

章帅文,曾子涵,张勇,等.发酵乳杆菌JN-2的分离鉴定及其发酵培养基优化[J].江西农业大学学报,2019,41(5):993-999.



发酵乳杆菌 JN-2 的分离鉴定 及其发酵培养基优化

章帅文¹,曾子涵^{2*},张勇¹,邓佐成¹,唐莉莉¹,李昆太^{1*}

(1.江西农业大学 生物科学与工程学院/江西省农业微生物资源开发与利用工程实验室,江西 南昌 330045;2.江西省南昌市中心远中学红谷新城校区,江西 南昌 330138)

摘要:采用改良 MRS 固体培养基,利用稀释平板涂布法从健康奶牛新鲜粪便中分离筛选到一株肠道乳酸菌,经 16S rDNA 鉴定为发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*),并暂命名为发酵乳杆菌 JN-2。为提高发酵乳杆菌 JN-2 的生物量,首先单因素试验设计对碳源、氮源、微量元素的种类进行了优化,并进一步利用正交设计确定了最佳发酵培养基配方:葡萄糖 30 g/L、酵母浸粉 40 g/L、硫酸镁 0.25 g/L、磷酸氢二钾 2 g/L、柠檬酸氢二铵 2 g/L、乙酸钠 5 g/L、吐温-80 1 mL/L。在该优化发酵培养基下,发酵乳杆菌 JN-2 的菌体生物量吸光光度值达到 1.79。

关键词:乳酸菌;筛选鉴定;发酵培养基优化;发酵乳杆菌 JN-2

中图分类号:S823;TS201.3 文献标志码:A 文章编号:1000-2286(2019)05-0993-07

Isolation and Identification of *Lactobacillus fermentum* JN-2 and Optimization of Its Fermentation Medium

ZHANG Shuai-wen¹, ZENG Zi-han^{2*}, ZHANG Yong¹, DENG Zuo-cheng¹,
TANG Li-li¹, LI Kun-tai^{1*}

(1.Jiangxi Engineering Laboratory for the Development and Utilization of Agricultural Microbial Resources/ College of Biological Sciences and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2.Honggu New City Campus of Nanchang Xinyuan Middle School, Jiangxi Province, Nanchang 330138, China)

Abstract: A strain of *Lactobacillus fermentum* was isolated and screened from fresh feces of healthy cows by using the modified MRS solid medium and the dilution plate coating method. It was identified by 16s rDNA as *Lactobacillus fermentum* and tentatively named as *Lactobacillus fermentum* JN-2. In order to improve the biomass of strain JN-2, the species of carbon source, nitrogen source and trace element species were optimized by single factor design. The optimum fermentation medium composition was determined by orthogonal design glu-

收稿日期:2018-12-28 修回日期:2019-01-17

基金项目:国家自然科学基金项目(31760546)、江西省研究生创新专项资金资助项目(YC2018-S199)和江西农业大学大学生创新创业计划项目(201810410090)

Project supported by the National Natural Science Foundation of China(31760546), The Innovation Fund Designated for Graduate Students of Jiangxi Province(YC2018-S199) and Jiangxi Undergraduate Training Programs for Innovation and Entrepreneurship(201810410090)

作者简介:章帅文(1995—),男,硕士生,主要从事植物病原真菌生物防治研究,orcid.org/0000-0003-4932-3946,853433179@qq.com,*共同第一作者;*通信作者;李昆太,教授,博士,orcid/org.0000-0001-6678-5531,atai78@sina.com。

cose 30 g/L, yeast extract fermentation 40 g/L, magnesium sulphate 0.25 g/L, potassium hydrogen phosphate anhydrous 2 g/L, diammonium citrate 2 g/L, sodium acetate trihydrate 5 g/L, Tween-80 1 mL/L. Under the optimized fermentation medium, the biomass absorbance of *Lactobacillus fermentum* JN-2 reached 1.79.

Keywords: lactic acid bacteria; screening and identification; optimization of fermentation medium; *Lactobacillus fermentum* JN-2

乳酸菌(lactic acid bacteria, LAB)是一类可以利用碳水化合物发酵产生大量乳酸的革兰氏阳性细菌统称^[1-2]。迄今为止,发现的乳酸菌有300多种,可以分成球状、杆状、链状和分枝状,如乳球菌属(*Lactococcus*)、肉食杆菌属(*Carnobacterium*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、链球菌属(*Streptococcus*)、气球菌属(*Aerococcus*)等^[3]。乳酸菌是一种存在于生物体内的益生菌,主要存在于生物体的口腔、泌尿生殖道及胃肠道中。乳酸菌是一种可存在于生物体内的益生菌,它既可以对肠道病原菌产生抑制作用,保持机体的微生态平衡,从而提升机体抵抗力,又在调节肠道菌群的平衡,使肠道保持健康中发挥着重要作用^[4-5]。

乳酸菌不仅存在于生物体内,从土壤、水、植物等周围环境以及传统发酵制品中也可分离得到。例如,张哲等^[6]在发酵驼乳中分离到8株乳酸菌,武俊瑞等^[7]从传统发酵豆酱样品中共分离到乳酸菌62株,Zhao等^[8]从泡菜中分离筛选出2株乳酸菌,He等^[9]从枇杷酒中分离筛选出2株乳酸菌。有关从畜禽肠道粪便分离纯化乳酸菌也有大量报道,如王慧艳等^[10]从健康奶牛肠道中分离到瘤胃乳杆菌、乳酸乳球菌等18株乳酸菌。

为了获得益生效果良好的乳酸菌,本研究采样于健康奶牛的新鲜粪便,开展乳酸菌的分离、筛选与鉴定,从中获得一株发酵乳杆菌JN-2,并对该菌株的生长特性进行了初步研究。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 样本的采集 在江西省南昌市青山湖区私人奶牛场,采取正在产奶奶牛的新鲜粪便,用无菌袋收集保存后立即带回实验室进行菌种的分离。

1.1.2 主要培养基 改良MRS固体培养基:蛋白胨10 g、牛肉膏10 g、酵母粉5 g、葡萄糖20 g、吐温-80 1 mL、磷酸氢二钾2 g、乙酸钠5 g、柠檬酸三铵2 g、硫酸镁0.2 g、硫酸锰0.05 g、碳酸钙30 g、琼脂18 g、蒸馏水1 000 mL,pH 6.2~6.5。不添加琼脂及碳酸钙为MRS液体培养基。

发酵基础培养基:葡萄糖20 g、蛋白胨25 g、硫酸镁0.25 g、磷酸氢二钾2 g、柠檬酸氢二铵2 g、乙酸钠5 g、吐温-80 1 mL、蒸馏水1 000 mL,pH 6.2~6.5。

1.2 菌株的分离与纯化

1.2.1 样品的稀释与涂布 无菌条件下称取1 g粪便样品于9 mL无菌水中振荡混匀以溶解并作为 10^{-1} 稀释液,以10倍稀释法对其进行梯度稀释至 10^{-5} 。分别吸取100 μ L 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 和 10^{-5} 稀释液涂布于灭菌的改良MRS固体培养基上,每个梯度至少做5皿,在37 $^{\circ}$ C厌氧(密封缸里点上蜡烛,把氧气消耗掉)条件下培养48 h。

1.2.2 菌落的纯化 在厌氧培养后,根据菌落状态,挑取菌落呈圆形、显白色、有溶钙圈、经过氧化氢酶(接触酶)测定^[11]为阴性的单菌落,在MRS固体培养基上划线。将平板倒置于37 $^{\circ}$ C厌氧培养48 h。

1.3 菌株的保存

将筛选出菌株的单菌落挑出装入甘油管(含有1.5 mL 30%甘油),放入-20 $^{\circ}$ C保存备用。

1.4 菌株形态观察

将甘油管保存的菌株在MRS液体培养基中活化,活化好的菌株制成玻片,用革兰氏染色法染色,在光学显微镜下观察菌体形态。

1.5 分子生物学鉴定

将培养48 h的单菌落交由上海生工测序。将测序得到的16S rDNA序列结果在NCBI网站进行Nu-

cleotide Blast 比对,使用 MEGA 5.0 软件的 Neighbor-Joining 进行校准排齐,绘制系统发育树后确定乳酸菌菌株的亲缘关系和分类地位。

1.6 发酵培养基的优化

1.6.1 种子液及发酵液的制备 将甘油管保存好的菌株 1.5 mL 接种到 40 mL 发酵基础培养基,37 °C 厌氧活化 4 h,获得种子液。将活化好的菌液按 2% 的接种量接种到发酵基础培养基中,于 37 °C 培养箱中厌氧培养。

1.6.2 菌株产酸能力及生长曲线的测定 将种子液接种到发酵基础培养基中立即计时,每隔 2 h 取 1 次样品,用 pH 计测定发酵液的 pH 值,在紫外可见分光光度计波长为 600 nm 时测定发酵液的吸光度值(OD 值),以取样时间为横坐标,pH 和 OD 值为纵坐标,绘制生长曲线和产酸速率曲线。

1.6.3 发酵基础培养基优化 以发酵液的菌体生物量为指标,先采用单因子试验,对碳源、氮源和微量元素进行种类优化,然后在此基础上设计正交实验对发酵培养基做进一步优化。种子液和发酵液按 1.6.1 的方法制备,每个处理 3 个重复。发酵 10~12 h 后,在紫外可见分光光度计波长为 600 nm 时测定发酵液的吸光度值(OD 值),此时的吸光度值的大小为菌体生物量的大小。

1.7 数据统计与分析

采用 Excel 2007 数据的统计,使用 DPS 7.5 软件进行正交试验的分析。其中极差分析使用 Duncan 新复极差法行多重比较分析,在统计学上 $P < 0.05$ 认为差异显著、 $P < 0.001$ 差异极显著、 $P > 0.05$ 差异不显著。

2 结果与分析

2.1 分离乳酸菌的菌落形态及细胞形态特征

从稀释涂布的平板中选择菌落凸起、四周光滑、呈现白色、有明显溶钙圈、滴加过氧化氢溶液不发生气泡的菌株。其中,获得一株溶钙圈直径最大的菌株,并将其暂命名为 JN-2。菌株 JN-2 经革兰氏染料染色变为紫色,在显微镜下的图像形态如图 1 所示,形状呈现为杆状。

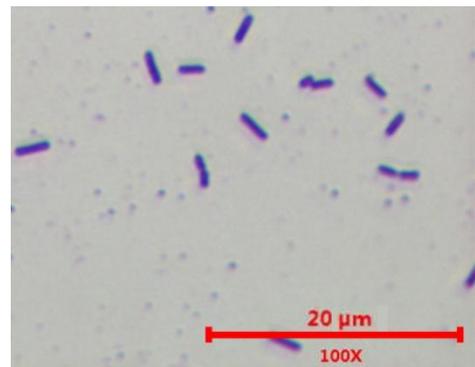


图 1 菌株 JN-2 在光学显微镜下的细胞形态
Fig.1 Cell morphology of strain JN-2 under optical microscope

2.2 菌株 JN-2 的分子生物学鉴定

菌株 JN-2 的基因组 DNA 测序其 16S rDNA 的序列长度为 1 540 bp。将该序列放入 NCBI 数据库中进行 Nucleotide Blast 比对,选择合适的模式菌株采用 Neighbor-Joining 方法构建菌株 JN-2 的系统发育树(图 2),经比对发现菌株 JN-2 与 *Lactobacillus fermentum* strain 具有 100% 的同源性,因此将菌株 JN-2 命名为发酵乳杆菌 JN-2(*L. fermentum* JN-2)。

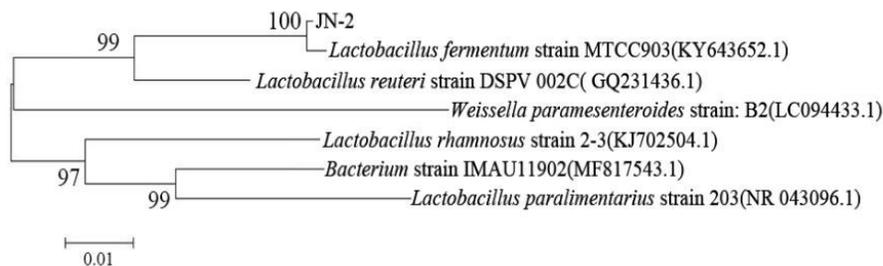


图 2 基于 16S rDNA 序列构建的 JN-2 菌株系统发育树

Fig.2 Phylogenetic tree of JN-2 strain based on 16S rDNA sequence

2.3 发酵乳杆菌 JN-2 的产酸及生长特性

从图 3 可以看出发酵乳杆菌 JN-2 呈现典型的对数生长曲线规律,延滞期为 2 h 左右,在 2~10 h 进入对数期,此期间菌株生长旺盛,菌体呈指数增加,在 10~14 h 进入稳定期,此时生长速度几乎和死亡速度相同,14 h 后进入衰退期。在整个培养期间内,0~2 h 内菌株几乎不产酸,pH 值保持不变,在 2~10 h 产酸

迅速,在 10 h 以后 pH 无显著变化,这与菌体生长曲线的规律正好符合。

2.4 不同碳源、氮源和微量元素对发酵乳杆菌 JN-2 生长的影响

由发酵基础培养基中碳源种类的结果(图 4A)可知,碳源对发酵乳杆菌 JN-2 菌体量影响大小顺序为:葡萄糖、可溶性淀粉、麦芽糖、蔗糖和乳糖,故选用葡萄糖为 JN-2 的最佳碳源。分别添加不同的无机氮和有机氮作为唯一氮源进行实验,结果如图 4B 所示,发酵乳杆菌 JN-2 生物量由多到少依次为:酵母浸粉、牛肉膏、蛋白胨、硫酸铵和硝酸钾,故 JN-2 的最佳氮源选用酵母浸粉。从图 4C 可以看出,当 $MgSO_4$ 作为唯一微量元素时,发酵乳杆菌吸光光度值最大,故选用硫酸镁作为最佳微量元素。

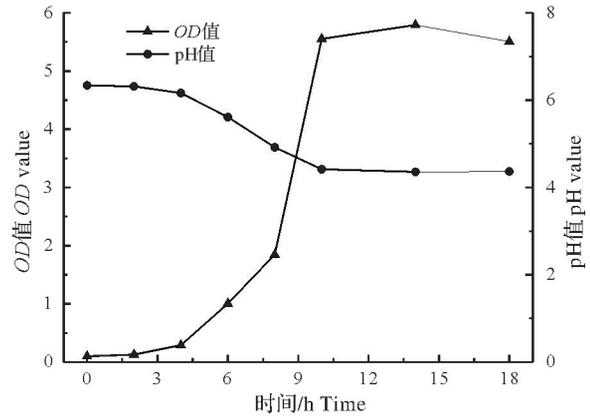


图 3 发酵乳杆菌 JN-2 的生长曲线和产酸速率曲线
Fig.3 Growth curve and acid production rate of *Lactobacillus fermentum* JN-2

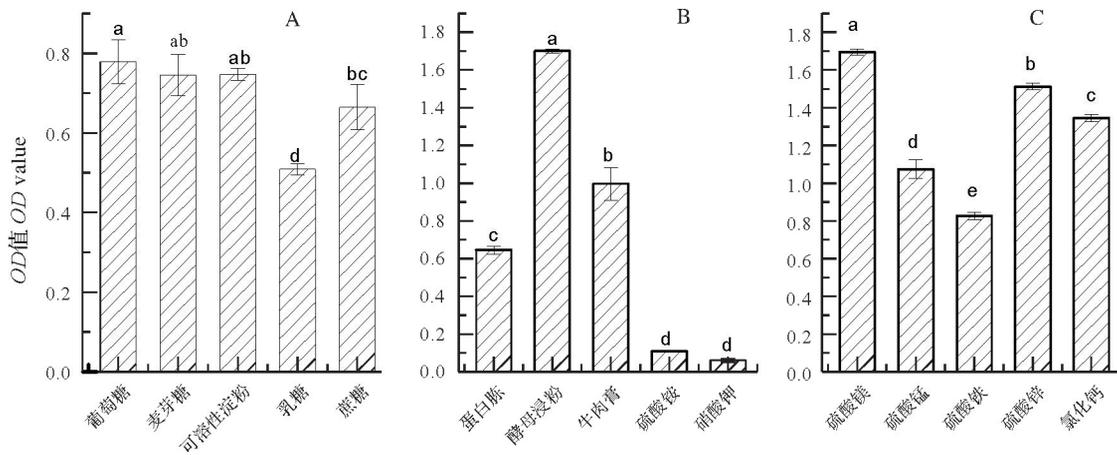


图 A 表示不同碳源下菌液的 OD 值,图 B 表示不同氮源下菌液的 OD 值,图 C 表示不同微量元素下菌液的 OD 值。图中不同小写字母表示在 $P \leq 0.01$ 水平上差异显著,下同

Figure A shows the OD values of broth under different carbon source, figure B shows the OD values of broth under different nitrogen source, and figure C shows the OD values of broth under different trace element. Different lowercase letters show significant difference at $P \leq 0.01$ level, after the same

图 4 不同碳源、氮源和微量元素下发酵乳杆菌 JN-2 的生长情况

Fig.4 Cell growth of *Lactobacillus fermentum* JN-2 under different carbon sources, nitrogen sources, and trace elements

2.5 发酵乳杆菌 JN-2 的发酵培养基组分浓度优化

根据对以上单因素实验结果,分别选择了对菌体生物量影响最大的碳源(葡萄糖)、氮源(酵母浸粉)及微量元素(硫酸镁)作为影响因素,采用 3 因素 3 水平的正交设计对发酵乳杆菌 JN-2 的发酵培养基浓度进行了优化。正交因素水平见表 1,正交实验及其分析结果见表 2、表 3。

表 1 发酵培养基正交试验的因素和水平

Tab.1 Factors and levels of orthogonal experiment on fermentation medium

水平 Levels	因素/($g \cdot L^{-1}$) Factors		
	A 葡萄糖 Glucose	B 酵母浸粉 Yeast extract fermentation	C 硫酸镁 Magnesium sulphate
1	10	20	0.20
2	20	30	0.25
3	30	40	0.30

表2 发酵培养基正交设计及极差分析
Tab.2 The fermentation medium of orthogonal design and extreme difference analysis

试验号 Test number	OD ₆₀₀			总计 Total	平均收益 Average yield
	A	B	C		
1	1	1	1	4.612	1.537
2	1	2	2	5.005	1.668
3	1	3	3	5.351	1.784
4	2	1	2	4.852	1.617
5	2	2	3	5.399	1.800
6	2	3	1	5.790	1.930
7	3	1	3	4.819	1.606
8	3	2	1	5.526	1.842
9	3	3	2	5.878	1.959
K1	4.989	4.760	5.307		
K2	5.347	5.312	5.246		
K3	5.407	5.671	5.190		
R	0.139	0.304	0.040		

表3 正交设计方差分析
Tab.3 Orthogonal design variance analysis

变异来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F-值 F-value	P-值 P-value
A	0.102 2	2	0.051 1	141.236 5	0.000 1
B	0.421 6	2	0.210 8	582.671 0	0.000 1
C	0.007 2	2	0.003 6	9.913 3	0.001 3
误差 Error	0.006 5	18	0.000 4		

由表2的极差分析可知,发酵培养基的3个因素对菌体的生长的影响程度为B>A>C,即酵母浸粉含量对菌株生长的影响最为显著。从9种培养基的吸光度值可以看出A₃B₃C₂组合时菌体生长最好,但由极差分析的理论最适组合为A₃B₃C₁。对各因素进行方差分析发现,葡萄糖、酵母浸粉及硫酸镁对发酵乳杆菌JN-2的菌体生长均具有极显著影响。将发酵培养基的理论最佳配方(A₃B₃C₁)与实际最佳配方(A₃B₃C₂)进行验证,二者所得的菌体吸光光度值分别为1.769±0.011和1.792±0.019。因此,发酵乳杆菌JN-2发酵培养基的最适组合选择为A₃B₃C₂,即葡萄糖30 g/L、酵母浸粉40 g/L、硫酸镁0.25 g/L。

3 结论与讨论

在生物体的肠道中,乳酸菌作为优势群体,其具有改善宿主胃肠道功能,形成抗菌生物屏障,维护动物的健康^[12]。因此,从动物粪便中分离筛选乳酸菌是一个较佳选择。例如,郑明英等^[13]从婴儿新鲜粪便中分离出一株无毒且对致病性大肠杆菌具有较强抑菌性的干酪乳杆菌;吴慧昊等^[14]从熊猫粪便中分离出一株病臭肠球菌,该菌株对胆固醇的降低率为25.3%;田召芳等^[15]从健康鸡、兔、仔猪肠道内容物及新鲜粪便中分离5株抑菌活性代谢产物较强的乳酸菌。

我们从奶牛的粪便分离筛选出一株乳酸菌,经鉴定为发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*),并命名为发酵乳杆菌JN-2。发酵乳杆菌作为乳酸菌的一种,具备良好的发酵特性及益生功效,它是传统发酵食品中的优势微生物,在发酵食品的制作和功效方面发挥其特有的作用^[16]。例如,发酵乳杆菌用于制作酸

奶,可产品在香味成分和口感上更接近自然发酵的样品,对传统产品的风味形成起着重要的作用^[17]。此外,发酵乳杆菌在降解胆固醇^[18]、增强机体免疫力^[19]、抗氧化^[20]、抗衰老^[21]等方面也发挥着重要作用。因此,可以利用菌株JN-2发酵食品,以达到增强人体免疫力的功效。

综上所述,本研究对发酵乳杆菌JN-2的生长特性进行了初步研究,为未来的食品工业提供了良好的理论基础,但是其安全性能评价及益生功能还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 金世琳. 乳酸菌的科学与技术[J]. 中国乳品工业, 1998, 26(2): 14-16, 20.
Jin S. Science and technology of lactic acid Bacteria[J]. China Dairy Industry, 1998, 26(2): 14-16, 20.
- [2] 孙天松, 刘红霞, 倪慧娟, 等. 传统发酵酸乳中乳酸菌的分离及鉴定[J]. 中国乳品工业, 2006, 34(9): 4-7.
Sun T S, Liu H X, Ni H J, et al. Isolation and identification of lactic acid bacteria in Hogormag: a traditional fermented camel milk product[J]. China Dairy Industry, 2006, 34(9): 4-7.
- [3] 赵顺先, 关统伟, 向慧平, 等. 基于高通量测序技术的新疆传统干奶酪乳酸菌多样性分析[J]. 四川农业大学学报, 2018, 36(5): 688-695.
Zhao S X, Guan T W, Xiang H P, et al. Diversity analysis of lactic acid bacteria in Xinjiang traditional dry cheese based on high throughput sequencing technology[J]. Journal of Sichuan Agricultural University, 2018, 36(5): 688-695.
- [4] 李纳. 两株益生乳酸菌培养优化及其肠道功能评价[D]. 泰安: 山东农业大学, 2018.
Li N. Optimization of two probiotic lactic acid bacteria and their evaluation of intestinal function[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2018.
- [5] 孙进, 施用晖, 乐国伟, 等. 乳酸杆菌通过定植和提供免疫信号调节宿主免疫反应[J]. 科技导报, 2006, 24(2): 43-46.
Sun J, Shi Y H, Le G W, et al. Lactobacillus modulate host immune response through colonization and provision of immune signals[J]. Science & Technology Review, 2006, 24(2): 43-46.
- [6] 张哲, 刘小鸣, 陈卫. 内蒙古传统发酵驼乳中乳酸菌和酵母菌的分离鉴定及其生物多样性分析[J]. 中国食品学报, 2018, 18(7): 230-238.
Zhang Z, Liu X M, Chen W. Isolation and identification of lactic acid bacteria and yeast and biodiversity analysis of traditional fermented camel milk in Inner Mongolia[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(7): 230-238.
- [7] 武俊瑞, 王晓蕊, 唐筱扬, 等. 辽宁传统发酵豆酱中乳酸菌及酵母菌分离鉴定[J]. 食品科学, 2015, 36(9): 78-83.
Wu J R, Wang X R, Tang X Y, et al. Identification of lactic acid bacteria and yeast from naturally fermented soybean paste from Liaoning Province[J]. Food Science, 2015, 36(9): 78-83.
- [8] 赵文红, 黄小丹, 范敏华, 等. 自然发酵泡菜中乳酸菌的分离及特性研究(一)[J]. 广州食品工业科技, 2003, 18(1): 77-79.
Zhao W H, Huang X D, Fan M H, et al. Study and separation character of lactic acid bacteria from natural fermentation pickles[J]. Guangzhou Food Science & Technology, 2003, 18(1): 77-79.
- [9] He Z, Ren X, Li W, et al. Separation and identification of selected lactic acid bacteria for loquat wine malolactic fermentation[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science & Technology, 2011, 11(1): 165-171.
- [10] 王慧艳, 马晨, 赵洁, 等. 健康奶牛肠道中乳酸菌的分离与鉴定[J]. 中国奶牛, 2014, 227(17): 37-41.
Wang H Y, Ma C, Zhao J, et al. Isolation and identification of lactic acid bacteria from the intestinal of healthy cows[J]. China Dairy Cattle, 2014, 227(17): 37-41.
- [11] 钟正丹, 何义国, 赵兴秀, 等. 窖泥中产细菌素乳酸菌的筛选及其培养基优化[J]. 中国食品添加剂, 2016(5): 53-59.
Zhong Z D, He Y G, Zhao X X, et al. Screening and medium optimization of the bacteria producing lactic acid bacteria (LAB) from pit mud[J]. China Food Additives, 2016(5): 53-59.
- [12] 梁彦彦, 兰道亮, 林宝山, 等. 动物肠道乳酸菌的分离鉴定技术研究进展[J]. 动物医学进展, 2015, 36(10): 90-94.
Liang Y Y, Lan D L, Lin B S, et al. Progress on technologies of isolation and identification of lactic acid bacteria in animal in-

- testines[J].Progress in Veterinary Medicine,2015,36(10):90-94.
- [13] 郑明英,周海泳,李适云,等.婴儿粪便中乳酸菌的分离鉴定及其对小鼠腹泻的治疗作用[J].现代食品科技,2012,28(7):758-763.
- Zheng M Y,Zhou H Y,Li S Y, et al.Isolation and identification of the lactic acid bacteria from infant faeces and their therapeutic effect on diarrhea of mice[J].Modern Food Science and Technology,2012,28(7):758-763.
- [14] 吴慧昊,段龙飞,张园园,等.熊猫粪便中乳酸菌的分离鉴定与降胆固醇作用研究[J].黑龙江畜牧兽医,2011(11):14-18.
- Wu H H,Duan L F,Zhang Y Y, et al.Isolation and identification of lactic acid bacteria and the study of cholesterol-reducing effect from panda excrement[J].Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine,2011(11):14-18.
- [15] 田召芳,常维山,唐珂心,等.产细菌素乳酸菌的筛选及体外抑菌试验[J].中国微生态学杂志,2003,15(2):28-29.
- Tian Z F,Chang W S,Tang K X, et al.Screening of bacteriocin-producing lactic acid bacteria and inhibiting bacteria test[J].Chinese Journal of Microecology,2003,15(2):28-29.
- [16] Marika M,Zilmer M.*Lactobacillus fermentum* ME-3 an antimicrobial and antioxidative probiotic[J].Microbial Ecology in Health and Disease,2009,21(1):1-27.
- [17] Ao X L,Zhang X P,Zhang X Q, et al.Identification of lactic acid bacteria in traditional fermented yak milk and evaluation of their application in fermented milk products[J].Journal of Dairy Science,2012,95(3):1073-1084.
- [18] 严玉婷,潘道东.发酵乳杆菌SM-7的筛选及对小鼠降胆固醇作用[J].食品科学,2010,31(9):224-228.
- Yan Y T,Pan D D.Screening and hypocholesterolemic effect of *Lactobacillus fermentum* [J].Food Science,2010,31(9):224-228.
- [19] 陆文伟,陆静,杨震南,等.发酵乳杆菌PCC及干酪乳杆菌431对免疫低下型小鼠的免疫调节作用研究[J].中国乳品工业,2017,45(12):9-14.
- Lu W W,Lu J,Yang Z N, et al.Immunomodulatory effect of *Lactobacillus fermentum* PCC and *Lactobacillus casei* 431 on immunosuppression mice[J].China Dairy Industry,2017,45(12):9-14.
- [20] 李彤,彭珍,熊涛.乳酸菌发酵对复合豆乳饮料营养成分、香气成分及抗氧化活性的影响[J].食品与发酵工业,2018,44(4):116-123.
- Li T,Peng Z,Xiong T.Effects of lactic acid bacteria on nutritional components, aroma components and antioxidant activity of compound soybean milk[J].Food and Fermentation Industries,2018,44(4):116-123.
- [21] 王芳.广西巴马长寿老人肠道菌群及其与膳食纤维多糖饮食关联性研究[D].南宁:广西大学,2015.
- Wang F.Chinese centenarians gut microbiota and its correlation with high-fiber diet[D].Nanning:Guangxi University,2015.