

乳酸菌的分类鉴定及在食品工业中的应用

翟清燕^{1,2}, 郑世超^{1,2}, 李新玲^{1,2}, 霍胜楠^{1,2*}

(1. 山东省食品药品检验研究院, 济南 250101;

2. 山东省特殊医学用途配方食品质量控制工程技术研究中心, 济南 250101)

摘要: 乳酸菌是一类革兰氏阳性杆菌或球菌、可发酵乳糖或葡萄糖产生大量乳酸的细菌的通称, 将乳酸菌应用到食品中具有提高其营养价值, 改善食品风味, 抑制食品中腐败菌的生长, 延长食品保质期等作用。因其独特的生理特性, 近年来国内外学者对乳酸菌的研究逐渐增多。本文主要论述了乳酸菌的分类和鉴定技术, 介绍了传统鉴定方法和分子生物学鉴定方法的优缺点以及乳酸菌在食品工业(乳制品、肉制品、果蔬制品、食品保鲜)中的应用, 为提高乳酸菌的鉴定效率以及乳酸菌在食品工业、饲料生产和临床医疗上的进一步应用提供参考。

关键词: 乳酸菌; 分类; 鉴定; 应用

Classification and identification of lactic acid bacteria and application in food industry

ZHAI Qing-Yan^{1,2}, ZHENG Shi-Chao^{1,2}, LI Xin-Ling^{1,2}, HUO Sheng-Nan^{1,2*}

(1. Shandong Institute of Food and Drug Control, Jinan 250101, China; 2. Shandong Quality Control Engineering Technology Research Center of Foods for Special Medical Purpose, Jinan 250101, China)

ABSTRACT: Lactic acid bacteria is a general term for a group of gram-positive bacteria or cocci that can ferment lactose or glucose to produce large amounts of lactic acid. Applying lactic acid bacteria to foods has the effect of improving its nutritional value, improving food flavor, inhibiting the growth of spoilage bacteria in foods, and prolonging the shelf life of foods. Because of its unique physiological characteristics, the researches on lactic acid bacteria have been increasing in recent years. This paper mainly discussed the classification and identification technology of lactic acid bacteria, introduced the advantages and disadvantages of traditional identification method and molecular biological identification method and the application of lactic acid bacteria in food industry (dairy products, meat products, fruits and vegetables products, and food preservation), so as to provide references for the improvement of the identification efficiency of lactic acid bacteria and the further application of lactic acid bacteria in food industry, feed production and clinical treatment.

KEY WORDS: lactic acid bacteria; classification; identification; application

1 引言

乳酸菌是一类能对宿主健康产生有益作用的活性微

生物, 具有调整肠道菌群平衡、缓解乳糖不耐症、增强人体免疫力等功能。这类细菌在自然界分布非常广泛, 在动物、人体、植物乃至整个自然界中都存在着各种乳酸菌, 它

*通讯作者: 霍胜楠, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: huosn@163.com

*Corresponding author: HUO Sheng-Nan, Ph.D, Professor, Shandong Institute for Food and Drug Control, Jinan 250101, China. E-mail: huosn@163.com

们不仅是研究分类、生化、遗传、分子生物学和基因工程的理想材料,而且在工业、农业、食品和医药等各个领域应用价值也极高。因此本文简单介绍了乳酸菌的定义及分类,总结了乳酸菌常用的鉴定方法,乳酸菌在食品工业的主要应用,以期对乳酸菌的进一步应用提供参考。

2 乳酸菌的定义与分类

乳酸菌(lactic acid bacteria, LAB)是指能发酵乳糖或葡萄糖产生乳酸的一类革兰氏阳性球菌或杆菌,无芽孢、厌氧或兼性厌氧的细菌^[1]。乳酸菌具有悠久的历史,且在自然界分布极为广泛,具有丰富的物种多样性,目前在自然界发现的乳酸菌大约有 40 多个属,300 多个种^[2,3]。

从细菌分类学上可分为:乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)、双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)、链球菌属(*Streptococcus*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、乳球菌属(*Lactococcus*)、明串珠球菌(*Leuconostoc*)、片球菌属(*Pediococcus*)、奇异菌属(*Atopobium*)、芽孢乳杆菌属(*Sporolactobacillus*)、环丝菌属(*Brochothrix*)、孪生菌属(*Gemella*)和糖球菌属(*Saccharococcus*)等^[4,5]。这些已经发现的乳酸菌除极少数外,绝大部分都是人体内必不可少的且具有重要生理功能的菌群,广泛存在于人体肠道中,目前已被国内外生物学家证实,肠道内乳酸菌与人们的健康长寿有着非常密切的关系。

从形态上主要分为球状和杆状 2 大类^[6],常见的球形乳酸菌主要有链球菌属、明串珠菌属和片球菌属等,常见的杆形乳酸菌主要有乳杆菌属,其中乳杆菌属中的保加利亚乳杆菌、干酪乳杆菌、发酵乳杆菌、植物乳杆菌和链球菌属中的嗜热链球菌等被大量的应用到乳制品的发酵中,植物乳杆菌、短乳杆菌和明串珠菌属中的肠膜明串珠菌常常被应用到蔬菜制品的发酵过程中^[7,8]。

从生化机制上可分为同型乳酸发酵和异型乳酸发酵^[9]。乳酸菌发酵过程中可将糖类分解为乳酸,如果发酵产物只有乳酸称为正型乳酸发酵,如乳酸链球菌、干酪乳杆菌和乳酪链球菌等,葡萄糖经过双磷酸己糖途径可形成 1-6 二磷酸果糖,再经过醛缩酶分解成 2 个三碳化合物,然后脱氢氧化成 2 分子丙酮酸,最后丙酮酸接受氢还原成乳酸。如果发酵产物除乳酸还有其他产物(乙酸、乙醇、CO₂、H₂)称为异型乳酸发酵,如乳酸杆菌、明串珠菌等,葡萄糖经过单磷酸己糖途径形成 6-磷酸葡萄糖酸,再通过脱羧反应形成 5-磷酸木酮糖,然后裂解形成 3-磷酸甘油醛和乙酰磷酸,最后 3-磷酸甘油醛经过丙酮酸转化成乳酸,乙酰磷酸接受氢还原成乙醇^[10]。

3 乳酸菌的鉴定方法

目前乳酸菌常用的鉴定方法可分为 2 类:传统鉴定方法和分子生物学鉴定方法^[11,12]。传统鉴定方法是基于乳酸菌

的菌落形态和生理生化特征对菌落进行鉴定,这些方法都是基于微生物表面受体的特异性对菌体进行鉴定,属于表型分类法,具有一定的局限性,因此目前鉴定乳酸菌更倾向于使用一些新兴的以基因组为基础的分子生物学方法^[13]。

3.1 传统鉴定方法

乳酸菌的传统鉴定方法包括形态学鉴定方法和生理生化鉴定方法^[14]。形态学鉴定方法具有操作简单、成本低等优势,根据菌落的形状、透明度和颜色等特征进行鉴定,但是只能对乳酸菌做出粗略的判断,准确性不高,对同种内菌株之间的鉴定比较困难^[15,16]。生理生化鉴定主要包括:革兰氏染色、过氧化氢酶试验、糖发酵试验、硫化氢试验、不同温度、不同 pH 值、不同 NaCl 浓度生长试验等。观察结果通过与《常见细菌系统鉴定手册》、《乳酸菌细菌分类鉴定及实验方法》和《伯杰细菌鉴定手册》对照来鉴定乳酸菌,但操作繁琐,主要靠肉眼进行观察,主观性太强,且种间菌株生理生化特征非常相似,判断结果具有一定的局限性,不适合大规模鉴定。

3.2 分子生物学鉴定方法

目前,随着分子生物学的飞速发展,分子生物学技术在乳酸菌鉴定中的应用越来越广泛,从分子和基因层面来认识乳酸菌的组成,提高了乳酸菌分离鉴定的准确性。乳酸菌的分子生物学鉴定方法主要包括聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)方法、16S rDNA/rRNA 基因序列分析法、变性梯度凝胶电泳法和随机扩增多态 DNA 技术等^[17]。

3.2.1 聚合酶链式反应方法

PCR 技术是在模板 DNA、引物和 4 种脱氧核糖核苷酸等存在的情况下,依附于 DNA 聚合酶的酶促合成反应,扩增特定 DNA 片段的分子生物学技术^[18,19]。

Ruben 等^[20]利用双歧杆菌 LW420 的 16S rRNA 的基因序列设计了 3 对具有菌株特异性的 PCR 引物,分别用这 3 对引物对基因组进行 PCR 扩增后,可得到 LW420 特异性的 PCR 产物,该方法可以筛选纯培养或混合培养中的 LW420 双歧杆菌菌株。Dong 等^[21]分别根据 5 种双歧杆菌的 16S rRNA 基因序列设计了 5 种特异性引物,其靶序列分别对应 16S rRNA 上的不同位置上,然后利用 5 对引物的混合物对纯培养或混合培养细菌 DNA 进行扩增后,5 种双歧杆菌可同时被鉴定出来。

3.2.2 16S rDNA/rRNA 基因序列分析法

16S rDNA/rRNA 序列分析方法^[22-24]实现了对菌株从属到种鉴定的飞跃,是研究物种的近缘关系较好的工具,是目前使用最普遍的技术手段。16S rDNA 或 16S rRNA 既具有保守性又具有高变性,是细菌多样性研究最常用的靶基因。该方法对乳酸菌的 16S rRNA/rDNA 进行特异扩增后,对核苷酸序列进行测定,然后将获得的序列与数据库

中已有的序列进行比较对乳酸菌进行鉴定和系统学研究。常用的数据库有 GenBank 和 EMBL 数据库, 通过 Blast 或 FASTA 等搜索程序在数据库中查找与乳酸菌相对应的 DNA 序列。Kaufmann 等^[25]设计了扩增双歧杆菌 16Sr DNA 片段的特殊引物, 在属的水平上, 利用扩增 16S rRNA 基因分析方法可以将分离自乳酪的 543 株乳酸菌鉴别到种的水平上。林洋等^[26]同样也利用 16S rDNA/rRNA 基因序列分析法对腌渍酸黄瓜中筛选出的乳酸菌菌株进行鉴定, 鉴定结果为植物乳杆菌。16S rDNA/rRNA 基因序列分析法准确性高, 可以对乳酸菌鉴定结果做出准确判定, 是目前实验室鉴定乳酸菌的首选方法。

3.2.3 变性梯度凝胶电泳法

变性梯度凝胶电泳(denatured gradient gel electrophoresis, DGGE)适合环境复杂群体微生物的鉴定, 可以有选择性的针对微生物群落中某一种微生物进行特异性 PCR 扩增。该方法最早由 Lerman 等于 20 世纪 80 年代初期发明, 主要用来检测 DNA 片段中的点突变^[27]。Myers 等^[28]在 1993 年首次将该技术应用于微生物群落的研究, 是研究微生物群落结构的主要分子生物学方法, 后来又衍生出温度梯度凝胶电泳(temperature gradient gel electrophoresis, TGGE)技术。DGGE/TGGE 是检测人体胃肠道内分枝杆菌属和乳酸杆菌属的一种有效手段, 利用 DGGE/TGGE 技术可以动态监测人体肠道内菌群的变化情况。该技术具有检测时间短、重复性好、分辨率高、稳定性高等优点, 可以充分反映乳酸菌基因组较多的变异信息^[29,30]。

3.2.4 随机扩增多态 DNA 技术

随机扩增多态 DNA(random amplified polymorphism DNA, RAPD)技术是最早于 1990 年由 Wiliam 和 Welsh 等利用 PCR 技术为基础发展的检测 DNA 多态性方法^[31,32]。该技术利用随机合成的引物, 大小为 10 bp 左右, 通过 PCR 反应在退火时寡核苷酸引物和与之同源的 DNA 序列相结合进行扩增, 然后经过凝胶电泳对其 DNA 片段的进行分析。扩增片段多态性反映了基因组相应区域的多态性。RAPD 技术具有检测速度快, DNA 样品需求量少等优点, 且一套引物可以用于多种生物基因组的分析。该技术还通常与其他技术联用, Spano 等^[33]利用 RAPD 技术结合物种特异性 PCR 技术对红葡萄酒中 *L. plantarum* 可以实现种水平的鉴定。

4 乳酸菌在食品工业中的应用

目前, 乳酸菌在食品工业中的应用非常广泛, 包括乳制品、肉制品、果蔬制品、功能食品、食品保鲜等方面^[34], 常用的乳酸菌有双歧杆菌、植物乳杆菌、保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌、鼠李糖乳杆菌、干酪乳杆菌等。

4.1 乳酸菌在乳制品中的应用

乳制品发酵中对乳酸菌的应用非常多, 主要有酸奶、

干酪等食品。酸奶营养价值丰富, 与其中包含的微生物种类密不可分, 乳酸菌在其中是占主导地位的微生物, 酸奶生产发酵中最常用的乳酸菌有保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌、双歧杆菌、植物乳杆菌等^[35,36]。乳酸菌可发酵产生乳酸、丁酸以及多种氨基酸和维生素等代谢产物, 使食品具有独特风味, 且产生的营养物质也有益于人体健康^[37]。乳酸链球菌素还可以用来防止干酪由胀气引起的质量缺陷, 抑制部分致病菌如单核细胞增生李斯特氏菌的生长^[38]。

4.2 乳酸菌在肉制品中的应用

近年来, 乳酸菌作为添加剂或腌制剂被广泛的应用到肉制品生产中, 常用的乳酸菌有乳酸杆菌、片球菌、微球菌等^[39]。研究发现, 乳酸菌应用到肉制品中, 能够较好地改善肉制品的外观, 促进口感的提升, 抑制腐败菌的生长, 同时还能降低亚硝酸盐的生成, 大大提高肉制品的整体质量。例如, 乳酸链球菌素在酸性环境下可以有效抑制肉毒梭菌的生长, 将其添加到火腿和香肠中, 还可减少化学发色剂的使用量, 降低亚硝胺的形成, 提高肉制品的食用安全^[40,41]。

4.3 乳酸菌在果蔬制品中的应用

乳酸菌发酵果蔬制品可分为: 泡菜类、酱腌菜类、果蔬汁等^[42,43], 乳酸菌以天然发酵和人工接种发酵 2 种方式介入果熟制品的生产, 乳酸菌可以将水果蔬菜中的物质转化成乳酸、乙酸、酯类、酚类等代谢产物^[44]。乳酸菌发酵果蔬制品的作用主要有: (1) 提高果蔬制品的营养价值; (2) 改善果蔬制品的风味; (3) 防止果蔬制品腐败变质, 延长其保存期; (4) 增加果蔬制品的保健作用^[45,46]。

4.4 乳酸菌在功能食品中的应用

近年来乳酸菌因其特殊的生理功效及风味, 被广泛应用到各种功能性食品中, 如活性乳酸菌饮料和固体饮料等, 常用的乳酸菌有干酪乳杆菌、鼠李糖乳杆菌和双歧杆菌等^[47]。研究发现, 使用乳双歧杆菌、婴儿双歧杆菌和鼠李糖乳杆菌三联活菌固体饮料辅助治疗小儿轮状病毒性肠炎, 可以改善患儿的免疫系统功能, 调节肠道菌群, 维持消化道内环境微生态的平衡, 对急性慢性腹泻患儿治疗具有显著效果^[48]。随着相关研究的深入, 乳酸菌会在更大程度上以益生菌功能食品的方式用于人体健康调理治疗, 应用方向也将更趋广泛。

4.5 乳酸菌在食品保鲜中的应用

乳酸菌还能应用到食品的防腐保鲜中, 如肉制品、果蔬制品、海鲜制品等。乳酸菌抑菌机制主要表现在 3 个方面: (1) 产生乳酸、乙酸等有机酸, 抑制多数腐败菌的生长繁殖; (2) 产生 H_2O_2 激活牛乳中的过氧化氢酶-硫氰酸系统; (3) 产生类似细菌素的细小蛋白质或肽。酸奶容易受到霉菌的污染, 污染后极易变质产生有害物质, 乳酸菌可通过

其代谢产物如细菌素、有机酸和过氧化氢等有效抑制霉菌的生长, 对酸奶的保鲜起到很大的作用^[49,50]。Liu 等^[51]还发现鼠李糖乳杆菌可以产生亚硝酸还原酶, 具有降解亚硝酸盐的作用, 从而延长食品的保质期。

5 小 结

随着人们生活水平的提高, 对于乳酸菌的相关研究及应用已成为目前科学研究的热点之一。目前国内对乳酸菌的应用已经较为广泛, 但与美国和英国等发达国家相比仍有较大差距, 自主创新, 提高加工技术水平, 是我国乳品行业在创新驱动发展国家战略下的必然选择。因此, 深入研究乳酸菌的健康功能和高效活菌保护技术、基于微生物多糖及其衍生物的功能性产品技术、益生菌的生物酶调控技术等是未来主要的研究方向。在此基础上, 应建立一套功能性益生菌、益生菌生物活性和加工特性的技术评价体系, 明确益生菌活性组分与人体作用的分子机制, 保证其在食品工业、饲料生产和临床上的应用安全性。

参考文献

- [1] FAO and WHO. Probiotics in food: Health and nutritional properties and guidelines for evaluation [M]. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations : World Health Organization, 2006.
- [2] 高鹏. 广谱抗菌乳酸菌的分离鉴定及细菌素的提取、纯化及结构鉴定 [D]. 南京: 南京农业大学, 2016.
Gao P. Isolation and identification of lab strains with a broad-spectrum antibacterial activity and extraction purification and identification of the bacteriocin [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2016.
- [3] 胡会萍. 益生菌及其在功能食品中的应用[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(2): 173–174.
Hu HP. Study on probiotics and its application in the functional food [J]. Food Res Dev, 2007, 28(2): 173–174.
- [4] 闫波, 刘宁. 乳酸菌及其在食品工业中的应用与展望[J]. 食品研究与开发, 2004, 25(4): 22–25.
Yan B, Liu N. *Lactobacillus* and its application prospect in food industry [J]. Food Res Dev, 2004, 25(4): 22–25.
- [5] 包科尔沁. 具有抑菌活性乳酸菌的分离鉴定及其筛选[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2014.
Bao KEQ. Screening and identification of lactic acid bacteria with antimicrobial activity [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2014.
- [6] 卢海鹏. 传统酸马奶乳酸菌的鉴定及降胆固醇作用[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2018.
Lu HP. Identification and cholesterol lowering effect of lactic acid bacteria from traditional koumiss [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2018.
- [7] 华鹤良. 乳酸菌的分离鉴定及其抗菌肽与发酵性能研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2013.
Hua HL. Isolation and identification of lactic acid bacteria and its antibacterial peptides and fermentation properties [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2013.
- [8] Takashi M, Natsuko T. Production of menaquinones by lactic acid bacteria [J]. J Dairy Sci, 1999, 82: 1897–1903.
- [9] 尹胜利, 杜鉴, 徐晨. 乳酸菌的研究现状及其应用[J]. 食品科技, 2012, 37(9): 25–29.
Yin SL, Du J, Xu C. Advances in the research and application of *Lactobacillus* [J]. Food Sci Technol, 2012, 37(9): 25–29.
- [10] 彭习亮, 马成杰. 乳酸菌的生理功能及其在食品工业中的应用[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(20): 8708–8710, 8776.
Peng XL, Ma CJ. Physiological function of lactic acid bacteria and its application in food industry [J]. J Anhui Agric Sci, 2013, 41(20): 8708–8710, 8776.
- [11] Kostinek M, Pukall R, Rooney AP, et al. *Lactobacillus arizonensis* is a later heterotypic synonym of *Lactobacillus plantarum* [J]. Int J Syst Evolut Microbiol, 2005, 55(6): 2485–2489.
- [12] 李国芝, 武建新, 苏东海, 等. 乳酸菌的研究进展[J]. 中国乳业, 2012, (1): 58–60
Li GZ, Wu JX, Su DH, et al. Research progress on lactic acid bacteria [J]. China Dairy, 2012, (1): 58–60.
- [13] 董振玲, 李艳. 乳制品中乳酸菌分子鉴定技术进展[J]. 中国酿造, 2012, 31(6): 9–12.
Dong ZL, Li Y. Advance in molecular identification techniques on the classification and identification of lactic acid bacteria in dairy products [J]. China Brew, 2012, 31(6): 9–12.
- [14] 蒋波, 房蕊, 刘冬玲, 等. 食品检验中乳酸菌鉴定方法的探讨[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(7): 2740–2746.
Jiang B, Fang R, Liu DL, et al. Identification methods of lactic acid bacteria in food test [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(7): 2740–2746.
- [15] 梁彦彦, 兰道亮, 林宝山, 等. 动物肠道乳酸菌的分离鉴定技术研究进展[J]. 动物医学进展, 2015, 36(10): 90–94.
Liang YY, Lan DL, Lin BS, et al. Advances in isolation and identification of lactic acid bacteria in animal intestinal tract [J]. Prog Vet Med, 2015, 36(10): 90–94.
- [16] 庞会利, 谈重芳, 蔡义民, 等. 乳酸菌分类鉴定方法的研究进展[J]. 中国酿造, 2009, 6: 1–5.
Pang HL, Tan ZF, Cai YM, et al. Progress in research on lactic acid bacteria identification methods [J]. China Brew, 2009, 6: 1–5.
- [17] 王俊钢, 刘成江, 郭安民, 等. 分子生物学技术在乳酸菌鉴定中的应用[J]. 乳业科学与技术, 2011, 149(4): 190–193.
Wang JG, Liu CJ, Guo AM, et al. Review on the molecular biotechnology for the identification of lactic acid bacteria [J]. Dairy Sci Technol, 2011, 149(4): 190–193.
- [18] 何荣, 窦丽芳, 董玲. 分子技术在食品乳酸菌分类和鉴定中的应用[J]. 现代商贸工业, 2010, 22(16): 321–322.
He R, Dou LF, Dong L. Application of molecular technology in classification and identification of food lactic acid bacteria [J]. Mod Bus Trade Ind, 2010, 22(16): 321–322.
- [19] 赵文静, 李妍, 张和平. 实时荧光定量 PCR 技术在乳酸菌定量检测中的应用[J]. 食品与生物技术学报, 2011, 28(4): 433–437.
Zhao WJ, Li Y, Zhang HP. Application of real-time fluorescent quantitative PCR in quantitative detection of lactic acid bacteria [J]. J Food Sci Biotechnol, 2009, 28(4): 433–437.
- [20] Ruben G, Kok, Anthony DW, et al. Specific detection and analysis of a probiotic *Bifidobacterium* strain in infant feces [J]. Appl Environ Microbiol,

- 1996, 62(10): 3668–3672.
- [21] Dong XZ, Gang C, Jina WY. Simultaneous identification of five bifidobacterium species isolated from human being using multiple PCR primers [J]. Syst Appl Microbiol, 2000, 23(3): 356–390.
- [22] 范铁男, 邹继宏, 袁杰利. 16S rRNA 序列分析及其相关分子生物学方法在乳酸菌分类、鉴定中的应用[J]. 中国微生物学杂志, 2010, 22(2): 179–183.
- Fan TN, Zou JH, Yuan JL. Application of 16S rRNA sequence analysis and related molecular biology methods in classification and identification of lactic acid bacteria [J]. Chin J Microbiol, 2010, 22(2): 179–183.
- [23] Parola P, Maurin M, Alimi Y, *et al.* Use of 16SrRNA gene sequencing to identify *Lactobacillus casei* in septicaemia secondary to a paraprosthetic enteric fistula [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1998, 17: 203–205.
- [24] 肖作为, 张红刚, 杨岩涛, 等. 基于 16S rRNA 基因的 7 种乳酸杆菌的分子系统发生[J]. 广东农业科学, 2010, 37(4): 198–200.
- Xiao ZW, Zhang HG, Yang YT, *et al.* Molecular phylogeny of seven *Lactobacillus* based on 16S rRNA gene [J]. Guangdong Agric Sci, 2010, 37(4): 198–200.
- [25] Kaufmann P, Pfefferkorn A, Teuber M, *et al.* Identification and quantification of *Bifidobacterium* species isolated from food with genus-specific 16S rRNA-targeted probes by colony hybridization and PCR [J]. Appl Environ Microbiol, 1997, 63(4): 1268–1273.
- [26] 林洋, 马欢欢, 吕欣然, 等. 传统发酵蔬菜中拮抗温和气单胞菌的乳酸菌的筛选与鉴定[J]. 食品工业科技, 2017, 38(4): 231–235.
- Lin Y, Ma HH, Lv XR, *et al.* Screening and identification of lactic acid bacteria with antagonistic activity against *Aeromonas sobria* from traditional fermented vegetables [J]. Food Ind Technol, 2017, 38(4): 231–235.
- [27] 马俊英, 葛武鹏, 姜琪, 等. 基于 PCR-DGGE 技术分析牧区酸马奶中乳酸菌多样性[J]. 西北农业学报, 2017, 26(6): 956–962.
- Ma JY, Ge WP, Jinag Q, *et al.* Analysis of lactic acid bacteria diversity in acid horse milk in pastoral areas based on PCR-DGGE [J]. Acta Agric Boreali-occid Sin, 2017, 26(6): 956–962.
- [28] Myers RM, Fischer SG, Lerman LS, *et al.* Nearly all single base substitutions in DNA fragments joined to a GC-clamp can be detected by denaturing gradient gel electrophoresis [J]. Nucl Acids Res, 1985, 13: 3131–3145.
- [29] Muyzer G, Waal EC, Uitterlinden AG. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction amplified genes encoding for 16S rRNA [J]. Appl Environ Microbiol, 1993, 59: 695–700.
- [30] 董晓婉, 李宝坤, 卢士玲, 等. 传统分离培养结合 PCR-DGGE 技术分析传统乳制品中的乳酸菌[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(3): 97–101.
- Dong XW, Li BK, Lu SL, *et al.* Analysis of lactic acid bacteria in traditional dairy products by traditional isolation and culture combined with PCR-DGGE technology [J]. Food Ferment Ind, 2014, 40(3): 97–101.
- [31] 孙志宏. 自然发酵酸马奶中乳杆菌的 DNA 多态性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2006.
- Sun ZH. Study on DNA polymorphism of *Lactobacillus* isolated from home-made koumiss [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2006.
- [32] 满朝新, 迟涛, 胡博韬, 等. Rep-PCR 指纹图谱技术在乳酸菌鉴定中的应用[J]. 中国乳品工业, 2010, 38(5): 4–6.
- Man ZX, Chi TH, Hu BT, *et al.* Application of rep-PCR Fingerprinting technique in identification of lactic acid bacteria [J]. China Dairy Ind, 2010, 38(5): 4–6.
- [33] Spano G, Petersen A, Vogensen FK, *et al.* Use of conserved randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) fragments and rapid pattern for characterization of *Lactobacillus fermentum* in Ghanaian fermented maize dough [J]. Appl Environ Microbiol, 1999, 65(7): 3213–3221.
- [34] 王越男, 孙天松. 代谢组学在乳酸菌发酵食品和功能食品中的应用[J]. 中国乳品工业, 2017, 45(5): 27–31.
- Wang YN, Sun TS. Application of metabolomics in lactic acid bacteria fermented foods and functional foods [J]. China Dairy Ind, 2017, 45(5): 27–31.
- [35] 姜云芸, 张健, 杨贞耐. 益生乳酸菌在乳制品中的应用研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(3): 808–813.
- Jiang YY, Zhang J, Yang ZN. Research advances on applications of probiotic lactic acid bacteria in dairy products [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(3): 808–813.
- [36] 许女, 王佳丽, 陈旭峰. 优良乳酸菌的筛选、鉴定及在酸奶中的应用[J]. 中国食品学报, 2019, 19(2): 98–107.
- Xu N, Wang JL, Chen XF. Screening, identification and application of good lactic acid bacteria in yogurt [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2019, 19(2): 98–107.
- [37] 孔杭如, 唐善虎, 胡洋, 等. 酸马奶研究现状及进展[J]. 中国乳品工业, 2016, 44(5): 32–35.
- Kong HR, Tang SH, Hu P, *et al.* Current status and progress of research on sour milk [J]. Chin Dairy Ind, 2016, 44(5): 32–35.
- [38] Azizan KA, Baharum SN, Mohd-Noor N. Metabolic profiling of *Lactococcus lactis* under different culture conditions [J]. Molecules, 2012, 17(7): 8022–8036.
- [39] 唐贤华, 张崇军, 隋明. 乳酸菌在食品发酵中的应用综述[J]. 粮食与食品工业, 2018, 25(6): 44–50.
- Tang XH, Zhang CJ, Sui M. The application of the lactobacillus in food fermentation [J]. Cere Food Ind, 2018, 25(6): 44–50.
- [40] 王利媛. 发酵肉制品中替代亚硝酸盐护色乳酸菌的筛选及鉴定[D]. 长春: 吉林农业大学, 2017.
- Wang LY. Screening and identification of lactic acid bacteria to substitute nitrite color protection from fermentation meat [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2017.
- [41] 吴祖兴. 乳酸菌在发酵香肠中的应用研究[J]. 食品工业科技, 2002, 23(8): 55–57.
- Wu ZX. Application of lactic acid bacteria in fermented sausage [J]. Food Ind Technol, 2002, 23(8): 55–57.
- [42] 李湘丽, 袁廷香, 闫吉美. 乳酸菌在发酵香肠生产过程中的应用研究进展[J]. 食品与机械, 2014, 22(6): 233–237.
- Li XL, Yuan TX, Yan JM. Research progress of lactic acid bacteria in fermented sausages production [J]. Food Mach, 2014, 22(6): 233–237.
- [43] 赵玲艳, 邓放明. 乳酸菌的生理功能及其在发酵果蔬中的应用[J]. 中国食品添加剂, 2004, 100(5): 77–80.
- Zhao LY, Deng FM. Characters of lactobacillus and its application in fermented fruits and vegetables [J]. China Food Add, 2004, 100(5): 77–80.
- [44] 李晓忱. 酸菜中乳酸菌分离鉴定的研究进展[J]. 鉴定与检测, 2016, 2: 55–56.

- Li XC. Advances in isolation and identification of lactic acid bacteria in sauerkraut [J]. Ident Test, 2016, 2: 55–56.
- [45] 苗君莅, 陈有容, 齐凤兰, 等. 乳酸菌在果蔬及谷物制品中的应用[J]. 现代食品科技, 2005, 21(4): 129–132.
- Miao JL, Chen YR, Qi FL, *et al.* Applications of lactic acid bacteria in fruit, vegetable and corn products [J]. Mod Food Sci Technol, 2005, 21(4): 129–132.
- [46] 张菊华. 乳酸菌发酵蔬菜汁的研究进展[J]. 饮料工业, 2003, 6: 27–31.
- Zhang JH. Progress in research of lactic acid bacteria fermented vegetable juice [J]. Bever Ind, 2003, 6: 27–31.
- [47] 陈世贤, 高鹏飞, 王记成, 等. 益生菌 *Lactobacillus casei* Zhang 和 *Bifidobacterium lactis* V9 在活性乳酸菌饮料中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(11): 101–105.
- Chen SX, Gao PF, Wang JC, *et al.* Application of *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium lactis* V9 in active *Lactobacillus* drink [J]. Food Ferment Ind, 2015, 41(11): 101–105.
- [48] 唐维媛, 张义明, 王文平, 等. 复合益生菌发酵剂制备乳酸菌饮料的研究[J]. 中国酿造, 2010, (11): 53–55.
- Tang WY, Zhang YM, Wang WP, *et al.* Study on preparation of lactic acid bacteria by compound probiotics fermentation agent [J]. China Brew, 2010, (11): 53–55.
- [49] 张燕, 周常义, 苏文金. 乳酸菌及其代谢产物在食品保鲜中的应用研究进展[J]. 农产品加工, 2012, 277(4): 22–26.
- Zhang Y, Zhou CY, Su WJ. Applied research of lactic acid bacteria and their metabolites in food preservation [J]. Farm Prod Process, 2012, 277(4): 22–26.
- [50] 孙婷, 张兴昌, 陈世贤, 等. 乳酸菌对酸奶保鲜作用的研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(2): 601–608.
- Sun T, Zhang XS, Chen SX. Preservative effect of lactic acid bacteria on yogurt [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(2): 601–608.
- [51] Liu DM, Wang P, Zhang XY, *et al.* Characterization of nitrite degradation by *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* LCR 6013 [J]. Plos One, 2014, 9(4): 255–262.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



翟清燕, 主要研究方向为食品微生物学检测与技术研究。
E-mail: 383230329@qq.com



霍胜楠, 研究员, 主要研究方向为食品微生物学检测与技术研究。
E-mail: huosn@163.com