



乳酸菌分离及在发酵羊乳中的应用

崔梦君¹,董蕴¹,单春会²,蔡文超²,张振东¹,郭壮¹

(1.湖北文理学院 食品科学技术学院,湖北 襄阳 441053;2.石河子大学 食品学院,新疆 石河子 832003)

摘要:以襄阳地区青年人肠道为例,采集7名志愿者粪便样品为试材,通过鉴别培养基对其中的乳酸菌进行分离,并进一步利用16S rDNA序列分析方法进行种属鉴定,同时采用电子舌和电子鼻相结合的方法对部分乳酸菌制备发酵羊乳的品质进行了评价。结果表明:襄阳青年人肠道中乳酸菌多样性较高,共从7位青年志愿者粪便样品中分离出隶属于2个属、9个种的21株乳酸菌,且以*W. confusa*(融合魏斯氏菌)为主,占到分离株总数的28.57%。使用乳杆菌和*W. confusa*(融合魏斯氏菌)分别进行了发酵羊乳的制备;乳杆菌发酵羊乳的风味品质较佳,同时*L. fermentum* HBUAS54187、*L. plantarum* HBUAS54176和*L. johnsonii* HBUAS54185可作为潜在菌株,用于后续具有良好羊乳发酵特性乳酸菌的筛选。

关键词:乳酸菌;肠道菌群;发酵羊乳;品质评价

中图分类号:Q93-331

文献标识码:A

文章编号:1001-2230(2019)07-0019-04

Isolation and identification of *Lactic acid bacteria* and affection of isolates on the quality of fermented goat milk

CUI Mengjun¹, DONG Yun¹, SHAN Chunhui², CAI Wenchao², ZHANG Zhendong¹, GUO Zhuang¹

(1. College of Food Science and Technology, Hubei University of Arts and Science, Xiangyang 441053, China;

2. Food College, Shihezi University, Shihezi 832003, China)

Abstract: In this study, the diversity of intestinal flora in youth people of Xiangyang Hubei province was used as an example, 7 fecal samples of volunteers were collected and used for the isolation of lactic acid bacteria strains by differential medium method, and preliminary identification by 16S rDNA. Then, the product quality of fermented goat milk samples made by these strains were evaluated by electronic tongue and electronic nose. The results showed that 21 suspected strains isolated from 7 fecal samples of youth volunteers, which divided into 2 genera and 9 species, and *W. confusa* was accounting for 28.57% of the isolates. The fermented goat milk samples were fermented by *Lactobacillus* and *W. confusa* strains, and samples fermented by *Lactobacillus* with better quality. Meanwhile, *L. fermentum* HBUAS54187, *L. plantarum* HBUAS54176 and *L. johnsonii* HBUAS54185 could be used for screening of lactic acid bacteria with good fermentation characteristics of goat milk.

Key words: *Lactic acid bacteria*; Gut microbiota; Fermented goat milk; Quality evaluation

0 引言

在现代食品加工产业中,乳酸菌是生产发酵乳常用的发酵剂菌种之一,具有调整肠道菌群、预防代谢综合征和增强免疫等诸多作用,在婴幼儿配方奶粉和保健食品中亦有着广泛的应用^[1]。通过模拟人的味觉系统,电子舌实现了奶酪^[2]、牛奶^[3]和酸奶^[4]等乳制品滋味品质的数字化评价^[5]。通过模拟人的嗅觉系统,电子鼻基于金属氧化物传感器矩阵,实现了食品中典型

挥发性风味物质的定量分析^[6],目前在奶粉^[7]、羊酸奶^[8]和冰激凌^[9]等乳制品风味品质评价中有着广泛的应用。本研究对襄阳地区青年人肠道中乳酸菌进行了鉴定,同时采用电子舌和电子鼻技术对部分分离株制备的发酵羊乳品质进行了评价,以期后续具有良好羊乳发酵特性乳酸菌的筛选提供菌株支持。

1 实验

1.1 试剂及仪器设备

1.1.1 材料

全脂羊乳粉和蔗糖。

生化试剂:MRS培养基,rTaq,DNA聚合酶,溶菌酶,蛋白酶K,10×PCR buffer,引物(27F/1495R),dNTP Mix,2×PCR mix,pMD18-T克隆载体,Axy-gen PCR 清洁试剂盒和*Escherichia coli* top10。

普通化学试剂:氯化钠、醋酸钠、十六烷基三甲基

收稿日期:2018-09-12

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(31501455);湖北省自然科学基金计划项目(2016CFB527);新疆生产建设兵团重点领域创新团队建设计划项目(2017CB012)。

作者简介:崔梦君(1999-),女,本科,研究方向为食品生物技术。

通讯作者:郭壮

溴化铵、十二烷基硫酸钠、碳酸钙、酚、氯仿、异戊醇、异丙醇、乙醇、阳离子溶液、阴离子溶液、参比溶液、乳酸、柠檬酸、苹果酸、琥珀酸、乙酸、磷酸二氢钾、甲醇、乙腈、异丙醇和磷酸。

1.1.2 设备

DG250 厌氧工作站, LRH-150 生化培养箱, LXJIB 低速大容量多管离心机, vetiri 梯度基因扩增仪, DYY-12 电泳仪, ECLIPSE Ci 生物显微镜, UVPCDS8000 凝胶成像分析系统, SA-402B 电子舌, PEN3 电子鼻, LC-20ADXR 高效液相色谱仪。

2 方法

从湖北文理学院大一学生中共招募健康志愿者 7 名, 其中男生 3 名, 女生 4 名, 年龄在 18~20 岁之间, BMI 值在 18.9~21.2 之间, 所有志愿者均为襄阳本地人, 且近 1 个月内未服用抗生素亦从未接受过肠道手术。取志愿者晨便用于乳酸菌的分离。

2.1 粪便样品中乳酸菌的分离

取 2.0 g 粪便样品, 加入到含有 10 mL 无菌 PBS 缓冲液的离心管中, 充分振荡混匀后于 4 ℃ 转速为 400 r/min 离心 10 min, 上清液进行 10 倍梯度稀释, 取梯度稀释后 -4, -5, -6 三个梯度的菌悬液涂布于含有 1.0% 碳酸钙的 MRS 固体培养基中, 37 ℃ 厌氧 (85% N₂, 5% CO₂ 及 10% H₂) 培养 48 h。挑选形态大小菌不相同且具有溶钙圈的单菌落进行编号, 反复划线于固体 MRS 平板上, 对菌株进行纯化。将分离纯化得到的乳酸菌菌悬液涂布于洁净的载玻片上进行革兰氏染色和过氧化氢酶实验, 将革兰氏阳性而过氧化氢酶实验为阴性的菌株判定为疑似乳酸菌菌株。

2.2 疑似乳酸菌的鉴定

采用 CTAB 法 (cetyltrimethyl ammonium bromide, 十六烷基三甲基溴化铵) 提取疑似乳酸菌菌株的基因组 DNA^[10], 参照文献[11]中的扩增体系和扩增条件进行 PCR 扩增, 将扩增的 PCR 产物进行纯化、连接、转化和验证, 挑取阳性克隆子寄往天一辉远生物科技有限公司进行测序。将测序所得的 16S rDNA 序列与 NCBI (National Center for Biotechnology Information, 美国国立生物技术信息中心) 网站中的 GenBank 数据库进行同源性比对, 运用 MEGA5.0 的邻接法 (Neighbor-Joining, NJ) 构建系统发育树, 以确定分离菌株的分类学地位^[12]。

2.3 发酵羊乳的制备

全脂羊乳粉、蔗糖和水按照质量比 11.5%、6.5% 和 82.0% 的比例混合均匀, 65 ℃ 水合 30 min 后进行两段均质 (一段 20 MPa, 二段 4 MPa), 95 ℃ (5 min) 水浴杀菌, 冷却至室温后, 按照 5×10⁶ mL⁻¹ 复原乳的比例分别接入乳酸菌菌悬液, 并置于 42 ℃ 培养箱中恒温发酵 24 h 后 4 ℃ 后熟 24 h, 备用。

2.4 发酵羊乳滋味品质的评价

取 50 g 发酵羊乳加入 150 mL 蒸馏水, 转速为 10 000 r/min (10 min) 离心取上清, 用吸管吸除上层脂肪, 抽滤备用。参照沈馨的方法进行发酵羊乳酸味、苦味、涩味、鲜味和咸味 5 基本味指标及后味 A (涩味的回

味)、后味 B (苦味的回味) 和丰度 (鲜味的回味) 3 个基本味的回味指标测定^[13]。每个样品重复测定 4 次, 取后 3 次数据取平均值用于数据分析。

2.5 发酵羊乳中有机酸种类和含量的测定

参照田辉的方法进行样品前处理, 并进行适当修改^[14]。称取 2 g 发酵羊乳与 50 μL 的 68% 硝酸混合后, 用浓度为 0.01 mol/L 磷酸二氢钾流动相定容至 10 mL, 转速为 10 000 r/min 离心 10 min 取上清。上清液 121 ℃ 高温处理 15 min 后, 转速为 10 000 r/min (10 min) 离心再次取上清液, 过 0.22 μm 滤膜备用。

参照杨成聪的方法进行有机酸测定, 并进行适当修改^[15]。定量有机酸种类为: 乳酸、柠檬酸、苹果酸、琥珀酸和乙酸。流动相为浓度 0.01 mol/L 磷酸二氢钾溶液; pH 值为 2.90; 检测波长为 215 nm; 色谱柱为 Inertsil C18 液相色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 柱温为 30 ℃; 流速为 0.8 mL/min; 进样量为 20 μL。

2.6 发酵羊乳风味品质的评价

取 15 g 发酵羊乳于电子鼻样品瓶中, 室温平衡 30 min, 按照杨成聪的方法进行测试并做适当修改^[16]。设置参数: 洗气时间 200 s; 自动调零时间 5 s; 探头插入时间 5 s; 样品测定时间 60 s, 每间隔 1 s 测试一个数值; 样品间测试间隔 1 min; 进样流量 120 mL/min; 选取 49~51 s 内各传感器的响应值作为原数数据求平均值后纳入后续分析。

2.7 统计分析

使用主成分分析法 (principal component analysis, PCA) 和多元方差分析法 (multivariate analysis of variance, MANOVA) 对乳杆菌和 *W. confusa* (融合魏斯氏菌) 制备发酵羊乳的差异性进行分析; 使用曼-惠特尼 (Mann-Whiney) 检验对两类发酵羊乳各滋味、有机酸和风味指标的差异性进行分析。使用 Origin 8.6 软件绘图, 使用 SAS9.0 软件进行数据分析。

3 结果与分析

3.1 青年人肠道源乳酸菌的分离鉴定

本研究从 7 名青年志愿者的粪便样品中共分离纯化出 21 株有溶钙圈的菌株, 且所有菌株革兰氏染色均为阳性, 过氧化氢酶实验均为阴性, 因而可以将其初步鉴定为疑似乳酸菌菌株^[7]。分别提取 21 株菌株 DNA, 在对 16S rDNA 基因全长进行扩增的和测序的基础上, 将所得序列在 GenBank 中进行相似性比对, 同源性比对结果如表 1 所示。

由表 1 可知, 21 株疑似乳酸菌菌株与模式株参比序列同源性均在 99% 以上, 菌株 HBUAS54121、HBUAS54124、HBUAS54128、HBUAS54161、HBUAS54169 和 HBUAS54202 被鉴定为 *Weissella confusa* (融合魏斯氏菌), 菌株 HBUAS54177、HBUAS54179 和 HBUAS54187 被鉴定为 *Lactobacillus fermentum* (发酵乳杆菌), 菌株 HBUAS54118 和 HBUAS54181 被鉴定为 *Lactobacillus ruminis* (瘤胃乳酸杆菌), 菌株 HBUAS54176、HBUAS54178 和 HBUAS54199 被鉴定为 *Lactobacillus plantarum* (植物乳杆菌), 菌株 HBUAS54183 和 HBUAS54186 被鉴定为 *Lactobacillus*

表1 菌株 16S rDNA 序列同源性比对结果

编号	BLAST 结果	相似度	鉴定结果
HBUAS54111	<i>Lactobacillus agilis</i> JCM1187	99%	<i>L. agilis</i>
HBUAS54118	<i>Lactobacillus ruminis</i> NBRC102161	99%	<i>L. ruminis</i>
HBUAS54121	<i>Weissella confusa</i> JCM1093	99%	<i>W. confusa</i>
HBUAS54124	<i>Weissella confusa</i> JCM1093	99%	<i>W. confusa</i>
HBUAS54128	<i>Weissella confusa</i> JCM1093	99%	<i>W. confusa</i>
HBUAS54131	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i> TUA4408L	99%	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>Delbrueckii</i>
HBUAS54145	<i>Lactococcus garvieae</i> JCM12256	99%	<i>L. garvieae</i>
HBUAS54161	<i>Weissella confusa</i> JCM1093	99%	<i>W. confusa</i>
HBUAS54169	<i>Weissella confusa</i> JCM1093	99%	<i>W. confusa</i>
HBUAS54176	<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> JCM1149	99%	<i>L. plantarum</i> subsp. <i>Plantarum</i>
HBUAS54177	<i>Lactobacillus fermentum</i> NBRC15885	99%	<i>L. fermentum</i>
HBUAS54178	<i>Lactobacillus pentosus</i> 124-2	99%	<i>L. pentosus</i>
HBUAS54179	<i>Lactobacillus fermentum</i> NBRC15885	99%	<i>L. fermentum</i>
HBUAS54181	<i>Lactobacillus ruminis</i> NBRC102161	99%	<i>L. ruminis</i>
HBUAS54183	<i>Lactobacillus reuteri</i> NBRC15892	99%	<i>L. reuteri</i>
HBUAS54184	<i>Lactobacillus johnsonii</i> CIP103620	99%	<i>L. johnsonii</i>
HBUAS54185	<i>Lactobacillus johnsonii</i> CIP103620	99%	<i>L. johnsonii</i>
HBUAS54186	<i>Lactobacillus reuteri</i> DSM20016	99%	<i>L. reuteri</i>
HBUAS54187	<i>Lactobacillus fermentum</i> NBRC15885	99%	<i>L. fermentum</i>
HBUAS54199	<i>Lactobacillus plantarum</i> DSRM2	100%	<i>L. plantarum</i>
HBUAS54202	<i>Weissella confusa</i> JCM1093	99%	<i>W. confusa</i>
HBUAS54111	<i>Lactobacillus agilis</i> JCM1187	99%	<i>L. agilis</i>

reuteri (罗伊氏乳杆菌), 菌株 HBUAS54184 和 HBUAS54185 被鉴定为 *Lactobacillus johnsonii*(约氏乳杆菌), 菌株 HBUAS54111、HBUAS54131 和 HBUAS54145 分别被鉴定为 *Lactobacillus agilis*(敏捷乳杆菌)、*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Delbrueckii*(德氏乳杆菌德氏亚种) 和 *Lactococcus garvieae*(格氏乳球菌)。分离株与模式菌株的系统发育树如图 1。

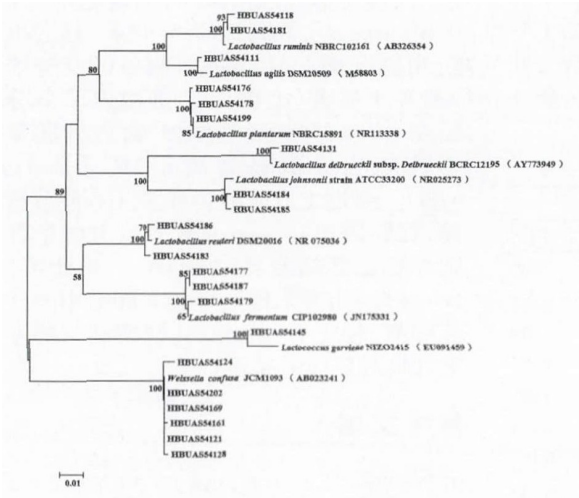


图1 乳酸菌 16S rDNA 序列系统发育树

由图 1 可以看出, 菌株 HBUAS54118 和 HBUAS54181 与模式菌株 *L. ruminis* NBRC102161 位于系统发育树的同一个分支上; 菌株 HBUAS54176、

HBUAS54178 和 HBUAS54199 与模式菌株 *L. plantarum* NBRC15891 位于系统发育树的同一个分支上; 菌株 HBUAS54184 和 HBUAS54185 与模式菌株 *L. johnsonii* ATCC33200 位于系统发育树的同一个分支上; 菌株 HBUAS54183 和 HBUAS54186 与模式菌株 *L. reuteri* DSM20016 位于系统发育树的同一个分支上; 菌株 HBUAS54177、HBUAS54179 和 HBUAS54187 与模式菌株 *L. fermentum* CIP102980 位于系统发育树的同一个分支上; 菌株 HBUAS54121、HBUAS54124、HBUAS54128、HBUAS54161、HBUAS54169 和 HBUAS54202 与模式菌株 *W. confusa* JCM1093 位于系统发育树的同一个分支上; 菌株 HBUAS54111、HBUAS54131 和 HBUAS54145 分别与模式株 *L. agilis* DSM20509、*L. delbrueckii* subsp. *Delbrueckii* B-CRC12195 和 *L. garvieae* NIZO2415 位于系统发育树的同一个分支上。本研究分离的 21 株乳酸菌共鉴定为 2 个属和 9 个种, 且 *W. confusa* 共有 6 株, 占分离株的 28.57%。由此可见, 襄阳地区青年人肠道中乳酸菌类群多样性较高, 且以 *W. confusa* 为主。

3.2 青年人肠道源乳酸菌发酵羊乳滋味品质的评价

在对青年人肠道中乳酸菌菌株进行分离鉴定的基础上, 本研究选取可用于食品加工的部分 *L. fermentum*、*L. plantarum*、*L. reuteri* 和 *L. johnsonii* 菌株进行了发酵羊乳制备, 同时以 *W. confusa* 为对照, 对青年人肠道源乳酸菌发酵羊乳的滋味品质进行了评价, 其各滋味指标相对强度的箱型图如图 2 所示。

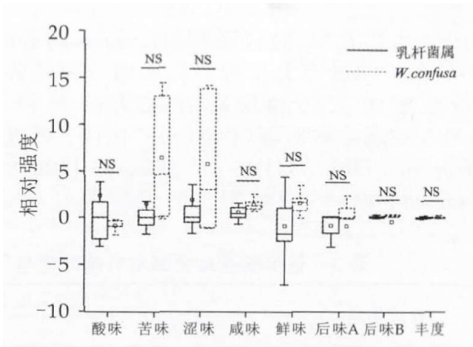


图2 发酵羊乳各滋味指标相对强度的箱型

由图 2 可以看出, 由乳杆菌制备的 9 个发酵羊乳样品在鲜味、酸味和涩味上具有较大的组间差异, 极差值分别为 11.54、6.24 和 5.27, 而 *W. confusa* 制备的样品在涩味和苦味上的差异较大, 极差值分别为 15.32 和 14.61。经 Mann-Whiney 检验发现, 两类发酵羊乳在滋味指标上的差异均不显著 ($P>0.05$)。本研究进一步使用 HPLC 对发酵羊乳中有机酸的种类和质量分数进行了分析, 结果发现乳酸为其主要有机酸, 质量分数为 10.93~32.27 mg/g, 且两类发酵羊乳中乳酸、柠檬酸、苹果酸、琥珀酸和乙酸的质量分数差异均不

显著($P>0.05$)。

3.3 青年人肠道源乳酸菌发酵羊乳风味品质的评价

本研究进一步采用电子鼻对发酵羊乳风味品质进行了检测与评价,各传感器响应值的差异性分析如表3所示。

由表3可知,传感器W1C和W3C对乳杆菌发酵羊乳的响应值显著高于 *W. confusa* ($P<0.05$)。由表2亦可知,传感器W1C和W3C主要对芳香类物质灵敏,因而乳杆菌发酵羊乳的风味品质优于 *W. confusa*。值得一提的是,传感器W1S, W2S, W3S, W5S, W6S, W1W, W2W 和 W5C 对两类乳酸菌发酵羊乳的响应值差异均不显著($P>0.05$)。

3.4 乳酸菌发酵羊乳产品品质评价

本研究基于多元统计学方法对青年人肠道源乳酸菌发酵羊乳产品品质评价;进一步结合电子舌和电子鼻数据使用PCA(主成分分析法)对其进行了评价和分析,经PCA发现,前4个主成分的累积方差贡献率为88.42%,且前6个主成分的特征值均大于1。根据主成分个数确定的原则,若某一主成分的累计方差贡献率大于85.0%且其特征值大于1.0,则将其定义为主成分^[17],因而本研究选取了4个主成分,其中第一主成分(Principal Component1, PC1)的贡献率为52.94%,PC2的贡献率为15.63%,PC3的贡献率为12.24%,PC4的贡献率为7.61%。基于PCA发酵羊乳主成分分析的因子得分如图3所示。

由图3可以看出,PC1主要由风味指标构成,包括W1C, W3C, W5C, W1S, W2S, W5S, W6S, W1W 和 W2W;而PC2主要由滋味指标构成,包括酸味、鲜味、丰度(鲜味的回味)和后味A(涩味的回味)。基于PCA发酵羊乳滋味品质的PC1与PC2因子载荷图如图4所示。

由图4可以看出,乳杆菌和 *W. confusa* 制备的发酵羊乳样品在空间排布上呈现出明显的分离趋势,这说明两类发酵羊乳的品质存在较大的差异,且经MANOVA发现差异显著($P<0.05$)。由图5可以看出,由 *L. fermentum* HBUAS54187, *L. plantarum* HBUAS54176 和 *L. johnsonii* HBUAS54185 制备的发酵羊乳均分布在

第三象限;电子鼻传感器W1C, W3C 和 W5C 对其响应值明显偏高且酸味浓郁,具有良好的滋味和风味品质。由此可见,上述3株乳杆菌可作为潜在菌株,用于后续具有良好羊乳发酵特性乳酸菌的筛选。

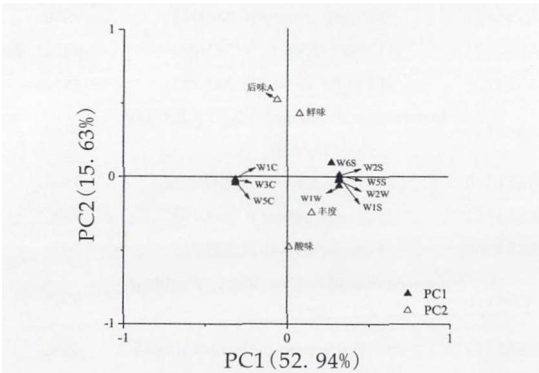


图3 发酵羊乳滋味品质PC1与PC2因子载荷图

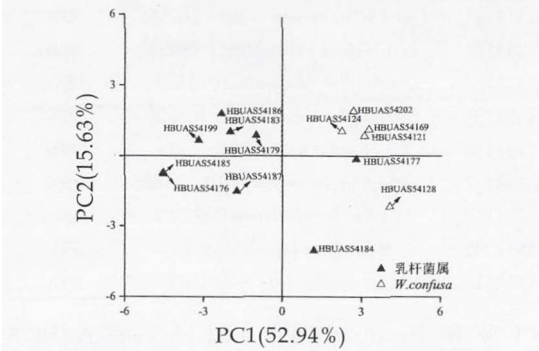


图4 发酵羊乳滋味品质PC1与PC2因子得分图

4 结 论

本文对襄阳地区青年人肠道中乳酸菌分离及在发酵羊乳中的应用进行了研究。结果表明:从粪便样品中共分离出21株疑似乳酸菌菌株,共鉴定为2个属和9个种,且 *W. confusa* 占分离株的28.57%。通过电子舌分析发现,由乳杆菌和 *W. confusa* 制备的发酵羊乳各滋味指标差异不显著($P>0.05$)。通过电子鼻分析发现,传感器W1C和W3C对乳杆菌发酵羊乳的响应值显著高于 *W. confusa* ($P<0.05$)。通过主成分分析和多元方差分析发现,乳杆菌和 *W. confusa* 制备的发酵羊乳品质存在显著的差异($P<0.05$)。由此可见, *W. confusa* 为襄阳地区青年人肠道中的优势乳酸菌,较之 *W. confusa* 乳杆菌制备的发酵羊乳具有更佳的品质。

参考文献:

[1] PEREIRA R N, TEIXEIRA J A, VICENTE A A, et al. Ohmic Heating for the dairy industry: a potential technology to develop probiotic dairy foods in association with modifications of whey protein structure[J]. Current opinion in food science, 2018, 22(8): 95–101.

(下转第32页)

表3 各传感器对发酵羊乳响应值差异分析

传感器	性能描述	添加乳酸菌组		P值
		乳杆菌	<i>W. confusa</i>	
W1C	对芳香类物质灵敏	0.48(0.51,0.34–0.57)	0.34(0.34,0.33–0.36)	0.042
W5S	对氢氧化物灵敏	4.18(3.60,2.49–7.67)	7.31(7.49,5.91–8.21)	0.361
W3C	对芳香类物质灵敏	0.57(0.60,0.41–0.66)	0.41(0.41,0.40–0.44)	0.045
W6S	对氢气有选择性	1.04(1.04,1.02–1.06)	1.06(1.06,1.05–1.07)	0.379
W5C	对芳香类物质灵敏	0.64(0.67,0.44–0.76)	0.46(0.45,0.44–0.50)	0.051
W1S	对甲烷灵敏	8.60(6.07,5.42–16.54)	16.16(15.76,14.86–18.51)	0.344
W1W	对有机硫化物灵敏	8.36(7.63,3.87–14.49)	14.65(15.13,12.10–16.22)	0.133
W2S	对乙醇灵敏	3.62(3.28,2.43–6.00)	6.16(6.15,5.48–6.73)	0.233
W2W	对有机硫化物灵敏	4.97(4.71,3.42–7.46)	7.39(7.42,6.40–8.07)	0.214
W3S	对烷烃类物质灵敏	1.13(1.12,1.08–1.17)	1.17(1.18,1.13–1.19)	0.771

注:0.48(0.51,0.34–0.57),平均值(中位数,最小值–最大值);P值为传感器对乳杆菌属和 *W. confusa* 制备发酵乳响应值的差异性分析参数。

酯 0.2 g/L, 在 36 ± 1 °C 培养 18 h 即可使菌落呈现出蓝绿色, 且效果稳定。检测实际样品结果与国标法无差异, 在检测时间方面具有极大的优势, 仅需一步增菌, 大大缩短了检测时间, 可以满足快速检测的要求, 适合一般实验室及现场检测, 可以向食品生产厂家进行宣传及推广。

参考文献:

- [1] MARCIO A SILVA, ÉRIKA F S T FERNANDES, SANDRA C SANTANA, et al. Isolation of *Salmonella* spp. in cattle egrets (*Bubulcus ibis*) from Fernando de Noronha Archipelago, Brazil[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2018: S1517838216308851.
- [2] 沈赞, 秦思, 唐震. 2016 年江苏省沙门氏菌血清型的分布、耐药状况及相关基因研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2018(09): 1319–1321+1330.
- [3] VERMA S, THAKUR S, KANGA A, et al. Emerging *Salmonella* Paratyphi A enteric fever and changing trends in antimicrobial resistance pattern of *Salmonella* in Shimla[J]. Indian Journal of Medical Microbiology, 2010, 28(1): 51.
- [4] 许保生, 王晓燕, 张春燕. 某部一起群发性急性胃肠炎的调查分析[J]. 解放军预防医学杂志, 2018, 36(06): 806–807+809.
- [5] BING-MU HSU, KUAN-HAO HUANG, SHIH-WEI HUANG, et al. Evaluation of different analysis and identification methods for *Salmonella* detection in surface drinking water sources[J]. Science of the Total Environment, 2011, 409(20): 4435–4441.
- [6] 刘辉, 何艺梅, 王明阳, 何伟荣, 解瑞林, 郑超红, 莫玲玲. 环介导等温扩

增法快速检测食源性致病菌[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(16): 4412–4416.

- [7] VANESSA SCHÖNENBRÜCHER, EDWARD T MALLINSON, MICHAEL BÜLTE. A comparison of standard cultural methods for the detection of foodborne *Salmonella* species including three new chromogenic plating media[J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 123(1–2): 61–66.
- [8] 伊廷存, 霍胜楠, 孟静, 郑世超, 孙潇慧, 任易婕. 沙门氏菌显色培养基的质量与性能比较[J]. 食品安全导刊, 2017(06): 98–100.
- [9] 食品安全国家标准食品微生物学检验沙门氏菌检验. GB4789.4–2016 中国标准书号[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [10] 白世平, 彭佳龙. 降低蛋鸡肠炎沙门氏菌增殖和入侵的微量元素预混料及其制备方法[S]. 中国专利. CN105248932A. 2016–1–20.
- [11] 钱红玫. 病原微生物快速检测中的快速增菌方法的优化及其应用研究[D]. 大连工业大学, 2017.
- [12] 于瑞莉, 陈臣, 陈帅, 陈鹏飞, 茆伟伟, 周锐. 一种用于检测沙门氏菌的显色培养基及其制备方法[S]. 中国专利. CN108359707A. 2018–8–3.
- [13] 庄平, 余以刚, 周冬根, 李亚茹, 胡双芳, 肖性龙. SD-PMA-qPCR 快速检测冷冻肉制品中活性沙门氏菌的研究[J]. 现代食品科技, 2017, 33(07): 289–294.
- [14] MANAFI S, UYAR A, BENER A. Sampling basis in microarray data analysis: A demonstration in the field of reproductive biology[C]. IEEE, 2013.
- [15] RAZAVI TOUSI S, MANAFI S, YAZDANI RAD R. A model for abnormal grain growth in nano-crystalline materials based on zener drag force[J]. Archives of Metallurgy and Materials, 2012, Vol.57 (1), pp.79–85.

(上接第 22 页)

- [2] VALENTE N I P, RUDNITSKAYA A, OLIVEIRA J A B P, et al. Cheeses made from raw and pasteurized cow's milk analysed by an electronic nose and an electronic tongue[J]. Sensors (Basel, Switzerland), 2018, 18(8): 2414–2428.
- [3] SCAGION V P, MERCANTE L A, SAKAMOTO K Y, et al. An electronic tongue based on conducting electrospun nanofibers for detecting tetracycline in milk samples[J]. RSC Advances, 2016, 6(105): 103740–103746.
- [4] WEI Z, ZHANG W, WANG Y, et al. Monitoring the fermentation, post-ripeness and storage processes of set yogurt using voltammetric electronic tongue[J]. Journal of food engineering, 2017, 203(6): 41–52.
- [5] BLANCO C A, DE LA FUENTE R, CABALLERO I, et al. Beer discrimination using a portable electronic tongue based on screen-printed electrodes[J]. Journal of food engineering, 2015, 157(7): 57–62.
- [6] BAIETTO M, WILSON A D. Electronic-nose applications for fruit identification, ripeness and quality grading[J]. Sensors, 2015, 15(1): 899–931.
- [7] ABDALLA A K, SMITH K, LUCEY J. Sensory evaluation of nonfat dry milk and skim milk powder[J]. International journal of dairy science, 2017, 12(3): 190–196.
- [8] JIA R, CHEN H, CHEN H, et al. Effects of fermentation with *Lactobacillus rhamnosus* GG on product quality and fatty acids of goat milk

yogurt[J]. Journal of dairy science, 2016, 99(1): 221–227.

- [9] AYED C, MARTINS S I F S, WILLIAMSON A M, et al. Understanding fat, proteins and saliva impact on aroma release from flavoured ice creams[J]. Food chemistry, 2018, 267(11): 132–139.
- [10] 徐鑫, 王茜茜, 王晓蕊, 等. 传统农家大酱中耐盐性乳酸菌的分离与鉴定[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(11): 33–40.
- [11] 郭壮, 蔡宏宇, 杨成聪, 等. 六名襄阳地区青年志愿者肠道菌群多样性的研究[J]. 中国微生态学杂志, 2017, 29(9): 998–1004.
- [12] 李院, 魏新元, 王静, 等. 抑制青霉菌乳酸菌的分离、鉴定及抑菌物质分析[J]. 食品科学, 2015, 36(21): 150–155.
- [13] 沈馨, 凌霞, 李雪霞, 等. 婴幼儿配方乳粉滋味品质评价[J]. 中国乳品工业, 2017, 45(4): 17–20.
- [14] 田辉, 孙懿琳, 周元良, 等. 高效液相色谱法测定酸奶中四种有机酸[J]. 食品与机械, 2012, 28(5): 87–90.
- [15] 杨成聪, 沈馨, 马雪伟, 等. 高效液相色谱法测定米酒中有机酸的含量[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(10): 116–123.
- [16] 杨成聪, 刘丹丹, 葛东颖, 等. 基于气相色谱-质谱联用技术结合电子鼻评价浸米时间对黄酒风味品质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(8): 265–270.
- [17] 贾丽娜, 焦爱权, 赵建伟, 等. 回锅肉加工及冻藏过程中风味物质的变化[J]. 食品与生物技术学报, 2015, 34(12): 1269–1277.