

潘 勇,李建宋,赵思洁,等.一株乳酸菌的分离鉴定及在苹果汁发酵中的应用[J].江苏农业科学,2020,48(22):202-207.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.22.038

# 一株乳酸菌的分离鉴定及在苹果汁发酵中的应用

潘 勇<sup>1</sup>,李建宋<sup>1</sup>,赵思洁<sup>2</sup>,廖祥儒<sup>2</sup>,郝之奎<sup>1</sup>

(1.台州职业技术学院应用生物技术研究,浙江台州 318000;

2.江南大学生物工程学院工业生物技术教育部重点实验室,江苏无锡 214122)

**摘要:**从苹果树根际土壤中筛选获得一株产酸菌株,经形态学和生理生化特征结合分子生物学研究,鉴定为植物乳杆菌,命名为 *Lactobacillus plantrum* asZ;以苹果为原料,将乳酸菌 *Lactobacillus plantrum* asZ 应用于苹果汁发酵,通过单因素和正交试验,初步确定发酵苹果汁的最佳工艺条件为在苹果汁含量为 35%、接种量为 5%、蜂蜜添加量为 2%、30 ℃ 发酵 5 d 的条件下,苹果汁的感官评分达到 91 分,发酵苹果汁中总氨基酸和乳酸含量明显增加,总 SOD 活性和总黄酮含量分别增加 80.0% 和 16.9%,维生素 C 含量保持在 80% 以上。

**关键词:**乳酸菌;鉴定;苹果汁;发酵

**中图分类号:** S182      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1002-1302(2020)22-0202-05

苹果是日常生活中的第一大水果,因味美且富含微量元素、维生素、果胶、类黄酮及苹果多酚等营养或活性物质而深受大众喜爱<sup>[1]</sup>。我国是世界最大苹果种植国和产量国,年产苹果 4 388 余万 t<sup>[2]</sup>,与其他果品产业一样,以鲜销为主,深加工类品种单一,加工量占总产量比率低,产业水平和效益不高<sup>[3]</sup>。利用我国丰富的苹果资源开展深加工研究,是提高苹果产业效益和水平、增加苹果附加值、丰富市场、满足人民群众需要的重要途径。

乳酸菌是与人类可共存的一类有益微生物,大多存在于人体消化道内,对维持人体微生态平衡、提高人体免疫力起着重要作用<sup>[4]</sup>。随着对乳酸菌的研究深入,其价值得到充分挖掘。日常生活所用的食材如豆制品、肉制品、果蔬等都可用于乳酸发酵基质,乳酸发酵对改良食品风味、提高营养价值有着重要作用,在食品发酵工业领域,乳酸已得到广泛应用<sup>[5]</sup>。

本研究从苹果树根际土壤采集土样,利用加入溴甲酚紫指示剂的 MRS 培养基筛选产酸菌株,经形态和生理生化特征研究及分子生物学鉴定,将筛选的乳酸菌应用于苹果汁发酵,通过工艺优化研究苹果汁口感和营养成分变化,初步探索乳酸菌在制造苹果汁发酵饮料中的应用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

试验于 2017 年 11 月至 2018 年 4 月在江南大学生物工程学院廖祥儒教授实验室进行。试验用苹果根际土壤取自烟台某苹果园;样本苹果为市售鲜果;常用食品级麦芽糖、柠檬酸氢二铵等培养基添加试剂;T-SOD 试剂盒和细菌基因组提取试剂盒购于南京建成生物工程研究所。

所用设备为普通实验室常用设备,分别为高效液相色谱仪[Agilent 1260(安捷伦)]、高速离心喷雾干燥机(GEA Niro)。

### 1.2 培养基

试验培养基主要是乳酸细菌培养基(MRS 培养基)、1.6% 溴甲酚紫乙醇溶液、多价蛋白胨-酵母膏培养基(PY 培养基)。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 菌株筛选** 在 MRS 液体培养基中添加乳酸并调节 pH 值为 5.5,加入适量土壤样本,30 ℃ 恒温摇床中低速培养 14~18 h,用灭菌水稀释 10<sup>4</sup> 倍、10<sup>5</sup> 倍、10<sup>6</sup> 倍,分别取 100 μL 均匀稀释液涂布于含

收稿日期:2020-02-15

基金项目:台州市科技计划(编号:1801gy24);浙江省大学生科技创新活动计划暨新苗人才计划(编号:2013R460001);台州职业技术学院大学生科技创新项目(编号:2013DKC01);台州职业技术学院横改纵课题(编号:HX2019069、HX2019078);台州职业技术学院 2017 年度校级课题(编号:2017ZJ01)。

作者简介:潘 勇(1992—),男,浙江丽水人,技术员,从事生物技术研究。E-mail:594696010@qq.com。

通信作者:郝之奎,博士,副教授,研究方向为微生物及生物质资源开发与利用。E-mail:haozhikui123@126.com。

有 0.15% 溴甲酚紫的 MRS 固体培养基平板上,倒置并在 30 ℃ 条件下培养至形成菌落,挑选变黄菌落划线纯化至获得纯培养。

### 1.3.2 菌株鉴定

1.3.2.1 菌株形态学观察 观察研究 30 ℃ 培养条件下形成的菌落特征和显微形态学特征(革兰氏染色)。

1.3.2.2 菌株生理生化特征 依据文献[6-8]的方法研究所获纯培养的糖利用、产酸产气、耐盐、耐乙醇及七叶苷水解等生理生化特性。

1.3.2.3 菌株 16S rRNA 基因序列分析 利用细菌通用引物 27F (5′ - AGAGTTTGATCCTGGCTCAG - 3′) 和 1492R (5′ - TACGGCTACCTTGTACGACTT - 3′) 扩增纯培养基因组,3% 琼脂糖电泳检测并回收 PCR 扩增产物后测序(华大基因科技股份有限公司)。利用数据库 <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>, BLAST 程序分析同源性并初步鉴定。

### 1.3.3 菌株生长特性研究

1.3.3.1 最适生长温度的测定 利用 MRS 培养基,5% 接种量,设 20、25、30、35、40 ℃ 等 5 个温度梯度,60 r/min 摇床培养 24 h,采样后测生物量(在 600 nm 处测定吸光度  $D_{600\text{ nm}}$ ),3 个平行试验,结果取平均值。

1.3.3.2 最适生长 pH 值的测定 利用 MRS 培养基,5% 接种量,设 4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8 等 9 个 pH 值梯度,60 r/min 摇床培养 24 h,采样后测生物量(在 600 nm 处测定  $D_{600\text{ nm}}$ ),3 个平行试验,结果取平均值。

1.3.3.3 生长曲线和产酸能力的测定 利用 MRS 培养基,设 5% 接种量,60 r/min 摇床 30 ℃ 培养,间隔 2 h 采样测定  $D_{600\text{ nm}}$ ,研究所获得纯培养的生长和产酸特性<sup>[9]</sup>。

### 1.3.4 菌株在苹果汁发酵饮料中的初步应用

1.3.4.1 发酵剂的制备 把活化好的菌株按 5% 的接种量接种到 MRS: 苹果汁分别为 4:1、3:2、2:3、1:4 等 4 种比例的发酸培养基,60 r/min 摇床 30 ℃ 培养 24 h,分别转接至含 1% 蜂蜜的苹果汁中 30 ℃ 发酵,24 h 后得苹果汁发酵剂。

1.3.4.2 乳酸菌发酵苹果汁饮料工艺流程 乳酸菌发酵苹果汁饮料工艺流程为新鲜苹果→清洗、去皮、去核→榨汁→护色(0.2% 柠檬酸水)→灭菌(75 ℃,5 min)→冷却→加纯净水(苹果汁含量 30%)→加 2% 的蜂蜜→接入发酵剂(接种量 5%)→静止发酵(30 ℃,5 d,起始 pH 值 = 7.0)→过滤→

成品。

1.3.4.3 苹果汁发酵条件的优化 (1) 单因素试验:依据“1.3.3.1”节试验结果确定温度,依据“1.3.4.2”节工艺,其他条件不变,接种量分别为 1%、3%、5%、7%、9%、11%,以感官评分为指标对个样本进行评价。依据“1.3.3.1”节试验结果确定温度,依据“1.3.4.2”节工艺,其他条件不变,苹果汁含量分别为 20%、30%、40%、50%、60%、70%,以感官评分为指标对个样本进行评价。依据“1.3.3.1”节试验结果确定温度,依据“1.3.4.2”节工艺,其他条件不变,蜂蜜添加量分别为 2%、4%、6%、8%、10%、12%,以感官评分为指标对个样本进行评价。

(2) 正交试验:以接种量、蜂蜜添加量和苹果汁含量为三因素,感官评分为指标,设计  $L_9(3^3)$  正交试验(表 1),研究最佳发酵工艺条件。

表 1 正交试验因素水平

水平	因素		
	苹果汁含量(%)	接种量(%)	蜂蜜添加量(%)
1	35	4	1
2	40	5	2
3	45	6	3

1.3.4.4 感官评定 参考国标感官评定相关方法,随机组织 20 位有感官评价经验的人员从色、气、味等设计评价标准(表 2),取平均值作为结果。

表 2 感官评分标准

项目	评分标准	分值
色泽	鲜明柔和,有光泽,无杂色,均匀一致	0~20
气味	有清新的苹果香和乳酸味,无异味	0~30
滋味	酸甜适口,口感细腻,无不良气味	0~30
组织状态	流动性好,均匀不分层,微混浊,无杂质	0~20

1.3.4.5 苹果汁发酵前后主要成分的变化 (1) 氨基酸和有机酸含量测定:在最优发酵工艺条件下发酵苹果汁,发酵前后氨基酸含量和有机酸(苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸)含量用高效液相色谱法测定<sup>[10]</sup>。

(2) 总 SOD 活性、总黄酮含量和维生素 C 含量的测定:苹果汁发酵前后采样并制备 10% 的匀浆液,4 000 r/min 离心 10 min,取上清液测总 SOD 活性;据 GB/T 12143—2008《饮料通用分析方法》附录 G 的方法测定总黄酮含量;采用紫外分光光度法<sup>[11]</sup>测维生素 C 含量。样品均重复 3 次取平均值。

2 结果与分析

2.1 菌株鉴定

2.1.1 菌株形态特征 筛选获得的纯培养菌落大小悬殊,直径为 1~2 mm,淡黄色,不透明,球形,边缘整齐,中凸起,表面光滑,革兰氏阳性(图 1)。

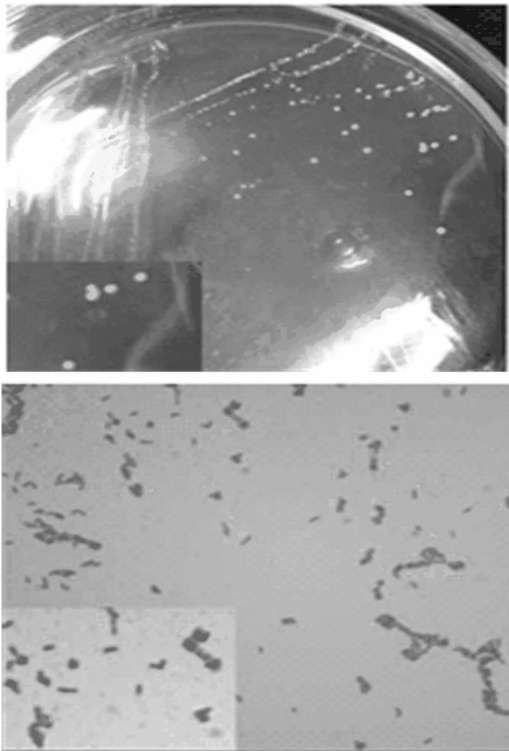


图1 菌株 asZ 菌落特征(上)和革兰氏染色照片(下)

2.1.2 生理生化特性 参照《伯杰细菌鉴定手册》,初步鉴定所获纯培养为植物乳杆菌属(表 3)。

表 3 菌株生理生化特性

测试项目	结果	测试项目	结果
3% NaCl 生长	+	L-鼠李糖	w
5% NaCl 生长	+	乳糖	+
6.5% NaCl 生长	-	D-半乳糖	+
5% 乙醇生长	+	甘露糖	+
7.5% 乙醇生长	+	果糖	+
10% 乙醇生长	+	海藻糖	+
葡萄糖产酸	+	L-山梨醇	-
葡萄糖产气	-	木糖	-
七叶苷水解	+	甘露醇	w
明胶液化	-	麦芽糖	+
葡萄糖	+	蔗糖	+
肌醇	-	阿拉伯糖	-
肌酸	-	棉籽糖	+
纤维二糖	+	山梨醇	+

注:“+”表示阳性;“-”表示阴性;“w”表示微阳性。

2.1.3 分子生物学研究 利用 PCR 仪扩增纯培养基因组,由图 2 可知,片段长度为 1 500 bp 左右,拖尾不明显。测序后通过 BLAST,与 *Lactobacillus plantarum* 的同源性可达 99%。结合生理生化研究结果,初步确定该纯培养为植物乳杆菌,并命名为 *Lactobacillus plantarum* asZ。

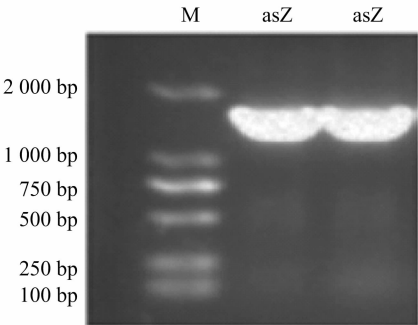


图2 菌株asZ 16S rRNA 片段 PCR 扩增产物凝胶电泳

2.2 *Lactobacillus plantarum* asZ 生长特性

2.2.1 asZ 的最适生长温度及最适 pH 值 最适温度和最适 pH 值研究结果分别是 30 ℃和 6.5(图 3、图 4)。

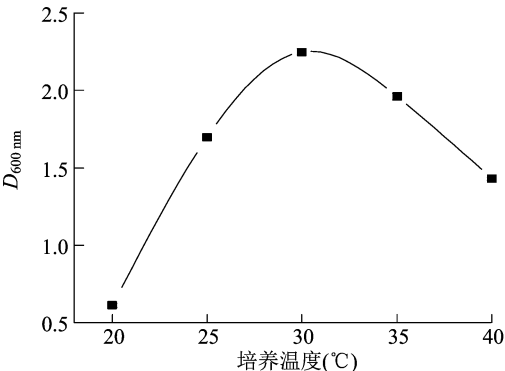


图3 温度对 asZ 生长的影响

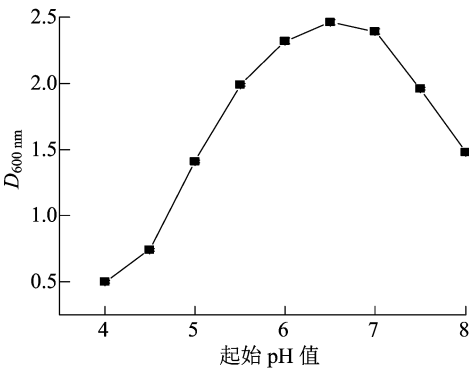


图4 起始 pH 值对 asZ 生长的影响

2.2.2 菌株生长曲线和产酸能力的测定 由图 5 可知,asZ 的停滞期在 0~4 h,对数生长期在 4~12 h,此阶段 D<sub>600 nm</sub> 值从 0.1 达到 2.0,12 h 后进

入稳定期。由图 6 可知, asZ 产酸能力强, 发酵 10 h, pH 值由 6.5 降至 3.8, 对数期产酸较为明显。

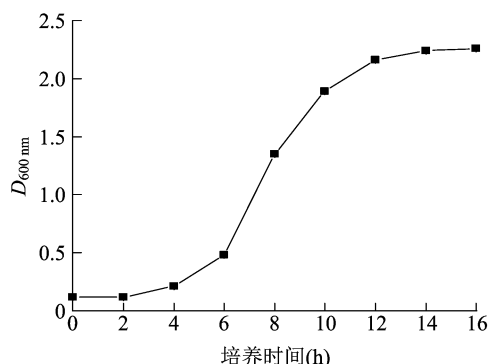


图5 菌株 *Lactobacillus plantarum* asZ 的生长曲线

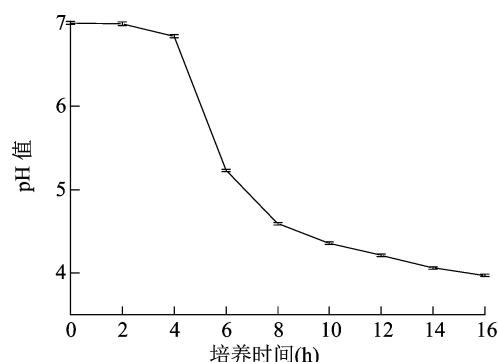


图6 菌株 *Lactobacillus plantarum* asZ 的产酸能力

## 2.3 菌株 *Lactobacillus plantarum* asZ 在苹果汁发酵饮料中的应用

### 2.3.1 苹果汁发酵条件的优化

2.3.1.1 单因素试验 (1) 苹果汁含量对发酵果汁感官的影响: 将灭菌后的苹果汁加纯净水分别配制成 20%、30%、40%、50%、60%、70% 含量的苹果汁, 再添加 2% 蜂蜜, 起始 pH 值为 7.0, 接种量为 5%, 在 30℃ 条件下发酵 5 d。由图 7 可知, 当苹果汁含量 38% 时, 其感官评分最高, 故苹果汁含量以 35%、40%、45% 作为正交试验的 3 个水平。

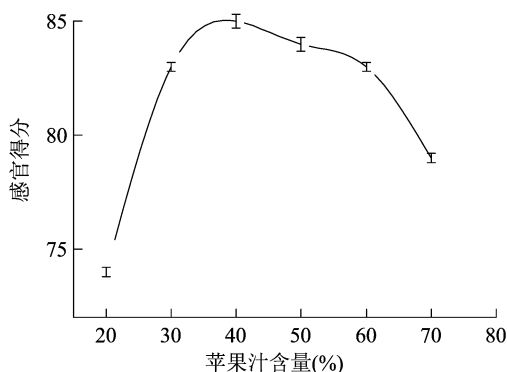


图7 苹果汁含量对感官评价的影响

(2) 接种量对发酵苹果汁感官的影响: 适当提高接种量可以缩短微生物生长的延滞期, 缩短发酵时间, 由图 8 可知, 感官评分随着接种量的增大呈现出先增高后降低的趋势。当接种量理论值达到 5.2% 时, 感官评分达到最高值 87 分, 故以 4%、5%、6% 的接种量作为正交试验的 3 个水平。

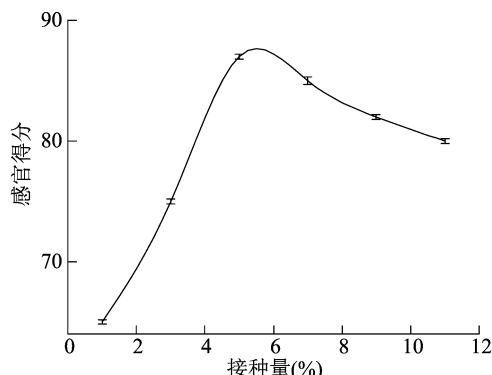


图8 接种量对苹果汁发酵的影响

(3) 蜂蜜添加量对发酵苹果汁感官的影响: 蜂蜜添加过少或过多会影响发酵饮料的酸甜感, 如图 9 所示, 感官分值似乎有 2 个峰值, 结合产业化成本因素, 选择 1%、2% 和 3% 的蜂蜜添加量作为正交试验的 3 个水平。

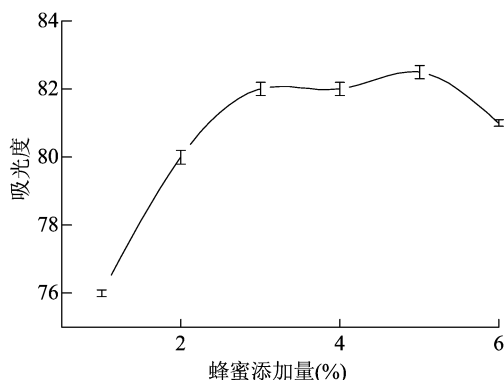


图9 蜂蜜添加量对苹果汁发酵的影响

2.3.1.2 正交试验 由表 4 可知, 接种量对感官影响最大, 苹果汁含量次之, 蜂蜜添加量影响最小, 最佳培养条件为  $A_1B_2C_2$ , 即苹果汁含量为 35%, 接种量为 5%, 蜂蜜添加量为 2%, 此时感官评分达到 91 分。

### 2.3.2 苹果汁发酵前后主要成分的变化

2.3.2.1 氨基酸含量的变化 发酵对总氨基酸含量变化影响明显, 发酵后总氨基酸提高了 762.7%, 其中脯氨酸提高最为明显, 达 5 946.7%, 精氨酸增加 3 427.9%。只有亮氨酸比发酵前降低 7.2% (表 5)。

表 4 正交试验结果

实验号	A:苹果汁含量(%)	B:接种量(%)	C:蜂蜜添加量(%)	感官评分
1	35	4	1	78
2	35	5	2	91
3	35	6	3	78
4	40	4	2	79
5	40	5	3	82
6	40	6	1	75
7	45	4	3	76
8	45	5	1	80
9	45	6	2	76
$k_1$	247	233	233	
$k_2$	236	253	246	
$k_3$	232	229	236	
极差 $R$	5.0	8.0	4.3	

表 5 苹果汁发酵前后氨基酸变化

氨基酸种类	含量(mg/100 mL)		含量提高百分比(%)
	发酵前	发酵后	
苏氨酸(Thr)	2.03 ± 0.17	16.20 ± 0.80	689.0
缬氨酸(Val)	2.18 ± 0.23	16.00 ± 0.34	633.9
甲硫氨酸(Met)	0.71 ± 0.08	10.71 ± 0.30	1408.4
苯丙氨酸(Phe)	2.36 ± 0.35	38.25 ± 2.43	1520.7
异亮氨酸(Ile)	1.90 ± 0.20	8.27 ± 0.25	335.2
亮氨酸(Leu)	2.63 ± 0.12	2.44 ± 0.10	-7.2
赖氨酸(Lys)	1.87 ± 0.28	15.91 ± 0.32	750.8
丙氨酸(Ala)	2.97 ± 0.17	58.33 ± 2.86	1863.7
精氨酸(Arg)	1.43 ± 0.15	50.45 ± 1.76	3427.9
天冬氨酸(Asp)	48.80 ± 3.18	102.7 ± 6.73	110.4
半胱氨酸(Cys)	1.86 ± 0.27	14.28 ± 0.82	676.7
谷氨酸(Glu)	6.51 ± 0.24	28.73 ± 2.76	341.3
甘氨酸(Gly)	2.42 ± 0.32	19.93 ± 3.41	723.5
组氨酸(His)	1.10 ± 0.15	7.28 ± 0.72	561.8
脯氨酸(Pro)	5.03 ± 0.68	304.15 ± 10.84	5946.7
丝氨酸(Ser)	3.37 ± 0.21	18.02 ± 2.58	434.7
酪氨酸(Tyr)	1.94 ± 0.16	35.79 ± 2.68	1744.8
总氨基酸	89.18 ± 5.30	769.35 ± 14.48	762.7

2.3.2.2 有机酸含量的变化 由图 10 可知,柠檬酸含量变化不大,苹果酸含量下降明显,发酵后有微量的乙酸产生,乳酸含量明显增加,从发酵前的 0.32 mg/100 mL 增长到 496.87 mg/100 mL,增长了 1 551.7 倍。

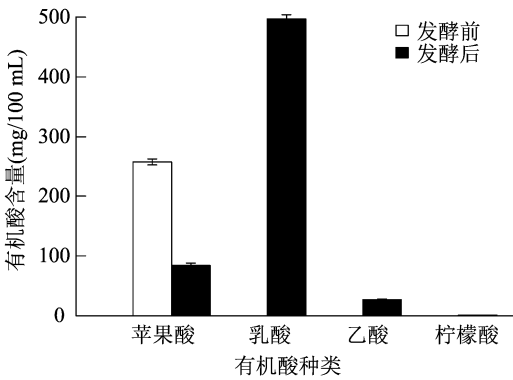


图10 发酵前后苹果汁中有机酸含量变化

2.3.2.3 总 SOD 活性、总黄酮含量和维生素 C 含量的测定 由表 6 可知,发酵后总 SOD 活性和总黄酮含量分别增加 80.0% 和 16.9%,维生素 C 的含量有所减少,但保留 80%,可能原因是发酵形成了低 pH 值环境维生素 C,损失的维生素 C 可能作为底物利用。

表 6 苹果汁饮料发酵前后成分变化

成分	发酵前	发酵后	含量提高百分比(%)
总 SOD 活性(U/mL)	139.80 ± 7.54	251.64 ± 8.15	80.0
总黄酮含量(mg/100 mL)	0.53 ± 0.08	0.62 ± 0.09	16.9
维生素 C 含量(mg/100 mL)	6.90 ± 0.53	5.53 ± 0.35	-19.8

3 结论

生物技术的发展极大地拓宽了乳酸菌的应用领域,也为传统水果的深加工提供了强大的技术支撑。乳酸菌在发酵过程中会产生多种酶,对所发酵的食材等底物起到降解、转化作用,或通过乳酸本身的代谢产生多种新的物质,所以,通过发酵赋予了传统水果新的口感和营养价值或新的功能。本研究利用稀释涂布法,筛选获得并鉴定了 *Lactobacillus plantum* asZ。利用该菌株发酵了苹果汁初步探索了发酵工艺条件,对开发以苹果为原料的营养饮料做了有益尝试。

从本研究结果来看,虽然苹果汁的发酵产物营养成分有很大改善,但在功能方面还需要突出,比如通过发酵,在提高免疫力方面的功能还需要突出,这可能需要从改良发酵配方角度如添加几丁质水解产物(*N*-乙酰基葡萄糖等)进一步深入研究。

参考文献:

[1]袁越锦,焦 丹,董继先,等.苹果切片干燥品质试验研究[J].

唐远江,杨粤黔,周思璇,等. 杠板归槲皮素提取工艺优化及体外抑菌效果[J]. 江苏农业科学,2020,48(22):207-212.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.22.039

# 杠板归槲皮素提取工艺优化及体外抑菌效果

唐远江<sup>1</sup>, 杨粤黔<sup>1</sup>, 周思璇<sup>1</sup>, 张 涛<sup>1</sup>, 卢昱希<sup>1</sup>, 黄炳香<sup>2</sup>

(1. 贵州省农业科学院畜牧兽医研究所, 贵州贵阳 550005; 2. 贵州师范学院, 贵州贵阳 550000)

**摘要:**为优化杠板归中槲皮素的最佳提取工艺, 检验提取物体外抑菌活性, 以槲皮素提取量为评价指标, 采用 Plackett - Burnman Design (PBD) 设计联合 Box - Behnken Design (BBD) 对槲皮素的提取工艺进行考察, 并采用微量肉汤二倍稀释法和琼脂平板培养计数法研究提取物和槲皮素对大肠杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌的体外抑菌和杀菌作用。结果可知, 最佳提取工艺为加 25 倍 59.92% 乙醇浸泡 24 h, 60 ℃ 下回流提取时间 3.4 h, 提取 2 次。提取物对 3 株细菌的最小抑菌浓度 (MIC) 介于 3.12 ~ 6.31 g/L, 最小杀菌浓度 (MBC) 介于 12.52 ~ 25.41 g/L, 槲皮素对大肠杆菌 and 金黄色葡萄球菌 MIC 分别为 7.11、3.16 g/L, MBC 分别为 100.18、50.56 g/L, 其杀菌效果不如提取物, 对沙门氏菌的 MIC 和 MBC 均为 3.27 g/L, 杀菌效果优于提取物。优化后的提取工艺稳定合理, 且提取物具有良好抑菌活性。

**关键词:**杠板归; 槲皮素; PBD; BBD; MIC; MBC

**中图分类号:** R284.2      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1002-1302(2020)22-0207-06

杠板归为蓼科蓼属植物杠板归 (*Polygonum perfoliatum* L.) 的全草, 民间习称蛇倒退、猫爪刺、杠板归等<sup>[1]</sup>, 其主要成分有黄酮类、有机酸类、萜类等<sup>[2-6]</sup>。《中国兽药典》2015 版第二部中规定, 槲皮素为杠板归的主要成分<sup>[7]</sup>。现代药理学研究表明, 杠板归具有抗菌、抗病毒、降血压、抗肿瘤等作

用<sup>[8-10]</sup>, 临床上杠板归常用于治疗慢性湿疹、乳腺炎、百日咳、泻痢、黄疸、跌打肿痛等疾病。杠板归的煎煮剂对金黄色葡萄球菌、乙型链球菌、炭疽杆菌等均有较强抑制作用, 乙酸乙酯、正丁醇提取物对大肠埃希菌、枯草芽孢杆菌具有较强的抑制作用, 75% 乙醇提取物对多种细菌具有广谱抗菌性<sup>[11-12]</sup>。槲皮素具有广谱抗菌性, 并且对革兰氏阴性菌的抗菌作用强于革兰氏阳性菌<sup>[13]</sup>。

大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌是引起畜禽细菌性疾病的常见致病菌<sup>[14-17]</sup>。因致病性细菌血清型众多, 难以制备出具有针对性的疫苗<sup>[18]</sup>。抗生素是治疗此类疾病有效的手段, 但长期使用抗生素导致致病菌的耐药性严重, 研究表明, 大肠杆

收稿日期: 2020-02-27

基金项目: 贵州省农业科学院创新基金 (编号: 黔农科院青年基金 [2018]54 号); 贵州省农业攻关计划项目 (编号: 黔科合支撑 [2016]2503 号)。

作者简介: 唐远江 (1987—), 男, 贵州遵义人, 硕士, 研究实习员, 主要从事中兽药研发。E-mail: tangyjaj0909@126.com。

通信作者: 杨粤黔, 副研究员, 主要从事中兽药研发。E-mail: 252184152@qq.com。

陕西科技大学学报 (自然科学版), 2017, 35(1): 139-144, 150.

[2] 李明泽, 张霁红, 宋 娟, 等. 苹果醋发展现状及研究进展[J]. 甘肃农业科技, 2018(7): 83-87.

[3] Bouderbala H, Kaddouri H, Kheroua O, et al. Anti-obesogenic effect of apple cider vinegar in rats subjected to a high fat diet[J]. Annales de Cardiologie et d'Angéiologie, 2016, 65(3): 208-213.

[4] Widyastuti Y, Febrisantosa A. The role of lactic acid bacteria in milk fermentation[J]. Food and Nutrition Sciences, 2014, 5(4): 435-442.

[5] Liu S N, Ye H, Zhou Z J. Lactic acid bacteria in traditional fermented Chinese foods[J]. Food Research International, 2011, 44(3): 643-651.

[6] 布坎南 R E, 吉本斯 N E, 等. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 8 版. 北京: 科学出版社, 1984.

[7] 何铁群, 雷赵民, 吴 润, 等. 青贮饲料中优良乳酸菌的分离鉴定及其生物学特性研究[J]. 生物技术通报, 2013(5): 177-183.

[8] 武俊瑞, 李 欣, 张 苗, 等. 自然发酵酸菜汁中乳杆菌的分离鉴定[J]. 食品科学, 2012, 33(15): 191-194.

[9] 潘晓倩, 赵 燕, 张顺亮, 等. 中温乳香肠中一株优势腐败菌的分离鉴定与生物学特性[J]. 食品科学, 2016, 37(7): 93-98.

[10] 刘恒霞, 余 鹏, 王慧忠. 高效液相色谱测定蕨类植物中氨基酸含量[J]. 氨基酸和生物资源, 2011, 33(3): 30-33.

[11] 李占清, 魏海英. 分光光度法测定新鲜蔬菜中维生素 C 的含量[J]. 中国无机分析化学, 2014, 4(3): 79-81.

[12] Di Cagno R, Surico R F, Paradiso A, et al. Effect of autochthonous lactic acid bacteria starters on health-promoting and sensory properties of tomato juices[J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 128(3): 473-483.