

贵州荔波传统酸肉优势菌筛选、鉴定 与发酵性能研究

张倩¹, 郭晓芸², 范丽平¹, 王艳¹, 杨冬梅¹

(1. 杭州万向职业技术学院生物技术系, 浙江杭州 310023;

2. 贵州省畜牧兽医学校, 贵州贵阳 550051)

摘要:目的:为揭示贵州荔波传统酸肉不同发酵期微生物菌群变化特征,确定优势菌种,并了解其发酵性能。方法:对酸肉中的菌种进行分离、筛选,采用 API 50CH 标准系统进行鉴定,并对优势菌的生长特性、产酸性、耐盐性、酶活力等进行研究。结果:筛选出四株产酸较快、发酵风味好的乳酸菌分别是 M5-4-2、M1-4、M3-4、M9,其中两株为短乳杆菌,另外两株分别是植物乳杆菌和乳酸乳球菌乳酸亚种,四株菌均有较高的耐盐特性和较强的亚硝酸盐耐受能力,四株菌株之间无拮抗性、均能发酵葡萄糖产酸而不产气、胞外酶均无蛋白质和脂肪分解能力。结论:M5-4-2、M1-4、M3-4、M9 发酵性能较好,可以复配混合,开发为荔波酸肉产业化生产的纯种发酵剂。

关键词:酸肉,发酵,优势菌,发酵性能

Study on identification and fermentative properties of superior microorganism in Libo sour meat from Guizhou during fermentation

ZHANG Qian¹, GUO Xiao-yun², FAN Li-ping¹, WANG Yan¹, YANG Dong-mei¹

(1. Hangzhou Wanxiang Polytechnic, Hangzhou 310023, China

2. School of Animal Husbandry and Veterinary of Guizhou Province, Guiyang 550051, China)

Abstract: Objective: Characters of microbe flora change during fermentation were investigated for predominant species and fermentative properties of Libo sour meat in Guizhou. Methods: After being isolated and screened, Sour Meat strains were identified by API and 50CH standard system. Meanwhile, fermentative properties of the dominant bacteria were studied, such as capacity of produce acid, salt tolerance and enzyme activity. Results: Results showed that four strains obtained for their excellent characteristics in acid production and good flavor in fermented meat were M5-4-2, M1-4, M3-4 and M9 respectively, in which M3-4 and M9 were identified as *Lactobacillus brevis*, M5-4-2 as *Lactobacillus plantarum* and M1-4 as *L. lactis* subsp. *Lactis*. Four strains of bacteria can be mixed together for being used as microbial starters culture due to their fermentative properties including salt-tolerant, nitrite-tolerant without inhibition each other, and proteinase and lipase of all these four strains have no capability to decompose protein and fat in meat. Conclusion: All these four strains can be mixed together used as purebred fermentation agent for Libo sour meat production and processing.

Key words: sour meat; fermentation; predominant species; fermentative properties

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)13-0189-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.13.031

贵州荔波传统酸肉是贵州省荔波县布依族特色的发酵肉制品,由于风味独特、营养丰富、色鲜味美而成为当地少数民族喜爱的一种民间发酵肉制品。目前,有关其他地区的发酵酸肉方面的研究报道较多,研究者们主要从酸肉的产品特性^[1]、微生物菌种在发酵期的变化与分离鉴定^[2-5]以及发酵期发酵条件^[6]进行研究,然而对贵州荔波传统酸肉加工过程中微生物特性缺乏系统深入的研究,致使酸肉加

工过程中的一些关键性技术问题无法解决,生产现状仍然停留在民间作坊式生产,即无优质发酵剂、无统一的加工技术标准,其质量也受到一定的影响,在一定程度上限制了酸肉的大规模现代化生产;国内外对发酵肉的微生物菌相变化、找出产品中的优势菌群并筛选性能优良的微生物菌种、从而开发肉用人工发酵剂的研究已有学者关注和研究,但主要集中在香肠制品的研究上^[7-12],生产发酵肉制品所使用

收稿日期: 2014-08-19

作者简介: 张倩(1961-),女,博士,教授,研究方向:食品营养与安全。

基金项目: 贵州省教育厅基金项目[黔教科[2008]009];杭州市市属高校优秀创新团队资助项目[杭教高师(2013)54号]。

的微生物发酵剂多数还依赖进口。因为是自然发酵的肉制品,其中含有多种有益微生物,是肉类专用发酵剂的重要生物资源,具有巨大开发潜力^[13-14]。正是这种巨大的市场开发潜力,有必要对不同地域的传统“酸肉”发酵体系中微生物的动态变化进行分析。为此,对贵州荔波当地传统酸肉发酵过程中不同阶段肉制品的各种微生物指标的变化情况进行观察,分析其变化规律,确定发酵期的优势菌及其发酵性能,以期为贵州荔波传统酸肉工业化发酵过程控制以及酸肉产品质量的提高提供依据。探明酸肉制品的各种特性与发酵菌种的相关性;揭示传统酸肉中微生物之间的生态关系以及不同微生物对传统酸肉品质的影响,在此基础上确定益酵菌株,为贵州荔波传统酸肉的进一步开发利用并实现工业化生产提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

荔波酸肉 取自贵州荔波当地生产销售最大的两种坛装传统自然发酵酸肉,分别记为 A、B 两个处理组,每个处理组样品总量为 3.5kg (0.35 × 10 坛)。从入坛发酵开始,发酵 60d 内每隔 10d 分别从 2 个处理组中随机抽出 1 坛,进行菌种分离鉴定与发酵性能研究。

PCA 培养基、PDA (Potato Dextrose Agar) 和 VRBDA (Violet Red Bile Dextrose Agar) 培养基 杭州微生物试剂有限公司;MRS 培养基、Baird-Parker Agar 培养基 北京路桥科技有限责任公司。

XSZ-21 光学显微镜 北京金紫光科技发展有限公司;SWCJ-1FD 型单人单面净化工作台 苏州净化设备有限公司;LDZM-50 立式压力蒸汽灭菌器 上海申安医疗器械厂;SHP-250 智能生化培养箱 上海光度仪器设备有限公司;BS110S 电子天平 北京赛多利斯天平有限公司;HI-98128 型袖珍型防水 pH 计 广州市盛华化工科技有限公司;CS101-2 型电热鼓风干燥箱 重庆实验设备厂制造。

1.2 实验方法

1.2.1 实验条件

1.2.1.1 样品采集及处理 取样参照 GB/T4789.17-2003 进行,用无菌剪刀剪取传统酸肉(取多个部位的)25g,放入灭菌研钵内用无菌剪刀剪碎后,加灭菌石英砂研磨,磨碎后加入灭菌水 225mL,混匀后即为 1:10 稀释液。然后取 1mL 加入到 9mL 无菌生理盐水中,即成 10^{-2} 稀释度,根据需要再依次制成不同的稀释度。选择合适稀释度采用平板计数法进行计数。

1.2.1.2 荔波酸肉发酵期各类微生物的数量测定 采用 PCA 平板 30℃,72h 测定菌落总数;MRS (de Man, Rogosa, Sharpe Agar) 30℃,72h 测定乳酸细菌数、优势菌鉴定及发酵性能研究;改良型 MRS 即在 MRS 培养基中添加 0.2% (w/v) 的无菌山梨酸钾,30℃,72h 测定乳酸杆菌;VRBD (Violet Red Bile Dextrose Agar) 37℃,24h 测定肠菌落总数;MSA

(Mannitol Salt Agar) 30℃,72h 测定微球菌和葡萄球菌;Baird-Parker Agar 30℃,48h 测定病原性葡萄球菌;改良 PDA (Potato Dextrose Agar) 即加入 0.2% (v/v) 浓度为 10% 的无菌酒石酸,28℃,72h 测定酵母菌及丝状真菌^[15]。

1.2.1.3 优势菌分离、筛选、鉴定 优势菌分离、筛选 划线分离,从计数平板表面及内部挑取外观形态不一样的菌落,在相应平板上划线培养,得到纯菌落进行鉴定,具体操作方法参照《微生物学实验手册》^[16]。在 30℃ 下液体培养,选出产酸速度较快、产酸量大的菌株,再把这些菌株按 5% 的接种量接种到鲜肉汤里进行发酵,筛选出产酸速度快、发酵风味好的菌株,并于 60% 甘油中于 -18℃ 下冷冻保存。

菌种鉴定 形态观察:形态观察的具体操作方法参照《微生物学实验手册》^[16]。菌落形态:菌落形状和大小、边缘、表面、隆起形状、透明度、菌落及培养基的颜色等。细胞形态:细胞形状和排列方式,用显微镜油镜观察;革兰氏染色:革兰氏染色的具体操作方法参照《微生物学实验手册》^[16];全自动微生物分析鉴定:根据 Analytic Products NC (API) 细菌鉴定标准,利用 API CHL 培养基和 API50CH 试剂条对筛选出的菌株进行糖发酵反应,并经 APILAB Plus 自动判读系统 (版本 5.0) 鉴定各菌株。

1.2.1.4 优势菌发酵性能研究 根据肉制品对益酵菌株要求,分别对优势菌的发酵特性进行以下研究。生长曲线测定:参照王永霞等 (2004 年) 方法^[17];产酸特性:参照金世琳 (1998 年) 方法^[18];耐盐性:参照金世琳 (1998 年) 方法^[18];耐亚硝酸盐性:参照金世琳 (1998 年) 方法^[18];拮抗性:参照李先保 (1997 年) 方法^[19];发酵葡萄糖产气:参照金世琳 (1998 年) 方法^[18];致死温度:参照纪建业 (2005 年) 方法^[20];脂肪酶活力:牛津杯法参照金世琳 (1998 年) 方法^[18]、分光光度定量测定法参照张寒俊等 (1998 年) 方法^[21];蛋白酶活力:牛津杯法参照金世琳 (1998 年) 方法^[18];紫外光谱定量测定法参照李先保 (1997 年) 方法^[19]。

1.3 数据统计分析

所有数据均做平行实验,采用 SPSS13.0 统计分析软件 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) 对所得的定量数据进行方差分析 (one-way ANOVA) 和 Tukey 分析 ($p < 0.05$)。

2 结果与讨论

2.1 微生物菌种变化特征

以传统酸肉在发酵的同一时期内各主要菌种数量的平均值为纵坐标,发酵时间为横坐标作图 (图 1 所示)。

由图可知,除肠细菌在发酵的全过程中呈下降的趋势外 (食盐对其生长有抑制作用),所有的微生物菌群在发酵的前 20d 内均有一个生长繁殖的过程。乳酸细菌在酸肉制品中有重要作用,发酵开始之前,原料中菌落总数要高于其他微生物菌系的数量。当乳酸细菌数量达到最高点时,各类微生物均

表 1 四株菌的形态学特征

Table 1 The morphological character of four bacteria strains

菌株编号	菌落形态(培养 48h)	菌体形态
M5-4-2	乳白色,凸起,光滑圆整,直径 0.5~2.5mm	G ⁺ ,短杆状,两端椭圆,单个或成对
M1-4	乳白色油状,扁平,光滑圆整,直径 0.5~2.5mm	G ⁺ ,豆状,两端尖,单个、成对、成链
M3-4	乳白色,凸起,光滑圆整,直径 0.5~2mm	G ⁺ ,粗短杆状,两端较平,单个或成对
M9	乳白色,凸起,光滑圆整,直径 0.5~2.5mm	G ⁺ ,粗短杆状,两端椭圆,单个或成对

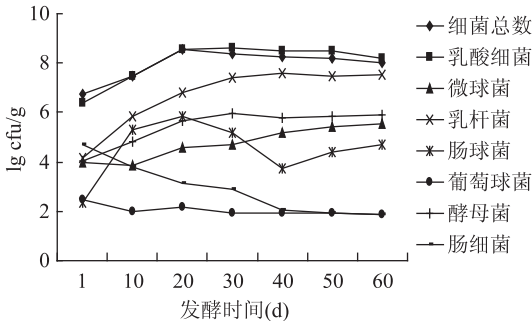


图 1 荔波传统酸肉发酵过程中微生物的变化
Fig.1 Changes of microorganism flora during fermentation of Libo sour meat

受到一定程度的影响。其中对菌落总数的影响最为明显,在发酵 20d 前后,乳酸细菌数量超过其他微生物,之后高浓度的乳酸细菌有所下降。乳酸细菌还可在短期内(发酵 20、30d)影响微球菌、肠球菌和酵母菌的生长,也影响了芽孢杆菌的生长。酵母菌总数在发酵的全过程中无显著变化。

2.2 优势菌分离鉴定

酸肉中的优势菌主要是乳酸菌^[14],对荔波传统酸肉样品进行系列稀释后在 MRS 培养基平板上进行菌株分离,初步分离出菌株 30 株,经过革兰氏染色镜检、接触酶反应、30℃ 下培养液中发酵产酸的比较,筛选出 20 株革兰氏阳性、接触酶阴性、产酸较快的菌株,再进行 30℃ 下培养液中发酵产酸的比较,结果选出四株产酸较快、发酵风味较好的菌株 M5-4-2、M1-4、M3-4、M9,其形态学特征见表 1。

经过 API CHL 培养基和 API 50 CH 试剂条对四株菌进行 49 种糖发酵反应,并用 APILABPlus 自动判读系统对其进行鉴定,鉴定结果为:M3-4 和 M9 为短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*),鉴定值分别为 99.9% 和 92.1%。M5-4-2 为植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*),鉴定值为 99.9%。M1-4 为乳酸乳球菌乳亚种(*L.lactis subsp.Lactis*)鉴定值为 81.4%。

2.3 优势乳酸菌发酵性能研究

对以上分离出的四株乳酸菌进行了一系列性能测定:对菌株进行生长曲线的测定以了解其生长周期及生长情况;对不同 pH 的适应性是衡量菌种在不同酸碱条件下活动能力的一项重要指标,合适的发酵温度可以兼顾发酵的快速进行,同时确保发酵原料的质地和口感;菌种对不同盐量的适应能力则可拓展菌种应用范围从而满足不同地区对不同盐量的要求。

2.3.1 生长曲线特征 由图 2 可以看出,将四株乳酸

菌接种于 MRS 液体培养基,在 30℃ 条件下培养 38h 的过程中,M5-4-2、M3-4、M9 这三株菌 16h 进入稳定生长期,而 M1-4 在 20h 后进入稳定生长期。其中 M3-4 和 M9 这两株菌的生长基本相同。

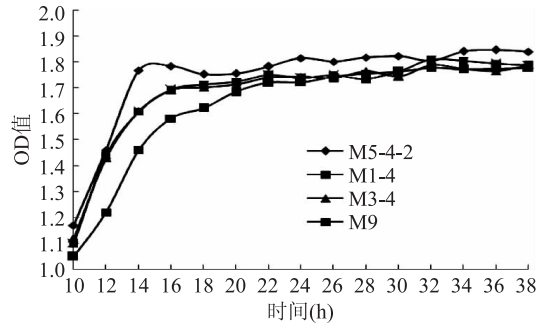


图 2 四株乳酸菌的生长曲线
Fig.2 Growth curve of four Lactobacillus

2.3.2 产酸特性 良好的肉品发酵剂应具有较好的发酵产酸特性,通过发酵产酸使发酵肉制品的 pH 降低,形成酸性环境,抑制病原微生物的增殖和毒素的产生。为快速启动发酵,防止杂菌污染、繁殖,保证产品风味和食用安全性,发酵肉制品加工过程中一般要求在 16~24h 内使发酵体系 pH 应降到 5.3 以下^[22]。因此,产酸能力是衡量发酵剂优良性能的一个重要指标。

四株乳酸菌在 MRS 液体培养基中培养 24h 后,pH 均在 5.0 以下,满足发酵要求。由此可见,M5-4-2、M1-4、M3-4、M9 产酸速度快,满足发酵要求。

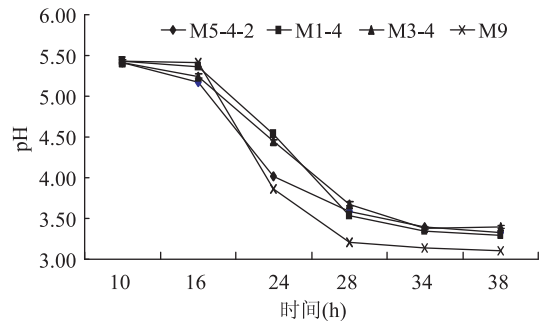


图 3 四株乳酸菌 38h 内的产酸变化
Fig.3 Changes of acid produced by four Lactobacillus during 38h fermentation

2.3.3 耐盐性 图 4 表明,不同盐浓度对同一菌株菌体的生长影响均存在显著差异($p < 0.05$),在 2% 盐浓度培养基上培养 48h 后,四种菌株的 OD 值降低百分率均小于 10%,即添加 2% 的盐对其基本无明显影响。但当盐浓度达到 6% 时,M5-4-2、M1-4、M3-4、

M9 的 OD 值分别下降了 23.7%、27.80%、20.45%、21.09%，四种菌株的 OD 值下降百分率均在 30% 以下，表现出较强的耐盐性。

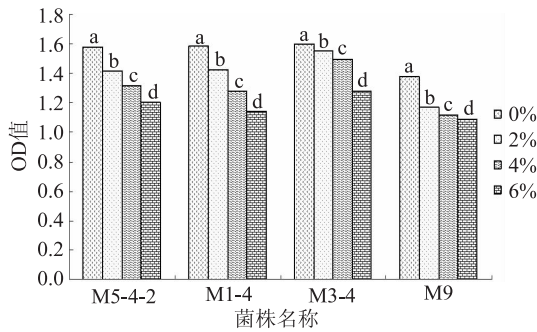


图4 不同盐浓度下菌体在48h的生长情况

Fig.4 The growth condition of thallus at different concentration of salty in 48h

注:标有不同字母表示有显著性差异($p \leq 0.05$),相同字母表示没有显著性差异($p > 0.05$),图5同。

2.3.4 耐亚硝酸盐性 图5显示,四种菌株均有良好的亚硝酸盐耐受性,当亚硝酸盐浓度达到0.015%时,M5-4-2、M1-4、M3-4、M9 OD值分别下降了19.58%、17.90%、17.41%、16.24%。四种菌株的OD值下降百分率均不超过20%,各个菌株间没有明显差异,符合肉制品发酵剂的要求。

2.3.5 拮抗性 已有研究表明,从对产品的风味和状态的影响上来看,两种或两种以上菌种相配合,往往比使用单一一种做为发酵剂会有更好的效果。这就要求配合作用的菌种间要有较好的共生作用,而不能有显著的拮抗性^[23]。根据前面多项实验所得出的初步结果,本研究针对M5-4-2、M1-4、M3-4、M9的拮抗性进行实验,结果见表2。结果显示,四种菌株之间均无拮抗性,可以进行混合发酵。

2.3.6 发酵葡萄糖产气 肉制品发酵剂应不具备发酵产气的能力,以避免不良气体对肉制品品质的危害^[24]。本实验结果表明,各菌株乳糖胆盐发酵管均

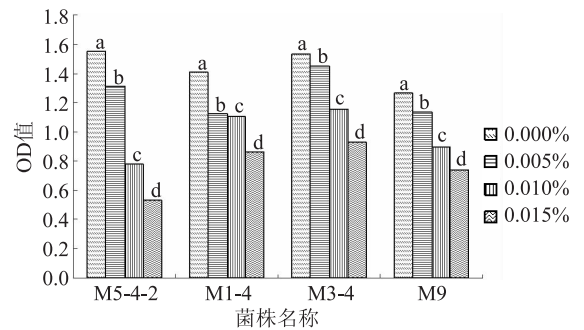


图5 不同亚硝酸盐浓度下菌体在48h的生长情况

Fig.5 The growth condition of thallus at different concentration of nitrite in 48h

无气泡产生,即均为阴性。因此,从发酵产气角度考虑,4个菌株均符合肉制品发酵的基本要求。

表2 四种菌株间拮抗效果比较

Table 2 Comparison of antagonistic effect among the four strains

菌种名称	M5-4-2	M1-4	M3-4	M9
M5-4-2	/	-	-	-
M1-4	-	/	-	-
M3-4	-	-	/	-
M9	-	-	-	/

注: + 为拮抗, - 为不拮抗, / 为同种菌株不需要进行拮抗性测试。

2.3.7 致死温度 为避免后熟和储存期间乳酸菌继续发酵产酸,要求菌株具有相对较低的致死温度是非常重要的^[14],对四株菌的致死温度进行了研究,结果见表3,表4。

表3和表4表明,四株菌在55℃与60℃条件下均能生长,但生长受到抑制;在65℃条件不能生长。因此四株菌在65℃条件下生长受到极大抑制,不能生长,满足发酵要求,后熟和储存期间乳酸菌不会继续发酵产酸影响产品风味。

表3 四种菌株在55~65℃ MRS液体培养基内生长情况

Table 3 The growth condition of the four strains in the 55~65℃ MRS liquid medium

菌株	温度		
	55℃	60℃	65℃
M5-4-2	试管底部有不规则白色菌体沉淀	有极少量不规则白色菌体沉淀	无
M1-4	试管底部铺满圆形白色菌体沉淀	有少量圆形白色菌体沉淀	无
M3-4	试管底部有圆形白色菌体沉淀	有极少量圆形白色菌体沉淀	无
M9	试管底部有少量圆形白色菌体沉淀	有极少量圆形白色菌体沉淀	无

表4 四种菌株在55~65℃ MRS固体培养基内生长情况

Table 4 The growth condition of the four strains in the 55~65℃ MRS solid medium

菌株	温度		
	55℃	60℃	65℃
M5-4-2	培养基表面有一层白色菌苔	表面有一层稀薄的白色菌苔	无
M1-4	培养基表面有一层较薄白色菌苔	表面有一层较薄的白色菌苔	无
M3-4	培养基表面有一层较厚菌苔	表面有一层较薄的菌苔	无
M9	培养基表面有一层极薄白色菌苔	表面有不连片的极薄白色菌苔	无

2.3.8 脂肪酶活力 前人研究发现,肉品发酵过程中若加入的发酵剂或污染的菌具有直接的脂肪降解能力,则会造成成品在贮藏销售过程中脂肪降解生成游离脂肪酸,并进一步氧化产生羰基化合物及其它小分子化合物,导致酸败味的产生^[22]。因此,良好的肉品发酵剂应不具备脂肪分解活性。牛津杯法定性测定结果表明,各菌株培养皿菌落周围均无蓝色环,表现为阴性。因此,从脂肪降解角度来看,四种菌株均符合肉品发酵的基本要求。分光光度定量测定法:四株菌均不分解脂肪,OD值为0,所得结果与牛津杯法定性测定结果相同,所以可以判定不具备脂肪酶活力。

2.3.9 蛋白酶活力 前人研究认为,品质优良的发酵肉制品蛋白质的降解主要靠内源蛋白酶而非发酵剂的作用,内源蛋白酶降解蛋白质生成多肽、氨基酸等,促进了风味物质的形成^[22],因此,良好的肉品发酵剂其胞外酶应不具备蛋白质分解能力。

牛津杯法定性测定结果显示,四个菌株均未出现透明圈,为阴性,证明四种菌株胞外酶均不具有蛋白质分解能力,符合肉品发酵剂的基本要求。紫外光谱定量测定法测定,四株菌均不分解蛋白质,OD值为0,所得结果与牛津杯法定性测定结果相同,所以判定不具备蛋白酶活力。

2.4 益酵菌株的确定

通过上述发酵特性观察发现,M5-4-2、M1-4、M3-4、M9 培养 16~20h 后就进入稳定期培养液中产酸较快,4h 时 pH 达 4.00 左右;M5-4-2、M1-4、M3-4、M9 四种菌株具有较高的耐盐特性,同时也具有较强的亚硝酸盐耐受能力;四种菌株之间无拮抗性,可以复配混合使用;四种菌株均能发酵葡萄糖产酸但不产气;在 65℃ 下四种菌株的生长均受到严重抑制;四种菌株胞外酶均没有蛋白质和脂肪分解能力。

鉴于 M5-4-2、M1-4、M3-4、M9 生长周期一致,且能快速进入稳定期菌量达到 10^7 cfu/mL,且发酵能力强,产酸快,24h 后发酵体系 pH 为 4.0 以下,不产生有害气体,能耐 6% 盐、0.015% 亚硝酸盐,菌株之间没有生长拮抗性,在 65℃ 下生长受到极大抑制,不具有胞外蛋白酶和脂肪酶活力。为了缩短传统酸肉发酵周期,提高产品营养价值和安全性能,故筛选这四株菌株为益酵菌株。

3 结论

研究确定了荔波传统酸肉发酵期优势菌为乳酸细菌,并进一步证明了四株优势菌复配发酵具有优良的发酸性能包括:产酸性能、耐盐性、共生作用以及良好的亚硝酸盐的耐受性。同时,也显示四株菌的复配应用能有效避免产气、脂肪和蛋白质分解、以及后熟和储存期间乳酸菌继续发酵产酸等不良作用。研究表明:M5-4-2、M1-4、M3-4、M9 四株菌发酵性能较好,为开发荔波酸肉产业化生产的纯种发酵剂提供菌种资源。

参考文献

- [1] 李宗军,江汉湖,李红琼.湘西侗族传统发酵肉的产品特性[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2002,28(1):61-63.
- [2] 李宗军,江汉湖.侗族传统发酵肉的微生物特性[J].中国微生物学杂志,2002,14(2):19-22.
- [3] 李宗军,江汉湖.中国传统酸肉发酵过程中微生物的消长变化[J].微生物学通报,2004,31(4):9-13.
- [4] 车科,麻成金,黄群,等.湘西传统酸肉乳酸菌分离、筛选及鉴定[J].中国酿造,2008,(11):25-28.
- [5] 李宗军.中国传统酸肉中葡萄球菌的分离鉴定与应用研究[J].生物技术通报,2006,(3):77-80.
- [6] 李华丽.酸肉生产主发酵期发酵条件的确定[J].中国食物与营养,2005,(4):41-43.
- [7] Comi G, Urso R, Iacumin L, et al. Characterization of naturally fermented sausages produced in the North East of Italy [J]. Meat Science, 2005, 3: 381-392.
- [8] Lee J, Kim C, Kunz B. Identification of lactic acid bacteria isolated from Kim chi and studies on their suitability for application as starter culture in the production of fermented sausages [J]. Meat Science, 2006, 3: 437-445.
- [9] Bolumar T, Sanz Y, Flores M, et al. Sensory improvement of dry-fermented sausages by the addition of cell-free extracts from *Debaryomyces hansenii* and *Lactobacillus sakei* [J]. Meat Science, 2006, 3: 457-466.
- [10] Nordal J, Slinde E. Characteristic of some lactic acid bacteria used as starter cultures in dry sausage production [J]. Applied Environ Microbial, 1980, 40(9):472-475.
- [11] Greco M, Mazzette R, De Santis EPL, et al. Evolution and identification of lactic acid bacteria isolated during the ripening of Sardinian sausages [J]. Meat Science, 2005, 7: 733-739.
- [12] Pennacchia C, Vaughan EE, Villani F. Potential probiotic lactobacillus strains from fermented sausages. Further investigations on their probiotic properties [J]. Meat Science, 2005, 10: 19-25.
- [13] 李宗军,江汉湖.肉品微生态系统与肉类发酵剂研究[J].食品与发酵工业,2001,28(5):54-59.
- [14] 马菊,孙宝忠,郝永清.国内外发酵肉制品历史及发展现状比较[J].肉类研究,2006,(5):45-47.
- [15] 马晓燕.牛肉发酵过程中优势微生物的分离鉴定及应用研究[D].保定:河北农业大学.2004.
- [16] 周德庆.微生物学实验手册[M].上海:上海科学技术出版社,1986.
- [17] 王永霞,牛天贵.肉品混合发酵剂的筛选及应用研究[J].食品科技,2004,(8):34-38.
- [18] 金世琳.乳酸菌的科学与技术[J].中国乳品工业,1998,26(2):14-18.
- [19] 李先保,李兴民,南庆贤,等.乳酸菌发酵剂在肉制品中的应用[J].肉类研究,1997(1):19-22.
- [20] 纪建业.脂肪酶活力测定方法的改进[J].通化师范学院

ALA 和 GNT 对苹果果皮中多酚、酶活 及相关基因的影响

白 鸽,郭玉蓉*,陈 磊

(陕西师范大学食品工程与营养科学学院,陕西西安 710119)

摘 要:目的:探究 5-氨基乙酰丙酸(5-Aminolevulinic acid, ALA)和 金雀异黄素(Genistein, GNT)对苹果果皮总酚含量、花青苷、相关酶活性以及基因表达量的影响。方法:在“秦阳”苹果摘袋时,分别用质量浓度为 $300\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 ALA、 $21.62\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 GNT、ALA + GNT($300\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 ALA 和 $21.62\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 GNT 1:1 混合溶液)进行田间实验;并用全波长酶标仪测定处理后苹果皮总多酚、花青苷含量和相关酶活性,用荧光定量法测定各基因表达量。结果:苹果果皮颜色越红,花青苷含量越高,花青苷合成相关基因表达量越高;使用 ALA 处理过的苹果,果皮中总多酚含量最高,同时其多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)酶活性最低;对于苯丙氨酸解氨酶(phenylalanin ammonia-lyase, PAL)酶活性,用 GNT 和 ALA 处理过的苹果差异不显著且均高于其它处理。结论:ALA 和 GNT 有利于花青苷的积累,可用于人工控制早、中熟苹果着色,以提高其市场竞争力。

关键词:5-氨基乙酰丙酸,金雀异黄素,多酚,酶活性,基因表达量

Effect of 5-Aminolevulinic acid and Genistein on the polyphenols, enzyme activity and gene expression in apple skin

BAI Ge, GUO Yu-rong*, CHEN Lei

(College of Food Engineering and Nutrition Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China)

Abstract: Objective: To explore the changes of total polyphenol, anthocyanin, enzymes activity and gene expression in apple skin when the apples were sprayed by 5-Aminolevulinic acid (ALA) and Genistein (GNT). Methods: During the field experiments, $300\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ALA, $21.62\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ GNT, and ALA + GNT were used to spray the 'Qinyang' apple when debagged, and determined the total polyphenol, anthocyanin, enzymes activity and gene expression in apple skin. Results: The red of apple skin deepen as the increase of anthocyanin content and relative gene expression quantity. The total polyphenol content reached the highest and polyphenol oxidase (PPO) activity was lowest in which apple skin was sprayed by ALA. The phenylalanin ammonia-lyase (PAL) activity was not significant in the apples treated with GNT and ALA, but higher than the other three kinds of apples. Conclusion: ALA and GNT were conducive to the anthocyanin accumulation, so they can be used for promoting the coloration of early apples to improve market competitiveness.

Key words: 5-Aminolevulinic acid; Genistein; polyphenol; enzyme activity; gene expression

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)13-0194-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.13.032

苹果因栽培品种和种植环境条件的不同,成熟苹果的大小、形状、颜色、酸甜度及其他品质特性差

异很大^[1]。果实外观品质,特别是红色果实着色程度既是一个品种的典型特征,也是果实品质与成熟度

收稿日期: 2014-08-25

作者简介: 白鸽(1992-),女,硕士研究生,研究方向:食品功能成分开发及利用。

*通讯作者: 郭玉蓉(1962-),女,博士,教授,研究方向:食品化学。

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项资金资助(GK661001);中央高校基本科研业务费专项资金项目(GK261001330)。

学报,2005,(6):51-53.

[21] 张寒俊,刘大川,杨国燕.紫外光谱法定量测定不同种蛋白酶活力的研究[J].粮食与饲料工业,2004,(9):44-45.

[22] 张红诚,闵连杰,倪晨.发酵肠生产中乳酸菌的选择[J].食品科学,1996,17(8):25-29.

[23] 刘丽莉,杨协力.发酵肉制品中乳酸菌菌种筛选研究[J].农业机械学报,2006,37(8):229-231.

[24] Lucke FK. Microbiological processes in the manufacture of dry sausages and raw ham [J]. Fleischwirtschaft.1986,(66):1507.