

研究报告

镇江香醋醋醅抑菌活性及机理的初步分析

吉晋波¹ 陆震鸣^{1*} 龚劲松¹ 余永建³ 李国权³ 陆茂林^{4*} 史劲松^{1,2} 许正宏^{1,2}

(1. 江南大学药学院 工业生物技术教育部重点实验室 江苏 无锡 214122)

(2. 国家固态酿造工程技术研究中心 四川 泸州 646000)

(3. 江苏恒顺醋业股份有限公司 江苏 镇江 214043)

(4. 江苏省微生物研究所 江苏 无锡 214063)

摘要:【目的】评价镇江香醋醋酸发酵过程中醋醅及其主要酿醋功能微生物的抑菌活性。【方法】采用琼脂扩散法评价醋醅和功能微生物的抑菌效果,并考察加热、蛋白酶解、透析等不同处理对发酵液抑菌活性的影响。【结果】醋醅水提取液及4种酿醋功能微生物(*Acetobacter pasteurianus*、*A. pomorum*、*Lactobacillus helveticus*、*L. plantarum*)的发酵上清液对4种指示菌具有明显的生长抑制效果。发酵上清液中的抑菌活性物质具有一定耐热性和蛋白酶敏感性,分子量小于8 kD。【结论】镇江香醋醋醅及其所含醋酸杆菌和乳酸杆菌对环境微生物具有生长抑制活性,且抑菌活性物质的种类具有多样性。

关键词: 镇江香醋, 醋酸杆菌, 乳酸杆菌, 琼脂扩散方法, 抑菌活性

Antibacterial activity of fermentation culture of Zhenjiang aromatic vinegar

Ji Jin-Bo¹ LU Zhen-Ming^{1*} GONG Jin-Song¹ YU Yong-Jian³ LI Guo-Quan³
LU Mao-Lin^{4*} SHI Jin-Song^{1,2} XU Zheng-Hong^{1,2}

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, School of Pharmaceutical Sciences, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

(2. National Engineering Research Center of Solid-State Brewing, Luzhou, Sichuan 646000, China)

(3. Jiangsu Hengshun Vinegar Industry Co., Ltd., Zhenjiang, Jiangsu 214043, China)

(4. Jiangsu Institute of Microbiology, Wuxi, Jiangsu 214063, China)

Abstract: [Objective] Antibacterial activities of fermentation culture and dominant functional microbes in the acetic acid fermentation of Zhenjiang aromatic vinegar were evaluated. [Methods] The

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 31271922), National High-Tech R&D Program of China (863 Program) (No. 2012AA021301, 2013AA102106)

*Corresponding author: LU Zhen-Ming: Tel: 86-510-85328177; E-mail: zmlu@jiangnan.edu.cn;
LU Mao-Lin: E-mail: lumaolin@jsim.cn

Received: March 16, 2015; Accepted: May 11, 2015; Published online (www.cnki.net): May 13, 2015

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31271922), 国家 863 计划项目(No. 2012AA021301, 2013AA102106)

*通讯作者: 陆震鸣: Tel: 86-510-85328177; E-mail: zmlu@jiangnan.edu.cn;
陆茂林: E-mail: lumaolin@jsim.cn

收稿日期: 2015-03-16; 接受日期: 2015-05-11; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-05-13

agar diffusion method was utilized to test antibacterial activity of the different samples. Effects of heating, protease hydrolysis, dialysis on the antibacterial activity of fermentation broth of functional microbes were determined. **[Results]** The result showed that the growth of four indicator strains were significantly inhibited by water extraction of fermentation culture and culture supernatants of 4 functional microbes, including *Acetobacter pasteurianus*, *A. pomorum*, *Lactobacillus helveticus* and *L. plantarum*. The antibacterial substances were thermo-stable, sensitive to proteases and the molecular weight was identified to be lower than 8 kD. **[Conclusion]** Diverse kinds of components contribute to the antibacterial activities of fermentation culture and functional microbes.

Keywords: Zhenjiang aromatic vinegar, *Acetobacter*, *Lactobacillus*, Agar diffusion method, Antibacterial activity

镇江香醋是我国传统固态酿造食醋的典型代表,具有醇香浓厚、回味悠长的特点^[1]。镇江香醋的生产过程分为酒精发酵、醋酸发酵及后期陈酿 3 个阶段,其中醋酸发酵阶段是食醋中典型风味物质合成的重要阶段^[2]。近年来多项研究结果表明,醋酸发酵过程中参与的微生物呈现丰富的多样性^[3-4],其中醋酸杆菌和乳酸杆菌是主要的酿醋功能微生物(两者数量占菌群生物量的 80%以上)^[5-6]。

另一方面,由于醋酸发酵过程的半开放发酵模式,来源于酿造原料、生产环境和操作器械的大量微生物会进入醋醅中,与酿醋功能微生物进行竞争性的生长。目前对于醋酸发酵系统如何抵御系统外环境微生物的竞争、酿醋功能菌群如何实现“自我净化”等问题尚缺少深刻的认识。本研究采用琼脂扩散法评价了不同发酵时间醋醅的水提取液及醋醅中分离获得的 4 种酿醋功能微生物(*Acetobacter pasteurianus*, *A. pomorum*, *Lactobacillus helveticus*, *L. plantarum*)发酵上清液对 4 种指示菌的生长抑制效果,并初步研究了抑菌活性物质的种类和特性。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 菌株及培养基:所用的 4 株酿醋功能微生物(*A. pasteurianus*, *A. pomorum*, *L. helveticus*, *L. plantarum*)和 4 株指示微生物(*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*)均由本研究室保藏。所用的 MRS 培养基、肉汤培养基和 PDA 培养基,购自国药集团化

学试剂有限公司;改良肉汤培养基添加 3%乙醇。

1.1.2 醋醅样品:醋酸发酵过程的醋醅样品取样于江苏恒顺醋业股份有限公司,每天取样 1 次。

1.1.3 主要试剂及器材:木瓜蛋白酶(比活>3 500 U/mg)、胰蛋白酶(比活≥2 500 U/mg)、溶菌酶(比活>22 800 U/mg)、蛋白酶 K(比活>600 U/mg),生工生物工程(上海)股份有限公司;其他试剂,分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

牛津杯,上海江星仪器有限公司;SPX-250B-Z 型生化培养箱,上海博讯实业有限公司医疗设备厂;HYL-C 组合式摇床,太仓市强乐实验设备有限公司;台式高速冷冻离心机,德国 Sigma 公司;Mettler Toledo pH 计,上海 Mettler Toledo 仪器有限公司;Bio-Rad 电泳仪、Bio-Rad Mini-PROTEAN[®] Tetra 电泳槽,美国 Bio-Rad 公司;戴安 Ultimate 3000 HPLC 分析仪,戴安中国有限公司。

1.2 预处理

1.2.1 醋醅水提取液的制备:取发酵不同时间的醋醅样品 5 g 置于具塞三角瓶中,加入 15 mL 超纯水,室温下振荡提取 3 h 后采用双层滤纸和 0.22 μm 无菌滤膜过滤除菌,得到醋醅水提取液。

1.2.2 酿醋功能微生物发酵上清液制备:活化不同酿醋功能微生物,培养至 48 h;菌液离心(8 000 r/min, 5 min)后取上清液,经 0.22 μm 无菌滤膜过滤后待用。未接种的空白培养基进行相同处理后作为阴性对照,5%苯酚为阳性对照^[7]。

1.2.3 指示微生物的培养:活化 *E. coli* 和 *S. aureus* 两株细菌指示微生物,转接至肉汤培养基,于 37 °C、

220 r/min 培养 12 h; 发酵液梯度稀释后涂布平板, 培养过夜后计数^[8]。活化 *A. niger*, *P. chrysogenum* 两株霉菌指示微生物, 转接至 PDA 培养基, 于 28 °C、120 r/min 培养 3 d, 过滤掉菌丝体, 利用血球计数板计算霉菌孢子个数。

1.3 实验方法

1.3.1 琼脂扩散方法: 将 10 mL 含 2%琼脂的肉汤培养基倾注无菌平板; 待凝固, 置无菌牛津杯嵌于培养基中; 将温度降至 50 °C、含 0.75%琼脂糖的肉汤培养基与细菌指示微生物混匀(控制添加细菌指示微生物的体积, 稀释细菌指示微生物的浓度为 10^7 CFU/mL^[9]), 迅速倾注于平板中; 待培养基凝固, 取出牛津杯, 于每孔中注入 150 μ L 待测样品; 于 37 °C 培养过夜, 测定抑菌圈大小。

对霉菌指示微生物的抑制实验使用 PDA 培养基, 控制微生物的浓度为 10^4 个孢子/mL, 其他步骤同上述琼脂扩散方法, 再于 28 °C 恒温培养箱中培养 3 d, 测定抑菌圈大小。实验过程中设置 3 个平行。以未接种微生物的发酵培养基作为阴性对照组, 以 5%苯酚溶液为阳性对照组。

1.3.2 不同酿醋功能微生物发酵上清液潜在抑菌物质特性分析^[10]: (1) 热处理: 取发酵上清液沸水浴 30 min, 0.22 μ m 无菌滤膜过滤除菌, 进行抑菌活性评价。(2) 蛋白酶处理: 取发酵上清液用 2 mol/L 氢氧化钠调 pH 至 6.5, 分别加入 0.5 g/L 的木瓜蛋白酶、胰蛋白酶、溶菌酶或蛋白酶 K, 摇匀后 37 °C 酶解 2 h, 再用乳酸调节 pH 至原值, 0.22 μ m 无菌滤膜过滤除菌后进行抑菌活性评价。(3) 抑菌活性物质分子量分析: 将发酵上清液用大小为 8 kD 的透析袋透析, 分别浓缩透析外液及内液, 0.22 μ m 无菌滤膜过滤除菌后进行抑菌活性评价。取浓缩样品 40 μ L 及上样缓冲液 10 μ L, 混匀, 于沸水浴中加热 10 min, 离心, 取上清液 30 μ L 进行 SDS-PAGE 电泳, 以观察透析对酿醋微生物发酵上清液中蛋白质类物质的影响。(4) 发酵上清液酸类物质分析: 用酸碱滴定法测定总酸^[11], 用 HPLC 方法测定有机酸^[12]。配制同样含量的有机酸样品, 0.22 μ m 无菌

滤膜过滤除菌, 进行抑菌实验。

1.4 数据分析

使用 Excel 2013 (Microsoft office, Windows) 对实验数据进行统计分析, 采用 *t* 检验进行显著性差异分析。利用 Origin 8.0 (OriginLab) 软件按均值 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)方式作图。

2 结果与分析

2.1 醋酸发酵阶段不同时间醋醅水提取液抑菌活性的评价

如图 1 所示, 随着醋酸发酵时间的增加, 醋醅水提取液对 4 种指示菌的抑制效果逐渐增强。发酵 0–2 d 的醋醅水提取液未检测到抑菌效果, 第 3 天对 2 种细菌指示微生物出现显著抑菌效果, 抑制直径均为 9.3 ± 0.3 mm; 第 4 天对 *A. niger* 出现显著抑菌效果, 第 5 天对 *P. chrysogenum* 出现显著抑菌效果, 抑制直径均为 8.7 ± 0.2 mm; 随后抑菌效果逐渐增强, 醋酸发酵结束时(第 20 天)达到最大, 对 *E. coli*、*S. aureus*、*P. chrysogenum*、*A. niger* 的抑制圈直径分别达到 21.2 ± 0.3 mm、 21.5 ± 0.9 mm、 21.2 ± 0.3 mm、 13.6 ± 0.2 mm。

2.2 主要酿醋功能微生物发酵上清液的抑菌活性评价

主要酿醋功能微生物的发酵上清液对指示菌生长的影响如图 2 和表 1 所示。与阴性对照相比, 4 种酿醋功能微生物均具有抑菌效果, 与阳性对照比, 不同微生物的抑菌效果各有差异。

其中, *A. pasteurianus* 发酵上清液对 *E. coli*、*S. aureus*、*A. niger*、*P. chrysogenum* 的抑制圈直径分别为 25.9 ± 1.1 mm、 27.3 ± 1.0 mm、 15.2 ± 0.3 mm、 28.3 ± 1.5 mm, 均高于其他 3 种醋醅功能微生物的抑制效果。酿醋功能微生物发酵上清液均为酸性, 然而发酵上清液的 pH 值高低和抑制作用大小没有相关性。

2.3 不同酿醋功能微生物发酵上清液潜在抑菌活性物质的研究

酿醋功能微生物发酵液的代谢物质种类复杂,

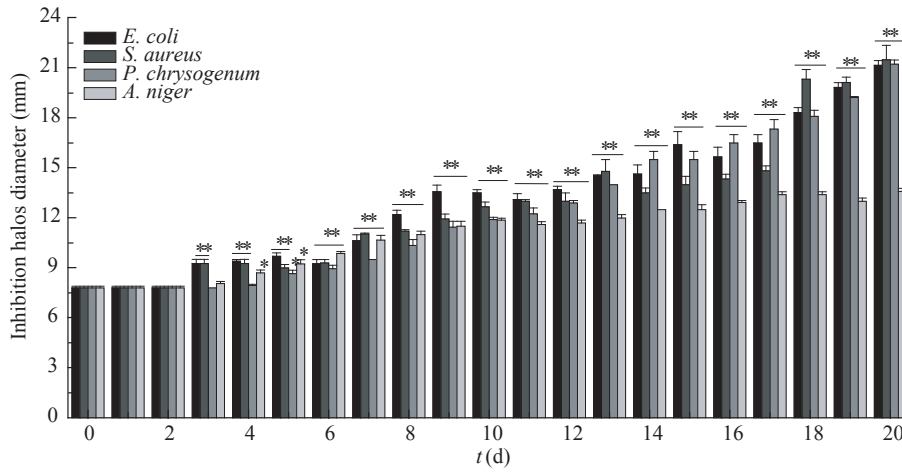


图 1 不同发酵时间醋醅对指示微生物生长的抑制作用(与第 0 天醋醅进行比较)

Figure 1 Effect of fermentation cultures from different fermentation time on the growth of indicator strains (compared with fermentation culture on day 0)

Note: *: $P \leq 0.05$; **: $P \leq 0.01$.

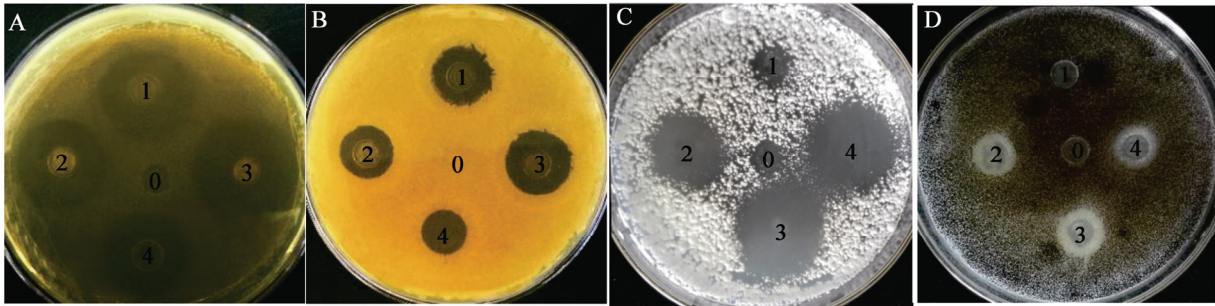


图 2 4 种酿醋功能微生物发酵上清液对指示微生物生长抑制作用

Figure 2 Inhibitory effect of culture supernatants from different microbes on the growth of indicator strains

Note: A: *E. coli*; B: *S. aureus*; C: *P. chrysogenum*; D: *A. niger*. 0: Negative control; 1: *L. helveticus*; 2: *L. plantarum*; 3: *A. pasteurianus*; 4: *A. pomorum*.

表 1 酿醋功能微生物发酵上清液对指示微生物抑制效果

Table 1 Inhibition effect of culture supernatant from different brewing microbes to indicator strains

菌株 Strains	上清液 pH pH of culture supernatant	对指示菌抑制直径 Inhibition halos diameter to indicator strains (mm)			
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>A. niger</i>	<i>P. chrysogenum</i>
<i>A. pasteurianus</i>		25.9±1.1**	27.3±1.0**	15.2±0.3**	28.3±1.5**
<i>A. pomorum</i>	3.75	23.8±0.3**	23.6±0.5**	13.8±0.3**	25.3±0.6**
<i>L. helveticus</i>	3.71	19.7±0.6**	16.5±0.5**	7.9±0.1	12.0±1.0**
<i>L. plantarum</i>	4.13	22.0±0.4**	23.0±0.8**	12.7±0.3**	21.3±0.6**
Negative control	6.00	7.8±0.1 (ND)	7.8±0.1 (ND)	7.8±0.1 (ND)	7.8±0.1 (ND)
Positive control	5%苯酚	22.5±1.8	22.0±0.0	16.7±0.3	19.1±0.8

注: ND: 未检测到抑菌活性. 与阴性对照样品进行差异性分析, **: $P \leq 0.01$.

Note: ND: None antibacterial activity. Compared with the negative sample, **: $P \leq 0.01$.

其中有机酸是主要的酸类代谢物质,也是促使醋酸发酵阶段醋醅呈酸性的主要骨架物质。实验结果表明,酿醋功能微生物发酵上清液等量有机酸类物质的抑菌活性只占到发酵上清液的70%–80%(详细数据未给出)。当有机酸类物质以未解离的形式透过细胞膜进入细胞,且在中性细胞质内解离时,细胞中的功能性大分子很容易受到破坏,使微生物失去活力^[13]。也有报道称,乳酸可以直接破坏细胞膜,致使细胞内大量蛋白泄露,从而抑制大量病原微生物的生长代谢^[14]。可见酸类物质的抑菌效果明显,是发酵上清液中主要的抑菌活性物质。然而,除有机酸以外,不同微生物发酵液还可能还存在其他抑菌活性物质。本实验进一步考察加热、蛋白酶解、透析等不同条件对发酵液抑制细菌活性的影响。

2.3.1 热处理对不同酿醋功能微生物发酵上清液抑菌活性的影响:如表2所示,与发酵上清液相比,热处理之后抑菌效果均显著变小,尤其以 *A. pasteurianus* 对 *S. aureus* 抑制效果及 *L. plantarum* 对 *E. coli* 抑制效果下降最明显,抑菌圈直径均减小了8.0 mm左右,说明4种微生物发酵液中均存在热敏感的抑菌活性物质。与阴性对照组相比,热处理后的发酵液仍具有明显的抑菌圈,也说明耐热性物质的存在。热敏感性及耐热性说明了发酵上清液抑菌活性物质成分多样,其中可能存在耐热性的细

菌素^[15-16]。

2.3.2 不同蛋白酶处理对酿醋功能微生物发酵上清液抑菌活性的影响:如图3所示,蛋白酶解能够降低发酵上清液的部分抑菌活性。其中,胰蛋白酶水解后的 *A. pomorum* 发酵上清液对指示微生物的生长抑制活性下降最为显著,对 *E. coli* 抑制直径从23.8±0.3 mm下降至16.8±0.5 mm,对 *S. aureus* 抑制直径从23.6±0.5 mm降至18.6±0.5 mm。然而, *L. plantarum* 发酵上清液的抑菌活性受木瓜蛋白酶作用后下降最为显著,对 *E. coli* 抑制直径从22.0±0.5 mm降至17.7±1.0 mm,对 *S. aureus* 抑制直径从23.0±0.5 mm降至20.7±0.6 mm。发酵上清液经蛋白酶处理后抑菌活性的丢失说明一些抑菌活性物质的本质是蛋白质^[17-18]。

2.3.3 小分子物质对酿醋功能微生物发酵上清液抑菌效果的影响:将4种酿醋功能微生物发酵上清液利用分子量为8 kD的透析膜透析,将透析外液与内液分别浓缩,进行琼脂扩散实验。如表2所示,发现4种微生物发酵上清液的透析内液均不再具有抑制作用,而透析外液具有抑制作用,但效果明显低于原发酵上清液(表2)。选择 *A. pasteurianus*、*L. helveticus* 发酵上清液透析前后样品进行SDS-PAGE分析,结果如图4所示,分别在第3泳道和第7泳道看到小于10 kD的条带,说明小分子量蛋白质

表2 热处理及透析对酿醋功能微生物发酵上清液抑菌效果的影响

Table 2 Antibacterial activity effect of culture supernatant by heat or dialysis treatment from different brewing microbes

菌株 Strains	上清液 pH pH of culture supernatant	对 <i>E. coli</i> 抑制直径 Inhibition halos diameter to <i>E. coli</i> (mm)			对 <i>S. aureus</i> 抑制直径 Inhibition halos diameter to <i>S. aureus</i> (mm)		
		A	B	C	A	B	C
		<i>A. pasteurianus</i>	3.76	21.7±1.2**	ND	14.0±0.8**	18.7±0.3**
<i>A. pomorum</i>	3.75	20.0±1.7*	ND	13.3±0.3**	20.0±0.0**	ND	12.3±0.5**
<i>L. helveticus</i>	3.71	16.0±0.6**	ND	13.7±0.6**	15.5±0.7*	ND	10.5±0.5**
<i>L. plantarum</i>	4.13	15.7±0.6**	ND	14.5±0.5**	21.7±0.4*	ND	15.7±0.3**

注: ND: 未检测到抑菌活性; A: 热处理后的发酵上清液; B: 发酵上清液透析内液; C: 发酵上清液透析外液。与未进行热处理的样品(表1)进行差异性分析, *: $P \leq 0.05$; **: $P \leq 0.01$ 。

Note: ND: None antibacterial activity; A: The heated culture supernatant; B: The sample in dialysis bag after the culture supernatant dialyzed; C: The sample out of dialysis bag after the culture supernatant dialyzed. Compared with the fermentation culture (Table 1), *: $P \leq 0.05$; **: $P \leq 0.01$ 。

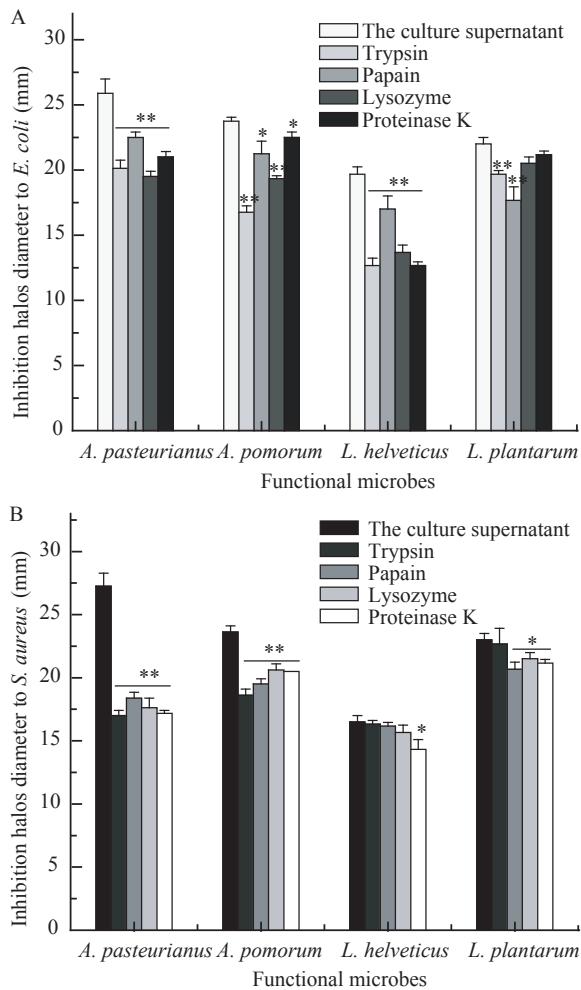


图3 蛋白酶解对4种酿醋功能微生物发酵上清液抑菌活性影响

Figure 3 Inhibitory effect of the culture supernatant digested by proteases to indicator strains

注: A: *E. coli*; B: *S. aureus*. 与未进行蛋白酶处理的对照组相比, *: $P \leq 0.05$, **: $P \leq 0.01$.

Note: A: *E. coli*; B: *S. aureus*. Compared with the unhydrolyzed culture supernatant, *: $P \leq 0.05$, **: $P \leq 0.01$.

的存在, 可能为潜在的抑菌活性物质。虽然浓缩可能导致一部分抑菌活性物质丢失或失活, 比如酸类物质挥发, 但结果说明了一部分分子量低于 8 kD 的小分子物质具有抑菌活性。相比于发酵上清液, 乳酸杆菌透析外液的抑菌活性下降了 6.0–8.0 mm, 较低于醋酸杆菌透析外液抑菌活性的下降(10 mm 以上)。据报道, 乳酸杆菌可以产生多种多样的抑菌活性物质, 包括有机酸、双乙酰、乙偶姻、胞外多

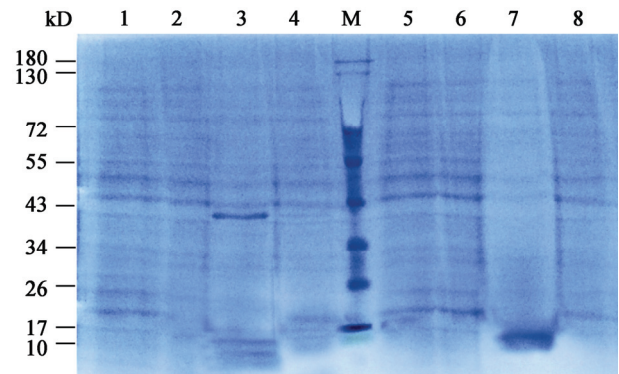


图4 酿醋微生物发酵上清液透析前后样品 SDS-PAGE 电泳图

Figure 4 The SDS-PAGE electrophoretogram of samples from the culture supernatant by dialysis treatment

注: M: 标准蛋白; 1、5: *A. pasteurianus*、*L. helveticus* 发酵上清液; 2、3、4: 分子量 ≥ 8 kD、 $8 \text{ kD} \geq$ 分子量 ≥ 3 kD、分子量 ≤ 3 kD 的 *A. pasteurianus* 发酵上清液; 6、7、8: 分子量 ≥ 8 kD、 $8 \text{ kD} \geq$ 分子量 ≥ 3 kD、分子量 ≤ 3 kD 的 *L. helveticus* 发酵上清液。

Note: M: Standard protein; 1, 5: The culture supernatant of *A. pasteurianus* and *L. helveticus*; 2, 3, 4: The different culture supernatant of *A. pasteurianus* distinguish by molecular weight (MW) ≥ 8 kD, $8 \text{ kD} \geq \text{MW} \geq 3$ kD, $\text{MW} \leq 3$ kD; 6, 7, 8: The different culture supernatant of *L. helveticus* distinguish by $\text{MW} \geq 8$ kD, $8 \text{ kD} \geq \text{MW} \geq 3$ kD, $\text{MW} \leq 3$ kD.

糖、罗伊氏素及细菌素等, 其中小分子物质占比比较大, 抑菌效果显著^[19], 可能这是导致乳酸杆菌透析外液抑菌活性下降低于醋酸杆菌的原因。

综上, 不同酿醋功能微生物发酵上清液对指示菌的抑制效果并非由一种物质起作用。推断酸类物质、蛋白短肽类物质及其他小分子代谢物共同构成了发酵上清液中潜在的抑菌活性物质。

3 结论与讨论

醋酸发酵阶段作为镇江香醋酿造的重要阶段, 其醋醅水提取液对 4 种指示菌具有良好的抑制效果, 且醋醅发酵越久其水提液的抑制效果越强; 4 种主要酿醋功能微生物的发酵上清液对指示菌的生长也具有显著的抑制作用。分析 4 种主要酿醋功能微生物的发酵上清液, 发现抑菌活性物质以酸类物质为主, 可能存在包括细菌素在内的蛋白类物质及分子量小于 8 kD 的其他抑菌物质, 这些物质在醋酸发酵阶段产生并持续积累, 产生强的抑菌效

果^[20]。由此可见,主要酿醋功能微生物的生长及代谢对环境微生物的定殖及繁殖起到了抑制作用。酿醋微生物群落通过自身的生长及代谢,维护自身结构及功能的稳定,维持“自我净化”,保证醋酸发酵的正常进行^[21]。

食品来源的细菌素在食品防腐及贮存更有利用优势,因此醋醅环境中存在的细菌素存在巨大的应用及开发潜力^[22]。本次实验还发现醋酸杆菌具有不亚于乳酸杆菌的抑菌活性。已有报道 *A. xylinum* 产生的细菌纤维素在抑制环境微生物、治疗伤口中的应用^[23-24],但是未见 *A. pasteurianus* 和 *A. pomorum* 存在抑菌活性的报道。

参考文献

- [1] Yu MC. Analysis on flavor components and ligustrazine in Hengshun Vinegar[D]. Wuxi: Master's Thesis of Jiangnan University, 2006 (in Chinese)
- [2] Zhang LJ. The variation of the flavor substances in aerobic solid-fermentation cultures of Hengshun Vinegar[D]. Wuxi: Master's Thesis of Jiangnan University, 2008 (in Chinese)
- [3] Xu W, Zhang XJ, Xu HY, et al. Analysis of bacterial communities in aerobic solid-fermentation culture of Zhenjiang Hengshun vinegar[J]. Microbiology China, 2007, 34(4): 646-649 (in Chinese)
- [4] Su JX. Biodiversity of acetic acid bacteria in the vinegar Pei of Zhenjiang aromatic vinegar and the properties of *Gluconacetobacter intermedius*[D]. Wuxi: Master's Thesis of Jiangnan University, 2014: 1-54 (in Chinese)
- [5] Tao JL, Lu ZM, Wang ZM, et al. Detection of the variation of microorganisms in acetic acid fermentation of Zhenjiang aromatic vinegar through real-time quantitative PCR[J]. Food and Fermentation Industries, 2013, 39(2): 156-160 (in Chinese)
- [6] Zhu QH. Isolation of microbes and their acid-producing characteristics in the solid-cultures of Zhenjiang Vinegar[D]. Wuxi: Master's Thesis of Jiangnan University, 2008: 1-50 (in Chinese)
- [7] Li CJ, Shuang Q, Li YL, et al. Research antifungal activity on bacteriocin produced by lactic acid bacteria from traditional sour cabbage[J]. The Food Industry, 2012(12): 128-131 (in Chinese)
- [8] Tajkarimi MM, Ibrahim SA, Cliver DO. Antimicrobial herb and spice compounds in food[J]. Food Control, 2010, 21(9): 1199-1218
- [9] Yu N, Chen ZJ. Screening of lactic acid bacteria for bacteriostatic activity and characteristics of antibacterial compounds[J]. Food Science and Technology, 2011, 36(5): 13-17 (in Chinese)
- [10] Schillinger U, Lücke FK. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1989, 55(8): 1901-1906
- [11] Zhang L, Lu ZY, Li SQ, et al. GB 18187-2000 Fermented vinegar[S]. Beijing: China Standard Publishing House (in Chinese)
- [12] Zhang LJ, Xu W, Xu HY, et al. Analysis of organic acids in aerobic solid-fermentation culture of Hengshun Vinegar[J]. China Condiment, 2009, 34(2): 106-109 (in Chinese)
- [13] Kent RM, Fitzgerald GF, Hill C, et al. Novel approaches to improve the intrinsic microbiological safety of powdered infant milk formula[J]. Nutrients, 2015, 7(2): 1217-1244
- [14] Wang CJ, Chang T, Yang H, et al. Antibacterial mechanism of lactic acid on physiological and morphological properties of *Salmonella* Enteritidis, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*[J]. Food Control, 2015, 47: 231-236
- [15] Enan G, Abdel-Shafi S, Ouda S, et al. Novel antibacterial activity of *Lactococcus lactis subspecies lactis* z11 isolated from zabady[J]. International Journal of Biomedical Science, 2013, 9(3): 174-180
- [16] Du LH, Somkuti GA, Renye JA Jr, et al. Properties of durancin gl, a new antilisterial bacteriocin produced by *Enterococcus durans* 41D[J]. Journal of Food Safety, 2012, 32(1): 74-83
- [17] Sip A, Więckowicz M, Olejnik-Schmidt A, et al. Anti-*Listeria* activity of lactic acid bacteria isolated from golka, a regional cheese produced in Poland[J]. Food Control, 2012, 26(1): 117-124
- [18] Iranmanesh M, Ezzatpanah H, Mojgani N. Antibacterial activity and cholesterol assimilation of lactic acid bacteria isolated from traditional Iranian dairy products[J]. LWT-Food Science and Technology, 2014, 58(2): 355-359
- [19] Složilová I, Purkrťová S, Kosová M, et al. Antilisterial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes* strains originating from different sources[J]. Czech Journal of Food Sciences, 2014, 32(2): 145-151
- [20] O'Shea EF, Cotter PD, Ross RP, et al. Strategies to improve the bacteriocin protection provided by lactic acid bacteria[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2013, 24(2): 130-134
- [21] Xu W. Analysis of the microbial diversity and function during acetic acid fermentation process of Zhenjiang aromatic vinegar[D]. Wuxi: Doctoral Dissertation of Jiangnan University, 2011: 1-146 (in Chinese)
- [22] da Silva Sabo S, Vitolo M, Domínguez González JM, et al. Overview of *Lactobacillus plantarum* as a promising bacteriocin producer among lactic acid bacteria[J]. Food Research International, 2014, 64: 527-536
- [23] Laçın NT. Development of biodegradable antibacterial cellulose based hydrogel membranes for wound healing[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 67: 22-27
- [24] Lin WC, Lien CC, Yeh HJ, et al. Bacterial cellulose and bacterial cellulose-chitosan membranes for wound dressing applications[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 94(1): 603-611