

舒梅, 钟婵, 吴国平, 等. 酸菜中乳酸菌的分离筛选及富硒性能研究[J]. 江西农业大学学报, 2019, 41(5): 986-992.



酸菜中乳酸菌的分离筛选及富硒性能研究

舒梅¹, 钟婵¹, 吴国平^{1*}, 郭道初², 林丽萍¹

(1. 江西农业大学 食品科学与工程学院/南昌市农产品加工与质量控制重点实验室, 江西 南昌 330045; 2. 南昌维乐福牧业有限公司, 江西 南昌 330108)

摘要:以丰城市富硒地区的农家酸菜为原料, 分离筛选出2株产酸和富硒能力较强的乳酸菌, 经生理生化测定和16s rDNA基因序列同源性分析, 这2株细菌分别为植物乳杆菌和类植物乳杆菌, 命名为LCFC001、LCFC002。在MRS培养基37℃培养, 2株乳酸菌的延滞期约4 h, 培养18 h左右到达稳定期, 浓度达 2.5×10^{10} CFU/mL, 培养基pH值则从起始的6.3降至3.0。在MRS液体培养时, 2株乳酸菌可耐终浓度320 μg/mL亚硒酸钠; 当培养液含亚硒酸钠浓度为20 μg/mL时, 菌株对硒的转化率可达74.5%。研究表明, 分离的2株乳酸菌具有优良的无机硒耐受和转化性能。

关键词:乳酸菌; 酸菜; 富硒性能

中图分类号: Q939.11+7 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2019)05-0986-07

Isolation and Characterization of Two *Lactobacillus* Strains in Sauerkraut and Its Abundant-selenium-containing Capability

SHU Mei¹, ZHONG Chan¹, WU Guo-ping^{1*}, GUO Dao-chu², LIN Li-ping¹

(1. College of Food science and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2. Nanchang Wei Le Fu Animal Husbandry Limited Company, Nanchang 330108, China)

Abstract: In this study, two *Lactobacillus* strains with high abundant selenium containing capability, respectively named LCFC001 and LCFC002, were isolated and characterized from farm sauerkraut of Feng Cheng City area where is rich in selenium. Based on bacterial culture, physiological and biochemical characteristics, and 16s rDNA sequences analysis, LCFC001 and LCFC002 were strongly suggested to be *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus paraplantarum*, respectively. Cultured in MRS at 37℃, they entered the logarithmic phase after incubation for 4 h and reached up to 2.5×10^{10} CFU/mL in stationary phase cultivation for 18 h. The two strains secreted acid into the medium and the initiative pH of 6.3 dropped to pH of 3.0 in the stationary phase. They could be cultured in MRS medium containing up to 320 μg/mL Na_2SeO_3 . The selenium conversion rate of LCFC002 was 74.5% cultured in the concentration of 20 μg/ml Na_2SeO_3 in MRS.

收稿日期: 2019-03-07 修回日期: 2019-06-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(31560480, 31760483)和江西省自然科学基金项目(20171ACB20013)

Project supported by the the National Natural Science Foundation of China (31560480, 31760483) and Jiangxi Natural Science Foundation of China(20171ACB20013)

作者简介: 舒梅(1985—), 女, 博士, 讲师, 主要从事食品微生物检测研究, orcid.org/0000-0001-6026-5914, shu125456@163.com; *通信作者: 吴国平, 教授, 博士生导师, orcid.org/0000-0001-7797-7627, jdwwp@163.com。

The two strains showed resistance to high concentration of Na_2SeO_3 and high selenium conversion rate.

Keywords: *Lactobacillus*; sauerkraut; abundant-selenium-containing capability

硒元素是人体必须从食物中获取的必需矿物质营养素,人体内硒的总含量约为6~20 mg^[1]。硒是体内谷胱甘肽过氧化物酶的重要组分,曾被列为有毒物质,直到1957年才被证实为机体必需微量元素^[2]。人体需每日从食物中获取微量元素硒,生物体内的硒大都来源于肉类、果蔬等,但通常含量很低,一般不足0.01 μg/g,很难满足中国营养学会1988年推荐的成人日摄入50 μg硒的要求,从而影响人体内硒的需求和代谢。若机体长期处于硒元素缺乏状态并得不到补充时,机体生理代谢过程会受到阻碍甚至会导致某些疾病的发生^[3]。

硒元素具有多种生理功能,能增强机体免疫力;影响甲状腺激素的变化,维持心脏的正常生理运作;参与肝功能代谢,增强肝脏活性,加速机体排毒,有效抵抗危险病毒的危害;参与肌肉代谢,能增强创伤组织的再生能力,促进创伤愈合;抗氧化、延缓细胞老化;具有抗辐射作用,能有效地减轻癌症放/化疗的毒副作用,有利于癌症的治疗^[4-5]。同时,硒对克山病、大骨节病、风湿性关节炎、红斑狼疮、糖尿病、白内障等疾病也有一定的防治作用^[6]。因此,研发富硒食品对于人体营养及健康需求是十分必要的。但摄入过量无机硒有可能引发中毒症状,故对硒的补充利用需慎重。相对于无机硒而言,有机硒毒性小,且机体对有机硒吸收率更高^[7]。许多研究表明,富硒菌株能通过生物转化把无机硒转变成有机硒,其具有成本较低、生物利用率较高、硒含量较高、对环境污染小等优势。至于微生物载体,市场上早有硒酵母制剂,其中啤酒酵母的富硒效果比较好^[8]。随着生化技术的发展及研究范围的扩大,具有广阔发展前景的乳酸菌开始进入学者视野。

乳酸菌是一群种类杂、数量多的细菌,其广泛存在于人体的肠道中,且乳酸菌中只有极小部分不是人体内必要的益生菌群^[9]。胃肠道内的乳酸菌已被国内外生物学家证实与人类身体和寿命有相当密切的关系^[10]。利用乳酸菌发酵食品,可改善食品风味,提高食品的营养价值及保藏性和附加值,除此之外,乳酸菌对乳糖不耐症有防治作用;通过提高肠道内有益菌群数来改善机体胃肠道功能;提高食物消化率和生物效价;改善机体对营养物质的吸收,同时产生大量有益物质;能降低血清胆固醇,从而减少高胆固醇血症的发生;能提高人体免疫力等^[11-12]。韩笑等^[13]探讨富硒乳酸菌对健康小鼠,组织脂质过氧化的影响,结果表明富硒乳酸菌通过提高组织抗氧化酶活性、抑制脂质过氧化产物,保护机体免受脂质过氧化损伤。酸菜中富含乳酸菌,长期以来,对酸菜中乳酸菌的利用程度都处于较低水平,尤其是富硒地区的酸菜没有很好的利用起来,商品化程度也较低。将富硒地区酸菜中的乳酸菌投入到生产生活中,这将有裨益于人类的健康。基于此,本文以丰城市富硒地区^[13]农家酸菜中的乳酸菌为原料,对从中筛选出的乳酸菌富硒性能进行探究。

1 材料与仪器

1.1 实验材料

购买的丰城市富硒地区的农家酸菜,即时用于实验。

1.1.1 试剂 蛋白胨、牛肉膏、琼脂等生物试剂,葡萄糖、柠檬酸二铵、磷酸氢二钾、乙酸钠、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、亚硒酸钠等分析纯。300 μg/mL亚硒酸钠溶液、0.2 mol/L EDTA溶液、100 g/L的盐酸羟胺溶液、0.2 g/L甲酚红指示剂、1.0 g/L 2,3-二氨基萘(DAN)溶液、0.85%生理盐水。

1.1.2 培养基 改良MRS液体培养基:蛋白胨5 g,葡萄糖5 g,牛肉膏5 g,酵母浸膏2.5 g,柠檬酸氢二铵1 g,磷酸氢二钾1 g,乙酸钠2.5 g,硫酸镁0.29 g,硫酸锰0.1 g,溴钾酚紫0.2 g,吐温-80 0.5 mL,蒸馏水500 mL,pH 6.2~6.4(培养乳球菌pH为6.8~7.0),115 ℃灭菌20 min,根据不同实验要求,加入不同浓度的亚硒酸钠溶液。固体培养基在上述MRS液体培养基中加入2%的琼脂即可。

1.2 仪器

紫外可见分光光度计、pHS-3C型pH计、荧光分光光度计、GL-21M高速冷冻离心机、光学显微镜等。

2 实验方法

2.1 菌株的分离筛选

称取3种丰城市富硒地区的农家酸菜(A、B、C)各10 g于100 mL 0.85%生理盐水中摇匀,即得3种悬液,对应标记为A、B、C。将上述3种悬液按10倍梯度稀释至 $1:10^3$ 、 $1:10^4$ 、 $1:10^5$ 稀释度。将上述稀释度的3种悬液分别涂布至含15 $\mu\text{g/mL}$ 、25 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 亚硒酸钠的MRS固体培养中,于37 $^{\circ}\text{C}$ 倒置培养48 h。连续活化培养3代,用生理盐水稀释至 OD_{600} 为0.60,即为种子液,备用。

2.2 菌株的生物学特征

2.2.1 菌落及菌体特征 观察涂布后培养基上单菌落特征,并挑选适量单菌落进行革兰氏染色操作。经涂片、干燥、固定、初染、媒染、脱色、复染,干燥后,于显微镜下观察菌体特征及测量菌体大小。

2.2.2 生化鉴定 将筛选出的2株乳酸菌分别挑取适量于乳酸菌生化鉴定管(青岛海博生物技术有限公司)中,培养过夜后观察生化鉴定管现象。

2.2.3 菌株的生长曲线测定 将复筛后得到的菌株各取单菌落于液体培养基中,培养过夜后分别取适量菌液稀释,稀释至菌落总数为800左右。取100 μL 稀释后的菌液接种于亚硒酸钠浓度为25 g/mL 的MRS培养基中培养。前4 h每隔1 h接1次种于上述培养基中,以后每2 h接1次,并在接完种后的平板上贴好标签。培养相同时间后,记录各培养皿内单菌落数,根据稀释倍数计算出实际菌落总数。

2.2.4 16S rDNA鉴定 沸水浴中加热待测定的菌株,提取菌体总DNA,再经PCR扩增目的DNA,PCR扩增条件为:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,65 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,72 $^{\circ}\text{C}$ 20 s,30个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min;目的DNA经2%琼脂糖凝胶电泳进行分离,再经凝胶成像进行分析;将DNA送检测序,通过BLAST方法比对,鉴定所得菌株。

2.3 菌株在含硒液体培养基中生长情况测定

对复筛后菌株进行以下操作:在盛有0,20,40,80,160,320 μL 浓度为3 mg/mL 的亚硒酸钠溶液的试管中分别补充320,300,280,240,160,0 μL 蒸馏水,编号。取40 μL 培养过夜的菌液于上述6支试管,再次置于37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中培养过夜12~16 h。观察菌体颜色并测定菌株液体培养基pH值。

取上述6支试管原液10 000 g离心2 min,观察离心管中菌体颜色,若仍有红色则继续加生理盐水离心,至6支试管中沉淀物颜色与菌体颜色相符。离心后根据比浊法分别测其 OD_{600} 值,绘制生长曲线。

2.4 菌株硒转化率的测定

主要参考GB 5009.93—2010中第二法来测定硒含量。

计算公式:硒的转化率=(转化到菌体中的硒/ g ÷加入的硒的总量/ g) $\times 100\%$

2.4.1 硒标准曲线绘制 采用荧光法测定硒含量:分别取4 $\mu\text{g/mL}$ 的亚硒酸钠溶液0,0.185,0.375,0.75,1.5,3 mL于250 mL的锥形瓶中,往各瓶中加20.0 mL EDTA混合液,摇匀;用氨水和盐酸调溶液pH至淡红橙色(pH 1.5~2.0);移至暗室中操作以下实验步骤:加入3,3—二氨基联苯胺(DAN)溶液3.0 mL,混匀后至55 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅中加热30 min;取出冷却后,加环己烷5.0 mL,振摇4 min,将全部溶液移入分液漏斗,待分层后弃去水层,将环己烷层由分液漏斗上口倾入带盖试管中;于荧光分光光度计(激发光波长376 nm,发射光波长520 nm)上测定萃取出的4,5—苯并苯硒脑的荧光强度。记录数据后绘制硒标准曲线。

2.4.2 样品的消化 菌体经生理盐水洗涤,取1 mL于锥形瓶,移取10 mL 5%去硒硫酸、20 mL混合酸溶液,至电炉上加热。加热到剧烈反应完成后,凯氏烧瓶中溶液应无色,继续加热直至有白烟产生,此时瓶内溶液逐渐变成淡黄色,即达到消化终点。若在凯氏烧瓶内溶液体积还剩约2 mL时仍未达终点,需停止加热,往瓶中再移取10 mL混合酸后继续加热,如此循环至到达终点。消化完成后保存备用,同时进行空白对照试验。

2.4.3 菌株中硒含量的测定 取乳酸菌于含有 20,40,80,160 μg/mL 的 Na₂SeO₃培养基中,37 ℃培养 24 h 后于 8 000 g 离心,取上述消化后的菌上清液和菌体溶液各 1 mL 于锥形瓶,按 2.4.1 步骤测定上清液硒的含量。

3 结果与分析

3.1 菌株的筛选与鉴定

3.1.1 菌株的分离筛选 从农家酸菜样品中筛选出 4 株细菌,再经复筛获 2 株耐受硒性能较强的菌株,编号为 LCFC001、LCFC002,其单菌落均呈圆形隆起、表面较光滑,乳白色,不透明,边缘整齐,基本符合乳酸菌菌落形态特征(图 1 A)。2 株细菌革兰氏染色均呈阳性(图 1B),菌体为短杆状,无芽孢,无菌丝,不运动;LCFC001 菌体大小平均为 0.72 μm×1.34 μm,LCFC002 菌体大小平均为 0.71 μm×1.34 μm;革兰氏染色及菌体形态结果显示,2 株细菌均符合乳酸菌特征。

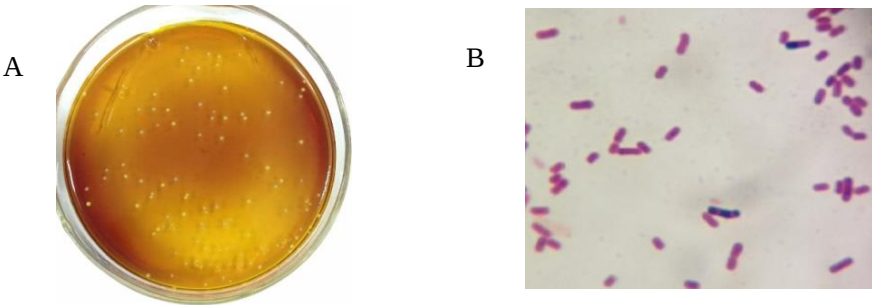


图1 MRS分离筛选菌株菌落形态(A)及菌体革兰氏染色结果(B)
Fig.1 The colonial morphology (A) and cells shape dying with Gram method (B) of isolated strain

3.1.2 生化鉴定结果 2 株细菌经过生化鉴定管中反应,获得 2 株细菌实验反应结果(表 1)。生化鉴定结果显示筛选出的 2 株细菌符合乳酸菌糖发酵结果。

表 1 生化鉴定管结果

Tab.1 The results of physiological and biochemistry characterization of two isolated strains																				
反应糖	七叶苷		纤维二糖		麦芽糖		甘露醇		水杨苷		山梨醇		蔗糖		棉子糖		菊糖		乳糖	
Sugar	Esculin		Cellobiose		Maltose		Mannitol		Saligenin		sorbitol		Sucrose		Melitose		Synanthrin		Lactose	
结果判定标准	黄或黑	紫或紫灰	黄	紫或紫灰	黄	紫或紫灰	黄	紫或紫灰	黄	紫或紫灰	黄	紫或紫灰	黄	紫或紫灰	黄	紫或紫灰	黄	紫或紫灰	黄	紫或紫灰
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
菌株 LCFC001 Strain LCFC001	+		+		+		+		+		+		+		+		+		+	
菌株 LCFC002 Strain LCFC002	+		+		+		+		+		-		+		-		+		+	

表中“+”为阳性,“-”为阴性
“+” is positive and “-” is negative

3.2 菌株生长曲线及 pH 变化

LCFC002 菌株的生长曲线及 pH 变化见图 2。从图 2 可知,该菌在接种前 4 h,菌落数几乎没增加,pH 保持在 6.3 左右,说明此时菌体处于潜伏期;培养 4~18 h,菌落总数迅速增多,即此时乳酸菌处于大量繁殖阶段,pH 值迅速下降至 3.8 左右,综合菌落总数和 pH 变化,说明此阶段为乳酸菌的指数期;培养 20 h 之后,该菌株进入稳定期,此时菌落数维持较高水平,pH 维持在 3.1 左右。LCFC001 菌株与 LCFC002 菌株生长曲

线及对应pH变化情况基本一致。

3.3 16S rDNA 结果

测定 2 株细菌的基因序列,通过 MEGA 软件对比 2 株细菌与发育树距离,结果显示 LCFC001 为植物乳杆菌、LCFC002 菌株为类植物乳杆菌(图 3)。

3.4 菌株在含硒液体培养基中生长情况

2 株细菌在含有不同亚硒酸钠浓度的培养液培养 12 h 后,测定培养液的 pH 值,紫外可见分光光度计测定其 OD_{600} 值,其 pH 值及 OD_{600} 值见表 2。

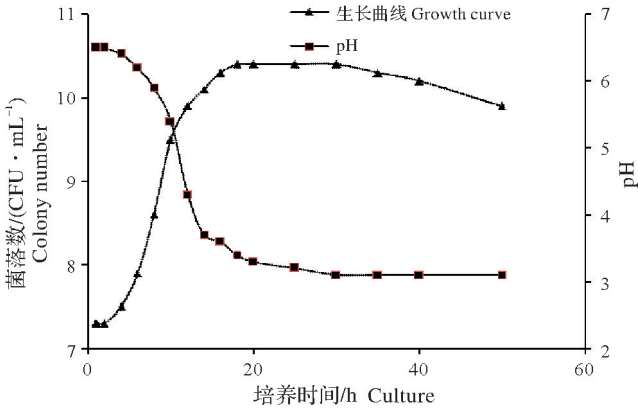


图2 LCFC002 菌株生长曲线及对应 pH 变化情况
Fig.2 The growth curve and pH of LCFC002 strain

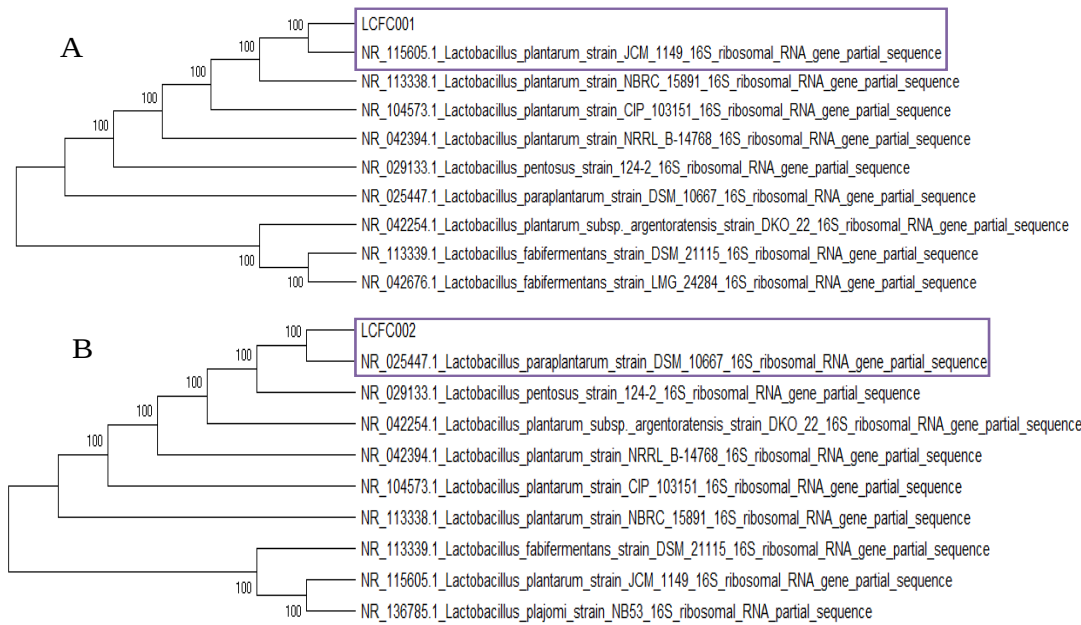


图 3 LCFC001(A)、LCFC002(B)菌株与发育树对比
Fig.3 Phylogenetic tree based on 16S rDNA gene sequences of two isolated strains

Na ₂ SeO ₃ /(μg·mL ⁻¹)		0	20	40	80	160	320
菌株 LCFC001 Stain LCFC001	OD_{600}	1.906 8	1.938 7	1.904 7	1.903	1.882 1	1.850 4
	pH	3.72	3.72	3.77	3.81	3.89	3.99
	菌体变红	-	-	-	+	++	+++
菌株 LCFC002 Stain LCFC002	OD_{600}	1.923 2	1.920 2	1.953 1	1.863 6	1.851 8	1.836 7
	pH	3.73	3.77	3.84	3.90	3.90	3.98
	菌体变红	-	-	-	+	++	+++

“-”表示细菌与培养液颜色正常,未变红,“+”表示细菌与培养液颜色红色的程度
“-” means the color of the strain is normal, “+” means the depth of red of the strain, and the more “+” means the redder the strain

通过对菌株在不同含硒量的培养基中培养结果显示:当培养液中亚硒酸钠浓度为 80 μg/mL 及以上时,菌体变成红色,低于这个浓度时菌体为白色。梁丛丛等^[14]研究显示菌株在含硒量不同的培养基中菌

体差异明显,在含硒量较低的液体培养基中,菌体为白色;在含硒量较高的液体培养基中,菌体则变成微红色、淡红色、红色、深红色。而菌体变红表明菌株对硒有富集转化的作用,菌株能将液体培养基中的无机硒转化为有机硒和红色的单质硒,这是细胞的一种解毒反应,又叫红硒现象。

从表 2 可见,亚硒酸钠浓度为 40 $\mu\text{g/mL}$ 时,未见红硒现象。周防震等^[15]研究显示,在亚硒酸钠浓度为 30 $\mu\text{g/mL}$ 时就出现了不明显的红色。曾议霆等^[16]研究的乳酸菌菌株显示,在亚硒酸钠浓度高于 6 $\mu\text{g/mL}$ 时便,就出现微红色。本研究分离筛选的 2 株乳酸菌,在含不同浓度的亚硒酸钠溶液的 MRS 液体培养基中 pH 与 OD_{600} 值可知,亚硒酸钠溶液浓度的高低对 2 株菌的生长影响不大,且对其产酸能力影响也较小。此外,这 2 株乳酸菌在 320 $\mu\text{g/mL}$ 的亚硒酸钠溶液中能够正常生长,并能维持较高的产酸能力,即筛选出的菌株能在耐高浓度硒的同时还能维持其原有生化性能,预示它们具有较高的耐受和转化无机硒特性。

3.5 菌株硒转化率的测定

从表 3 可知,LCFC002 菌株的菌体中硒含量与亚硒酸钠溶液浓度成正比,而硒的转化率随着加入亚硒酸钠浓度的提高而减少。亚硒酸钠的浓度为 20 $\mu\text{g/mL}$,37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h,硒的转化率最高为 74.5%。宋照军等^[17]在亚硒酸钠浓度为 15 $\mu\text{g/mL}$,39 $^{\circ}\text{C}$ 培养 11 h,硒的转化率为 72.8%;朱何东等^[18]在亚硒酸钠浓度为 46 $\mu\text{g/mL}$,37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 36 h,硒的转化率为 56.52%。从表 3 可知,部分无机硒有可能被菌体通过解毒反应还原为单质硒。当加入的亚硒酸钠浓度为 20 $\mu\text{g/mL}$ 时,测得上清液中的硒含量为 0.18 $\mu\text{g/mL}$,菌体中硒含量测定含量为 14.9 $\mu\text{g/mL}$,剩余 4.92 $\mu\text{g/mL}$ 的硒;当添加的亚硒酸钠浓度越高,剩余硒差值越高,推测可能转化成了单质硒。LCFC001 菌株对硒的转化特性相似于 LCFC002 菌株。

表 3 LCFC002 菌株硒转化率
Tab.3 The percent conversion of Na_2SeO_3 by LCFC002

亚硒酸钠浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ Na_2SeO_3	菌体 Cell	上清液 Supernatant	差值 D-value	转化率/% Transform
20	14.9	0.18	4.9	74.5
40	27.4	3.18	9.4	68.5
80	42.8	13.9	23.3	53.5
160	59.1	39.6	61.3	36.94

4 小 结

本研究从丰城市富硒地区的农家酸菜中筛选出了 2 株乳酸菌,经鉴定分别为植物乳杆菌和类植物乳杆菌,它们具有较强的产酸能力,可将培养基起始 pH 6.3 降低至 3.0。在 MRS 培养基中,这 2 株菌对亚硒酸钠的耐受和转化性能相似,可耐受高达 320 $\mu\text{g/mL}$ Na_2SeO_3 ,亚硒酸钠的转化率可达 74.5%,这为进一步研究乳酸菌生物富硒机制和应用打下了基础。

参考文献:

- [1] 杨光宏,孙茂倬,徐文杰.微量元素硒对健康的影响[J].职业与健康,2003,19(4):47-48.
Yang G H, Sun M C, Xu W J. Effect of trace element selenium on health[J]. Occupation and Health, 2003, 19(4): 47-48.
- [2] 周建军,胡先勤,王学东,等.几种不同硒源时蛋鸡生产性能、产蛋品质以及蛋硒含量的影响[J].饲料工业,2018,39(11):38-43.
Zhou J J, Hu X Q, Wang X D, et al. Effects of different selenium sources on the yield performance, egg quality and egg selenium content of egg chicken[J]. Feed Industry, 2018, 39(11): 38-43.
- [3] Schwarz K, Foltz C M. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration[J]. Nutrition, 1957, 36(11): 255.
- [4] Winther K H, Wichman J E M, Bonnema S J, et al. Insufficient documentation for clinical efficacy of selenium supplementation in chronic autoimmune thyroiditis, based on a systematic review and meta-analysis [J]. Endocrine, 2017, 55 (2) : 376-385.
- [5] 邱玉爽,邵雷,陈代杰,等.硒抗肿瘤作用的研究进展[J].世界临床药物,2017,40(5):344-347.

- Qiu Y S, Shao L, Chen D J, et al. Research progress on anti-tumor effect of selenium[J]. World Clinical Drugs, 2017, 40(5): 344-347.
- [6] Petricca D, Nacamulli D, Mian C, et al. Effects of selenium supplementation on the natural course of autoimmune thyroiditis: A short review[J]. Journal of Endocrinological Investigation, 2012, 35(4): 419-424.
- [7] Ishihara H, Koketsu M, Fukuta Y, et al. Cheminform abstract: reaction of lithium aluminum hydride with elemental selenium: its application as a selenating reagent into organic molecules[J]. Journal of the American Chemical Society, 2010, 32(52): 8408-8409.
- [8] 张华杰, 徐栋, 唐敏, 等. 营养水平和酵母硒对烟台黑猪生长性能、养分表观消化率及血清抗氧化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2018, 30(3): 902-909.
- Zhang H J, Xu D, Tang M, et al. Effects of nutrient level and yeast selenium on growth performance, nutrient apparent digestibility and serum antioxidant indexes of yantai black pigs[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2018, 30(3): 902-909.
- [9] 温晓庆. 乳酸菌对肠道黏膜免疫影响的研究进展[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2018, 34(2): 12-15.
- Wen X Q. Research progress on the effect of lactic acid bacteria on intestinal mucous membrane immunity[J]. Chinese Animal Husbandry and Veterinary Abstracts, 2018, 34(2): 12-15.
- [10] Cao Y N, Feng L J, Wang B M, et al. Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium longum supernatants up regulate the serotonin transporter expression in intestinal epithelial cells[J]. Saudi Journal of Gastroenterology Official Journal of the Saudi Gastroenterology Association, 2018, 24(1): 59.
- [11] Guo S, Gillingham T, Guo Y, et al. Secretions of bifidobacterium infantis and lactobacillus acidophilus protect intestinal epithelial barrier function[J]. Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition, 2017, 64(3): 404.
- [12] Yazdi M H, Mahdavi M, Setayesh N, et al. Selenium Nan particle-enriched Lactobacillus brevis causes more efficient immune responses in vivo and reduces the liver metastasis in metastatic form of mouse breast cancer[J]. DARU J Pharma Sci, 2013, 21(1): 33-42.
- [13] 韩笑, 周越, 吴文良, 等. 富硒土壤硒含量及其与土壤理化性状的关系: 以江西丰城为例[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(6): 1177-1183.
- Han X, Zhou Y, Wu W L, et al. Selenium contents of farmland soils and their relationship with main soil properties in Fengcheng, Jiangxi[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2018, 37(6): 1177-1183.
- [14] 梁丛丛, 孙宇杰, 胡治铭, 等. 富硒益生菌的筛选及其富硒条件的优化[J]. 食品与生物技术学报, 2016, 35(6): 667-671.
- Liang C C, Sun Y J, Hu Z M, et al. Screening of Se-enriched probiotics and the optimization of Se-enriched conditions[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2016, 35(6): 667-671.
- [15] 周防震, 谢园园, 赵婷, 等. 富硒微生物的筛选、富硒条件优化及鉴定[J]. 中国酿造, 2013, 32(8): 103-106.
- Zhou F Z, Xie Y Y, Zhao T, et al. The isolation, condition optimization, characterization of Se-enriched bacteria[J]. Chinese Brewing, 2013, 32(8): 103-106.
- [16] 曾议霆, 郭溪浪, 周康, 等. 富硒乳酸菌的筛选及鉴定[J]. 食品科学, 2015, 36(3): 178-182.
- Zeng Y T, Guo X L, Zhou K, et al. Screening and identification of Se-enriching lactic acid bacteria[J]. Food Science, 2015, 36(3): 178-182.
- [17] 宋照军, 王树宁, 潘润淑, 等. 富硒乳酸菌的分离、筛选、驯化及富硒研究[J]. 中国酿造, 2004, 140(11): 4-6.
- Song Z J, Wang S N, Pan R S, et al. The isolation, screening, and domestication of Se-enriched lactic acid bacteria and study on the Se-enriching conditions[J]. Chinese Brewing, 2004, 140(11): 4-6.
- [18] 朱何东, 常峰, 罗俊成, 等. 富硒乳酸菌的筛选及其富硒能力的初步研究[J]. 酿酒科技, 2005, 134(8): 29-31.
- Zhu H D, Chang F, Luo J C, et al. Screening of an abundant-Se-containing Lactobacillus strain and its abundant-Se-containing capability[J]. Liquor-making Science and Technology, 2005, 134(8): 29-31.