

糯米炸糕中发酵细菌鉴定与优势菌株筛选

Identification of bacteria and screening of dominant strains from fermented glutinous rice

陈瑾^{1,2} 邵冰洁^{1,2} 朱晓昊³ 王素英^{1,2}

CHEN Jin^{1,2} SHAO Bing-jie^{1,2} ZHU Xiao-hao³ WANG Su-ying^{1,2}

(1. 天津市食品生物技术重点实验室, 天津 300134; 2. 天津商业大学生物技术与食品科学学院, 天津 300134;
3. 天津耳朵眼炸糕餐饮有限责任公司, 天津 300400)

(1. Tianjin Key Laboratory of Food and Biotechnology, Tianjin 300134, China;

2. College of Biotechnology and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China;

3. Tianjin Erduoyan Food Co., Ltd., Tianjin 300400, China)

摘要:为筛选制作糯米炸糕的优势乳酸菌,从传统生产工艺的沥水米浆和发酵湿米粉中分离出 7 株细菌,经形态学观察、革兰氏染色反应、过氧化氢酶试验,以及葡萄糖发酵试验等生理生化特征考察,并分析菌株的 16S rRNA 序列。结果表明:菌株 B1、B5-2、B7、B8 为植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*),B2 为蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*),B5-1、B6 为印度尼西亚醋酸杆菌(*Acetobacter indonesiensis*)。通过测定 4 株乳酸菌的产酸能力和生长速度,发现菌株 B5-2 的生长速度和产酸能力较强。

关键词:炸糕;发酵;分离鉴定;优势菌;筛选

Abstract:In order to screen dominant lactic acid bacteria during the process of fried glutinous rice cakes making, 7 strains of bacteria were isolated from drain rice milk and fermented wet rice flour in the traditional production process. The strains were identified through morphological observation, Gram staining reaction, catalase test, glucose fermentation experiment and other physiological and biochemical characteristics, and 16S rRNA sequence analyzing. The results showed that, B1, B5-2, B7, B8 were *Lactobacillus plantarum*, B2 was *Bacillus cereus*, B5-1 and B6 were *Acetobacter indonesiensis*. The acid production capacity and growth rate of 4 strains of lactic acid were determined, and the growth rate and acid production capacity of B5-2 were slightly better.

Keywords: fried cake; fermentation; isolation and identification; dominant bacteria; screening

基金项目:天津市科技型中小企业与产业发展计划项目(编号:14ZXNZNC00031);天津市高等学校创新团队(编号:TD-5049);国家科技支撑计划(编号:2012BAD37B06-07)

作者简介:陈瑾,女,天津商业大学在读硕士研究生。

通讯作者:王素英(1964—),女,天津商业大学教授,博士。

E-mail: wsying@tjcu.edu.cn

收稿日期:2015-11-19

糯米炸糕是利用微生物发酵制作的天津传统风味食品,该产品以糯米为原料,经过磨浆、沥水、发酵、加馅包制、油炸等工序加工而成。在沥水环节,米浆中水分含量急剧下降,同时伴随以乳酸发酵为主的有机酸发酵,形成了糯米炸糕特有的品质和风味^[1]。

植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)属于同型发酵乳酸菌^[2],产酸能力强^[3],是沥水环节中使米浆 pH 快速下降的最主要的菌株,能够有效抑制有害菌及非优势菌株的生长。另外,植物乳杆菌的发酵可赋予食品独特的乳香气味和酸味^[4]。可见,植物乳杆菌是乳酸发酵过程中的优势菌种。但由于参与发酵的微生物主要来源于原料米和周围环境,其种类构成易受外界环境条件的影响而发生变化,难以保证产品品质的稳定性。因此,利用优势乳酸菌进行纯种或混种发酵成为解决传统糯米炸糕品质不稳定的关键措施。

目前,纯种或混种乳酸菌发酵主要应用于乳制品^[5]、泡菜^[6]及肉制品^[7]的制作,关于发酵米制品的研究较少。杨韵^[8]研究了发酵米糕的加工过程及贮藏方式对成品品质的影响,采用市售发酵剂研究其发酵性能;姚国强等^[9]研究了乳酸菌对发酵食品风味、营养及保质期等方面的影响;易翠平等^[10]在对米粉发酵工艺的研究中发现,纯种发酵能够利用优势菌控制发酵工艺,缩短发酵时间,抑制腐败菌和致病菌生长。发酵米制品的主要生产菌株是乳酸菌,筛选米粉发酵专用的纯种发酵剂在食品安全性和稳定产品质量等方面可发挥关键的作用^[11]。

本试验拟采用米浆培养基和 MRS 培养基对沥水米浆和发酵湿米粉中的细菌进行分离纯化,并根据形态学特征、生理生化指标以及测定 16S rRNA 序列进行比对分析确认属种,最后根据生长速度和产酸能力筛选出适合于米粉发酵的

优势乳酸菌菌株,旨在研制纯种或混种发酵菌剂提供优良的种质资源,为糯米炸糕由作坊式生产向工业化生产的转型提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

试验原料:不同生产时间的沥水米浆或发酵湿米粉,取自糯米炸糕生产车间;

米浆培养基:沥水米浆 100 g,琼脂 15 g,加蒸馏水至 1 000 mL,于 121 ℃ 高压蒸汽灭菌 15 min;

MRS 培养基^[12]:蛋白胨 10 g,牛肉粉 5 g,酵母粉 4 g,葡萄糖 20 g,吐温-80 1 mL,磷酸氢二钾 5 g,乙酸钠 5 g,柠檬酸三铵 2 g,硫酸镁 0.02 g,硫酸锰 0.05 g,琼脂粉 15 g,加入 1 000 mL 蒸馏水,调 pH 值为 6.2,于 121 ℃ 高压蒸汽灭菌 15 min。

1.2 仪器与设备

高压蒸汽灭菌器:MLS-3780 型,日本 SANYO 电器集团;

数显高速分散均质机:FJ200-SH 型,上海标本模型厂;

紫外可见分光光度计:754 型,上海舜宇恒平仪器有限公司;

台式高速冷冻离心机:Neofuge 18R 型,力康发展有限公司;

PCR 扩增仪:icycler 型,美国 Bio-Rad 公司;

高速台式冷冻离心机:TGL-16B 型,湖南湘仪离心机;

电泳仪电源:DYY-12 型,北京市六一仪器厂;

电泳槽:DYCP-31D 型,北京市六一仪器厂;

紫外投射分析仪:UV-1 型,珠海黑马医学仪器有限公司;

凝胶成像分析系统:CHEMIDOC XRS 型,美国 Bio-Rad 公司;

科研显微镜:ECLIPSE Ci-L 型,尼康映像仪器销售有限公司。

1.3 方法

1.3.1 菌株的分离、纯化 在无菌条件下,称取沥水米浆 10.0 g 置于盛有 90 mL 无菌生理盐水的锥形瓶中,用均质机充分混匀后静置。取上层菌悬液 1 mL 做梯度稀释,得到 10^{-2} 和 10^{-3} 两个稀释度。取 1 μ L 菌悬液均匀涂布于米浆培养基,于 28 ℃ (传统发酵环境温度) 条件下培养 4~5 d 以最大限度将细菌进行分离。

挑取形态不同的单菌落,划线接种于 MRS 固体培养基中培养。对其反复纯化并镜检,直至得到纯菌落^[13]。

1.3.2 菌种的鉴定

(1) 形态学鉴定和革兰氏染色:通过革兰氏染色法^[14]²⁸⁹⁻²⁹² 观察细菌的菌落和菌体形态,并用显微镜观察细胞形态。

(2) 生理生化鉴定:对细菌进行过氧化氢酶试验、运动性观察、硫化氢试验、L-酪氨酸水解试验、蛋白质结晶毒素试验和糖发酵试验,试验方法参考文献^[14]²⁸⁹⁻²⁹²。

(3) 16S rRNA 基因序列测定和比对分析:采用 CTAB 法提取细菌的基因组 DNA^[15],并进行 PCR 扩增。PCR 反应体系为 50 μ L,包含 2 \times Premix 25 μ L,模板 DNA 2 μ L,正向引物(F) 2 μ L,反向引物(R) 2 μ L,ddH₂O 19 μ L。选用 16S rRNA 通用扩增引物,序列如下:F: 5'-ATTG-GAGGGCAAGTCTGGTG-3';R: 5'-CCGATCCCTAGTCG-GCATAG-3'。引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。PCR 反应程序:95 ℃ 4 min;95 ℃ 1 min,55 ℃ 1 min,72 ℃ 1 min,30 个循环;72 ℃ 10 min;4 ℃ 保存。

扩增片段经琼脂糖凝胶电泳(浓度为 1%)检测后,利用纯化回收试剂盒进行 PCR 产物的回收与纯化,由上海生工生物有限公司测定 16S rRNA 序列。所得序列与 GenBank 中的标准序列进行比对和同源性分析,并通过 MEGA 6.0 软件构建邻接树。

1.3.3 乳酸菌优势菌种的筛选

(1) 一级筛选:将 4 株乳酸菌进行革兰氏染色、过氧化氢酶试验和葡萄糖产酸、产气试验^[16]。

(2) 二级筛选:取 $OD_{600\text{ nm}}$ 为 0.5(± 0.05)的各菌株菌悬液分别接种到 MRS 液体培养基中进行培养,温度为 30 ℃,定时取样并测定发酵液 pH 值和波长为 600 nm 处的光密度(OD)值,并分别绘制曲线,筛选出产酸能力强、生长速率快的菌株^[17-18]。

2 结果与分析

2.1 细菌的形态观察及初步鉴定

采用稀释分离、划线纯化的方法,从米浆中分离获得 7 株细菌,各菌株的菌落和细胞形态见表 1。经革兰氏染色反应后用油镜观察,部分菌株的观察结果见图 1。7 株细菌均为杆菌,呈短杆或长杆状,单生或成对出现,形成链状或环形。

表 1 细菌菌落形态和细胞形态

Table 1 The colony and cell morphology of bacteria

菌株	菌落形态	细胞形态	是否有芽孢	细胞大小/ μm
B1	白色,圆形,不透明,较湿润,凸,光滑	圆端直杆	否	(0.8~1.0) \times (1.8~2.0)
B2	白色,较湿润,不透明,低凸起,光滑	杆状	是	(1.0~1.5) \times (3.0~5.0)
B5-1	黄色,不透明,扁平,湿润,光滑	短杆	否	(0.6~0.8) \times 1.0
B5-2	白色,半球形,不透明,湿润,凸,光滑	圆端直杆	否	(0.8~1.0) \times (1.5~2.0)
B6	黄色,不透明,圆形,凸,光滑	短杆	否	(0.6~0.8) \times 1.0
B7	白色,不透明,圆形,较湿润,凸,光滑	圆端直杆	否	(0.8~1.0) \times (1.5~1.8)
B8	白色,不透明,圆形,湿润,凸,光滑	圆端直杆	否	(0.8~1.0) \times (1.8~2.0)

在基本形态观察的基础上,根据文献[19]¹⁵⁷⁻⁸²⁹,对其它相关特征进行了测定,结果见表 2。

综合表 1 和表 2 的形态观察和试验结果,可以初步判定 B1、B5-2、B7、B8 为乳杆菌属细菌,B2 为芽孢杆菌属细菌,B5-1 和 B6 未获得初步鉴定结论。乳杆菌属细胞不运动,非丝状,不以二分裂法进行繁殖,有僵硬界限,且不形成芽孢。芽孢杆菌属细胞不形成丝状体,形成内生孢子。

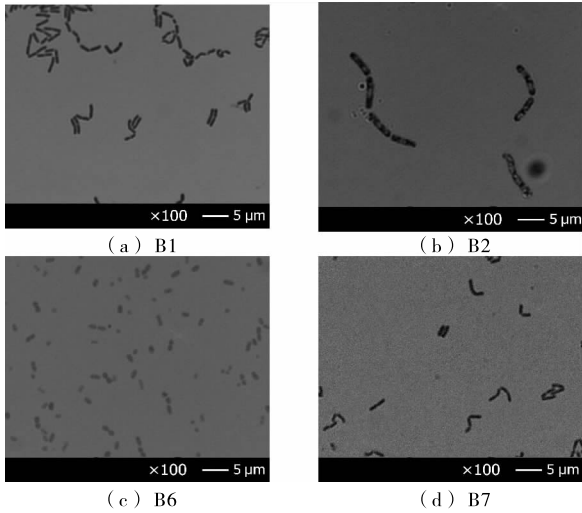


图 1 部分细菌菌体形态图

Figure 1 A part of the bacterial's cell morphology

表 2 细菌鉴定相关指标的测定结果[†]

Table 2 Morphological identification of bacteria

菌株	细胞滑动	细胞丝状	二分裂法繁殖	僵硬界限	芽孢
B1	-	-	-	+	-
B2	-	-	-	+	+
B5-1	-	-	-	+	-
B5-2	-	-	-	+	-
B6	-	-	-	+	-
B7	-	-	-	+	-
B8	-	-	-	+	-

[†] “+”表示阳性反应,“-”表示阴性反应。

表 4 4 株乳酸菌的生理生化特征[†]

Table 4 The physiological and biochemical characteristics of 4 strains of lactic acid bacteria

菌株	葡萄糖产酸	葡萄糖产气	糖发酵							15 °C 生长	
			木糖	葡萄糖酸盐	半乳糖	乳糖	麦芽糖	蔗糖	棉子糖		鼠李糖
B1	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
B5-2	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
B7	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
B8	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+

[†] “+”表示阳性反应,“-”表示阴性反应。

表 5 菌株 B2 生理生化特征[†]

Table 5 Physiological and biochemical characteristics of strain B2

葡萄糖产酸	葡萄糖产气	木糖产酸	甘露醇产酸	接触酶试验	好氧型	分解酪氨酸	细胞内蛋白晶体
+	-	-	-	+	兼性厌氧	+	-

[†] “+”表示阳性反应,“-”表示阴性反应。

2.2 菌株生理生化试验结果及鉴定

对 7 株细菌分别进行革兰氏染色、过氧化氢酶试验、葡萄糖产酸和产气试验,结果见表 3。

表 3 细菌生理生化特征测定[†]

Table 3 The determination of physiological and biochemical characteristics of bacteria

菌株	革兰氏染色	过氧化氢酶	葡萄糖产酸	葡萄糖产气
B1	+	-	+++++	-
B2	+	+	+++	-
B5-1	+	+	+	-
B5-2	+	-	+++++	-
B6	-	+	+	-
B7	+	-	+++++	-
B8	+	-	+++++	-

[†] “+”表示阳性反应,“-”表示阴性反应;“+++”或“++++”表示产酸量较多或很多。

由表 3 进一步确定 B1、B5-2、B7、B8 菌株为乳杆菌属细菌,B2 菌株为芽孢杆菌属细菌。B5-1 和 B6 菌株仍未能判断其属种。乳杆菌属细菌革兰氏染色阳性、过氧化氢酶阴性、葡萄糖产酸强烈且不产气。芽孢杆菌属细菌革兰氏染色阳性、过氧化氢酶阳性,葡萄糖发酵产酸不产气。

对 4 株乳杆菌属细菌进行糖发酵等生理生化试验,结果见表 4。由表 4 可知,4 个菌株均为植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)。乳杆菌属细菌能在 15 °C 生长,能利用蔗糖、乳糖、麦芽糖和葡萄糖酸钠等产酸,但不产气。

对 B2 进行相应的生理生化试验,结果见表 5。由表 5 可知,B2 为蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)。蜡状芽孢杆菌为兼性厌氧型细菌,不发酵木糖和甘露醇,接触酶阳性。

2.3 细菌 16S rRNA 序列的比对分析

分别提取 7 株细菌的基因组 DNA,用 16S rRNA 通用引物对其进行 PCR 特异性扩增,将扩增产物测序,并将测得的序列在 Genbank 中与已知序列进行比对,建立邻接树,结果见图 2。

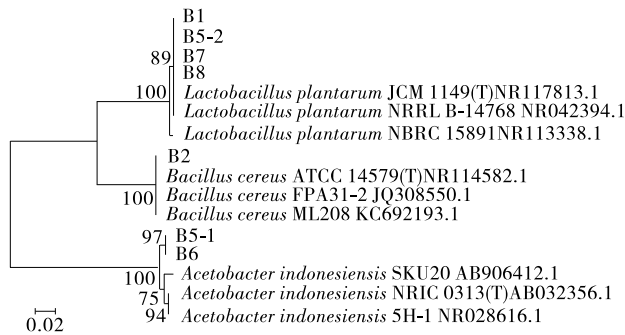


图2 基于16S rRNA基因序列构建邻接树
Figure 2 The neighbor-joining tree of 16S rRNA gene sequences

由图2可知, B1、B5-2、B7、B8菌株与 *Lactobacillus plantarum* (NR117813.1) 位于同一主枝, B2菌株与 *Bacillus cereus* (NR114582.1) 位于同一主枝, B5-1、B6菌株与 *Acetobacter indonesiensis* (AB032356.1) 位于同一主枝, 菌株间的相似性均达到99%以上, 发育关系密切, 且 Bootstrap 检验支持率达100%。因此, 确定菌株 B1、B5-2、B7、B8 为植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*), 菌株 B2 为蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*), 菌株 B5-1、B6 为印度尼西亚醋酸杆菌 (*Acetobacter indonesiensis*)。

2.4 优势乳酸菌株的筛选

对一级筛选的4株乳酸菌进行产酸能力和生长速率比较, 并绘制曲线, 结果见图3。

乳酸菌发酵产生的乳酸含量与发酵液 pH 值下降呈正相关, 因此菌株的产酸能力用 pH 值的变化表示。由图3可知, 4株乳酸菌产酸能力基本无差异, 在0~28 h内, pH 值下降速率较快, 而在28 h后趋于平缓。但发酵初期, B5-2菌株发酵液 pH 值低于其它菌株, 表明其产酸能力强, 迅速降低了体系的 pH 值, 防止被杂菌污染, 发酵效果显著, 有利于形

成风味物质^[20]。

同样, 4株菌株的生长速率也无显著差异, 均在5 h后进入生长对数期, 24 h后进入生长稳定期, $OD_{600\text{ nm}}$ 基本保持恒定 (2.64 ± 0.05)。但发酵初期, B5-2菌株生长速度略快于其它菌株。因此根据对菌株的产酸和生长能力的测定, 选取 B5-2 为糯米面团发酵过程中的优势乳酸菌。

3 结论

糯米炸糕作为天津的著名小吃, 极具地方特色与风味, 但其相关研究较为缺乏。本试验从炸糕生产过程中的泔水米浆和发酵湿米粉中分离得到7株细菌, 经革兰氏染色后的形态学观察, 结合文献^[19]¹⁵⁷⁻⁸²⁹以及过氧化氢试验和糖发酵试验等生理生化试验、各菌株16S rRNA基因的测序与分析, 确定菌株 B1、B5-2、B7、B8 均为植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*), B2 为蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*), B5-1、B6 为印度尼西亚醋酸杆菌 (*Acetobacter indonesiensis*), 证明乳酸菌是天津名吃糯米炸糕在泔水和发酵环节的主要菌株。乳酸菌发酵产生的酸性环境, 不仅赋予产品独特的风味和口感, 而且有效抑制了其他杂菌及有害菌的生长, 保证了食品的质量与安全。通过对4株乳酸菌进行产酸和生长能力测定, 最终确定 B5-2 为炸糕糯米面团发酵过程中的优势乳酸菌株。试验中虽然筛选得到优势乳酸菌株, 但未对炸糕的生产工艺条件进行优化, 也没有考察纯种发酵剂对产品品质的影响。因此, 后续试验还需要进行纯种发酵剂生产的关键控制点分析及实际应用方面的研究。

参考文献

- [1] 张国华, 何国庆. 传统发酵食品中乳酸菌多样性及其功能特性[J]. 中国食品学报, 2013, 13(9): 174-181.
- [2] 曲冬梅, 刘小杰. 植物乳杆菌及其在食品工业中的应用[J]. 中国食品添加剂, 2008(S1): 219-222.
- [3] Robert H, Gabriel V, Lefebvre D, et al. Study of the behaviour of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc* starters during a complete wheat sourdough breadmaking process[J]. LWT-Food Science and Technology, 2006, 39(3): 256-265.
- [4] Luckw T, Delahunty C. Which juice is 'healthier'? A consumer study of probiotic non-dairy juice drinks[J]. Food Quality and Preference, 2004, 15(7/8): 751-759.
- [5] 张冬蕾, 任艳, 德亮亮, 等. 内蒙古鄂尔多斯地区羊鲜乳与酸乳中乳酸菌的分离鉴定[J]. 中国乳品工业, 2015, 43(7): 30-34.
- [6] 凌洁玉, 龚文秀, 包梦莹, 等. 泡菜中乳酸菌的分离鉴定及其抗氧化能力的比较研究[J]. 中国调味品, 2015, 40(7): 32-36.
- [7] 李湘丽, 袁廷香, 闫吉美. 乳酸菌在发酵香肠生产过程中的应用研究进展[J]. 食品与机械, 2014, 30(6): 233-237.
- [8] 杨韵. 发酵米糕加工工艺及贮藏期间品质变化研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2014: 7-8.
- [9] 姚国强, 李慧, 高鹏飞, 等. 乳酸菌在发酵酸面团中的研究与应用[J]. 中国食品学报, 2013, 13(3): 163-170.
- [10] 易翠平, 周慧, 佟立涛. 鲜米粉加工过程中的发酵工艺研究进展[J]. 食品与机械, 2013, 29(5): 223-225.
- [11] 沙漠, 逢焕明, 古丽娜孜, 等. 自然发酵辣椒酱中乳酸菌的分离与鉴定[J]. 食品与机械, 2012, 28(1): 35-37.

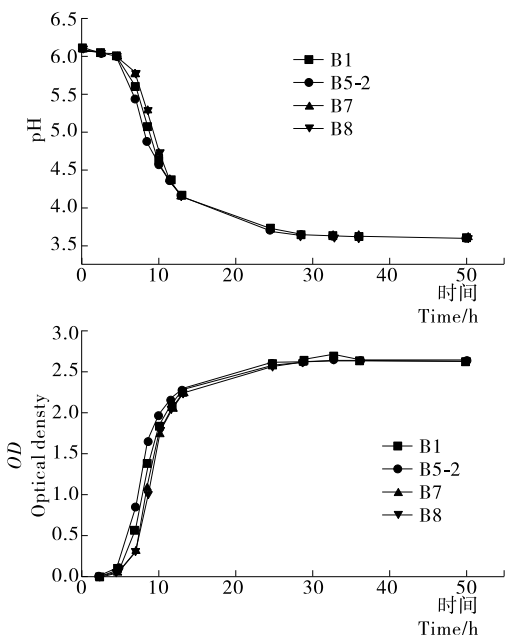


图3 乳酸菌产酸能力和生长曲线

Figure 3 Acid production capacity and growth curve of lactic acid bacteria

量在 1.68~1.83 g/100 g, 平均含量为 1.71~1.77 g/100 g, 相对标准偏差在 1.36%~4.08%, 说明该方法的重复性和精密密度较好, 符合 HZ 胶囊生产过程中用于质量控制的检测方法对重复性和精密密度的要求。

2.2.5 回收率 称取质量如表 7 所列的 HZ 胶囊样品和对

应的芦丁标准品, 采用上述改进后的方法进行加标回收率试验, 结果见表 7。改进后的方法芦丁回收率在 94.05%~100.44%, 平均回收率为 97.69%, 相对标准偏差为 3.88, 结果表明改进后的方法符合 HZ 胶囊生产过程中用于质量控制的检测方法要求。

表 7 回收率试验

Table 7 The recovery test ($n=5$)

样品 序号	HZ 原粉 质量/g	HZ 原粉中黄酮含量/ ($10^{-2} \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	芦丁添加量/ mg	吸光值	测定黄酮含量/ ($10^{-2} \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
1	0.253 4	1.73	3.5	0.374	2.98	94.05		
2	0.250 4	1.71	3.4	0.375	3.03	100.44		
3	0.251 0	1.71	3.2	0.355	2.86	93.19	97.69	3.88
4	0.251 3	1.71	3.0	0.358	2.89	101.34		
5	0.250 2	1.72	3.2	0.365	2.96	99.44		

3 结论

(1) 本试验考察了银杏叶提取物中 6 种主要黄酮化合物对亚硝酸钠—硝酸铝—氢氧化钠紫外分光光度法测定总黄酮含量时对总黄酮含量的贡献, 各黄酮单体在该方法中对总黄酮含量的贡献值不同, 槲皮苷是贡献最大的黄酮组分。利用该方法测定胶囊产品中总黄酮含量具有较大的局限性, 不能应用于银杏叶提取物原料的筛选, 可用于银杏叶提取物原料确定后, 产品的质量的控制。

(2) 取样量、洗脱液乙醇浓度和超声时间对亚硝酸钠—硝酸铝—氢氧化钠紫外分光光度法测定胶囊中总黄酮含量具有重要影响, 改进后的测定条件为取样量 0.5 g、洗脱液乙醇浓度 70%、超声时间 60 min, 上述条件下, 方法的重复性和精密密度良好, 加标回收率平均为 97.69%, 因此, 改进后的测定方法符合含银杏叶提取物胶囊产品生产过程中的质量控制。

本研究针对该测定方法进行了优化, 可进一步对该方法的测量不确定度进行深入研究。

参考文献

[1] 郭玉梅, 杨景和, 吴霞. 银杏叶提取物中总黄酮含量的分析方法研究[J]. 山东大学学报: 理学版, 2009, 44(5): 40-44.

[2] 徐芳, 李杰, 毛宇, 等. 银杏叶提取物的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(16): 124-127.

[3] Demirezer L Ö, Büyükkaya A, Uçaktürk E, et al. Adulteration determining of pharmaceutical forms of ginkgo biloba extracts from different international manufacturers[J]. Records of Natural Products, 2014, 8(4): 394-400.

[4] 吴超, 苏红利, 张晓鸣. 银杏叶提取物制取黄酮苷元的酶解工艺研究[J]. 食品与机械, 2005, 21(6): 27-35.

[5] Van Beek TA, Montoro P. Chemical analysis and quality control of Ginkgo biloba leaves, extracts, and phytopharmaceuticals[J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1 216(11): 2 002-2 032.

[6] Liu Xin-guang, Wu Si-qi, Li Ping, et al. Advancement in the chemical analysis and quality control of flavonoid in Ginkgo biloba[J]. Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis, 2015, 113: 212-225.

[7] 丁嘉信, 李万忠, 李慧芬, 等. 银杏叶提取物总黄酮紫外分光光

度法含量测定的适应性研究[J]. 食品与药品, 2012, 14(7): 260-263.

[8] 刘小柔, 王存芳, 严启新. 银杏叶提取物在保健食品中总黄酮测定方法的应用[J]. 食品工业科技, 2005, 26(6): 174-175.

[9] 张志红, 黄毅. 银杏叶提取物中黄酮类化合物的分光光度分析研究[J]. 分析试验室, 2005, 24(6): 17-19.

[10] 任珊珊, 包保全, 毛婷, 等. 中药中总黄酮的含量测定方法研究进展[J]. 北方药学, 2015(3): 112-115.

[11] 王严国, 许勇, 凌娟. 紫外分光光度法测定复方银杏叶胶囊总黄酮含量[J]. 东南国防医药, 2005, 7(3): 206-207.

[12] 巫军, 李松林. 紫外分光光度法测定银杏叶胶囊总黄酮含量[J]. 解放军药学学报, 2002, 18(2): 109-110.

[13] 王克勤, 严志慧, 罗军武, 等. 聚酰胺树脂分离纯化芹菜黄酮的工艺研究[J]. 食品与机械, 2009, 25(3): 46-50.

(上接第 36 页)

[12] 华鹤良. 乳酸菌的分离鉴定及其抗菌肽与发酵性能研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2014: 32.

[13] Plessas S, Bekatorou A, Gallanagh J, et al. Evolution of aroma volatiles during storage of sourdough breads made by mixed cultures of Kluyveromyces marxianus and Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus or Lactobacillus helveticus[J]. Food Chemistry, 2008, 107(2): 883-889.

[14] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001.

[15] 马燕, 倪永清, 卢士玲, 等. 新疆特色干酪中乳酸菌的分离鉴定[J]. 中国酿造, 2011(8): 38-40.

[16] 卢晓莉. 鱼鲑制品中乳酸菌的分离、筛选及应用[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007: 26-27.

[17] Greco M, Mazzette R. Evolution and identification of lactic acid bacteria isolated during the ripening of Sardinian sausage[J]. Meat Science, 2005, 69(4): 733-739.

[18] 钱存柔, 黄仪秀. 微生物学实验教程[M]. 北京: 北京大学出版社, 1999: 176-182.

[19] Buchanan R E, Gibbons N E, Holt J G, 等. 伯杰氏细菌鉴定手册[M]. 8 版. 北京: 科学出版社, 1984.

[20] 刘贞, 刘小翠, 赵思明, 等. 发酵米浆中高发酵性能酵母菌和乳酸菌的筛选和鉴定[J]. 食品科学, 2010, 31(7): 232-235.