

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2024.81238

乳酸菌的筛选及在优化酸汤发酵工艺中的应用

伍桃英^{1,2} 易仕杨^{1,3} 李剑锋¹ 刘锦超¹ 梁康¹ 陈浩¹

(1. 邵阳学院食品与化学工程学院, 湖南 邵阳 422000; 2. 长沙理工大学食品与生物工程学院, 湖南 长沙 410114;
3. 湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南 长沙 410000)

摘要: [目的] 挖掘并利用自然界丰富的乳酸菌资源, 推动中国传统酸汤的工业化生产。[方法] 从自然发酵的食品和原料中分离乳酸菌, 经形态、革兰氏染色及 16S rDNA 鉴定, 结合微生物生长特性筛选出高产酸耐酸菌株; 以这些菌株为发酵剂制备酸汤, 考察总酸含量和色差, 通过单因素及响应面法优化发酵工艺。[结果] 从湘西酸汤等样品中分离出 *Limosilactobacillus fermentum*、*Pediococcus acidilactici*、*Lactiplantibacillus plantarum*、*Lacticaseibacillus paracasei* 等乳酸菌, 筛选出了产酸能力强的 *L. paracasei* LK10(LK10) 和耐酸性能好的 *L. fermentum* T1(T1); 以 LK10 和 T1 为发酵剂, 调整种子液 OD_{600 nm} 为 1.00, $V_{LK10}:V_{T1}=5:1$ 、总接种量 4.23 mL/100 g、37 °C 发酵 9.75 d 为最佳工艺条件, 酸汤总酸含量为 (19.43±0.12) g/kg。[结论] 以 *L. paracasei* LK10 和 *L. fermentum* T1 制备的酸汤酸辣适中, 色泽红亮, 乳酸风味浓郁。

关键词: 乳酸菌; 副干酪乳杆菌; 发酵黏液乳杆菌; 酸汤; 接种发酵; 工艺优化

Screening of lactic acid bacteria and their application in optimizing the fermentation process of sour soup

WU Taoying^{1,2} YI Shiyang^{1,3} LI Jianfeng¹ LIU Jinchao¹ LIANG Kang¹ CHEN Hao¹

(1. School of Food and Chemical Engineering, Shaoyang University, Shaoyang, Hunan 422000, China; 2. School of Food Science and Bioengineering, Changsha University of Science and Technology, Changsha, Hunan 410114, China;
3. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410000, China)

Abstract: [Objective] To explore and utilize the abundant lactic acid bacteria resources in nature, promoting the industrial production of traditional Chinese sour soup. [Methods] Lactic acid bacteria were isolated from naturally fermented foods and raw materials, identified by morphology, Gram staining, and 16S rDNA sequencing, and screened based on their microbial growth characteristics for high acid yield and acid resistance. Sour soup was prepared using these strains as the fermenting agents, and the total acid content and color difference were measured. The fermentation process was optimized using single-factor and response surface methods. [Results] Lactic acid bacteria such as *Limosilactobacillus fermentum*, *Pediococcus acidilactici*, *Lactiplantibacillus plantarum*, and *Lacticaseibacillus paracasei* were isolated from samples, including Xiangxi sour soup. Among these, *L. paracasei* LK10 (LK10) with strong acid-producing ability and *L. fermentum* T1 (T1) with good acid tolerance were selected. Using LK10 and T1 as the fermenting agents, the optimal process conditions were determined as follows: adjusting the OD_{600 nm} of the seed liquid to 1.00, with a volume ratio of LK10 to T1 at 5:1, a total inoculation amount of 4.23 mL/100 g, and fermentation at 37 °C for 9.75 days. Under these conditions, the total acid content of the sour soup was (19.43±0.12) g/kg. [Conclusion] The sour soup prepared with *L. paracasei* LK10 and *L. fermentum* T1 has a moderate sour and spicy taste, a bright red color, and a rich lactic acid flavor.

Keywords: lactic acid bacteria; *Lacticaseibacillus paracasei*; *Limosilactobacillus fermentum*; sour soup; inoculation fermentation; process optimization

酸汤, 作为一种历史悠久且深受消费者喜爱的美食, 其独特的口感与风味而闻名遐迩。从俄罗斯的红酸汤到菲律宾的蔬菜酸辣汤, 再到越南的特色酸汤, 每一种酸汤都承载着独特的文化背景与风味精髓。

基金项目: 湖南省自然科学基金项目(编号: 2022JJ50218); 长沙理工大学开放基金项目(编号: 2024KFJJ006)

通信作者: 伍桃英(1986—), 女, 长沙理工大学讲师, 博士。E-mail: wutaoying2019@163.com

收稿日期: 2024-12-02 改回日期: 2025-01-11

在中国,尤其是贵州与湖南湘西地区,苗族酸汤更是以其鲜明的民族特色、独特的酸味与浓郁的风味,成为美食界中一道不可多得的佳肴。随着餐饮消费的不断升级和多样化,酸汤的市场需求持续攀升,展现出巨大的市场潜力。然而,当前酸汤的生产方式多以传统工艺为主,高度依赖自然发酵过程^[1]。这种传统工艺虽然能够保留酸汤的原始风味,但同时也存在一些问题,如菌源复杂难以控制、发酵周期长影响生产效率、品质不稳定难以保证产品一致性以及安全性难以完全保障等^[2-4]。这些问题不仅限制了酸汤的大规模生产和工业化进程,也影响了其市场竞争力和消费者的食用体验。因此,探索新的发酵方法和工艺优化手段,以解决传统生产工艺中存在的问题,成为当前酸汤产业发展的重要课题和迫切需求。

在酸汤发酵工艺的研究中,乳酸菌作为核心微生物,其种类与活性对酸汤品质及风味至关重要。研究^[5-6]表明, *Lactobacillus*、*Lactococcus*、*Pediococcus*、*Weissella*、*Ligilactobacillus*、*Levilactobacillus* 等乳酸菌,在贵州酸汤的自然发酵过程中的协同作用,显著影响发酵进程及产品特性。然而,传统工艺中乳酸菌的种类与数量难以精确调控,导致发酵不稳定,产品品质参差不齐。为此,研究者们^[7-10]已经从酸汤或其他相关原料中分离并筛选出特定的乳酸菌菌株,如 *Lentilactobacillus buchneri* H9、*Liquorilactobacillus nagelii* RS-5、*Lentilactobacillus buchneri* ST15-2 和 RS-8、*Limosilactobacillus fermentum* ST20、*Gluconacetobacter liquefaciens* ST19、*Lentilactobacillus buchneri* CCTCC M 2023228、*Kazachstania bulderi* CCTCC M 2023227 等,以这些菌株为酸汤发酵剂,能够有效提升酸汤的总酸含量,并优化其风味与口感。值得注意的是,乳酸菌的发酵并非简单地追求数量上的增加,过量的乳酸菌发酵反而降低挥发性酯水平,影响整体风味^[11-12]。

前人已从酸汤原料中筛选出具有优良发酵特性的乳酸菌,在一定程度提升了酸汤品质,但乳酸菌的精准筛选与科学应用仍需深入研究。关键在于,需通过科学方法挑选最适合酸汤发酵的菌株,并探究其发酵特性、代谢产物及对酸汤品质的具体影响。同时,合理调控发酵条件,如温度、时间和 pH 值,以发挥乳酸菌发酵优势,避免风味损失,也是当前的重要课题。因此,研究拟聚焦于乳酸菌筛选及其在酸汤发酵工艺中的应用,深入探究其对酸汤品质的影响机制,以期为酸汤工业化生产提供科学依据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 试验材料

酸汤原料(新鲜西红柿、红辣椒、生姜、蒜和食盐):

市售;

湘西酸汤样品:采集自湘西土家族苗族自治州某农户家庭;

发酵酸菜:采集自贵州某农户家庭;

豆腐黄浆水和酸浆豆腐:采集自湖南省邵阳市武冈市某豆制品加工坊;

试验菌株:从湘西酸汤、发酵酸菜、豆腐黄浆水等原料中分离纯化的乳酸菌保存于长沙理工大学微生物实验室。

1.1.2 试验试剂

蛋白胨、牛肉浸粉、酵母浸粉、琼脂粉:生化试剂,南京全隆生物技术有限公司;

柠檬酸氢二铵、硫酸镁、硫酸锰、氯化钠、氯化钾、乙酸钠、丙三醇、吐温-80、邻苯二甲酸氢钾:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

无水葡萄糖、磷酸氢二钾、碳酸钙:分析纯,广东省精细化学品工程技术研究开发中心;

革兰氏染液:生化试剂,北京路桥股份有限公司;

琼脂糖:分子试剂,BBI生命科学有限公司;

SYBR™ Safe DNA 凝胶染料:S33102型,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;

细菌基因组 DNA 提取试剂盒:DP302型,天根生化科技(北京)有限公司;

2×Rapid Taq Master Mix:P222型,南京诺唯赞生物科技股份有限公司;

DL5000 DNA marker:MD102-02型,南京诺唯赞生物科技股份有限公司;

引物 27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和 1492R(5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3');华大基因广州分公司。

1.2 仪器与设备

电子分析天平:FA124X型,天津市德安特传感技术有限公司;

超纯水机:Kertone lab DAY 20型,湖南科尔顿水务有限公司;

pH计:FE28-Bio型,梅特勒托利多科技(中国)有限公司;

立式自动压力蒸汽灭菌锅:GI54DWS型,致威(厦门)仪器有限公司;

电热鼓风干燥箱:GZX-9140 MBE型,上海博讯实业有限公司医疗设备厂;

单人单面垂直净化工作台:SW-CJ-1D型,苏州净化设备有限公司;

电热恒温培养箱:HPX-9272 MBE型,上海博讯实业有限公司医疗设备厂;

台式微量高速离心机:TGW16型,长沙英泰仪器有限

公司;

微量核酸蛋白定量仪: Nano Drop 2000 型, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司;

生物显微镜: Eclipse E200 型, 日本 Nikon 公司;

高分辨率数字摄像头: YF-500 型, 南京宇凡仪器科技有限公司;

基因扩增仪: RePure-B 型, 杭州柏恒科技有限公司;

凝胶成像系统: ChemiDoc XRS+ 型, 美国 BioRad 公司;

紫外分光光度计: 722G 型, 上海精科仪器有限公司;

台式离心机: Velocity 14R 型, 英国 Dynamica 公司;

便携式色差仪: CR-400 型, 日本柯尼卡美能达公司;

糖度计: LB20T 型, 广州市速为电子科技有限公司;

磨浆机: MJ-100A 型, 广东德玛仕智能厨房设备有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 乳酸菌的分离纯化与鉴定

(1) 分离纯化: 将湘西酸汤等样品用 0.9 g/100 mL NaCl 溶液进行梯度稀释, 然后涂布于含有 2.0 g/100 mL CaCO₃ 的 MRS 琼脂平板上; 37 °C 下培养 24~48 h, 挑选产生透明圈的单菌落进行多次划线纯化; 对纯化后的菌株进行革兰氏染色鉴定, 初步筛选出革兰氏阳性(G⁺)菌株; 对 G⁺ 的菌株进行 16S rDNA 鉴定。

(2) 16S rDNA 鉴定方法:

PCR 反应体系 (25 μL): 27F 引物 (5 μmol/L) 1.0 μL、1492R 引物 1.0 μL、菌液 1.0 μL、ddH₂O 9.5 μL、2×Taq Master Mix 12.5 μL。

PCR 反应程序: 95 °C 预变性 3 min; 95 °C 变性 15 s; 50 °C 退火 15 s; 72 °C 延伸 90 s; 重复步骤 2~4, 共循环 30 次; 72 °C 延伸 5 min; 反应结束。

电泳检测: 取 4.0 μL PCR 扩增产物加入 1.0 g/100 mL 琼脂糖凝胶 (含 0.01 g/100 mL 溴化乙锭) 梳孔中, 在 1×TAE 缓冲液中以 120 V 电压电泳 20 min, 检测扩增结果。

测序和比对: 将条带大小正确的 PCR 扩增产物送至华大基因公司经 Illumina Miseq/Novaseq 平台测序, 将测序结果提交至 NCBI 进行比对 (网址: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)。

1.3.2 菌株的生长特性 以乳酸菌如 *L. fermentum* T1 (T1)、*L. paracasei* LK10 (LK10)、*L. plantarum* GK10 (GK10)、*P. acidilactici* TY5 (TY5) 为研究对象, 经 MRS 琼脂平板活化 3 代, 挑取单菌落接种至 MRS 液体培养基制备种子液, 调整 OD_{600nm} 值至约 1.00。

(1) 不同 pH 条件下的生长: 按种子液体积的 1.0 mL/100 g 接种至 pH 值 3.0 和自然 pH 5.75 的 MRS 培养基, 于 37 °C 静置培养, 每隔 2 h 检测 OD_{600nm} 值, 同时记录 MRS 的 pH 变化。

(2) 在含胆盐的 MRS 中的生长: 将种子液按 1.0 mL/100 g 接种至含有 0, 0.5, 1.0, 3.0 g/100 mL 胆汁的 MRS 培养基中, 于 37 °C 静置培养, 每隔 2 h 检测 OD_{600nm} 值。

在每组试验中, 以未接种的培养基作为空白对照, 每个试验条件设置 3 个平行, 以时间为横坐标, 以 OD_{600nm} 值或培养体系的 pH 值为纵坐标, 绘制微生物的生长曲线和 pH 变化曲线。

1.3.3 酸汤的制备方法与关键要点

(1) 制备酸汤工艺流程:

原料挑选→预处理→组织破碎→配料混合→分装→杀菌→接种乳酸菌→发酵→检测→成品

(2) 关键操作要点:

原料预处理: 挑选新鲜、外观完好、无虫害、色泽均匀的西红柿和红辣椒, 去除蒂部和叶子。生姜和大蒜去除泥土和外皮, 分别进行清洗、沥干水分, 并进行组织破碎。

配料混合: 按照一定比例 ($m_{\text{西红柿}}:m_{\text{辣椒}}:m_{\text{生姜}}:m_{\text{大蒜}}:m_{\text{食盐}}=1.00:0.10:0.01:0.01:0.01$) 进行配料, 充分混合均匀后分装。

杀菌与冷却: 样品需在 90 °C 下杀菌 15 min, 以确保生物安全; 杀菌后自然冷却至室温, 接种。

接种与发酵: 在无菌超净台中, 按比例接种乳酸菌, 接种后的样品置于恒温培养箱静置培养。

采样与检测: 定期进行无菌采样, 并进行质量监测。

(3) 样品分析:

色差值: 采用便携式色差仪测定。

总酸: 参照 GB 12456—2021 的方法进行测定。

1.3.4 单因素试验 以酸汤的色差和总酸含量为关键考察指标, 研究发酵条件对酸汤品质的影响。

(1) 发酵时间的影响: 以从黄浆水中分离得到的 LK10 作为菌种, 将种子液的 OD_{600nm} 值调至约 1.00, 按 3.0 mL/100 g 接种, 在 37 °C 恒定温度下, 分别进行 8, 10, 12, 14 d 的发酵处理, 通过检测酸汤的色差和总酸含量, 初步确定较佳发酵时间范围。

(2) 接种量的影响: 在初步确定的发酵时间基础上, 分别使用来自酸汤的 T1 和来自黄浆水的 LK10, 将种子液的 OD_{600nm} 值调至约 1.00, 以 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL/100 g 的接种量进行发酵。保持其他发酵条件不变, 测量酸汤的色差和总酸含量, 以确定最佳接种量。

(3) 菌种配比的影响: 在确定的发酵时间和接种量下, 将单一种子液的 OD_{600nm} 值调至约 1.00, $V_{\text{LK10}}:V_{\text{T1}}$ 分别为 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1, 测量酸汤的色差和总酸含量, 以探究菌种配比的影响。

(4) 发酵温度的影响: 在确定的发酵时间、接种量和菌种配比下, 分别设定 28, 31, 34, 37, 40 °C 的发酵温度, 测量酸汤的色差和总酸含量, 以确定较佳发酵温度。

1.3.5 响应面设计 根据单因素试验的结果,选取菌种配比、接种量、发酵时间3个关键因素优化酸汤发酵工艺,以酸汤的总酸含量为关键考察指标,设计响应面试验。

1.3.6 数据分析 试验结果以平均值±标准差的形式呈现,并用IBM SPSS Statistics 20.0软件进行统计分析。对于两组样本间的比较,采用显著性检验方法,其中 $P < 0.05$ 表示差异显著,标记为*; $P < 0.01$ 表示差异非常显著,标记为**; $P < 0.001$ 表示差异极显著,标记为***。对于多组样本间的比较,采用Duncan多重比较方法,当 $P < 0.05$,认为组间存在显著差异,并以a、b、c、d等字母进行区分。图形绘制采用Origin 2018软件,而响应面设计、分析与作图则使用Design Expert V13软件完成。

2 结果与讨论

2.1 乳酸菌的分离鉴定与生长特性

2.1.1 乳酸菌的分离、纯化与鉴定

首先从湘西酸汤样品中,经梯度稀释涂布于MRS分离平板,观察到明显的溶钙圈[图1(a)],表明已产酸;挑取溶钙圈明显的单菌落,经多次划线分离获得乳白色、圆形、湿润黏稠且拉丝的菌落[图1(b)],推测产生了黏性物质;革兰氏染色显示菌株T1为G⁺短杆状细菌[图1(c)];琼脂糖电泳显示T1的16S rDNA扩增片段长度约为1 500 bp[图1(g)],进一步测序及比对确认T1为*Limosilactobacillus fermentum*(发酵黏液乳杆菌)。

在此基础上,从自然发酵的酸汤、黄浆水、发酵酸菜等样品中分离出约100株产明显溶钙圈的菌株。经革兰氏染色、16S rDNA测序和NCBI blast分析,鉴定出50株乳酸菌(表1),涵盖*Limosilactobacillus fermentum*、*Pediococcus acidilactici*、*Lactiplantibacillus plantarum*、*Lacticaseibacillus paracasei*、*Lacticaseibacillus casei*等种类。与此同时,为这些乳酸菌的16S rDNA序列在GenBank注册唯一登录号,以保护和记录菌种资源。

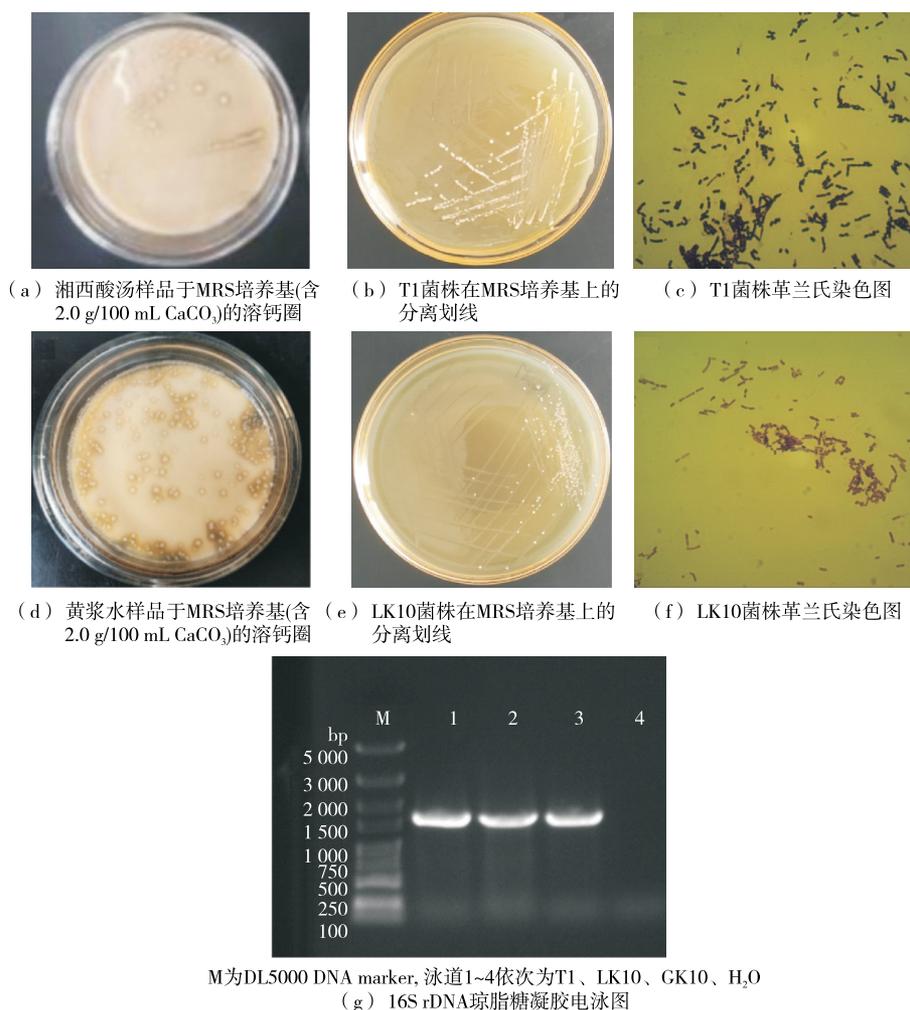


图1 乳酸菌的分离、纯化与鉴定

Figure 1 Isolation, purification and identification of lactic acid bacteria

表 1 乳酸菌的鉴定与 GenBank 登录号

Table 1 Identification of lactic acid bacteria and their accession numbers in GenBank

序号	菌株	来源	革兰氏染色	NCBI blast 结果	GenBank 登录号
1	T1	酸汤	G ⁺	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	PP564467
2	T2	酸汤	G ⁺	<i>Pediococcus acidilactic</i>	PP214906
3	T3	酸汤	G ⁺	<i>Pediococcus acidilactici</i>	PP564478
4	T10	酸汤	G ⁺	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	PP214908
5	T20	酸汤	G ⁺	<i>Pediococcus acidilactici</i>	PP214912
6	T21	酸汤	G ⁺	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	PP214941
7	Tian1	酸汤	G ⁺	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	PP210215
8	Tian2	酸汤	G ⁺	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	PP210617
9	Tian4	酸汤	G ⁺	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	PP214955
10	Tian5	酸汤	G ⁺	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	PP564492
11	LK1	黄浆水	G ⁺	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	PP213471
12	LK2	黄浆水	G ⁺	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	PP213472
13	LK3	黄浆水	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP213478
14	LK5	黄浆水	G ⁺	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	PP213779
15	LK6	黄浆水	G ⁺	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	PP214176
16	LK7	黄浆水	G ⁺	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	PP214175
17	LK8	黄浆水	G ⁺	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	PP214323
18	LK9	黄浆水	G ⁺	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	PP214443
19	LK10	黄浆水	G ⁺	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	PP859167
20	LK11	黄浆水	G ⁺	<i>Lacticaseibacillus casei</i>	PP214471
21	LK21	黄浆水	G ⁺	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	PP210103
22	LK22	黄浆水	G ⁺	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	PP210106
23	GK1	发酵酸菜	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP212906
24	GK2	发酵酸菜	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP212899
25	GK3	发酵酸菜	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP212944
26	GK4	发酵酸菜	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP212953
27	GK5	发酵酸菜	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP216026
28	GK6	发酵酸菜	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP213129
29	GK7	发酵酸菜	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP213044
30	GK9	发酵酸菜	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP213056
31	GK10	发酵酸菜	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP859165
32	GK11	发酵酸菜	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP213221
33	GK12	发酵酸菜	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP213217
34	GK13	发酵酸菜	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP213220
35	GK14	发酵酸菜	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP216027
36	GK15	发酵酸菜	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP216028
37	Guo1	发酵酸菜	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP210025
38	Guo2	发酵酸菜	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP210044
39	Guo3	发酵酸菜	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP213274
40	Guo4	发酵酸菜	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP213276
41	Guo5	发酵酸菜	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP216216
42	Guo6	发酵酸菜	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP213455

续表 1

序号	菌株	来源	革兰氏染色	NCBI blast结果	GenBank 登录号
43	TY5	酸浆豆腐	G ⁺	<i>Pediococcus acidilactici</i>	PP859168
44	ZXL1	酸浆豆腐	G ⁺	<i>Pediococcus acidilactici</i>	PP215045
45	ZXL2	酸浆豆腐	G ⁺	<i>Pediococcus acidilactici</i>	PP215072
46	ZXL3	酸浆豆腐	G ⁺	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	PP215120
47	ZXL12	酸浆豆腐	G ⁺	<i>Pediococcus acidilactici</i>	PP210619
48	ZXL14	酸浆豆腐	G ⁺	<i>Pediococcus acidilactici</i>	PP215126
49	ZXL21	酸浆豆腐	G ⁺	<i>Pediococcus acidilactici</i>	PP210214
50	ZXL22	酸浆豆腐	G ⁺	<i>Pediococcus acidilactici</i>	PP210216

2.1.2 乳酸菌在不同条件下的生长特性 在初筛的基础上,进一步选择 *L. fermentum* T1、*P. acidilactici* TY5、*L. plantarum* GK10、*L. paracasei* LK10 进行不同条件下的生长特性研究。在自然 pH 的 MRS 中,4 株菌的生长规律相似,OD_{600 nm} 值差异不显著[图 2(a)],表明其在适宜 pH 下

的生长能力相当。在 pH 3.0 的 MRS 中,T1 的 OD_{600 nm} 值显著高于同条件下的其他 3 株菌[图 2(b)],说明 T1 对极酸环境有更强的适应生长能力,可能与 T1 菌株表面的黏性物质有关。已有研究^[13-14]指出,乳酸菌表面的黏性物质如胞外多糖能提升其对环境胁迫的耐受性。

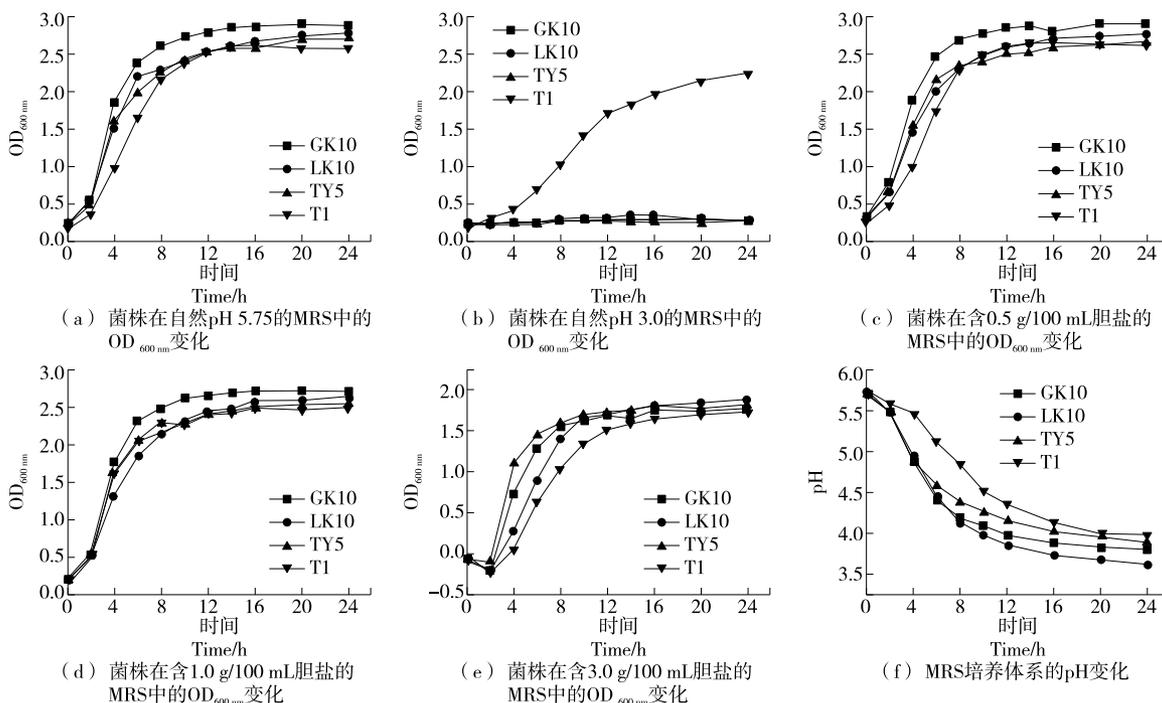


图 2 乳酸菌在不同条件下的生长特性

Figure 2 Growth characteristics of lactic acid bacteria under different conditions

胆盐是肠道环境中的一种重要成分,对乳酸菌的生长和存活具有重要影响^[15-16]。在含 0~3.0 g/100 mL 胆盐的 MRS 中,GK10 的生长能力整体较优[图 2(a)和图 2(c)~图 2(e)],表明其对胆盐具有较强的适应性,具有潜在的肠道益生菌的应用价值。已有文献^[17]报道,某些乳酸菌能够通过调节细胞壁结构或产生胆盐水解酶来适应高胆盐环境。

产酸能力是乳酸菌的一个重要特性,它不仅影响菌株的生长和存活,还决定其在食品发酵和肠道健康等方面的应用效果^[18]。监测 MRS 培养体系的 pH 发现,LK10 的产酸能力最强,导致 pH 下降速度和幅度最大,而 T1 的产酸速度相对较弱[图 2(f)],这也合理解释了 LK10 的溶钙圈较 T1 更大的现象[图 1(a)和图 1(d)]。因此,选择产酸能力强的 LK10 和耐酸性能好的 T1 进行后续研究。

2.2 单因素试验

2.2.1 发酵时间对酸汤品质的影响 由表 2 可知,当 LK10 接种量为 3.0 mL/100 g 时,酸汤的 *L* 值(亮度)和 *a* 值(红绿值)随时间先增加后减少,而 *b* 值(黄蓝值)则呈上升趋势。在发酵过程中,酸汤的总酸含量经历了先增加后减少的变化趋势。发酵初期,由于菌种数量相对较少且生长缓慢,总酸含量增长也较为缓慢;随着发酵的进行,乳酸菌大量代谢产生乳酸,发酵 12 d 时酸汤的总酸含量达到峰值(27.24 g/kg);然而,发酵后期,由于高浓度酸性环境对乳酸菌 LK10 的生长产生了抑制作用,总酸含量略有回落,这可能是由于乳酸菌在不利环境下产生酸降解或酸转化反应^[19-20]。

2.2.2 LK10 接种量对酸汤品质的影响 由表 3 可知,当 LK10 接种量从 1.0 mL/100 g 增至 5.0 mL/100 g 时,酸汤的色差 *L*、*a*、*b* 值均呈先增加后减小,颜色从鲜亮逐渐转为暗红;同时,总酸含量也呈先增后减趋势,在接种量为

3.0 mL/100 g 时达到峰值 24.36 g/kg。这归因于乳酸菌发酵资源有限。接种量较低时,乳酸菌生长繁殖速度相对较慢,产酸速率低;而接种量过高时,可能导致同一菌株内不同细胞间的营养竞争加剧,从而影响菌株的代谢活动和产酸能力^[21]。因此,LK10 单一接种量取 3.0 mL/100 g 为宜。

2.2.3 T1 接种量对酸汤品质的影响 由表 4 可知,T1 接种量从 1.0 mL/100 g 增至 5.0 mL/100 g 时,酸汤的色差 *L*、*a*、*b* 值及总酸含量均呈现先增后减的趋势,且在 3.0 mL/100 g 接种量时达到峰值,此时总酸含量为 19.44 g/kg。这一现象可归因于乳酸菌发酵过程中资源的有限性。高接种量时,细胞间的资源竞争激烈,生长放缓,总酸生成减少;而低接种量则因菌种数量少,酸的生产速率及总量均受限^[22]。因此,T1 单一接种量取 3.0 mL/100 g 为宜。

2.2.4 菌种对比对酸汤品质的影响 由表 5 可知,在复合

表 2 发酵时间对酸汤品质的影响

Table 2 Influence of fermentation time on quality of sour soup

发酵时间/d	色差			总酸/(g·kg ⁻¹)
	<i>L</i> 值	<i>a</i> 值	<i>b</i> 值	
8	34.07±0.69 ^b	22.81±0.73 ^a	26.18±1.00 ^b	21.00±0.21 ^d
10	34.17±0.55 ^b	22.72±1.25 ^a	26.60±1.41 ^{ab}	22.68±0.36 ^c
12	36.32±0.57 ^a	23.71±0.56 ^a	27.13±0.85 ^{ab}	27.24±0.42 ^a
14	35.97±1.40 ^a	23.55±0.65 ^a	28.59±0.73 ^a	23.76±0.36 ^b

表 3 LK10 接种量对酸汤品质的影响

Table 3 Effect of LK10 inoculation amount on the quality of sour soup

接种量/ (10 ⁻² mL·g ⁻¹)	色差			总酸/(g·kg ⁻¹)
	<i>L</i> 值	<i>a</i> 值	<i>b</i> 值	
1.0	37.31±0.43 ^c	19.79±0.49 ^b	23.06±0.70	20.88±0.36 ^e
2.0	39.54±0.43 ^b	20.13±1.00 ^{ab}	24.10±1.49	22.20±0.21 ^c
3.0	40.65±0.74 ^a	21.60±1.55 ^a	24.66±1.06	24.36±0.21 ^a
4.0	38.76±0.44 ^b	19.77±0.55 ^b	23.45±0.94	22.80±0.21 ^b
5.0	37.74±0.43 ^c	19.73±0.67 ^b	22.80±0.39	21.48±0.21 ^d

表 4 T1 接种量对酸汤品质的影响

Table 4 Effect of T1 inoculation amount on the quality of sour soup

接种量/ (10 ⁻² mL·g ⁻¹)	色差			总酸/(g·kg ⁻¹)
	<i>L</i> 值	<i>a</i> 值	<i>b</i> 值	
1.0	41.29±1.20 ^b	24.85±1.27 ^b	26.25±0.54 ^b	11.16±0.36 ^d
2.0	43.50±0.89 ^a	26.13±0.88 ^{ab}	26.67±1.67 ^b	12.54±0.10 ^c
3.0	43.95±0.11 ^a	27.52±0.88 ^a	28.75±0.99 ^a	19.44±0.36 ^a
4.0	41.29±0.40 ^b	25.62±0.24 ^b	27.04±0.85 ^{ab}	14.28±0.55 ^b
5.0	39.26±0.83 ^a	26.30±0.94 ^{ab}	28.96±0.90 ^a	12.24±0.36 ^c

表5 菌种复比对酸汤品质的影响

Table 5 Effect of strain mix ratio on quality of acid soup

菌种配比 ($V_{LK10}:V_{T1}$)	色差			总酸/($g \cdot kg^{-1}$)
	L 值	a 值	b 值	
1:3	43.03±0.10 ^a	27.99±0.04 ^a	29.37±1.27 ^{ab}	14.04±0.36 ^c
1:2	43.12±0.76 ^a	26.49±0.26 ^b	27.57±0.55 ^{ab}	12.12±0.42 ^d
1:1	40.00±0.39 ^b	25.67±0.60 ^b	28.53±1.17 ^{ab}	18.36±0.36 ^b
2:1	40.80±1.44 ^b	25.68±0.52 ^b	27.03±2.17 ^b	12.48±0.21 ^d
3:1	43.56±1.23 ^a	28.57±1.04 ^a	30.17±1.22 ^a	19.50±0.27 ^a

菌种 LK10 和 T1 作为发酵剂,总接种量为 3.0% 的条件下,当 $V_{LK10}:V_{T1}=3:1$ 时,酸汤的色差值 L 、 a 、 b 和总酸达到峰值,颜色鲜亮。同时,尽管这一配比下的酸汤总酸含量(19.50 g/kg)略低于 LK10 单一菌种发酵的酸汤,但其色泽更为鲜亮且风味更为浓郁。这可能是由于菌种间的竞争虽然在一定程度上减少了总酸的生成,但同时也促进了风味物质的多样性和协调性,使得酸汤口感更为丰富和平衡^[23]。因此,综合考虑产酸量、色泽和风味等因素,选择 $V_{LK10}:V_{T1}=3:1$ 进行后续试验。

2.2.5 发酵温度对复配菌种酸汤品质的影响 由表 6 可知,在 28~40 °C 的发酵温度范围内,酸汤的 L 、 b 值先增后减,即亮度先提升后下降,当发酵温度为 37 °C 时,酸汤的色差值达到最高。同时,总酸含量呈现出与色差相似的变化趋势,在 37 °C 时达到最大值;此后,随着发酵温度的继续升高,总酸含量反而下降。乳酸菌有其最适生长温度,在此温度下其生长繁殖速度最快;当发酵温度高于或低于其最适温度时,乳酸菌生长繁殖速度会受到抑制,导致产酸减少^[24]。因此,选择 37 °C 进行后续研究。

表6 发酵温度对酸汤品质的影响

Table 6 Effect of fermentation temperature on quality of sour soup

发酵温度/°C	色差			总酸/($g \cdot kg^{-1}$)
	L 值	a 值	b 值	
28	37.71±0.84 ^d	26.49±0.80 ^b	28.51±0.46 ^b	14.40±0.36 ^d
31	38.93±0.28 ^c	27.47±0.67 ^{ab}	29.59±0.20 ^{ab}	16.44±0.21 ^c
34	41.33±0.36 ^b	27.10±0.85 ^{ab}	29.94±1.13 ^a	17.04±0.42 ^b
37	43.56±1.23 ^a	28.57±1.04 ^a	30.17±1.22 ^a	19.50±0.27 ^a
40	40.90±0.48 ^b	28.35±0.62 ^a	28.93±0.25 ^{ab}	11.04±0.21 ^c

2.3 响应面优化

根据单因素试验的结果,进一步选取菌种配比、接种量、发酵时间优化酸汤发酵工艺,以酸汤的总酸含量为考察指标,进行响应面试验设计(见表 7)。

表7 响应面水平编码

Table 7 Response surface horizontal encoding

水平	A $V_{LK10}:V_{T1}$	B 接种量/%	C 发酵时间/d
-1	1:1	1.0	8.0
0	3:1	3.0	10.0
1	5:1	5.0	12.0

采用 Design-Expert 13 软件中的 ANOVA 程序对试验结果(表 8)进行分析,得到菌株配比、接种量、发酵时间与酸汤的总酸含量之间的二阶多项式方程:

$$Y=18.42+0.803 8A+1.06B+0.363 8C+0.887 5AB-1.26AC+0.232 5BC-0.507A^2-1.55B^2-2.65C^2. \quad (1)$$

响应面模型的方差分析如表 9 所示。该模型显著 ($P=0.000 4<0.05$), 而失拟项不显著 ($P=0.237 6>0.05$), 说明该模型可行, 数据方程拟合良好。回归模型的 $R^2=0.961 7$ 、 $R_{adj}^2=0.912 4$, 说明该模型与实际情况高度拟合, 进一步证实该模型的可行性。在回归方程中, A、B、AB、AC、B²、C² 的 $P<0.05$, 说明它们在模型中均具有显著性。

如图 3(a) 和图 3(b) 所示, 发酵时间固定为 10 d, 酸汤总酸含量随菌株配比和接种量增加而上升, 酸汤总酸的峰值区域出现在 $V_{LK10}:V_{T1}=5:1$ 、接种量 4.0~5.0 mL/100 g。这表明在特定配比和接种量下, 菌株间相互作用及微生物数量增多共同促进产酸。优化微生物群落结构加速了发酵, 增强了代谢产酸能力^[25]。接种量固定为

表 8 响应面试验结果

Table 8 Results of response surface experimental design

试验号	A	B	C	总酸/(g·kg ⁻¹)
1	0	0	0	18.32±0.29
2	-1	1	0	16.13±0.49
3	0	1	1	15.60±0.37
4	1	0	-1	17.09±0.20
5	0	0	0	18.78±0.20
6	0	0	0	17.58±0.10
7	0	0	0	18.96±0.21
8	1	0	1	15.00±0.42
9	0	-1	-1	13.30±0.64
10	0	-1	1	13.86±0.18
11	1	1	0	19.56±0.55
12	-1	0	1	15.96±0.21
13	-1	-1	0	14.94±0.18
14	-1	0	-1	13.01±0.40
15	1	-1	0	14.82±0.31
16	0	0	0	18.48±0.69
17	0	1	-1	14.11±0.63

表 9 回归模型方差分析[†]

Table 9 Analysis of variance of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	68.99	9	7.67	19.51	0.000 4	***
A	5.17	1	5.17	13.16	0.008 4	**
B	8.99	1	8.99	22.88	0.002 0	**
C	1.06	1	1.06	2.69	0.144 7	
AB	3.15	1	3.15	8.02	0.025 3	*
AC	6.35	1	6.35	16.17	0.005 1	**
BC	0.22	1	0.22	0.55	0.482 3	
A ²	1.08	1	1.08	2.76	0.140 9	
B ²	10.17	1	10.17	25.90	0.001 4	**
C ²	29.61	1	29.61	75.38	<0.000 1	***
残差	2.75	7	0.39			
失拟项	1.61	3	0.54	1.88	0.273 6	不显著
纯误差	1.14	4	0.29			
总和	71.74	16				

[†] R²=0.961 7; R²_{Adj}=0.912 4。

3.0 mL/100 g 时, 菌株配比与发酵时间的交互作用对酸汤总酸含量的影响如图 3(c)和图 3(d)所示, 酸汤总酸含量的峰值出现在 V_{LK10}:V_{T1}=5:1、发酵时间 10 d 左右。短期发酵中, 增加高效产酸菌株比例可迅速提升总酸含量; 但

长期发酵后, 总酸含量差异不大, 可能因菌株相互作用稳定或营养代谢平衡。如图 3(e)和图 3(f)所示, 当 V_{LK10}:V_{T1}=3:1 时, 接种量与发酵时间对总酸含量的影响呈抛物线变化, 存在最佳接种量和发酵时间窗口使总酸含量最大化。超出此范围, 竞争加剧、营养消耗过快或不利代谢产物产生, 导致总酸含量增长放缓或下降^[26]。拟合的模型中

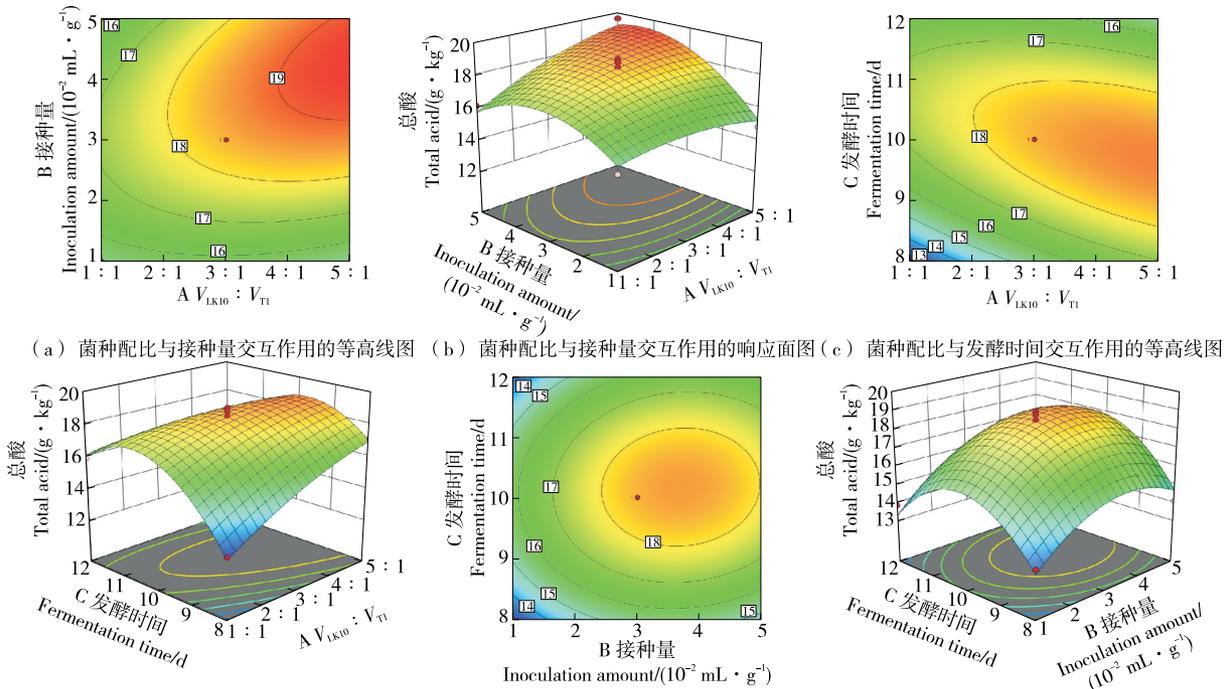


图 3 各因素交互作用的响应面等高线图和响应面图
Figure 3 Contour plot and response surface plot of the interaction effects among various factors

AB、AC具有显著的交互作用,且响应面图直观地展示了这种交互作用对酸汤总酸含量的影响。这验证了模型的有效性,并表明该模型可以用于预测和优化酸汤的发酵过程。

根据 Design Expert 13 分析,酸汤的最佳发酵工艺为: $V_{LK10}:V_{T1}=5:1$ 、接种量 4.23 mL/100 g、发酵时间 9.72 d。为方便操作,将发酵时间调整为 9.75 d。在 $V_{LK10}:V_{T1}=5:1$ 、接种量 4.23 mL/100 g、发酵时间 9.75 d 条件下,酸汤的总酸含量实测值为 (19.43 ± 0.12) g/kg,与预测值 19.38 g/kg 非常接近,此时酸汤产品酸辣适中、色泽红亮、乳酸风味浓郁。与前期制备的米酸汤^[27-28]相比,总酸含量有了大幅提升,从 (9.48 ± 0.08) g/L 提高至 (19.43 ± 0.12) g/kg。同时,试验制备的酸汤总酸含量也远高于采用 *L. buchneri* H9 发酵 8 d 制备的酸汤乳酸含量 $(8.029$ g/L)^[7],并且显著高于采用 *L. buchneri* CCTCC M 2023228 和 *K. bulderi* CCTCC M 2023227 复合发酵剂强化发酵的红酸汤总酸含量 $(11.53$ g/kg)^[12]。尽管试验得到的总酸含量略低于用 *L. plantarum* NR1-7、*B. animalis subsp. lactis* BZ11 和 *Candida utilis* RY 混合发酵的红酸汤的总酸含量 $[(21.43\pm 0.66)$ g/L],但两者已相当接近^[12]。

3 结论

该研究聚焦于乳酸菌筛选及其在酸汤发酵工艺优化中的应用,成功从传统发酵源中分离出 *Limosilactobacillus fermentum*、*Pediococcus acidilactici*、*Lactiplantibacillus plantarum*、*Lacticaseibacillus paracasei* 等乳酸菌,筛选出高产酸的 *L. paracasei* LK10 和耐酸性能好的 *L. fermentum* T1。利用这两株菌作为酸汤的发酵剂,通过单因素试验和响应面法优化发酵工艺,确定了最佳条件为 $V_{L.paracasei}LK10:V_{L.fermentum}T1=5:1$ 、总接种量 4.23 mL/100 g、37℃ 发酵 9.75 d,在此条件下制备的酸汤总酸含量与预测值高度接近,口感酸辣适中,色泽红亮,乳酸风味浓郁。在后续研究中,将利用 HPLC-MS 技术对酸汤中酸的种类和含量进行更为精准的定性定量分析,并借助代谢组学、风味组学对生物体内的代谢产物和酸汤中的色素、风味物质进行系统深入的研究。

参考文献

[1] 许九红. 贵州红酸汤品质影响因素研究及风味品质变化分析[D]. 贵阳: 贵州大学, 2024: 1-13.
XU J H. Study on the influence of different factors on the quality and flavor analysis of Guizhou red sour soup[D]. Guiyang: Gouzhou University, 2024: 1-13.
[2] LI Z, DONG L, HUANG Q, et al. Bacterial communities and volatile compounds in Doubanjiang, a Chinese traditional red

pepper paste[J]. Journal of Applied Microbiology, 2016, 120(6): 1 585-1 594.
[3] 伍泉焯. 辣椒酸汤优质菌株筛选及液态菌剂制备研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2024: 1-24.
WU Q Y. Screening of high-quality strains and preparation of liquid microbial agent for chili sour soup[D]. Guiyang: Gouzhou University, 2024: 1-24.
[4] 赵承鑫, 杨小云, 李艾蒙, 等. 直投式菌种和母液发酵白酸汤的品质比较[J]. 现代食品科技, 2024, 40(2): 120-130.
ZHAO C X, YANG X Y, LI A M, et al. Comparison of the quality of rice sour (Baisuan) soup prepared with direct-vat-set strain and fermented soup mother liquor [J]. Modern Food Science & Technology, 2024, 40(2): 120-130.
[5] LIN L J, ZENG J, TIAN Q M, et al. Effect of the bacterial community on the volatile flavour profile of a Chinese fermented condiment-red sour soup-during fermentation[J]. Food Research International, 2022, 155: 111059.
[6] ZHOU X J, LIU Z Q, XIE L, et al. The correlation mechanism between dominant bacteria and primary metabolites during fermentation of red sour soup[J]. Foods, 2022, 11(3): 341.
[7] XIONG K X, HAN F, WANG Z H, et al. Screening of dominant strains in red sour soup from Miao nationality and the optimization of inoculating fermentation conditions[J]. Food Science & Nutrition, 2020, 9(1): 261-271.
[8] 朱霞, 杨第芹, 潘宇, 等. 酸汤中高产酸细菌的分离筛选及其特性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(18): 271-280.
ZHU X, YANG D Q, PAN Y, et al. Isolation and screening of high acid-producing bacteria in sour soup and its characterization[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15 (18): 271-280.
[9] LIU N, LI X, HU Y, et al. Effects of *Lentilactobacillus buchneri* and *Kazachstania bulderi* on the quality and flavor of Guizhou fermented red sour soup[J]. Foods, 2023,12(20): 3 753.
[10] 魏明智, 王维浩, 全志刚, 等. 酸汤子中乳酸菌和酵母菌益生特性[J]. 中国粮油学报, 2024, 39(9): 27-36.
WEI M Z, WANG W H, QUAN Z G, et al. Probiotic characteristics of lactic acid bacteria and yeast in sour soup[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2024, 39 (9): 27-36.
[11] ZHOU X J, ZHOU W H, HE X J, et al. Effects of post-fermentation on the flavor compounds formation in red sour soup[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 1007164.
[12] WANG C, ZHANG Q, HE L P, et al. Determination of the microbial communities of Guizhou Suantang, a traditional Chinese fermented sour soup, and correlation between the identified microorganisms and volatile compounds[J]. Food Research International, 2020, 138: 109820.
[13] CAGGIANIELLO G, KLEEREBEZEM M, SPANO G. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms[J].

- Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(9): 3 877-3 886.
- [14] KAUR N, DEY P. Bacterial exopolysaccharides as emerging bioactive macromolecules: from fundamentals to applications [J]. Research in Microbiology, 2023, 174(4): 104024.
- [15] COLOMBO M, CASTILHO N P A, TODOROV S D, et al. Beneficial properties of lactic acid bacteria naturally present in dairy production[J]. BMC Microbiology, 2018, 18(1): 219.
- [16] ZHANG Q L, WANG M, MA X, et al. *In vitro* investigation on lactic acid bacteria isolated from Yak faeces for potential probiotics[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2022, 12: 984537.
- [17] RU X, ZHANG C C, YUAN Y H, et al. Bile salt hydrolase activity is present in nonintestinal lactic acid bacteria at an intermediate level[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019, 103(2): 893-902.
- [18] MANI-LÓPEZ E, ARRIJOJA-BRETÓN D, LÓPEZ-MALO A. The impacts of antimicrobial and antifungal activity of cell-free supernatants from lactic acid bacteria *in vitro* and foods[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2022, 21(1): 604-641.
- [19] 畅天狮, 刘俊果, 张桂, 等. 乳酸菌在酸性环境中的生理变化及 pH 的调控机制[J]. 中国乳品工业, 2002, 30(2): 7-10.
CHANG T S, LIU J G, ZHANG G, et al. Physiological changes of lactic acid bacteria in low pH environment and its means for defending against low intracellular pH[J]. China Dairy Industry, 2002, 30(2): 7-10.
- [20] 崔美岩, 张淼, 许宗为, 等. 乳酸菌在极端条件下抗逆性的研究进展[J]. 中国乳品工业, 2016, 44(5): 28-31.
CUI M Y, ZHANG M, XU Z W, et al. Research progress of lactic acid bacteria resistance under extreme conditions[J]. China Dairy Industry, 2016, 44(5): 28-31.
- [21] 黄宁馨. 复合乳酸菌发酵枸杞汁的工艺优化及其营养品质变化研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2021: 22-84.
HUANG N X. Optimization of fermentation technology and nutritional quality changes of lycium barbarum juice by compound lactic acid bacteria[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2021: 22-84.
- [22] 姚洪礼. 醋酸高产菌株选育及其代谢调控研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2018: 1-90.
YAO H L. Study on the breeding of high-yield acetic acid-producing strain and its metabolic regulation[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2018: 1-90.
- [23] 郑莎莎. 干酪乳杆菌 H1 发酵红酸汤的品质影响及特征代谢物研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2020: 1-77.
ZHENG S S. Study on the quality impact and metabolites characteristic of red sour soup fermented by *Lactobacillus casei* H1[D]. Guiyang: Guizhou University, 2020: 1-77.
- [24] 吴锦兰, 付玉麟, 周小玲, 等. 酸笋中高产乳酸菌的筛选、鉴定及发酵条件优化[J]. 中国酿造, 2021, 40(1): 65-69.
WU J L, FU Y L, ZHOU X L, et al. Screening, identification and fermentation conditions optimization of lactic acid bacteria with high yield lactic acid from sour bamboo shoot[J]. China Brewing, 2021, 40(1): 65-69.
- [25] DU J C, XU B, MA G X, et al. The impact of benzoic acid and lactic acid on the treatment efficiency and microbial community in the sulfur autotrophic denitrification process[J]. Water Environment Research, 2024, 96(6): e11056.
- [26] BUJOLD A R, BARRE A M E, KUNKEL E, et al. Strain-dependent interactions of *Streptococcus suis* and *Glaesserella parasuis* in co-culture[J]. Canadian Journal of Veterinary Research, 2023, 87(4): 245-253.
- [27] 王容, 赵良忠, 谢春平, 等. 原料配比对米酸汤品质的影响及米浆制备工艺优化 [J]. 食品与机械, 2020, 36(6): 182-187, 192.
WANG R, ZHAO L Z, XIE C P, et al. Effect of raw material ratio on quality of rice sour soup and optimization of preparation technology of rice slurry[J]. Food & Machinery, 2020, 36(6): 182-187, 192.
- [28] 王容, 赵良忠, 莫鑫, 等. 米酸汤发酵工艺优化及贮存稳定性预测模型[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(6): 191-198.
WANG R, ZHAO L Z, MO X, et al. Research on the optimization of fermentation technology and the prediction model of storage stability of rice acid soup[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(6): 191-198.