

四川泡菜中植物乳杆菌的筛选与鉴定

胡静¹, 黄爱兰¹, 黄顺², 徐映红², 陈晓嫒¹, 曹凤红¹, 杨俊松¹, 郑志^{3*}

(1. 蚌埠医学院公共基础学院, 安徽蚌埠 233030) (2. 蚌埠市食品药品检验中心, 安徽蚌埠 233099)

(3. 合肥工业大学食品与生物工程学院, 安徽合肥 230601)

摘要: 该研究旨在从四川泡菜中筛选植物乳杆菌, 为益生菌筛选提供来源。经 MRS 琼脂培养基筛选, 采用革兰氏染色法, 生化鉴定法, 结合分子生物学方法, 对筛选的菌株进行鉴定。VITEK 2 棒状杆菌鉴定卡 (CBC) 共涉及到 41 个生化反应, 能够鉴定到种属水平, 该方法能够很好的筛选植物乳杆菌。经 CBC 卡鉴定, 20 个菌株中筛选到 12 个菌株, 可鉴定为植物乳杆菌。这些菌株经 16S rRNA PCR 扩增测序后, 在 NCBI 网站上进行同源性比对, 确定为植物乳杆菌。由邻接法构建的系统进化树可知, 该 12 个菌株与已知植物乳杆菌序列聚为一簇, 6 号菌株与 *Lactobacillus plantarum* 3356 聚为一支, 亲缘关系更近; 4 号、5 号、14 号、15 号、23 号和 38 号菌株与 *Lactobacillus plantarum* NCU116, *Lactobacillus plantarum* MBEL2169, *Lactobacillus plantarum* AN7 等序列相似性极高, 无遗传距离。综合所有的鉴定结果, 这 12 个菌株都被鉴定为植物乳杆菌。CBC 鉴定卡是初筛植物乳杆菌较好的方法。

关键词: 四川泡菜; 植物乳杆菌; 菌种鉴定; 16S rRNA

文章编号: 1673-9078(2022)10-86-91

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.10.1373

Isolation and Identification of *Lactobacillus plantarum* in Sichuan Paocai

HU Jing¹, HUANG Ailan¹, HUANG Shun², XU Yinghong², CHEN Xiaoman¹, CAO Fenghong¹, YANG Junsong¹, ZHENG Zhi^{3*}

(1.School of Basic Courses, Bengbu Medical College, Bengbu 233030, China)

(2.Bengbu Center for Food and Drug Control, Bengbu 233099, China)

(3.School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

Abstract: *Lactobacillus plantarum* were isolated from Sichuan Paocai and screened for probiotics. The strains were separated using MRS agar medium, and then identified using Gram staining, biochemical identification, and molecular biology methods. The VITEK 2 *Corynebacterium* identification card (CBC) includes a total of 41 biochemical reactions and enables identification to the species level. Of the 20 strains of bacteria detected, 12 strains were identified as *L. plantarum* using the CBC cards. These strains were subjected to 16S rRNA PCR amplification and sequencing, followed by homologous sequence alignment on the NCBI website. The phylogenetic tree constructed by the neighbor-joining method showed that all 12 strains were clustered with known *L. plantarum* sequences. Strain No. 6 was clustered with *L. plantarum* 3356. Strain numbers 4, 5, 14, 15, 23, and 38 had very high sequence similarity with *L. plantarum* NCU116, *L. plantarum* MBEL2169, and *L. plantarum* AN7, with no genetic distance. In conclusion, all 12 strains were identified as *L. plantarum*. CBC identification cards are an effective method for the identification of *L. plantarum*.

Key words: Sichuan Paocai; *Lactobacillus plantarum*; species identification; 16S rRNA

引文格式:

胡静,黄爱兰,黄顺,等.四川泡菜中植物乳杆菌的筛选与鉴定[J].现代食品科技,2022,38(10):86-91

HU Jing, HUANG Ailan, HUANG Shun, et al. Isolation and identification of *Lactobacillus plantarum* in Sichuan Paocai [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(10): 86-91

泡菜具有 3 000 多年的悠久历史, 享有“川菜之骨”

收稿日期: 2021-12-06

基金项目: 安徽省教育厅重点项目 (KJ2019A0312)

作者简介: 胡静 (1983-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 食品微生物发酵,

E-mail: hj0310055@163.com

通讯作者: 郑志 (1971-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 谷物化学及现代加工技术、植物蛋白加工技术、食品发酵技术, E-mail: zhengzhi@hfut.edu.cn

的美称^[1]。四川泡菜作为我国传统发酵蔬菜的代表, 备受广大民众的喜爱。四川泡菜的原料新鲜, 是由乳酸菌发酵制成的盐渍菜, 这种“冷加工”的生产方式能够保留蔬菜的营养, 维持膳食营养均衡, 是一种低热量的食品。传统泡菜属于自然发酵, 乳酸菌主要来自原料本身, 一般是大白菜、萝卜、豇豆和辣椒等。不同原料携带的乳酸菌种类不同, 因此影响泡菜中微

生物的构成。乳酸菌不仅赋予食品酸味和香气,改善食品的口味及品质,还具有促进营养物质的吸收、改善肠道功能、降低胆固醇、抗高血压、调节免疫功能及抗肿瘤等生物学作用^[2]。研究发现植物乳杆菌和干酪乳杆菌在泡菜的成熟过程中起到决定性的作用^[3-5]。植物乳杆菌作为乳酸菌中的一员,在自然界中分布广泛,存在于人类和昆虫的肠道,乳制品,水果和蔬菜^[6,7],具有较强的糖代谢能力,在泡菜发酵中后期,随着氧气的消耗殆尽,植物乳杆菌开始在发酵过程中起主导作用,利用反应体系中的糖类代谢产生大量的酸,从而加速泡菜的成熟过程^[8]。此外,植物乳杆菌降胆固醇的效果显著,如 *Lactobacillus plantarum* NCU116 可将高脂喂养小鼠的胆固醇水平明显降低^[9,10]。植物乳杆菌可以调节肠道疾病,因其能够分泌抑制病原菌生长的抗菌肽、有机酸和细菌素等物质;也能够分泌胞外多糖起到抗氧化、抗肿瘤和免疫调节等作用^[11-13]。植物乳杆菌,作为一种益生菌,被广泛应用于食品生产中,如酸奶、豆乳、干酪及饮料等。植物乳杆菌可以赋予产品良好的风味、质地,及保健功能。

随着科学技术的发展,人民生活质量的提高,人们更青睐于健康养生的生活理念。由于益生菌有益健康,近年来我国对益生菌产品的需求猛增,益生菌产业呈现井喷式发展,益生菌市场前景巨大。植物乳杆菌在发酵乳中,最成功的应用当属光明专利菌株-“植物乳杆菌 ST-III”,光明“畅优”和“植物活力”乳酸菌饮料中都添加了该菌株,成为“通畅型酸奶的第一品牌”。此外,“植益”采用植物乳杆菌 LP28 发酵,2015 年在乳酸菌企业中脱颖而出。因此,筛选具有良好益生功能的乳酸菌具有很重要的应用价值。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

泡菜来自四川的成都、达州、眉州,传统自然发酵制作;MRS 琼脂和 MRS 肉汤,青岛海博生物技术有限公司;细菌基因组提取试剂盒、Taq PCR Mix、溶菌酶溶液、GeneGreen 核酸染料,北京天根生化科技(北京)有限公司;DL10000 DNA Marker, Takara; VITRK 2 棒状杆菌鉴定卡(CBC),上海嘉合生物科技有限公司;革兰氏染色试剂盒,南京建成科技有限公司。

1.2 仪器与设备

振荡培养箱、生化培养箱,江苏科析;立式压力

蒸汽灭菌锅,上海博讯;PCR 仪,德国 Eppendorf;DNA 电泳槽,北京六一仪器;超净工作台,苏州净化;VITEK 2 Compact 仪器,法国梅里埃;凝胶成像系统,伯乐公司(Bio-Rad);生物显微镜,日本奥林巴斯。

1.3 实验方法

1.3.1 乳杆菌的分离纯化

分离纯化流程见下:

泡菜汁液 1 mL+19 mL 的无菌生理盐水→置于振荡培养箱中,室温下 200 r/min 培养过夜→取样液 1 mL,用无菌的生理盐水进行 10 倍梯度稀释→取稀释了 10^2 、 10^3 、 10^4 的样液 100 μ L 涂布平板→37 $^{\circ}$ C 倒置培养 48 h

菌株经过多次划线,以获得纯菌株。选取白色、圆形、表面光滑凸起的菌落,进行革兰氏染色。

1.3.2 生理生化反应鉴定

使用 VITEK 2 棒状杆菌鉴定卡(CBC)进行测定。CBC 卡是基于已经确定的生化方法和新开发的底物,用来检测碳源利用和酶类活性。共有 41 种生化反应,具体内容见表 1,获得最终鉴定结果大约需要 8 h。具体操作方法为:向透明的塑料试管(聚苯乙烯材质,12 mm \times 75 mm)加入 3.0 mL 无菌盐水($w=0.45\%\sim 0.5\%$ 的 NaCl 溶液, pH 值为 4.5~7.0)。用无菌接种环刮取适量的菌落加到试管中,为了菌体更好的分散于盐水中,可将菌体在管壁上充分研磨制备菌悬液。VITEK 2 DensiCHEK 仪器先经过校准,然后检测菌液浓度,检测浓度为 McFarland No. 2.7~3.30。然后将 CBC 卡放入试管中,置于卡架中以备检测。注意, CBC 卡片放入前,菌悬液配制时间不能超过 30 min。

1.3.3 16S rRNA 序列扩增、鉴定

挑一单菌落至 MRS 肉汤过夜培养(37 $^{\circ}$ C, 14~16 h)。取 2 mL 菌液离心,去上清,用菌体提取基因组。扩增保守基因 16S rRNA。使用引物序列为 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCA-3') 和 1495R (5'-CTACGGCTACCTTGTACGA-3'),目的片段长度约 1 500 bp。PCR 反应体系为见表 2。

PCR 扩增程序为:

94 $^{\circ}$ C 5 min	} 30 cycles
94 $^{\circ}$ C 40 s	
55 $^{\circ}$ C 40 s	
72 $^{\circ}$ C 1 min	
72 $^{\circ}$ C 10 min	

PCR 产物经 1%琼脂糖电泳检测后,送华大基因测序。

表1 CBC反应孔内容物

Table 1 The contents of CBC reaction pore

反映孔	试验	缩写	每反应孔剂量/mg
2	丙氨酸-苯丙氨酸-脯氨酸芳胺酶	APPA	0.0384
4	D-半乳糖	dGAL	0.3
5	鸟氨酸脱羧酶	ODC	0.15
6	苯丙氨酸芳胺酶	PheA	0.0264
7	精氨酸 GP	AGR	0.15
8	丙酮酸盐	PVATE	0.15
9	β -半乳糖苷酶	BGAL	0.036
10	L-吡咯烷酮芳胺酶	PYRA	0.018
11	琥珀酸盐碱化	SUCT	0.15
12	酪氨酸芳胺酶	TyrA	0.0276
13	D-葡萄糖	dGLU	0.3
17	β -葡糖苷酶	BGLU	0.036
18	D-麦芽糖	dMAL	0.3
19	D-甘露醇	dMAN	0.1875
21	β -木糖苷酶	BXYL	0.0324
22	O/129 耐药 (comp. vibrio.)	O/129R	0.0105
23	L-脯氨酸芳胺酶	ProA	0.0234
26	脂肪酶	LIP	0.0192
27	α -甘露糖苷酶	AMAN	0.036
30	D-松三糖	dMLZ	0.3
31	尿素酶	URE	0.15
33	蔗糖	SAC	0.3
35	D-海藻糖	dTRE	0.3
36	柠檬酸盐 (钠)	CIT	0.054
37	5-溴-4-氯-3-吡啶基- β -葡萄糖醛酸酐	BGURi	0.006
40	L-乳酸盐碱化	ILATk	0.15
41	α -葡糖苷酶	AGLU	0.036
43	D-山梨醇	dSOR	0.1875
44	α -半乳糖苷酶	AGAL	0.036
46	甘氨酸芳胺酶	GlyA	0.012
47	D-苹果酸盐	dMLT	0.15
50	D-核糖	dRIB	0.3
51	麦芽三糖	MTE	0.3
52	L-谷氨酰胺	IGLM	0.15
53	苯基磷酸盐	OPS	0.024
54	β -D-岩藻糖苷酶	BdFUC	0.0342
56	香豆酸盐	CMT	0.126
59	2-酮基-D-葡萄糖酸盐	2KG	0.3
61	七叶苷水解	ESC	0.0225
62	ELLMAN	ELLM	0.03
64	D-木糖	dXYL	0.3

表 2 PCR 反应体系

Table 2 Amplification system of PCR	
组成成分	体积/ μL
模板	<2 μg
27F (10 $\mu\text{mol/L}$)	1.0
1495R (10 $\mu\text{mol/L}$)	1.0
2 \times Taq PCR Mix	25
ddH ₂ O	补至 50 μL

1.3.4 系统进化分析

测得的序列先在 NCBI 上进行 Nucleotide BLAST, 以>99%为界线, 判断是否是植物乳杆菌。从 NCBI 网站上下载已有的植物乳杆菌序列及其他乳酸菌模式菌株序列, 使用邻接法构建系统进化树。

2 结果与分析

表 3 CBC 卡生化反应鉴定结果

Table 3 The identification results from CBC card biochemical reactions				
菌株号	ID 信息置信水平	选择数目	概率/%	注释
1	极好	1	96	<i>Lactobacillus plantarum</i>
2	极好	1	99	<i>Lactobacillus plantarum</i>
3	不确定或不能鉴定的细菌	0	N/A	不符合数据库中的任何分类群。
4	好	1	90	<i>Lactobacillus plantarum</i>
5	极好	1	96	<i>Lactobacillus plantarum</i>
6	非常好	1	93	<i>Lactobacillus plantarum</i>
7	低分辨率	1	85	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>
8	不确定或不能鉴定的细菌	0	N/A	不符合数据库中的任何分类群。
9	可接受	1	86	<i>Lactobacillus plantarum</i>
10	不确定或不能鉴定的细菌	0	N/A	不符合数据库中的任何分类群。
11	不确定或不能鉴定的细菌	0	N/A	不符合数据库中的任何分类群。
12	不确定或不能鉴定的细菌	0	N/A	N/A
14	非常好	1	95	<i>Lactobacillus plantarum</i>
15	极好	1	99	<i>Lactobacillus plantarum</i>
16	不确定或不能鉴定的细菌	0	N/A	不符合数据库中的任何分类群。
17	极好	1	99	<i>Lactobacillus plantarum</i>
20	极好	1	99	<i>Lactobacillus plantarum</i>
23	低分辨率	2	85	<i>Lactobacillus plantarum</i> (85%) <i>Corynebacterium diphtheriae</i>
29	极好	1	98	<i>Corynebacterium jeikeium</i>
38	好	1	90	<i>Lactobacillus plantarum</i>

2.2 生理生化反应结果

使用 CBC 鉴定卡鉴定了 20 个菌株, 其中可能性概率在 96%~99%的, 置信水平为“极好”, 总共有 7 个株菌, 其中 6 个菌株(1 号、2 号、5 号、15 号、17 号、20 号)鉴定为植物乳杆菌(29 号为杰氏棒杆

2.1 菌株的分离与鉴定

从 5 份泡菜样本中分离获得 40 个菌株, 选取圆形、乳白色、表面光滑凸起、边缘整齐、不透明的菌落。多次划线获得纯菌株。经革兰氏染色后均为紫色, 呈杆状或棒状。(见图 1)。

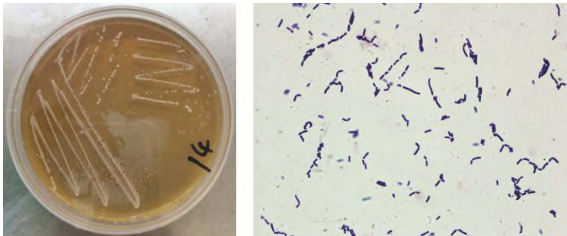


图 1 14 号菌株菌落形态及其菌体镜检结果(1000 \times)

Fig.1 The colony morphology of No. 14 strain and its micrograph after Gram staining (1000 \times)

菌); 可能性概率在 93%~95%的, 置信水平为“非常好”, 有 2 个菌株, 即 6 号和 14 号菌株; 可能性概率在 89%~92%的, 置信水平为“好”, 有 2 个菌株, 即 4 号和 38 号菌株; 可能性概率在 85%~88%的, 置信水平为“可接受”, 有 2 个菌株, 即 7 号和 23 号菌株。总体来说, 20 个 CBC 反应卡的结果中有 12 个菌株的

反应结果可以鉴定为植物乳杆菌（见表 3）。CBC 鉴定卡在鉴定植物乳杆菌方面的研究较少，传统的乳酸菌的生化鉴定方法多是鉴定一些糖及醇的反应，另外还需做明胶液化试验、吲哚试验、V-P 试验等多个试验，但是只能鉴定到“属”，很难确定到“种”^[14,15]。而 CBC 鉴定卡可以直接鉴定到“种”，缺点是价格贵，必须依赖于 VITEK 2 Compact 仪器操作，但是操作方法简单。另外 API 50 CHL 主要用于鉴定乳杆菌，而且不需要依赖于仪器，可以手工操作，涉及 50 个生化反应，记录反应结果即可查询被鉴定细菌的种名，但是价格更昂贵，而且货期很长，不易购买。虽然 CBC 卡主要是鉴定棒状杆菌，但是也可以鉴定植物乳杆菌，因此，综合考虑选用 CBC 鉴定卡筛选植物乳杆菌。

2.3 16S rRNA 序列扩增结果

琼脂糖凝胶电泳结果显示，成功扩增出目的片段。将 PCR 扩增成功的产物送到华大基因测序，进行双向测通。拼接后的序列，在 NCBI 网站上进行 Nucleotide BLAST 同源性比对，发现所有的菌株都属于乳杆菌属，同源性达到 100%。但是不限于植物乳杆菌，有的显示是戊糖乳杆菌（*Lactobacillus pentosus*）或其他乳杆菌（*Lactobacillus sp.*）。因此，还需构建系统发育树进一步确认。

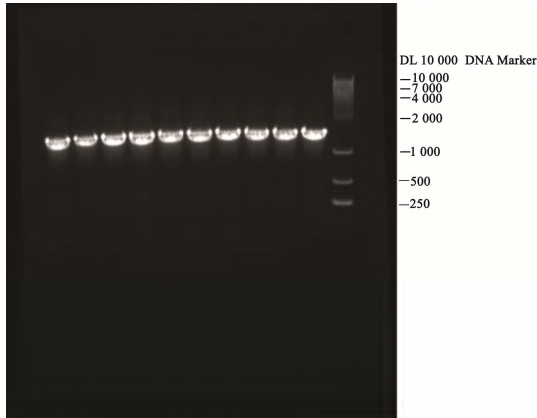


图 2 各菌株 16S rRNA 基因琼脂糖凝胶电泳结果

Fig.2 Agarose gel electrophoresis pictures of 16S rRNA gene of each strain

2.4 系统发育分析

系统发育树构建的软件不断推陈出新，大体上如下几种选择策略，有简单的 UPGMA 法、邻接法（Neighbour-joining, NJ）、最大简约法、最大似然法以及贝叶斯法，每种方法都有不少可选择的工具。由于扩增的 16S rRNA 序列较短，本研究选用 MEGA7.0 软件采用邻接法构建系统发育树。

由图 3 中的 NJ 树可知，所有的序列聚为三簇，

经 CBC 卡初步鉴定为植物乳杆菌的 12 个菌株序列，与已知的植物乳杆菌的序列聚为一簇（Cluster 1）；其中 6 号菌株与 *L. plantarum* 3356 聚为一支，亲缘关系更近，其次是 20 号菌株；由于 Bootstrap 的值 >70%，构建的进化树才可靠，因此 17 号菌株与 *L. plantarum* JCM1149 虽然聚为一支，但结果不可靠；4、5、14、15、23 和 38 号菌株与 *L. plantarum* NCU116、*L. plantarum* MBEL2169、*L. plantarum* AN7 等序列相似性极高，无遗传距离；Cluster 1 的所有菌株与消化乳杆菌（*L. alimentarius* DCM20249）亲缘关系近。此进化树以乳酸片球菌（*Pediococcus acidilactici*）作为异源参照菌株。

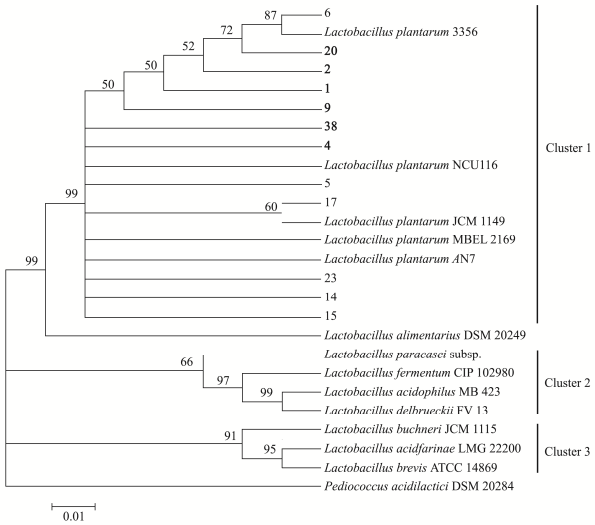


图 3 泡菜样品中分离的代表菌株和模式菌株基于 16S rRNA 的系统发育树（NJ 法）

Fig.3 The phylogenetic tree based on 16S rRNA of representative strains isolated from pickle samples and type strains (NJ method)

鉴于本实验主要筛选的是植物乳杆菌，因此只选用了 MRS 琼脂培养基进行筛选，而 CBC 卡不能鉴定乳球菌和明串珠菌，所以没有筛选到泡菜中常有的乳球菌和明串珠菌等菌株。本研究中分离到的乳酸菌中 80% 是植物乳杆菌，是四川泡菜中的优势菌种，这与前人的研究结果一致^[16-18]。短乳杆菌（*LB. brevis*）在泡菜中也常见，由于 CBC 鉴定卡不能鉴定 *LB. brevis*，因此在初筛过程中也被淘汰。

3 结论

传统泡菜样品中乳酸菌种类繁多，本研究从四份泡菜样本中共挑选 40 个菌株，经革兰氏染色和菌落形态观察后，挑选了 20 个菌株，使用 VITEK 2 棒状杆菌鉴定卡（CBC）进行生化反应鉴定，其中有 12 个菌株初步鉴定为植物乳杆菌（可能性 ≥85%）。这些菌

株经 16S rRNA 基因测序、Nucleotide BLAST 比对, 均为植物乳杆菌。然后, 利用已知植物乳杆菌序列和泡菜中检出的一些模式菌株序列使用邻接法构建系统进化树, 12 个菌株序列与已知的植物乳杆菌序列聚为一簇, 甚至有的序列高度相似, 无遗传距离。综合所有的鉴定结果, 我们认为筛选的 12 个菌株均为植物乳杆菌。CBC 鉴定卡是初筛植物乳杆菌较好的方法。

参考文献

- [1] 陈功, 夏有书, 张其圣, 等. 从中国泡菜看四川泡菜及泡菜坛 [J]. 中国酿造, 2010, 29(8): 5-8
- [2] Patten D A, Laws A P. *Lactobacillus*-produced exopolysaccharides and their potential health benefits: a review [J]. Benef Microbes, 2015, 6(4): 457-71
- [3] 关倩倩. 我国传统发酵泡菜菌系结构及其消长规律研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2012
- [4] Xiong T, Li X, Guan Q Q, et al. Starter culture fermentation of Chinese sauerkraut: Growth, acidification and metabolic analyses [J]. Food Control, 2014, 41: 122-127
- [5] Xiong T, Peng F, Liu Y, et al. Fermentation of Chinese sauerkraut in pure culture and binary co-culture with *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum* [J]. LWT - Food Science and Technology, 2014, 59: 713-717
- [6] Martino M E, Bayjanov J R, Caffrey B E, et al. Nomadic lifestyle of *Lactobacillus plantarum* revealed by comparative genomics of 54 strains isolated from different habitats [J]. Environmental Microbiology, 2016, 18(12): 4 974-4 989
- [7] Siezen R J, Tzeneva V A, Castioni A, et al. Phenotypic and genomic diversity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from various environmental niches [J]. Environmental Microbiology, 2010, 12(3): 758-773
- [8] Xiong T, Guan Q Q, Song S H, et al. Dynamic changes of lactic acid bacteria flora during Chinese sauerkraut fermentation [J]. Food Control, 2012, 26(1): 178-181
- [9] Li C, Nie S P, Ding Q, et al. Cholesterol-lowering effect of *Lactobacillus plantarum* NCU116 in a hyperlipidaemic rat model [J]. Journal of Functional Foods, 2014, 8: 340-347
- [10] 张鑫, 李思萌, 吴祖芳, 等. 一种植物乳杆菌发酵紫薯工艺条件研究 [J]. 宁波大学学报, 2017, 30(2): 29-34
- [11] Jiang Y, Yang Z. A functional and genetic overview of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* [J]. Journal of Functional Foods, 2018, 47: 229-240
- [12] Wang Y, Qin Y X, Zhang Y, et al. Antibacterial mechanism of plantaricin LPL-1, a novel class IIa bacteriocin against *Listeria monocytogenes* [J]. Food Control, 2019, 97: 87-93
- [13] Xu Y, Cui Y, Wang X, et al. Purification, characterization and bioactivity of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* KX041 [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 128: 480-492
- [14] 武昕媛, 赵冬云, 孙丽媛. 东北发酵食物中乳杆菌的研究 [J]. 食品工业, 2017, 38(5): 204-208
- [15] 朱奇奇, 蒲博, 王周, 等. 一株降胆固醇乳酸菌的筛选、鉴定及在发酵泡菜中的应用 [J]. 中国调味品, 2016, 5: 16-22
- [16] Yu J, Gao W, Qing M, et al. Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from traditional pickles in Sichuan, China [J]. Journal of General and Applied Microbiology, 2012, 58(3): 163-172
- [17] 张其圣, 陈功, 申文熹, 等. 中国泡菜乳酸菌群落结构动态变化研究进展 [J]. 食品与发酵科技, 2016, 52(6): 1-8
- [18] Cao J L, Yang J X, Hou Q C, et al. Assessment of bacterial profiles in aged, home-made Sichuan paocai brine with varying titratable acidity by PacBio SMRT sequencing technology [J]. Food Control, 2017, 78: 14-23