养基。37 °C 培养 24 h 后每隔 4 h 取出 2 个试管作为平行组,滴定检测其酸度,绘制保加利亚乳杆菌的生长曲线。根据上述绘制的生长曲线,选取对数生长之后的保加利亚乳杆菌培养液,在 4 °C 下 4 000 r/min 离心 20 min,弃去上清液,用无菌水洗涤菌体,收集菌体并倒入平板,为诱变做准备。

1.3.4 保加利亚乳杆菌的紫外诱变 (1)将倒入平板的菌液于垂直距离紫外灯 20 cm 处下开盖照射 120 s,紫外线波长分别为 254、365 nm。(2)将倒入平板的菌液在波长为 365 nm 的情况下,竖直距离紫外灯 15、20 cm 处照射 120 s 诱变。(3)将倒入平板的菌液于波长为 365 nm,距离紫外灯 20 cm 处,分别照射 60、120、180 s。将未经照射的和经过紫外照射的菌液分别计数,计算致死率。致死率 = [(未照射菌数 - 照射后菌数) / 未照射菌数] × 100%。从致死率 90% 左右的平板中,挑选 5 个单菌落,接种至脱脂乳中培养至凝乳,测定产乙醛性能。

1.3.5 嗜热链球菌的产香性能测定 将分离纯化得到的嗜热链球菌疑似菌株,活化 3 代后,接种至脱脂乳,42 °C 培养 14 h 后^[1],检测产双乙酰的量,确定产双乙酰量最多的作为出发菌株。

1.3.6 嗜热链球菌的诱变前准备及诱变 嗜热链球菌的诱变前准备方法与保加利亚乳杆菌相同,只是将 MRS 培养基改为 M17 培养基。嗜热链球菌接下来的操作参照保加利亚乳杆菌的处理。

1.4 评价指标测定方法

保加利亚乳杆菌乙醛产量的检测参照刘鹏等的检测方法^[20]。嗜热链球菌双乙酰产量的检测参照王丹等的检测方法^[17]。用吉尔涅尔度(°T)来表示滴定酸度。采用 MRS 培养基、M17 培养基测定酸奶中乳酸菌总菌数。吸光度的测量采用分光光度计,波长 335 nm。

2 结果与分析

2.1 菌种分离

通过菌种分离,得到了保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌。分离效果见图 1、图 2。

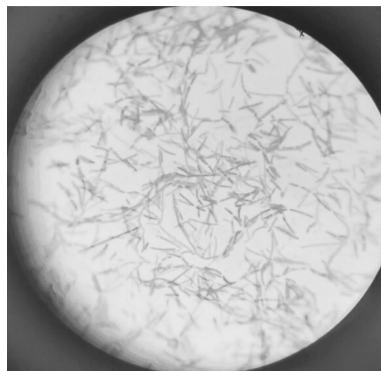


图1 分离出的保加利亚乳杆菌

2.2 保加利亚乳杆菌的诱变与检测

2.2.1 保加利亚乳杆菌产香菌株的初步筛选 从纯化后的平板上取 10 个疑似目标菌落,活化 3 代以后,分别接种至脱脂乳培养基中,37 °C 培养 16 h,检测其产乙醛的情况(表 1)。从表 1 可以看出,2 号菌株的产乙醛量明显优于其他菌株,为 $(12.65 \pm 0.17) \mu\text{g/mL}$,确定 2 号菌株为出发菌株。

2.2.2 保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌生长曲线的绘制 保加利亚乳杆菌的生长曲线见图 3。从图 3 可以看出,单个菌种的生长曲线都呈现先增加后平缓的趋势,并且 2 个菌种都是在 32 h 左右滴定酸度的变化不再明显,可以确定 32 h 为菌

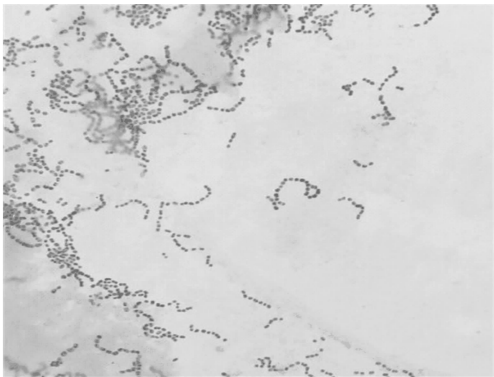


图2 分离出的嗜热链球菌

表 1 不同保加利亚乳杆菌的产乙醛情况

菌株编号	产乙醛量(μg/mL)
L-1	4.50±0.16
L-2	12.65±0.17
L-3	8.80±0.10
L-4	4.40±0.14
L-5	7.90±0.10
L-6	10.10±0.12
L-7	4.40±0.04
L-8	6.42±0.17
L-9	7.10±0.14
L-10	9.82±0.14

种繁殖量最大的时间点。选取 32 h 作为制备菌悬液的最佳时间。

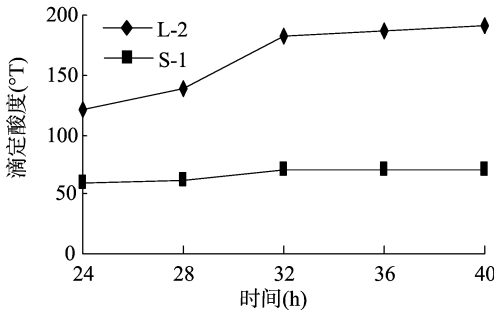


图3 L-2、S-1菌株滴定酸度随时间的变化

2.2.3 保加利亚乳杆菌的紫外诱变 按照前述的诱变方法，保加利亚乳杆菌的诱变结果见表 2。随着紫外波长的增大，致死率逐渐增大，因此选择致死率最大的 365 nm 为最佳诱变剂量；垂直诱变距离为 15 cm 时的致死率相对较高，为 93.5%，因此选择 15 cm 为最佳诱变剂量；诱变时间为 120 s 时致死率相对较高，为 98.4%，而且菌株生长更好，因此选择 120 s 为最佳诱变剂量。综上所述，保加利亚乳杆菌的最佳诱变参数为紫外波长 365 nm、垂直诱变距离 15 cm、诱变时间 120 s。

2.2.4 诱变之后保加利亚乳杆菌的产香检测 从诱变后筛选出的高死亡率的平板中分别挑出 5 个保加利亚乳杆菌菌株，接种至脱脂乳中活化 3 代，然后按 2% 的剂量接种到脱脂乳培养基，37℃下培养 16 h，菌株的产香情况见表 3。从表 3 可以看出，诱变波长为 365 nm 时，菌株的产乙醛量有升高也

表 2 紫外诱变对保加利亚乳杆菌的影响

紫外诱变条件			诱变后菌落数 (CFU/mL)	致死率 (%)
波长(nm)	距离(cm)	时间(s)		
254	20	120	8.2×10 ⁷	80.9
365	20	120	3.8×10 ⁶	99.1
365	15	120	2.8×10 ⁷	93.5
365	20	120	8.5×10 ⁷	80.2
365	20	60	1.4×10 ⁸	67.4
365	20	120	6.8×10 ⁶	98.4
365	20	180	7.9×10 ⁷	81.6

注：初始菌落数为 4.3×10⁸ CFU/mL。

表 3 不同诱变条件下保加利亚乳杆菌产乙醛量比较

紫外波长 365 nm		诱变距离 15 cm		诱变时间 120 s	
菌株号	产乙醛量 (μg/mL)	菌株号	产乙醛量 (μg/mL)	菌株号	产乙醛量 (μg/mL)
L-2.1	8.90±0.16	L-2a	16.52±0.12	L-2A	12.56±0.18
L-2.2	13.51±0.10	L-2b	15.25±0.06	L-2B	14.25±0.02
L-2.3	11.40±0.14	L-2c	13.50±0.10	L-2C	11.80±0.14
L-2.4	6.40±0.10	L-2d	14.31±0.06	L-2D	14.46±0.08
L-2.5	12.35±0.12	L-2e	16.45±0.08	L-2E	13.32±0.06

有降低，其中 L-2.1、L-2.4 的产乙醛量较出发菌株均下降；菌株 L-2.2 的产乙醛量相对较高，为最佳菌株。诱变距离为 15 cm 时，保加利亚乳杆菌的产乙醛量均有上升，其中菌株 L-2a 的产乙醛量最高，确定为最佳菌株。诱变时间为 120 s 时，保加利亚乳杆菌的产乙醛量有升高也有降低，其中菌株 L-2D 的产乙醛量最高，菌株 L-2C 的产乙醛量下降，确定 L-2D 为最佳菌株。

2.3 嗜热链球菌的诱变与检测

2.3.1 嗜热链球菌产香菌株的初步筛选 从纯化的平板上挑取 10 个嗜热链球菌疑似菌株，活化 3 代后，按 2% 的接种量接种至脱脂乳中 42℃培养 14 h，检测其产双乙酰的情况（表 4）。

表 4 不同嗜热链球菌的产双乙酰量比较

菌株编号	产双乙酰量(μg/mL)
S-1	2.96±0.16
S-2	2.43±0.08
S-3	2.13±0.10
S-4	2.05±0.06
S-5	1.82±0.02
S-6	1.89±0.08
S-7	2.76±0.05
S-8	2.72±0.02
S-9	2.15±0.12
S-10	2.65±0.06

从表 4 可以看出，1 号菌株的产双乙酰量相对较高，为 (2.96±0.16) μg/mL，因此确定 S-1 为出发菌株。

2.3.2 嗜热链球菌的紫外诱变 参照保加利亚乳杆菌的紫外诱变方法，嗜热链球菌的诱变情况见表 5。

从表 5 可以看出，紫外波长为 365 nm 的时候，菌株的致死率相对较高，为 95.5%，因此确定波长 365 nm 为最佳诱变剂量。当垂直照射距离为 15 cm 时，紫外诱变的致死率相对

表 5 紫外诱变对嗜热链球菌的影响

紫外诱变条件			诱变后菌落数 (CFU/mL)	致死率 (%)
波长(nm)	距离(cm)	时间(s)		
254	20	120	2.3×10^7	93.9
365	20	120	1.7×10^7	95.5
365	15	120	1.8×10^7	95.3
365	20	120	0.6×10^8	84.2
365	20	60	1.9×10^7	95.0
365	20	120	1.5×10^7	96.1
365	20	180	4.6×10^7	87.9

注:初始菌落数为 3.8×10^8 CFU/mL。

较高,为 95.3%,因此选取垂直照射距离 15 cm 为最佳诱变剂量。诱变时间为 120 s 时,紫外诱变致死率高,为 96.1%,因为选取 120 s 为最佳诱变剂量。综上所述,嗜热链球菌的最佳诱变参数为紫外波长 365 nm、垂直照射距离 15 cm、诱变时间 120 s。

2.3.3 诱变之后嗜热链球菌的产香检测 从诱变后致死率高的平板中分别挑出 5 个疑似嗜热链球菌菌株,接种至脱脂乳中活化 3 代,然后按 2% 的剂量接种到脱脂乳培养基,42 ℃ 下培养 14 h,菌株的产香情况见表 6。

表 6 不同诱变条件时嗜热链球菌产双乙酰情况表

紫外波长 365 nm		诱变距离 15 cm		诱变时间 120 s	
菌株号	产双乙酰量 (μg/mL)	菌株号	产双乙酰量 (μg/mL)	菌株号	产双乙酰量 (μg/mL)
S-1.1	2.98 ± 0.10	S-1a	3.26 ± 0.02	S-1A	2.56 ± 0.01
S-1.2	3.01 ± 0.02	S-1b	3.28 ± 0.04	S-1B	2.27 ± 0.12
S-1.3	2.98 ± 0.18	S-1c	2.98 ± 0.10	S-1C	1.88 ± 0.01
S-1.4	3.36 ± 0.04	S-1d	4.16 ± 0.12	S-1D	1.98 ± 0.08
S-1.5	3.20 ± 0.06	S-1e	3.36 ± 0.08	S-1E	2.24 ± 0.06

从表 6 可以看出,紫外诱变波长为 365 nm 时,各个菌株的产双乙酰量均有所增加,其中 S-1.4 的产双乙酰量最高,所以选取 S-1.4 作为最佳菌株。垂直照射距离为 15 cm 时,各个菌株的产双乙酰量均有所增加,其中菌株 S-1d 的产双乙酰量明显最高,所以选取 S-1d 为最佳菌株。诱变时间为 120 s 时,各个菌株的产双乙酰量均有所下降,特别是 S-1C 菌株,产双乙酰量最少。

3 结论

(1)从市售花花牛酸奶中通过菌种分离和产香检测,筛选出高产乙醛的 L-2 菌株和高产双乙酰的 S-1 菌株作为出发菌株,其中 L-2 的产乙醛量为 12.65 μg/mL,S-1 的产双乙酰量为 2.96 μg/mL。(2)通过确定最佳诱变参数(紫外照射波长 365 nm、垂直照射距离 15 cm、紫外照射时间 120 s),筛选出了保加利亚乳杆菌 L-2.2、L-2a、L-2D 为 3 个诱变情况下产乙醛量最高的菌株,产量分别为 13.51、16.52、14.46 μg/mL,相比出发菌株 L-2,分别增加了 6.8%、30.6%、14.3%。(3)与保加利亚乳杆菌同样的诱变剂量,筛选出了嗜热链球菌 S-1.4、S-1d 的产双乙酰量分别为 3.36、4.16 μg/mL,较出发菌株分别增加了 13.5%、40.5%。在产量出现降低的菌株中,S-1C 的产双乙酰量最少,为 1.88 μg/mL,相比出发菌株降低了 36.5%,表明紫外诱变存

在不定向性,有些菌株经过紫外诱变后,会出现产香性能下降的现象。(4)本试验通过对分离得到的保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌进行诱变和产香检测,并与出发菌株进行比较,得到了产香增加的菌株,为生产更具优良风味和营养价值的酸奶提供了依据。(5)本试验采用碘滴定法和邻苯二胺比色法检测乙醛和双乙酰,避免了制作标准曲线的繁琐,通过前后量的对比,使结果更直观明了。

参考文献:

[1]李 勇,董翠芳,欧国兵. 乳酸菌产香机理和特性的研究[J]. 新疆畜牧业,2008(4):55-61.

[2]魏小雁,冀林立,刘建军,等. 酸奶发酵剂菌种的产香物质及发酵特性研究[J]. 乳业科学与技术,2008,31(1):21-23,31.

[3]侯小歌,郭翠红,金 刚,等. 酸奶中传统发酵乳酸菌的分离筛选及增菌研究[J]. 安徽农业科学,2009,37(13):5854-5856,5930.

[4]汪 川,张朝武,余 倩. 酸奶中保加利亚乳杆菌分离条件的优化[J]. 中国微生态学杂志,2001,13(2):73-74,80.

[5]彭 磊,司红丽. 酸奶中嗜热链球菌初步分离与鉴定[J]. 现代农业科技,2011(15):359-360.

[6]霍艳荣. 高产胞外多糖乳酸菌菌株的选育及其在酸奶生产中的应用[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2003.

[7]梁金钟,李 雯,王凤青. 产 γ-氨基丁酸乳酸菌的筛选及诱变育种[J]. 食品科学,2013,34(23):228-232.

[8]赵士豪,马同锁,路新利,等. 酸奶生产菌株的诱变选育[J]. 生物技术,2005,15(5):22-24.

[9]朱朝阳. L-乳酸高产菌株的诱变选育[D]. 洛阳:河南科技大学,2011.

[10]帖金鑫,霍乃蕊. 嗜酸乳杆菌乳酸高产菌株的紫外诱变选育[J]. 食品工程,2012,22(2):38-40.

[11]韩 雪,张兰威,张 爽,等. 弱后酸化酸奶发酵菌株的紫外诱变选育[J]. 中国酿造,2011,10(1):127-130.

[12]李小平,魏玲玲,张慧发,等. 保加利亚乳杆菌乳酸高产菌株的紫外诱变选育[J]. 山西农业大学学报(自然科学版),2010,30(1):88-90.

[13]Murao K, Kaneko S, Suzuki T. A cold-sensitive mutant of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and its application to yoghurt manufacturing inter dairy[J]. Congress,1990(17):180-184.

[14]车黎猛,任发政,陈尚武. 抗后酸化保加利亚乳杆菌的紫外诱变选育[J]. 食品科学,2006,27(6):109-112.

[15]刘宁宁,郭红敏,葛春美,等. 酸奶中乙醛和双乙酰含量对其风味的影响[J]. 中国食品添加剂,2012(增刊1):269-273.

[16]李 妍,邢慧敏,邵亚东,等. 发酵乳中丁二酮和乙醛含量检测方法探讨[J]. 食品与发酵工业,2008,34(3):157-159.

[17]王 丹,刘 鹏. 酸奶中联乙酰含量测定方法的初步探讨[J]. 中国乳品工业,1992(2):60-63.

[18]张 岚. 高产乙醛的嗜热链球菌在发酵乳中的应用研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2014:31.

[19]康 欢. 酸奶中风味物质与酶活及感官特性关系的初探[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2013:19-35.

[20]刘 鹏,任新宇,王 丹,等. 酸奶中乙醛含量测定方法的初步探讨[J]. 中国乳品工业,1992,20(4):151-154.