

一株曲拉源短乳杆菌的分离及其 体外抑菌特性分析

余金凤¹, 向 军¹, 周 魏¹, 曾嵩玉¹, 宋 礼², 罗 丽², 周雪雁^{1,3*}, 张福梅^{3*}

(1. 西北民族大学生命科学与工程学院, 兰州 730124; 2. 甘南牦牛乳研究院, 甘南藏族自治州 747000;
3. 西北民族大学生物医学研究中心, 兰州 730030)

摘 要: **目的** 从曲拉中分离筛选出具有优良抑菌活性的乳酸菌, 并对其特性进行分析评价。**方法** 以西藏牦牛乳曲拉为分离基质, 乳酸细菌培养基加上 1% 碳酸钙为选择鉴别培养基, 运用形态学观察、生理生化试验、16S rRNA 基因序列鉴定菌株, 通过药敏试验对分离菌株进行耐药性分析以及抑菌试验探究其抑菌活性。**结果** 分离菌株 NWMCC0322 被鉴定为短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*), 其对阿莫西林、氨苄西林、四环素、红霉素、氯霉素、阿米卡星、磺胺甲恶唑、头孢噻吩、头孢他啶药物敏感, 对两性霉素 B 中介。NWMCC0322 对指示菌金黄色葡萄球菌的抑菌效果最好, 其抑菌圈直径达(12.0±0.6) mm, 其次为甲型副伤寒沙门氏菌(11.3±0.3) mm, 大肠杆菌(11.0±0.5) mm。**结论** 该短乳杆菌对食品污染常见菌株具有抑菌效果, 在食品开发中有较好的应用价值。

关键词: 曲拉; 短乳杆菌; 筛选与鉴定; 抑菌活性

Isolation of a strain of *Lactobacillus brevis* from Qula and analysis of its antibacterial properties *in vitro*

YU Jin-Feng¹, XIANG Jun¹, ZHOU Wei¹, ZENG Song-Yu¹, SONG Li², LUO Li²,
ZHOU Xue-Yan^{1,3*}, ZHANG Fu-Mei^{3*}

(1. College of Life Science and Engineering, Northwest Minzu University, Lanzhou 730124, China; 2. Gannan Research Institute of Yak Milk, Tibetan Autonomous Prefecture of Gannan 747000, China; 3. Biomedical Research Center, Northwest Minzu University, Lanzhou 730030, China)

ABSTRACT: Objective To isolate and screen out a strain of *Lactobacillus* with excellent antibacterial activity from Qula, and analyze its biological characteristics. **Methods** Tibetan yak Qula was used as separation matrix, and lactic acid bacteria medium plus 1% calcium carbonate was used as selective identification medium, the strain was identified by morphological observation, physiological and biochemical tests, identified by 16S rRNA gene sequence.

基金项目: 中央高校基本科研业务费项目(31920210126)、甘南牦牛乳研究院项目(XBMU-2020-BC-30)、“科技助力经济 2020”重点专项(SQ2020YFF0405583)

Fund: Supported by the Fundamental Research Funds for the Central Universities (31920210126), the Gannan Research Institute of Yak Milk (XBMU-2020-BC-30), and the “Science and Technology to Boost Economy 2020” Focus on the Special (SQ2020YFF0405583)

*通信作者: 周雪雁, 副教授, 主要研究方向为微生物资源的收集与利用。E-mail: zhouxueyan2004@sina.com

张福梅, 讲师, 主要研究方向为食品安全。E-mail: 425610848@qq.com

*Corresponding author: ZHOU Xue-Yan, Associate Professor, Northwest Minzu University, Yuzhong Campus of Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730030, China. E-mail: zhouxueyan2004@sina.com

ZHANG Fu-Mei, Lecturer, Northwest Minzu University, Yuzhong Campus of Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730030, China. E-mail: 425610848@qq.com

The drug resistance of isolated strains was analyzed by drug sensitivity test and antibacterial activity was investigated by bacteriostatic test. **Results** The isolated NWMCC0322 was identified as *Lactobacillus brevis*, which was susceptible to amoxicillin, aminobenzylpenicillin, tetracycline, erythromycin, chloramphenicol, amikacin, sulfamethoxazole, cephalothifen, ceftazidime drugs, and intermediate to amphotericin B. NWMCC0322 exhibited the best inhibitory effect on the indicator strain *Staphylococcus aureus*, with the inhibition zone diameter reaching (12.0±0.6) mm, followed by *Salmonella paratyphi A* (11.3±0.3) mm, and *Escherichia coli* (11.0±0.5) mm. **Conclusion** *Lactobacillus brevis* has antibacterial effect on common strains of food contamination, and has good application value in food development.

KEY WORDS: Qula; *Lactobacillus brevis*; screening and identification; antibacterial activity

0 引言

西藏地区拥有海拔高、气温低及昼夜温差大等高原牧区特有的生态环境,传统工艺制作的牦牛曲拉在这种极端环境下能够孕育出奇特且丰富的乳酸菌^[1]。藏族传统食品曲拉是藏区牧民们用纱布过滤新鲜牦牛乳,把发酵菌加入经过脱脂后的牦牛乳中,经发酵后去除乳酸,脱水晾晒干后制成^[2]。曲拉属于粗奶酪,具有蛋白质含量高、益生菌种类多等优点^[3-5]。

抗生素的过度使用,导致大量的耐药致病菌,同时也在机体内造成大量药物残留,对人类的健康造成严重影响^[6]。因此,寻找常见的抗生素替代产品成为了当下研究的热点。乳酸菌是一种存在于人体内的益生菌,具有助消化、促生长、调节胃肠道、提高机体免疫力等功能。目前研究人员已从各种发酵产品中分离出具有抑菌能力的乳酸菌,但是筛选出的具有抑菌功能乳酸菌大多来至于泡菜^[7-8]、动物肠道^[9-10]、普通动物的奶制品^[11-12]等,牦牛曲拉中分离的乳酸菌相对较少^[13]。本研究从西藏曲拉中分离筛选到 1 株具有抑菌功能的乳酸菌—短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*),对其特性进行探究,以期为西藏地区乳酸菌资源的开发与利用提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

1.1.1 样 品

曲拉:西藏牧区自制,奶源采自西藏新鲜牦牛奶。

1.1.2 指示菌

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、甲型副伤寒沙门氏菌(*Salmonella paratyphoid A*),由中国与马来西亚联合实验室提供。

1.1.3 试剂与药品

MRS 肉汤培养基、MRS 琼脂培养基(青岛高科技工业园海博生物技术有限公司);血琼脂平板(郑州安图生物工程股份有限公司);API20 厌氧菌鉴定试剂盒(生物梅里埃法

国股份有限公司);TaKaRa 试剂盒(宝生物工程中国有限公司);生理生化试剂管(杭州微生物试剂有限公司);革兰氏染液(北京陆桥技术股份有限公司);药敏纸片(英国 OXOID 公司);酵母粉、蛋白胨、琼脂、碳酸钙、甘油、氯化钠(分析纯,天津市百世化工有限公司)。

1.2 仪器与设备

SW-CJ-1F 超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司);YQX-II 厌氧培养箱(上海跃进医疗器械有限公司);YXQ-LS-100A 立式压力蒸汽灭菌器(上海博讯实业有限公司医疗设备厂);Fresco17 超速离心机(中国赛默飞世尔科技有限公司);DYY-6D 电泳仪(北京六一生物科技有限公司);Chemi-Doc 蛋白印迹免染检测分析系统(美国 Bio-Rad 公司);LKTC-B1-T 恒温水浴锅(常州金坛恒丰仪器制造有限公司);AR224CN 高精度电子天平(精度 0.0001 g,上海奥豪斯国际贸易有限公司);GENESYS10S 微量紫外分光光度计(美国赛默飞世尔科技有限公司)。

1.3 方 法

1.3.1 乳酸菌的分离

采用梯度稀释法:称取 0.1 g 曲拉于无菌试管中,加入 10 mL 无菌生理盐水,振荡均匀,得到 10⁻² g/mL 样品溶液。用移液枪吸取 1.0 mL 到新的无菌试管中,加入 9 mL 无菌生理盐水,混匀后,成为 10⁻³ g/mL 样品液。重复上述步骤制作成为逐级稀释到 10⁻⁴、10⁻⁵ g/mL 的样品液。分别吸取稀释度为 10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵ g/mL 的样品液 200 μL 于含有 1% 碳酸钙的无菌 MRS 固体培养基的平皿内,用涂布棒涂布均匀后。置于 35℃ 的厌氧培养箱中培养 48 h。挑取有融钙圈的单菌落,划线分离培养,重复 2~3 次,获得单一形态的菌落。

1.3.2 菌株形态学鉴定

挑选单菌落形态的乳酸菌进行革兰氏染色试验^[14],用光学显微镜观察其形态特征。

1.3.3 菌株的生理生化

将已分离纯化的疑似乳酸菌菌株接种于 MRS 琼脂培养基,于厌氧培养箱中 35℃ 培养 48 h。参考凌代文^[15]和东

秀珠等^[16]的方法进行试验, 并记录其结果。

1.3.4 菌株 16S rRNA 序列测定

将菌株接种到 MRS 液体培养基中, 35°C 培养过夜, 采用 TaKaRa 试剂盒并按照说明书提取菌株总 DNA, 运用 16S rRNA 基因通用引物进行聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增。上游引物 27F: 5'-AGAGTTTG ATCCTGGCTCAG-3'; 下游引物 1492R: 5'-CTACGGCTA CCTTGTACGA-3'。PCR 反应体系(25 μ L): 上、下游引物(10 μ mol/L)各 2 μ L, 模板 1.5 μ L, 2 \times Taq Mix 12.5 μ L, ddH₂O 7 μ L。PCR 反应条件: 94°C 4 min; 94°C 30 s, 54~56°C 30 s, 72°C 2 min, 30 个循环; 72°C 10 min。采用浓度为 1% 的琼脂糖凝胶对 PCR 产物进行电泳分析, 1 \times TAE 作为电泳缓冲液。将提取的样本送到上海生工生物工程股份有限公司进行检测, 结果采用 MEGA7 软件中的邻接(neighbor joining, NJ)法构建系统发育树^[17], 比较分析分离菌株与已知菌株的相似性。

1.3.5 菌株的药敏试验

将纯化的乳酸菌接种到 MRS 液体培养基中, 于摇床 35°C 150 r/min 培养 12~16 h。然后调节菌浓度到 $1\sim 3\times 10^8$ CFU/mL, 吸取 200 μ L 的菌液接种到 MRS 固体培养基, 利用涂布棒均匀涂布, 贴药敏纸片^[18], 观察并记录抑菌圈大小, 根据抑菌圈大小判定药敏性, 判定标准参考美国临床和实验室标准化协会(CLSI 2016)文件及文献^[19], 重复 3 次。

1.3.6 菌株的溶血性检测

参考林杨等^[20]的方法, 将纯化出的乳酸菌接种于血琼脂平板上, 于厌氧培养箱 37°C 培养 48 h, 观察菌落周围溶血情况。

1.3.7 对菌株抑菌活性的测定

参考徐云凤等^[21]的方法, 以金黄色葡萄球菌、甲型副伤寒沙门氏菌、大肠杆菌为指示菌, 采用牛津杯法测定菌株的抑菌活性, 重复试验 3 次。

2 结果与分析

2.1 短乳杆菌的分离与鉴定

菌株 NWMCC0322 的菌落形态为圆形隆起, 表面光滑, 有光泽, 质地粘稠, 呈乳白色(图 1)。NWMCC0322 革兰氏染色后镜检呈阳性(图 2)。在 API20 生理生化试验中, 菌株 NWMCC0322 的 H₂O₂ 酶试验、明胶液化试验、H₂S 试验的结果均为阴性, 与乳杆菌的生化特征一致^[22](表 1)。经过 16S rRNA 序列分析, 菌株 NWMCC0322 与 *Lactobacillus brevis* ATCC 14869 基因序列的亲缘关系最近, 相似性达到 100%, 鉴定 NWMCC0322 是短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*)(图 3), 在美国国家生物技术信息中心(National Center of Biotechnology Information, NCBI)登录号为 OM033733。

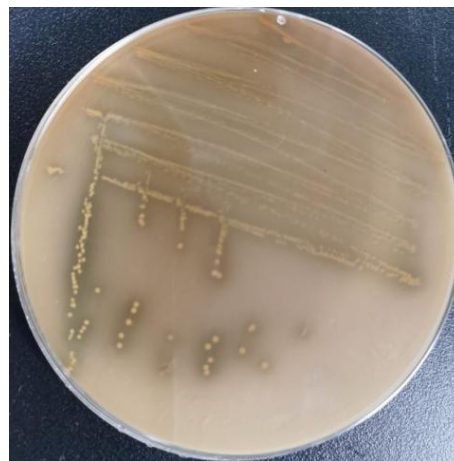


图1 菌株NWMCC0322的菌落形态特征图

Fig.1 Bacterial colony morphological characteristics of strain NWMCC0322



图2 菌株 NWMCC0322 革兰氏染色镜检图

Fig.2 Gram staining microscopic examination of strain NWMCC0322

2.2 短乳杆菌的敏感性检测结果

本研究选用 7 类抗菌药物包括 β -内酰胺类、多烯类、四环素类、大环内酯类、酰胺醇类、喹诺酮类、磺胺类。结果如表 2 所示, 菌株 NWMCC0322 对阿莫西林、氨苄西林、头孢噻吩、头孢他啶、四环素、红霉素、氯霉素、阿米卡星、磺胺甲恶唑抗生素类药物敏感, 对多烯类药物两性霉素 B 中介。本研究与曾扬等^[25]的结果类似, 都对 β -内酰胺类、四环素类、大环内酯类、酰胺醇类、磺胺类药物敏感。有研究表明, 肠道菌群之间存在耐药基因转移现象^[26], 对临床常用抗生素产生耐药性的乳酸菌, 可能将其携带的耐药基因转移给致病菌, 使其产生耐药性^[27], 对机体造成危害。因此, 菌株对药物的敏感性越高, 其安全性就越高, 有利于食品应用。

表 1 菌株 NWMCC0322 的生理生化试验结果
Table 1 Physiological and biochemical test results of the strain NWMCC0322

试验项目	短乳杆菌	对比菌株 ^[23-24]	试验项目	短乳杆菌	对比菌株
H ₂ O ₂ 酶试验	-	-	甘露糖	+	-
H ₂ S 试验	-	-	松叁糖	+	-
吲哚试验	-	-	棉子糖	+	+
明胶液化试验	-	-	山梨醇	+	+
葡萄糖(产酸)	+	+	鼠李糖	+	\
甘露醇	-	-	海藻糖	+	\
乳糖	+	+	七叶苷	-	-
蔗糖	+	-	卫矛醇	+	\
麦芽糖	+	-	覃糖	+	\
柳醇	-	\	DNA	-	\
木糖	+	+	鸟氨酸脱羧酶	-	-
阿拉伯糖	+	+	硝酸盐	-	-
甘油	+	-	赖氨酸脱羧酶	-	-
纤维二糖	+	+	脲酶	-	-

注: + 表示 90%以上为阳性; - 表示 90%以上为阴性, \ 表示未做。

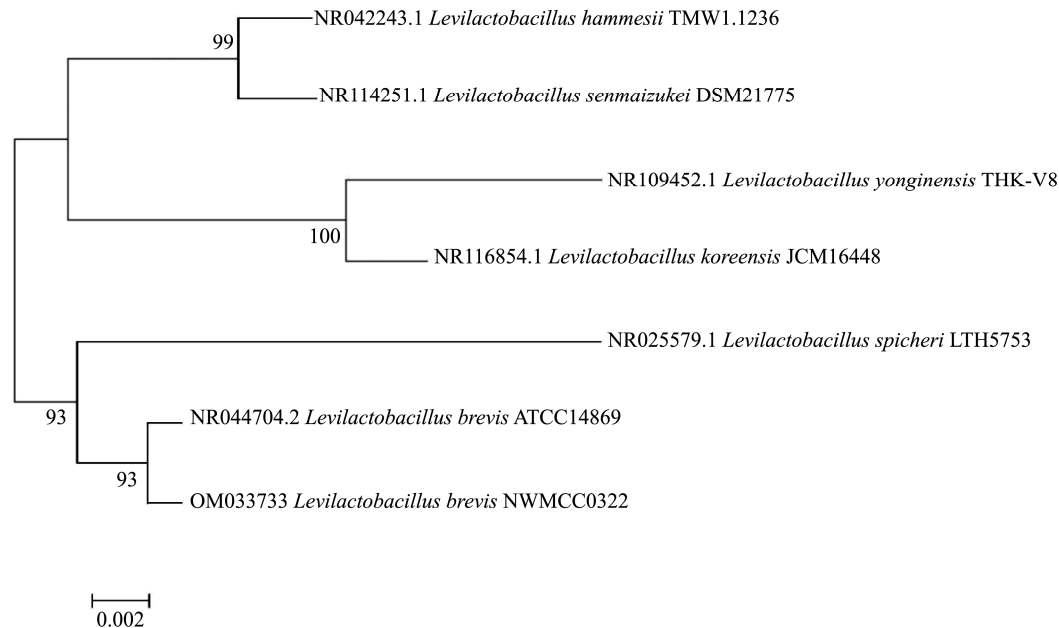


图 3 菌株 NWMCC0322 基于 16S rRNA 序列的系统发育树

Fig.3 Phylogenetic tree of strain NWMCC0322 based on 16S rRNA sequences

2.3 溶血试验结果

菌株进行体外安全性评价的重要指标之一是溶血性^[28]。主要有 3 种溶血现象, β 溶血指菌落周围形成透明的溶血圈; α 溶血指菌落周围形成草绿色溶血圈; γ 溶血指菌落周围无溶血圈出现。如图 4 所示, 菌株 NWMCC0322 无溶血圈出现, 为安全菌株。

2.4 抑菌活性

菌株 NWMCC0322 对金黄色葡萄球菌抑菌效果最好, 抑菌圈直径达(12.0±0.6) mm, 甲型副伤寒沙门氏菌的抑菌圈直径达(11.3±0.3) mm, 大肠杆菌的抑菌圈直径达(11.0±0.5) mm, 说明菌株 NWMCC0322 对革兰氏阴性菌与阳性菌均有抑菌作用。

表 2 菌株 NWMCC0322 药敏试验结果
Table 2 Results of drug sensitivity test for strain NWMCC0322

药物种类	敏感药物	纸片含量 ($\mu\text{g}/\text{片}$)	抑菌圈平均 直径/mm	判断标准(直径/mm)			敏感性
				耐药	中介	敏感	
β -内酰胺类	阿莫西林	30	35.67 \pm 0.7	19	-	20	S
	氨苄西林	10	33.67 \pm 0.6	16	-	17	S
	头孢噻吩	30	37.00 \pm 0.7	8	8.02~19	19.02	S
	头孢他啶	30	25.33 \pm 0.8	17	18~20	21	S
多烯类	两性霉素 B	300	15.33 \pm 0.7	8	8.02~19	19.02	I
四环素类	四环素	30	34.00 \pm 0.9	14	15~18	19	S
大环内酯类	红霉素	15	34.67 \pm 0.8	13	14~22	23	S
酰胺醇类	氯霉素	30	26.67 \pm 0.7	12	13~17	18	S
喹诺酮类	阿米卡星	30	20.33 \pm 0.8	14	15~16	17	S
磺胺类	磺胺甲恶唑	25	30.67 \pm 0.9	10	11~15	16	S

注: S 表示对药物高度敏感; I 表示对药物中介; -表示无。

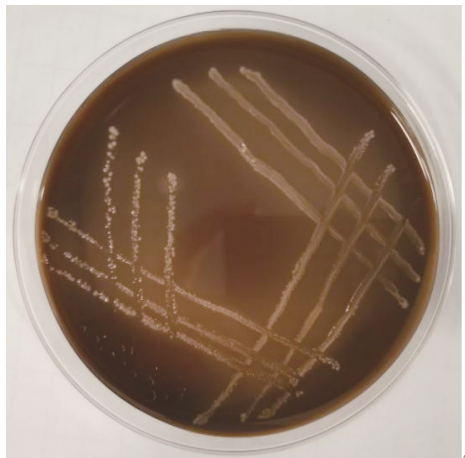


图 4 菌株 NWMCC0322 的溶血试验结果
Fig.4 Results of hemolysis test of strain NWMCC0322

3 结 论

本研究从西藏曲拉中筛选得到一株菌 NWMCC0322, 其初筛平板出现融钙圈, 说明该菌株具有产酸能力。将得到的菌株测序后, 在 NCBI 上对比分析发现该菌属于短乳杆菌属(*Lactobacillus brevis*)。菌株 NWMCC0322 对阿莫西林、氨苄西林、头孢噻吩、头孢他啶、四环素、红霉素、氯霉素、阿米卡星、磺胺甲恶唑抗生素类药物敏感。溶血试验表明菌株 NWMCC0322 无溶血现象, 证明了该菌具有一定的安全性。经过抑菌试验测定该菌对革兰氏阳性菌与阴性菌均有作用。SORNSENNEE 等^[29]从发酵棕榈汁中分离出一株短乳杆菌, 对大肠杆菌、伤寒沙门氏菌(*Salmonella*

typhi)、肠炎沙门氏菌(*Salmonella enteritidis*)、福氏志贺氏菌(*Shigella flexneri*)、金黄色葡萄球菌均有抑制作用, 与本研究结果相符, 对革兰氏阴性菌与阳性菌均起作用。ALFANO 等^[30]发现 *Lactobacillus brevis* CD2 及其发酵产物可以抑制伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhi*), 并且还从发酵产物中发现了胞外多糖这种具有抑菌能力的物质^[30], 而菌株 NWMCC0322 的抑菌物质还需要继续探究。余偲等^[31]在发酵红枣汁中加入短乳杆菌后, 发现红枣汁的品质和抑菌能力都得到极大改善。说明短乳杆菌具有应用于食品开发的前景。本研究分离得到的菌株 NWMCC0322 可作为潜在的益生菌发酵剂应用于功能性食品的开发, 可以为短乳杆菌在功能性食品方面的应用提供参考。

参考文献

- [1] 文鹏程, 曹磊, 马瑞娟, 等. 甘南牧区牦牛曲拉中乳酸菌的分离、鉴定及性能研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(13): 112-117.
WEN PC, CAO L, MA RJ, et al. Isolation, identification and characterization of lactic acid bacteria from Qula in Gannan [J]. Sci Technol Food Ind, 2020, 41(13): 112-117.
- [2] 朱潇, 梁琪, 王湘竹, 等. 基于 Illumina MiSeq 高通量技术比较甘肃藏区传统牦牛发酵乳制品细菌菌群多样性[J]. 中国食品学报, 2021, 21(4): 336-344.
ZHU X, LIANG Q, WANG XZ, et al. Comparison of bacterial diversity in traditional yak fermented dairy products in tibetan areas of Gansu based on Illumina MiSeq high-throughput technology [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2021, 21(4): 336-344.
- [3] 刘振东, 毕娜, 李哲, 等. 西藏不同产区曲拉细菌群落结构的比较分析[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(6): 60-66.

- LIU ZD, BI N, LI Z, *et al.* Comparative analysis of the bacteria community structure of Qula in different producing areas in Tibet [J]. Food Ferment Ind, 2020, 46(6): 60–66.
- [4] 何林枫, 蔡丽莎, 杨宽, 等. 一种牦牛曲拉干酪素的结构及功能性质[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(3): 709–719.
- HE LF, CAI LS, YANG K, *et al.* Structural and functional properties of casein made from yak Qula [J]. Jiangsu J Agric Sci, 2020, 36(3): 709–719.
- [5] 文鹏程, 曹磊, 杨敏, 等. 牦牛曲拉源乳酸菌的产香性能比较[J]. 食品科学, 2020, 41(12): 99–105.
- WEN PC, CAO L, YANG M, *et al.* Comparison of the aroma-producing performance of lactic acid bacteria from Qula as the residue of yak milk after ghee making [J]. Food Sci, 2020, 41(12): 99–105.
- [6] 杜东晓, 赵龙妹, 李旺, 等. 具有优良抑菌特性乳酸菌的筛选鉴定及活性物质检测[J/OL]. 微生物学通报: 1–22. [2022-05-21]. DOI: 10.13344/j.microbiol.china.211113
- DU DX, ZHAO LM, LI W, *et al.* Screening and identification of lactic acid bacteria with excellent antibacterial properties and detection of active substances [J/OL]. Microbiol China: 1–22. [2022-05-21]. DOI: 10.13344/j.microbiol.china.211113
- [7] 孙庆中, 王钰涵, 韩德权, 等. 酸菜中具有抑菌活性的乳酸菌的分离鉴定及其产细菌素特性[J/OL]. 食品科学技术学报: 1–10. [2022-05-21]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/10.1151.TS.20220307.0940.002.html>
- SUN QS, WANG YH, HAN DQ, *et al.* Isolation, identification and bacteriocin production characteristics of lactic acid bacteria with antibacterial activity in pickles [J/OL]. J Food Sci Technol: 1–10. [2022-05-21]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/10.1151.TS.20220307.0940.002.html>
- [8] 吴燕, 伏二伟, 桑学财, 等. 传统浆水中乳酸菌的筛选及抑菌性能分析[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(22): 42–48.
- WU Y, FU ERW, SANG XC, *et al.* Isolation of lactic acid bacteria in Jiangshui celery and analysis of antimicrobial properties [J]. Food Res Dev, 2019, 40(22): 42–48.
- [9] 郑昕, 宫利宏, 唐霄, 等. 鸡源肠道乳酸菌的筛选及抑菌作用分析[J]. 饲料研究, 2020, 43(10): 56–59.
- ZHENG X, GONG LH, TANG X, *et al.* Screening of *Lactobacillus* from chickens intestine and analysis of bacteriostasis [J]. Feed Res, 2020, 43(10): 56–59.
- [10] 张建飞. 筛选自牛、羊肠道的乳酸菌 N8603 细菌素纯化及抑菌特性分析[J]. 饲料研究, 2021, 44(11): 65–69.
- ZHANG JF. Purification and antimicrobial activity of bacteriocin from lactic acid bacteria N8603 isolated from cattle and sheep intestines [J]. Feed Res, 2021, 44(11): 65–69.
- [11] 杨珍珠, 潘稀琪, 迟海, 等. 羊奶源产细菌素乳酸菌筛选、鉴定及益生特性研究[J]. 中国食品学报, 2021, 21(11): 71–77.
- YANG ZZ, PAN ZQ, CHI H, *et al.* Screening, identification and probiotic characteristics of bacteriocin-producing strains of lactic acid bacteria from goat milk [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2021, 21(11): 71–77.
- [12] 杜琨. 青海酸奶中乳酸菌的分离鉴定及抑菌谱研究[J]. 中国乳品工业, 2021, 49(4): 24–28.
- DU K. Isolation, identification and antimicrobial spectrum of lactic acid bacteria in Qinghai yoghurt [J]. Chin Dairy Ind, 2021, 49(4): 24–28.
- [13] 朱建宁, 曹磊, 文鹏程, 等. 牦牛曲拉源乳酸菌的耐受性与抑菌性能比较[J]. 食品工业科技, 2020, 41(7): 115–120, 125.
- ZHU JN, CAO L, WEN PC, *et al.* Comparison of tolerance and antibacterial activity of lactic acid bacteria from yak Qula [J]. Sci Technol Food Ind, 2020, 41(7): 115–120, 125.
- [14] 丹彤, 田佳乐, 乔少婷. 具有良好风味德氏乳杆菌保加利亚亚种的筛选及其产香性能分析[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(14): 229–234.
- DAN T, TIAN JL, QIAO ST. Screening of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. bulgaricus with good flavor properties and analysis of its aroma production [J]. Food Ferment Ind, 2021, 47(14): 229–234.
- [15] 凌代文. 乳酸细菌分类鉴定及实验方法[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999.
- LING DW. Classification, identification and experimental methods of lactic acid bacteria [M]. Beijing: China Light Industry Press, 1999.
- [16] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- DONG XZ, CAI MY. Handbook of systematic identification of common bacteria [M]. Beijing: Science Press, 2001.
- [17] KIM NN, KIM WJ, KANG SS. Anti-biofilm effect of crude bacteriocin derived from *Lactobacillus brevis* DF01 on *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* [J]. Food Control, 2019, 98: 274–280.
- [18] 邓汝森, 李丽, 黎家明, 等. 广东省1株猪16型链球菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2022, (3): 74–79, 133.
- DENG RS, LI L, LI JM, *et al.* Isolation, identification and drug sensitivity test of a swine streptococcus 16 strain in Guangdong Province [J]. Heilongjiang Anim Sci Vet Med, 2022, (3): 74–79, 133.
- [19] 桑建. 鼠李糖乳杆菌发酵乳辅助降血脂功能特性研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2019.
- SANG J. Study on the function of *Lactobacillus rhamnosus* fermented milk to assist in lowering blood lipid [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2019.
- [20] 林杨, 顾美英, 孙建, 等. 阿克苏地区传统酸乳中乳酸菌筛选及安全性初步评价[J]. 微生物学杂志, 2022, 42(1): 26–33.
- LIN Y, GU MY, SUN J, *et al.* Screening and safety evaluation of lactic acid bacteria from traditional yogurts in Aksu area [J]. J Microbiol, 2022, 42(1): 26–33.
- [21] 徐云凤, 张欣, 褚泽军, 等. 一株具有高效抑菌活性乳酸菌的分离鉴定及生长特性研究[J]. 食品与机械, 2021, 37(3): 12–14, 21.
- XU YF, ZHANG X, CHU ZJ, *et al.* Isolation, identification and growth characteristics of a strain of lactic acid bacteria with high bacteriostatic activity [J]. Food Mach, 2021, 37(3): 12–14, 21.
- [22] PALANIYANDI SA, DAMODHARAN K, SUH JW, *et al.* *In vitro* characterization of *Lactobacillus plantarum* strains with inhibitory activity on enteropathogens for use as potential animal probiotics [J]. Indian J Microbiol, 2017, 57(2): 201–210.
- [23] 邓元源, 刘芸, 刘欣, 等. 福建省腌菜中乳酸菌的分离与鉴定[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(3): 481–490.
- DENG YY, LIU Y, LIU X, *et al.* Isolation and identification of lactic acid bacteria from pickles in Fujian Province [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(3): 481–490.
- [24] 杜志琳, 李雪平, 尹望. 鸡源乳酸菌的分离鉴定[J]. 饲料研究, 2016, (9): 13–15, 31.
- DU ZL, LI XP, YIN W. Isolation and identification of lactic acid bacteria

- from chickens [J]. *Feed Res*, 2016, (9): 13–15, 31.
- [25] 曾扬, 尹文巧, 高可丽, 等. 2 种侵入型乳酸菌生物学特性的研究[J]. *中国畜牧兽医*, 2021, 48(10): 3823–3833.
- ZENG Y, YIN WQ, GAO KL, *et al.* Study on biological characteristics of two invasive lactic acid bacteria [J]. *Chin J Anim Husband Vet Med*, 2021, 48(10): 3823–3833.
- [26] 冯金晓, 李明珠, 冯倩. 青岛市售酸奶中乳酸菌的分离鉴定及耐药性研究[J]. *现代食品*, 2018, (5): 106–109.
- FENG JX, LI MZ, FENG Q. Identification and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from yogurt in Qingdao [J]. *Mod Food*, 2018, (5): 106–109.
- [27] 党乔, 孔令聪, 刘洁, 等. 泡菜发酵乳酸菌的分离鉴定及耐药性分析[J]. *食品科学*, 2019, 40(20): 166–170.
- DANG Q, KONG LC, LIU J, *et al.* Isolation, identification and antimicrobial resistance analysis of lactic acid bacteria from Kimchi [J]. *Food Sci*, 2019, 40(20): 166–170.
- [28] 魏梓晴, 詹紫瑶, 王阿利, 等. 酱油渣源副干酪乳杆菌体外安全性评价[J/OL]. *食品与发酵工业*: 1-8. [2022-05-21]. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.028889
- WEI ZQ, ZHAN ZY, WANG AL, *et al.* *In vitro* safety evaluation of *Lactobacillus paracasei* from soy sauce residue [J/OL]. *Food Ferment Ind*: 1-8. [2022-05-21]. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.028889
- [29] SORNSENEE P, SINGKHAMANAN K, SANGKHATHAT S, *et al.* Probiotic properties of *Lactobacillus* species isolated from fermented palm sap in Thailand [J]. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2021, 13(4): 957–969.
- [30] ALFANO A, PERILLO F, FUSCO A, *et al.* *Lactobacillus brevis* CD2: Fermentation strategies and extracellular metabolites characterization [J]. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2020, 12(4): 1542–1554.
- [31] 余偲, 赵育, 张晶, 等. 短乳杆菌发酵对红枣汁品质的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(17): 144–150.
- YU S, ZHAO Y, ZHANG J, *et al.* Effects of *Lactobacillus brevis* fermentation on the quality of jujube juice [J]. *Food Ferment Ind*, 2019, 45(17): 144–150.

(责任编辑: 张晓寒 郑 丽)

作者简介



余金凤, 硕士研究生, 主要研究方向为微生物资源的收集与利用。

E-mail: 2805482142@qq.com



周雪雁, 副教授, 主要研究方向为微生物资源的收集与利用。

E-mail: zhouxueyan2004@sina.com



张福梅, 讲师, 主要研究方向为食品安全。

E-mail: 425610848@qq.com