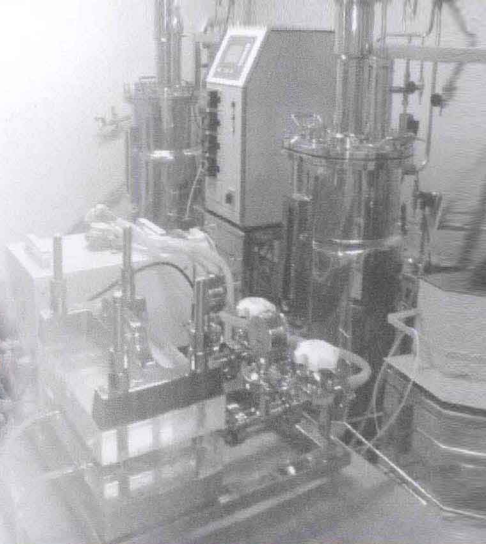
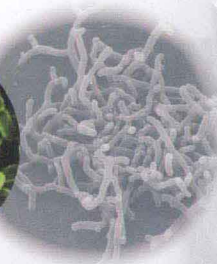




应用生物技术大系

Comprehensive Series of Applied Biotechnology



乳酸细菌现代研究 实验技术

主 编 郭兴华 凌代文
副主编 王安如 孔 健 李平兰
孟祥晨 曹郁生



科学出版社

应用生物技术大系

乳酸细菌现代研究实验技术

主 编	郭兴华	凌代文
副主编	王安如	孔 健
	李平兰	孟祥晨
	曹郁生	

科学出版社
北 京

内 容 简 介

本书是作者编著的有关乳酸细菌的多部专著之一。全书共介绍了近200个研究实验方法,既有坚实的理论基础,又有丰富的实验经验,内容新颖、全面、系统,能反映本领域国内外的最新研究成果和高新技术,为研究乳酸细菌的分类和鉴定提供了现代的和传统的技术;为探讨乳酸细菌的生理功能和安全问题提供了方法;为乳酸细菌在各个领域的应用提供了实验技能;为乳酸细菌改造提供了基因重组的手段。所以本书是乳酸细菌领域关于研究、开发、生产、使用的一本重要工具书。

本书对从事微生物学、微生态学、免疫学、营养学、临床医学、老年学、动物学、兽医学和遗传学的研究人员、教学人员、博士生、硕士生,以及从事生物制药、临床化验、生化分析、发酵工业、保健食品、食品安全、乳品发酵、泡菜发酵、青贮饲料等的工作人员和消费者都有重要的参考价值。

图书在版编目(CIP)数据

乳酸细菌现代研究实验技术/郭兴华,凌代文主编. —北京:科学出版社, 2013.7

(应用生物技术大系)

ISBN 978-7-03-037926-9

I. ①乳… II. ①郭…②凌… III. ①乳酸细菌-实验技术
IV. ①Q939.11-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2013)第134230号

责任编辑:岳漫宇 罗 静 贺密青/责任校对:宣 慧

责任印制:钱玉芬/封面设计:耕者设计工作室

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

http://www.sciencep.com

源海印刷有限责任公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2013年7月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2013年7月第一次印刷 印张:32 1/2

字数:732 000

定价:118.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《乳酸细菌现代研究实验技术》编辑委员会

(按姓氏笔画排序)

主 编 郭兴华 凌代文

副主编 王安如 孔 健 李平兰 孟祥晨 曹郁生

编 写	于 波	王安如	王丽敏	韦艳霞	孔 健
	东秀珠	田洪涛	任发政	旭日花	许 女
	刘 畅	刘 滢	刘丽莎	刘国荣	刘晓华
	孙二娜	孙芝兰	孙晓杰	芦 颖	李平兰
	李海星	杨 扬	佟卉春	汪 攀	张 杰
	张 筠	张灼阳	张明江	张香美	范 娜
	范修海	尚 楠	金君华	庞会利	郑晓楠
	孟祥晨	胡淑敏	钟 瑾	桂 萌	徐 毅
	郭兴华	郭红霞	郭婷婷	凌代文	曹郁生
	蔡义民	滕坤玲			

前 言

乳酸细菌 (lactic acid bacteria, LAB) 是指能利用可发酵的碳水化合物产生大量乳酸的一类细菌。这类细菌在自然界分布广泛, 种类繁多, 具有生物多样性。它们是研究分类、生物化学、遗传学、分子生物学、基因工程的理想材料, 在理论上具有重要意义, 在工业、农牧业、食品和医药等与人类生活密切相关的重要领域中具有极高的应用价值。但这类菌中的某些细菌对人畜有害, 少数种甚至对人类具有高度的致病性。因此, 在乳酸细菌应用中菌株的筛选与评估受到人们极大的关注。

益生乳酸细菌与人和动物的生命活动息息相关, 是人和动物体内必不可少的重要生理菌群, 它能优化宿主的生理功能, 具有良好的保健和医疗效果。用它们的活菌体、死菌体、菌体成分和代谢产物制成的产品称为乳酸菌制品。这类制品能维持机体微生物菌群和酶的平衡以及刺激特异性和非特异性的免疫机能, 达到促进发育、增强体质、防治某些疾病和延年益寿的目的。

宿主体内若有足够的益生乳酸细菌, 就可能阻止致病菌的定植, 诱发肠道黏膜免疫, 降低胆固醇, 控制内毒素, 消除基因毒素 (genotoxin), 制造营养物质, 刺激组织发育, 所以它对机体的营养状态、生理功能、细菌感染、药物效应、毒性反应、免疫应答、肿瘤发生、衰老过程及突然的应激反应等都有作用, 由此可见益生乳酸细菌与人和动物生命活动的紧密联系, 它在机体内的生栖或消失, 与人和动物的健康生存密切相关。

乳酸细菌在食品、医药、工业、农业及环保等领域也占有重要地位, 并发挥着极大的作用。人们食用的乳制品、泡菜、发酵食品等是由它们发酵产生的; 医药和保健品中的微生态制剂、乳酸衍生物制品、多糖和寡糖、细菌素、过氧化氢、 γ -氨基丁酸等是它们的菌体、细胞碎片和代谢产物; 用于食品医药和可降解塑料的乳酸是它们产生的重要有机酸; 蛋白酶、糖苷酶等酶制剂是它们为蛋白质和糖类物质提供的催化剂; 农牧业用的微生物饲料、青贮饲料和微生物肥料等是它们对农副产品、秸秆、各种废物变废为宝的高效利用; 在微环境和大环境中分解毒污物质、净化环境是它们作为“环卫工人”的本能。

人类从古代就有意或无意地利用乳酸细菌作为食物和保健品, 但其真正在科学上进行定性、定量的分析和临床的验证, 仅有 20 多年的历史。20 多年来, 由于有了科学的理论根据, 乳酸细菌的研究和应用在世界范围内取得了飞跃的进展, 如基因组的分析、保守序列的确认、质粒功能的鉴定、特异性功能噬菌体的发现、细胞表面的遗传修饰、应激反应机理的探讨、细菌素的开发、代谢工程的调控、乳酸的定向合成、多糖积累的生化机制、各种载体的构建、有益基因的克隆等都有很高的水平。紧随基础研究的深入, 应用研究也在蓬勃发展。例如, 利用分子技术已能快速准确鉴定菌种, 遗传修饰的发酵剂 (起子) 已能使奶酪早熟并改善风味, 细菌素杀菌谱已经拓宽, 应激反应的机制

也用于生产,质粒也可控制相应噬菌体的感染,具有经济价值和生理功能的代谢产物正在开发,能提高免疫功能的胞外多糖已用做保健食品,乳酸的产量已大大提高并可制备聚乳酸,益生菌的细胞表面工程正用于多个领域,克隆载体种类繁多,有益基因的克隆更增加了益生菌的生理功能,有的口服疫苗已在临床应用,基因工程菌正在用于替代治疗(replacement therapy)。总之,高新技术正在使乳酸细菌的应用成为大产业。

随着科技迅猛地发展,跨学科的研究也提升了细菌系统学的研究技术和方法,在分类鉴定中使用传统的形态、生化和化学分类性状指征的基础上,又使用了基因型和系统发育型特征的分析测试方法,更加深了人们对细菌的认识。例如,16S rRNA 序列分析、16S~23S rRNA 间隔序列分析、基因组 DNA 扩增片段长度多态性和核心蛋白序列分析等,进一步明确了乳酸细菌在细菌系统发育中的地位,发现和建立了更多乳酸细菌新的属和种。20 世纪末属于乳酸细菌类群的有 23 个属,200 多个种。至 2012 年年初,在本书中归纳现已报道的有 41 个属,430 多个种。除去调整和取消的属外,属和种的数量 10 年来增加近一倍。乳杆菌属是乳酸细菌中最大的一个属,属内种的变动也较大,调整和增加了新的种,迄今乳杆菌属中种的数量已超过 150 个。我国幅员广阔,生态环境十分复杂,乳酸细菌资源极为丰富。目前保藏的乳酸细菌在 5000 株以上,然而发现的新种较少,这与某些研究人员使用分类鉴定方法不当有关。有的单位对这类细菌缺乏足够的认识,在应用中出现过偏差,为了杜绝错误的应用菌种,防止危及人体健康的事件发生,我们很需要较全面的认识这类细菌。本书把分子分类鉴定与传统分类鉴定方法相结合,不仅有助于正确分类鉴定我国现有保藏的大量乳酸细菌菌株,也将进一步帮助我们发现自然界存在的更多的新属和新种,为细菌系统学作出贡献,同时也将为人提供更丰富的乳酸细菌资源。

本书作者中有几位曾和有关专家共同撰写过《乳酸菌生物学基础及应用》(杨洁彬,郭兴华,张箴等,中国轻工业出版社,1996 年第一版,1999 年第二版);《乳酸细菌分类鉴定及实验方法》(凌代文,东秀珠,中国轻工业出版社,1999 年);《益生菌基础及应用》(郭兴华,杨洁彬等,北京科学技术出版社,2002 年);《乳酸细菌——基础、技术和应用》(张刚、范培萍、蔡妙英等,化学工业出版社,2007 年);《益生乳酸细菌——分子生物学及生物技术》(郭兴华,曹郁生,东秀珠等,科学出版社,2008 年);《乳酸菌与乳品发酵剂》(孟祥晨,杜鹏,李艾黎等,科学出版社,2009 年)。应该说这几本书对乳酸细菌的基础理论、各种技术和在相关领域中的应用作了详尽的介绍,但不足之处是缺乏乳酸细菌分类和遗传现代研究的信息及应用方面全面系统的实验技术指南。为日臻完善,我们同国内一些科研单位和高等院校的有关专家和学者协商,收集了大量近期国内外关于乳酸细菌的最新文献资料,并结合各自丰富的实践经验,力求撰写和编辑一本有一定权威性的、国际国内尚未见出版的、较全面的乳酸细菌研究实验技术书籍,以飨读者,这就是本书的宗旨和目的。

全书共介绍了近 200 个研究实验方法,既有坚实的理论基础,又有丰富的实验经验,力求体现“全面、系统、先进、准确”的定性定量分析,尽量做到传统方法和现代技术并举,基础理论和各方面的应用详尽。总之,为乳酸细菌提供了现代的和传统的分类和鉴定的技术,为探讨乳酸细菌的生理功能和安全问题提供了方法,为乳酸细菌在各

个领域的应用提供了实验技能，为乳酸细菌改造提供了基因重组的手段。

本书对从事微生物学、微生物生态学、免疫学、营养学、临床医学、老年学、动物学、兽医学和遗传学的研究人员、教学人员、博士生、硕士生以及从事生物制药、临床化验、生化分析、发酵工业、保健食品、食品安全、乳品发酵、泡菜发酵、青贮饲料等的工作人员和消费者都有重要的参考价值。

由于乳酸细菌的基础理论、应用技术和分析手段发展迅速，虽然我们尽最大努力试图系统反映进展的全貌，但限于水平，难免出现疏漏和不足，我们真诚期望和欢迎读者给予批评指正。本书在编写和出版的过程中得到了饲用微生物工程国家重点实验室的大力支持，特表谢意！

郭兴华 凌代文
中国科学院微生物研究所
2012年10月

目 录

前言

第一篇 乳酸细菌的分类鉴定

第一章 乳酸细菌的分类及有关属的特性	3
第一节 乳酸细菌的定义及其范围	3
一、乳酸细菌的定义	3
二、乳酸细菌范围的界定	3
三、乳酸细菌有关的属	4
第二节 乳酸细菌的分类位置	5
一、伯杰氏细菌分类系统	5
二、乳酸细菌分类近史	6
三、乳酸细菌在细菌系统中的位置	7
第三节 乳酸细菌有关属类群的划分	9
一、乳杆菌属及其有关属	9
二、肠球菌属及其有关属	10
三、双歧杆菌属及其有关属	10
四、芽孢杆菌和梭菌的有关属	10
五、近年报道的且尚未编入《伯杰氏系统细菌学手册》第二版的新属	10
第四节 乳杆菌属和有关属及其特性	10
一、乳杆菌属 (<i>Lactobacillus</i> Beijerinck 1901)	10
二、类乳杆菌属 (<i>Paralactobacillus</i> Leisner et al. 2000)	19
三、片球菌属 (<i>Pediococcus</i> Claussen 1903)	20
四、气球菌属 (<i>Aerococcus</i> Williams et al. 1953)	20
五、营养缺陷菌属 (<i>Abiotrophia</i> Bouvet et al. 1989, Kawamura et al. 1995)	21
六、肉食杆菌属 (<i>Carnobacterium</i> Collins et al. 1987)	21
七、碱杆菌属 (<i>Alkalibacterium</i> Ntougios and Russell 2001)	22
八、德瑟兹氏菌属 (<i>Desemzia</i> Stackebrandt et al. 1999)	22
九、棍状菌属 (<i>Isobaculum</i> Collins et al. 2002)	23
十、海生乳杆菌属 (<i>Marinilactibacillus</i> Ishikawa et al. 2003)	23
十一、毛发球菌属 (<i>Trichococcus</i> Scheff et al. 1984, emend. Liu et al. 2002)	23
十二、明串珠菌属 (<i>Leuconostoc</i> van Tieghem 1878)	24
十三、酒球菌属 (<i>Oenococcus</i> Dicks et al. 1995)	25
十四、魏斯氏菌属 (<i>Weissella</i> Collins et al. 1994)	26
第五节 肠球菌属和有关属及其特性	26
一、肠球菌属 (<i>Enterococcus</i> Schleifer et al. 1984)	26
二、蜜蜂球菌属 (<i>Melissococcus</i> Bailey and Collins 1983)	28
三、四联球菌属 (<i>Tetragenococcus</i> Collin et al. 1993)	29

四、漫游球菌属 (<i>Vagococcus</i> Collins et al. 1990)	29
五、链球菌属 (<i>Streptococcus</i> Rosenbach 1884)	29
六、乳球菌属 (<i>Lactococcus</i> Schleifer et al. 1986)	31
七、乳卵形菌属 (<i>Lactovum</i> Matthies et al. 2005)	32
第六节 双歧杆菌属和有关属及其特性	33
一、双歧杆菌属 (<i>Bifidobacterium</i> Orla-Jensen 1924)	33
二、斯氏菌属 (<i>Scardovia</i> Crociani et al. 1996, Jian and dong 2002)	37
三、类斯氏菌属 (<i>Parascardovia</i> Crociani et al. 1996, Jian and Dong 2002)	38
四、气斯氏菌属 (<i>Aeriscardovia</i> Simpson et al. 2004)	39
五、异斯氏菌属 (<i>Alloscardovia</i> Geert Huys et al. 2007)	39
六、另类斯氏菌属 (<i>Metascardovia</i> Okamoto et al. 2007)	39
七、奇异菌属 (<i>Atopobium</i> Collins and Wallbanks 1993)	39
八、欧鲁森氏菌属 (<i>Olsenella</i> Dewhirst et al. 2001)	40
第七节 芽孢杆菌和梭菌有关的属	40
一、芽孢杆菌属 (<i>Bacillus</i>) 内属于乳酸细菌的种	40
二、嗜盐乳杆菌属 (<i>Halolactibacillus</i> Lshikawa et al. 2005)	42
三、糖球菌属 (<i>Saccharococcus</i> Nystrand 1984)	42
四、利斯特氏菌属 (<i>Listeria</i> Pirie 1940)	43
五、环丝菌属 (<i>Brochothrix</i> Sneath and Jones 1976)	43
六、芽孢乳杆菌属 (<i>Sporolactobacillus</i> kitahara and Suzuki 1963)	44
七、孪生球菌属 (<i>Gemella</i> Berger 1960)	45
八、毛形杆菌属 (<i>Lachnobacterium</i> Whitford et al. 2001)	45
第八节 近年报道的乳酸细菌新属	45
一、矛形细菌属 (<i>Pilibacter</i> Higashiguchi et al. 2006)	46
二、嗜果糖乳酸细菌属 (<i>Fructobacillus</i> Akihito Endo et al. 2008)	46
三、夏普氏菌属 (<i>Sharpea</i> Morita et al. 2008)	47
四、产乳酸细菌属 (<i>Lacticigenium</i> Takao lino et al. 2009)	47
第二章 乳酸细菌的分离和培养	51
第一节 选择分离和培养方法的原则	51
一、乳酸细菌在自然界的生存区域和生活环境	51
二、必需的营养组分	51
三、对氧的要求	52
四、适宜的生长温度和 pH 范围	52
第二节 乳杆菌属的分离和培养	52
一、半选择性培养基	53
二、选择性培养基	54
三、不同生境乳杆菌分离的培养基	54
四、培养的气态环境和温度	57
第三节 肉食杆菌的分离和培养	57
一、半选择性 D-MRS 培养基	57
二、甲酚红乙酸铯蔗糖 (CTAS) 培养基	58
三、湖底肉食杆菌和水底肉食杆菌的分离和培养	58
四、永冻层肉食杆菌的分离和培养	59
第四节 明串珠菌的分离和培养	59

一、半选择性培养基	60
二、选择性培养基	61
第五节 酒球菌的分离和培养	61
一、酸性番茄培养基 (ATB 培养基)	62
二、果糖吐温 80 培养基 (FT 培养基)	62
三、葡萄汁培养液	62
第六节 芽孢乳杆菌的分离和培养	62
一、纳亚氏分离法	63
二、东韦氏分离法	63
三、芽孢乳杆菌的培养	64
第七节 肠球菌的分离和培养	65
一、TTC 叠氮化钠培养基 (g/L)	65
二、卡那霉素七叶灵培养基	65
三、Protease 蛋白胍甘油磷酸钠培养基——KF 培养基 (g/L)	66
第八节 链球菌的分离和培养	66
一、适用于链球菌样品转移的培养基	66
二、分离链球菌选择性的培养基	66
三、链球菌的培养	67
第九节 乳球菌的分离和培养	68
一、富集和分离	69
二、乳球菌的分离培养基	69
第十节 双歧杆菌的分离和培养	70
一、样品的收集和制备	70
二、双歧杆菌的分离培养技术	72
三、双歧杆菌培养基	76
第三章 乳酸细菌的分类鉴定方法	80
第一节 乳酸细菌的分类鉴定特征及其类别	80
第二节 生化特征测定方法	80
一、概述	80
二、氧化酶的测定	82
三、过氧化氢酶的测定	83
四、从葡萄糖和葡萄糖酸盐产酸产气	83
五、碳水化合物发酵产酸实验	84
六、淀粉水解	86
七、石蕊牛奶	87
八、明胶液化实验	87
九、七叶灵水解	88
十、乙酰甲基甲醇实验 (V-P 实验)	88
十一、硫化氢的产生	89
十二、马尿酸盐的水解	90
十三、精氨酸产氨实验	91
十四、精氨酸水解实验	92
十五、葡聚糖的产生	92
十六、溶血反应实验	93

十七、脲酶的测定	93
十八、吡咯烷芳基酰胺酶 (PYR) 的测定	94
十九、果糖-6-磷酸盐磷酸酮酶 (F6PPK) 实验	95
二十、气相色谱测定乳酸及短链脂肪酸的分析法	95
第三节 乳酸细菌化学分类特征的测定分析方法	98
一、乳酸旋光度的化学测定法	98
二、醌的分析方法	100
三、细胞脂肪酸测定法	102
四、细菌细胞壁的组分及分析方法	103
第四节 基因型和系统发育型特征的实验方法	107
一、DNA 的 G+C 含量测定	107
二、DNA-DNA 分子杂交方法	111
三、用 PCR-ELISA 反应的鉴定方法	116
四、用全基因组 DNA 脉冲场凝胶电泳的鉴定方法	118
五、16S rDNA 序列同源性的鉴定方法	120
六、用基因组 DNA 扩增片段长度多态性的鉴定方法	122
七、16S rRNA 序列分析方法和系统进化树的构建	124

第二篇 乳酸细菌发挥生理功能的物质基础

第四章 乳酸细菌细胞壁成分的分离和纯化	131
第一节 荚膜多糖的分离和纯化	131
一、原理	131
二、材料	131
三、方法和步骤	131
四、注意事项	132
第二节 脂磷壁酸的分离和纯化	133
一、原理	133
二、材料	133
三、方法和步骤	133
四、注意事项	134
第三节 肽聚糖的分离和纯化	134
一、原理	134
二、材料	135
三、方法和步骤	135
四、注意事项	136
第五章 乳酸细菌产生的糖类物质	137
第一节 产生胞外多糖的菌株和培养基	137
一、产胞外多糖乳酸细菌的分离、筛选	137
二、产胞外多糖的菌株和培养基	140
第二节 胞外多糖的测定方法	143
一、硫酸-苯酚法测定多糖合成量	144
二、干燥称重法	145
三、高效液相色谱法 (HPLC 法)	146

四、硫酸-蒽酮法	147
第三节 多糖的分离和纯化	148
一、概述	148
二、德氏乳杆菌保加利亚亚种胞外多糖的分离和纯化	150
三、嗜热链球菌胞外多糖的分离和纯化	154
四、复合糖的分离和纯化	156
第六章 乳酸细菌产生的抗菌物质	160
第一节 过氧化氢的定量分析	160
一、滴定法——高锰酸钾氧化法	160
二、分光光度法——辣根过氧化物酶法	161
第二节 细菌素的抑菌活性和效价测定方法	163
一、细菌素抑菌活性的测定方法	163
二、管碟法测定细菌素的效价	167
第三节 产细菌素乳酸细菌的筛选	170
一、细菌素产生菌的筛选	170
二、产乳链菌肽菌的筛选（一）	172
三、产乳链菌肽菌的筛选（二）	173
第四节 细菌素的分离和纯化	176
一、吸附法初步纯化细菌素	176
二、植物乳杆菌 KLDS 1.0391 所产细菌素的分离和纯化	178
三、副干酪乳杆菌 J23 所产广谱抗菌肽 Bac-J23 的分离纯化	180
四、嗜酸乳杆菌 NX2-6 所产抑菌物质的分离纯化	181
第五节 苯乳酸、4-羟基苯乳酸和苯乙酸的定性定量分析	184
一、反相高效液相色谱法分析苯乳酸和 4-羟基苯乳酸	184
二、GC-MS 法分析苯乳酸和 4-羟基苯乳酸	186
三、苯乙酸的定性定量分析	187
第六节 3-羟基丙醛（3-HPA）产生菌的筛选和定性定量分析	189
一、原理	189
二、材料	190
三、方法和步骤	190
四、注意事项	191
第七章 乳酸细菌产生的其他生理活性物质	192
第一节 γ -氨基丁酸的定性定量分析	192
一、定性方法——平面色谱法	192
二、定量方法——HPLC	194
第二节 精氨酸脱亚胺酶的活性测定	195
一、原理	195
二、材料	196
三、方法和步骤	196
四、注意事项	197
第三节 血管紧张素转化酶抑制剂的检测	197
一、具有血管紧张素转化酶抑制活性的菌株的筛选	197
二、乳源降血压肽的制备工艺	200

三、血管紧张素转化酶抑制剂的定性定量分析	202
第四节 叶酸的定性定量分析	204
一、原理	204
二、材料	205
三、方法和步骤	206
四、注意事项	208
第五节 维生素 B ₁₂ 的定性定量分析	209
一、定性鉴别	209
二、定量测定	209
第六节 胆汁盐水解酶的活性测定	211
一、原理	211
二、材料	211
三、方法和步骤	211
第七节 透明质酸的定性定量分析	213
一、原理	213
二、材料	213
三、方法和步骤	213
四、注意事项	214
第八节 共轭亚油酸的定性定量分析	215
一、共轭亚油酸高产乳酸细菌的筛选	215
二、共轭亚油酸的定性定量分析	217
第三篇 乳酸细菌在食品、保健品和动物饲料中的应用	
第八章 乳酸细菌产生的风味物质	223
第一节 乙醛和双乙酰（丁二酮）的定性定量分析	223
一、乙醛和双乙酰的提取	223
二、乙醛和双乙酰的定量分析	227
第二节 支链氨基酸的分析	232
一、纸层析-色斑洗脱比色法	233
二、高效液相色谱法	235
三、毛细管电泳	238
第九章 乳酸细菌发酵食品	241
第一节 乳酸细菌直投式发酵剂的制备	241
一、原理	241
二、材料	241
三、方法和步骤	242
四、注意事项	243
第二节 发酵酸奶的实验	243
一、原理	243
二、材料	244
三、方法和步骤	245
四、注意事项	246
第三节 发酵乳清型多肽饮料的制备工艺	247
一、原理	247

二、材料	247
三、方法和步骤	248
四、注意事项	249
第四节 筛选发酵大豆食品的优良菌种	249
一、原理	249
二、材料	250
三、发酵参数	250
四、分析方法	250
第五节 发酵奶酪的实验	251
一、Cheddar 干酪的制备工艺	251
二、Mozzarella 干酪的制备工艺	252
第六节 人工发酵泡菜	255
一、原理	255
二、材料	256
三、方法与步骤	256
四、注意事项	257
第七节 发酵香肠的实验	257
一、原理	257
二、材料	258
三、方法与步骤	258
四、注意事项	259
第十章 乳酸细菌微生态制剂的制备	261
第一节 高密度培养	261
一、补料分批培养	261
二、细胞循环培养	263
第二节 粉末制剂的制备	265
一、真空冷冻干燥法	265
二、喷雾干燥法	267
第三节 益生菌片的制备	269
一、原理	269
二、材料	269
三、方法和步骤	270
四、注意事项	271
第四节 乳酸细菌微胶囊的制备	272
一、基于海藻酸钠的益生菌微胶囊的制备	272
二、空气悬浮法制备益生菌微胶囊	275
第十一章 动物用益生菌剂和青贮饲料发酵剂	279
第一节 动物用益生菌剂	279
一、芽孢杆菌益生菌剂	280
二、乳酸细菌益生菌剂	282
第二节 青贮饲料用的发酵剂	285
一、饲料作物及牧草上自然分布的乳酸细菌	285
二、青贮发酵实验法与乳酸细菌的分离	286

三、快速初筛选青贮饲料优良乳酸细菌	288
四、稻茎秸秆和未利用资源的乳酸细菌的开发与利用	289
五、青贮饲料发酵剂的制备	292

第四篇 乳酸细菌在疾病防治和保健中的应用

第十二章 乳酸细菌解毒和分解致癌物质	297
第一节 清除自由基活性的检测	297
一、原理	297
二、材料	297
三、方法和步骤	298
四、注意事项	298
第二节 降解生物胺的实验	299
一、原理	299
二、材料	299
三、方法和步骤	300
四、注意事项	301
第三节 分解亚硝酸盐的实验	302
一、原理	302
二、材料	302
三、方法和步骤	302
四、注意事项	303
第四节 降解黄曲霉毒素的实验	304
一、原理	304
二、材料	304
三、方法和步骤	304
四、注意事项	306
第五节 降低重金属铅毒害的实验	306
一、原理	306
二、材料	307
三、方法和步骤	307
第六节 利用高效液相色谱法检测乳酸细菌脱基因毒性功能	308
一、原理	308
二、材料	308
三、方法和步骤	309
四、数据处理	310
五、注意事项	310
第十三章 乳酸细菌耐酸、耐胆汁和抗胁迫反应	312
第一节 耐酸、耐胆盐乳酸细菌菌株的分离与筛选	312
一、原理	312
二、材料	312
三、方法和步骤	313
四、注意事项	313
第二节 乳酸细菌抗氧化活性的测定方法	314

一、原理	314
二、材料	315
三、方法和步骤	315
四、注意事项	317
第三节 抗高温胁迫的实验	318
一、原理	318
二、材料	318
三、方法和步骤	319
四、注意事项	319
第四节 抗渗透压胁迫的实验	320
一、原理	320
二、材料	320
三、方法和步骤	320
四、注意事项	321
第十四章 乳酸细菌的免疫功能与延缓衰老	322
第一节 宿主细胞的培养	322
一、原理	322
二、材料	322
三、方法和步骤	322
四、注意事项	322
第二节 宿主细胞的传代和保存	323
一、原理	323
二、材料	323
三、方法和步骤	324
四、注意事项	324
第三节 黏附实验	325
一、乳酸细菌细胞疏水性测定	325
二、乳酸细菌的黏附性测定	326
三、黏附性双歧杆菌菌株的筛选	327
四、不同细菌对细胞竞争性黏附	330
第四节 胞外多糖和脂磷壁酸的免疫调节作用	331
一、原理	331
二、材料	332
三、方法和步骤	332
四、注意事项	334
第五节 乳酸细菌对 T 淋巴细胞亚群的影响	334
一、原理	334
二、材料	335
三、方法和步骤	335
四、注意事项	336
第六节 乳酸细菌对血清抗体的影响	337
一、原理	337
二、材料	337
三、方法和步骤	338

四、注意事项	338
第七节 乳酸细菌对黏膜抗体的影响	339
一、原理	339
二、材料	339
三、方法和步骤	340
四、注意事项	340
第八节 利用秀丽隐杆线虫评价乳酸细菌延缓衰老的功能	341
一、原理	341
二、材料	341
三、方法和步骤	342
四、注意事项	345

第五篇 乳酸细菌在工业上的应用

第十五章 D-乳酸和 L-乳酸的分析	349
第一节 L-乳酸的检测	349
一、酶法测定 L-乳酸	349
二、高效液相色谱法测定 L-乳酸	351
第二节 D-乳酸的检测	353
一、酶法测定 D-乳酸	353
二、HPLC 法测定 D-乳酸	354
第十六章 乳酸细菌发酵生产乳酸工艺	356
第一节 以葡萄糖为原料生产 L-乳酸工艺	356
一、原理	356
二、材料	357
三、方法和步骤	357
四、注意事项	358
第二节 以纤维素为原料生产 L-乳酸工艺	359
一、原理	359
二、材料	359
三、方法和步骤	359
四、注意事项	361
第三节 以淀粉质为原料生产 L-乳酸工艺	361
一、原理	361
二、材料	361
三、方法和步骤	362
四、注意事项	363
第四节 以花生粕为原料生产 D-乳酸工艺	363
一、原理	363
二、材料	363
三、方法和步骤	364
四、注意事项	365
第十七章 发酵产品中乳酸细菌的快速检测技术	366
第一节 发酵产品中乳酸细菌的快速计数方法	366