

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250110007

引用格式: 张艳珍, 袁伟杰, 马超, 等. 叠氮溴化丙锭结合实时定量聚合酶链式反应法快速检测玫瑰酱中戊糖片球菌活菌[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(13): 214–219.

ZHANG YZ, YUAN WJ, MA C, et al. Rapid detection of viable *Pediococcus pentosaceus* in rose jam by propidium monoazide-quantitative real-time polymerase chain reaction method [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(13): 214–219. (in Chinese with English abstract).

叠氮溴化丙锭结合实时定量聚合酶链式反应法快速检测玫瑰酱中戊糖片球菌活菌

张艳珍^{1,2}, 袁伟杰¹, 马 超¹, 麻丽丹³, 刘云国^{1*}

(1. 临沂大学生命科学学院, 临沂 276005; 2. 水原大学工程学院, 水原 18323;

3. 拱北海关技术中心, 珠海 519075)

摘 要: **目的** 探究基于叠氮溴化丙锭(propidium monoazide, PMA)与实时定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qPCR)技术联用, 建立一种快速检测玫瑰酱中戊糖片球菌活菌的方法。**方法** 根据特异性基因 *murI* 设计戊糖片球菌特异性引物, 通过优化 PMA 浓度、暗孵育时间和曝光时间, 确定最佳 PMA 处理条件, 并通过 PMA-qPCR 方法验证不同比例的戊糖片球菌死菌/活菌混合菌液, 评估该方法的灵敏度和检出限。**结果** 设计的引物具有良好的特异性, PMA 的最佳处理条件为质量浓度 80 $\mu\text{g/mL}$, 暗孵育时间为 15 min, 曝光时间为 25 min, 此条件下, 构建的标准曲线相关系数(r^2)为 0.9983, 最低检出限为 3.98×10^3 CFU/g。**结论** 本研究建立的 PMA-qPCR 方法可有效实现玫瑰酱中戊糖片球菌活菌数的快速检测, 灵敏度高, 为复杂食品基质中微生物的定量检测提供了技术支持。

关键词: 玫瑰酱; 戊糖片球菌; 叠氮溴化丙锭; 实时定量聚合酶链式反应; 活菌

Rapid detection of viable *Pediococcus pentosaceus* in rose jam by propidium monoazide-quantitative real-time polymerase chain reaction method

ZHANG Yan-Zhen^{1,2}, YUAN Wei-Jie¹, MA Chao¹, MA Li-Dan³, LIU Yun-Guo^{1*}

(1. College of Life Sciences, Linyi University, Linyi 276005, China; 2. College of Engineering, University of Suwon, Suwon 18323, Korea; 3. Gongbei Customs Technical Center, Zhuhai 519075, China)

ABSTRACT: Objective To establish a rapid detection method of viable *Pediococcus pentosaceus* in rose jam based on the combination of propidium monoazide (PMA) and quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR). **Methods** Primers specific for *Pediococcus pentosaceus* were designed according to the species-specific *murI* gene. The optimal PMA treatment conditions were determined by optimizing the PMA concentration, dark incubation time, and exposure time. Different ratios of *Pediococcus pentosaceus* dead/live bacterial mixtures were

收稿日期: 2025-01-10

基金项目: 中央引导地方科技发展资金项目(YDZX2023081); 海关总署科研项目(2024HK014)

第一作者: 张艳珍(1996—), 女, 博士研究生, 主要研究方向为食品微生物。E-mail: zyz0521@163.com

*通信作者: 刘云国(1977—), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为食品微生物。E-mail: yguoliu@163.com

validated by the PMA-qPCR method to assess the sensitivity and limit of detection of the technique. **Results** The designed primers exhibited high specificity, and the optimal PMA treatment conditions were determined as 80 $\mu\text{g/mL}$ PMA, 15 min of dark incubation, and 25 min of exposure. Under this condition, a standard curve with correlation coefficient (r^2) of 0.9983 was constructed, and the lowest limit of detection was determined to be 3.98×10^3 CFU/g.

Conclusion The PMA-qPCR method established in this study enables the rapid and accurate quantification of viable *Pediococcus pentosaceus* in rose jam with high sensitivity, providing technical support for the quantitative detection of microorganisms in complex food matrices.

KEY WORDS: rose jam; *Pediococcus pentosaceus*; propidium monoazide; quantitative real-time polymerase chain reaction; viable

0 引言

戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*)是一种革兰氏阳性、厌氧或微需氧的乳酸菌,近年来因其益生功能而备受关注^[1-2],广泛存在于植物及多种发酵食品中,如发酵乳制品^[3]、水果^[4]、蔬菜^[5]、肉制品^[6]和谷物^[7],在延长保质期、提升食品风味以及赋予食品营养价值方面具有重要作用^[8-10]。此外,研究表明,戊糖片球菌具有显著的抗菌活性^[11]、抗氧化活性^[12],并可通过调节免疫系统促进肠道健康等^[13-14],这些特性不仅增强了其在食品工业中改善产品安全性和质量的应用潜力,还为功能性产品的研发提供了重要的理论依据。

玫瑰酱是我国传统发酵食品,主要由玫瑰花瓣和糖等辅料发酵制作,具有独特的花香和丰富的口感^[15],富含酚类和黄酮类化合物,具有抗氧化作用并能增强免疫力,深受消费者青睐^[16]。微生物在玫瑰酱的发酵过程中起核心作用,不仅延长了产品的贮藏期,还促进风味物质的产生并赋予其保健功能^[17]。实验室前期从发酵玫瑰酱中分离鉴定了一株具备益生菌性能的戊糖片球菌菌株 MP13,并用于玫瑰酱发酵工艺研究。结果表明,戊糖片球菌菌株 MP13 能提升玫瑰酱的感官特性,显著提高总黄酮、总酚和花青素含量,并增强抗氧化性能,赋予玫瑰酱功能性潜力,为开发功能性玫瑰酱提供了技术支持^[18]。

在发酵食品生产及贮藏过程中,活菌数量是衡量其品质和安全性的关键指标。传统微生物计数方法主要依赖于菌落平板计数法,存在耗时长、难以有效检测处于存活但不可培养(viable but non-culturable, VBNC)状态的微生物等局限性。此外,该方法在复杂的微生物群落中准确定量单一菌种也面临挑战^[19]。近年来,实时定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qPCR)因其特异性强、灵敏度高、检测周期短等优势,广泛应用于定量检测发酵食品中微生物数量^[20-21]。然而,该技术在区分活菌和死菌方面具有局限性,可能引起检测结果偏差^[22]。叠氮溴化丙锭(propidium monoazide, PMA)作为一种光敏性 DNA 结合染料,能选择性地与死菌 DNA 结合并抑制其扩增,但对活菌 DNA 却无影响,显著提高检测准确性,在

活菌定量检测中具有广阔应用前景^[23-24]。

本研究结合 PMA 染料与 qPCR 技术,建立了一种用于快速检测发酵玫瑰酱中戊糖片球菌活菌的方法,基于美国国家生物技术信息中心(National Center of Biotechnology Information, NCBI)数据库设计戊糖片球菌的特异性引物,优化 PMA 处理条件(包括 PMA 浓度、暗孵育时间和曝光时间),并进一步构建玫瑰酱样品的标准曲线,确定戊糖片球菌的最低检出限,以期发酵玫瑰酱的质量控制提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

玫瑰酱:平阴玫瑰产业园;戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus* MP13):实验室前期从发酵玫瑰酱中分离保藏;植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*) ATCC 14917、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) ATCC 25923、大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*) ATCC 25922 对照菌株,均由实验室保存。

MRS 液体培养基(北京陆桥技术股份有限公司);2×Taq PCR MasterMix II、D 2000 和细菌基因组 DNA 提取试剂盒、引物、探针[生工生物工程(上海)有限公司];PMA(美国 Biotium 公司);qPCR 反应体系试剂(中国 BBI 生命科学有限公司)。

1.2 仪器与设备

BSA224S 电子分析天平(精度 0.1 mg,北京赛多利斯仪器有限公司);LC-LX-H165A 型离心机(上海力辰仪器科技有限公司);THZ-15 恒温培养摇床(上海一恒科学仪器有限公司);ABI StepOnePlus 实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 戊糖片球菌的活菌/死菌悬液制备

戊糖片球菌 MP13 接种于 MRS 液体培养基,于 37 °C 振荡培养至对数期(180 r/min),取 1 mL 菌液进行梯度稀释,平板计数得到浓度约为 10^8 CFU/mL 的活菌悬液。将 10 mL 该悬液置于沸水中水浴 40 min 以实现灭活处理,随后

12000 r/min 离心 2 min, 弃上清并用 10 mL 无菌蒸馏水重悬, 即为戊糖片球菌死菌悬液。

1.3.2 DNA 提取

取 1 mL 纯培养菌液, 12000 r/min 离心 2 min 收集菌体, 按照细菌 DNA 提取试剂盒说明书, 分别进行戊糖片球菌和参考菌株的 DNA 提取, 提取后于-20 °C 保存备用。

1.3.3 qPCR 引物设计及特异性验证

基于 NCBI 数据库选取 *murI* 基因序列作为戊糖片球菌的特异性基因, 通过 Beacon Designer 和 Primer Premier 5.0 软件进行特异性引物和探针设计, 并由生工生物工程(上海)有限公司合成, 详细信息见表 1。以提取的戊糖片球菌基因组 DNA 以及对照菌株 DNA 作为模板, 通过 qPCR 实验评估引物特异性, 反应体系为 20 μL: 2×TaqMan Fast qPCR Master Mix (High Rox) 10 μL, 上、下游引物各 1 μL, 探针 1 μL, DNA 模板 1 μL, ddH₂O 6 μL。反应条件为: 94 °C 3 min, 94 °C 5 s, 56 °C 45 s, 72 °C 30 s, 40 个循环。

表 1 戊糖片球菌引物与探针	
Table 1 Primers and probes for <i>Pediococcus pentosaceus</i>	
引物与探针	序列(5'-3')
上游引物	ATTGCTACACTAGGCACA
下游引物	GAACGGTCTCCACTCC
TaqMan 探针	HEX-ACGGCTGCTTGGATACCTTCT-TAMRA

1.3.4 PMA 处理条件优化

(1) PMA 质量浓度

分别取活菌/死菌悬液各 500 μL 置于 1.5 mL 离心管中, 加入一定量 100 μg/mL PMA 溶液, 并用无菌水补充至最终 PMA 质量浓度分别为 0、20、40、60、80、100 μg/mL。混匀后 20~25 °C 暗孵 15 min, 随后置于 365 nm 紫外灯下曝光 20 min。处理后 12000 r/min 离心 2 min, 按照 1.3.2 步骤提取基因组 DNA, 用戊糖片球菌特异性引物进行 qPCR 检测, 反应体系同 1.3.3, 以循环阈值(cycle threshold, Ct)来评估不同浓度 PMA 处理对戊糖片球菌死菌/活菌 qPCR 扩增的影响。

(2) PMA 暗孵育时间

添加最佳质量浓度 PMA 溶液分别于 500 μL 活菌/死菌悬液中, 混匀后设置暗孵育时间分别为 0、5、10、15、20、25 min, 随后 365 nm 紫外灯下曝光 20 min, 之后步骤同 PMA 质量浓度优化。

(3) PMA 曝光时间

添加最佳质量浓度 PMA 溶液分别于 500 μL 活菌/死菌悬液中, 混匀后于最佳暗孵育时间下孵育。随后将离心管置于 365 nm 紫外灯下分别曝光 0、5、10、15、25、35、45 min, 之后步骤同 PMA 浓度优化。

1.3.5 不同比例死/活菌混合菌悬液的验证

按照活菌比例分别为 0%、5%、10%、25%、50%、100% 配制混合菌悬液, 分别取 500 μL 混合菌液于 1.5 mL 离心管中, 根据 PMA 优化条件处理后按照 1.3.2 步骤提取

基因组 DNA 并进行 qPCR 检测, 反应体系同 1.3.3, 以未加 PMA 处理的样品作为对照组。

1.3.6 标准曲线的建立

取 5 g 玫瑰酱样品加入 50 mL 离心管中, 12000 r/min 离心 2 min 后弃上清。加入无菌水混匀后 10 倍梯度稀释成浓度分别为 10⁷、10⁶、10⁵、10⁴、10³、10² 和 10 CFU/mL 的菌液。按 1.3.4 优化的 PMA 处理条件处理后, 按照 1.3.2 步骤提取 DNA, 并进行 qPCR 检测测定对应 Ct 值, 反应体系同 1.3.3, 通过菌落浓度对数值与 Ct 值作线性回归分析。

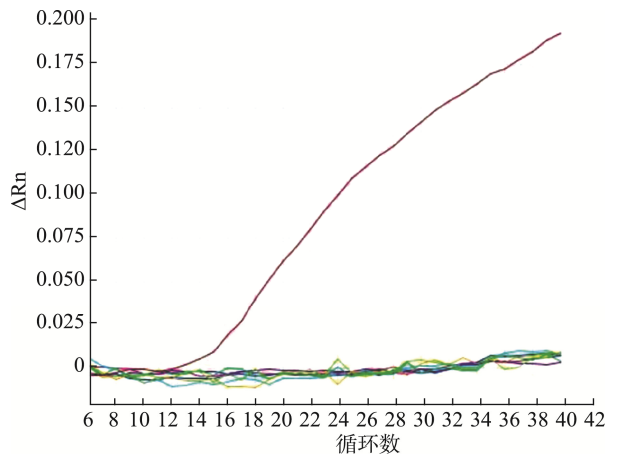
1.4 数据处理

所有实验均重复 3 次, 使用 StepOne™ v2.3 对 qPCR 数据进行初步分析, Excel 2016 和 GraphPad Prism 10.4.1 进行数据处理分析与制图, 标准曲线的线性关系通过线性回归分析评估, Ct 值间差异的统计学分析采用方差分析法。

2 结果与分析

2.1 戊糖片球菌引物探针特异性验证

基于戊糖片球菌 *murI* 基因设计特异性引物和探针, 并以戊糖片球菌 DNA 和其他对照菌株 DNA 为模板, 通过 qPCR 方法对引物特异性进行验证。qPCR 检测结果如图 1 所示, 与其他对照菌株相比, 只在戊糖片球菌样品中检测到明显的荧光信号, 这一结果证实了根据 *murI* 基因设计的戊糖片球菌特异性引物和探针的特异性较好, 可用于后续实验检测。



注: 红色曲线为戊糖片球菌, 其他曲线为参考菌株。

图1 戊糖片球菌引物特异性验证

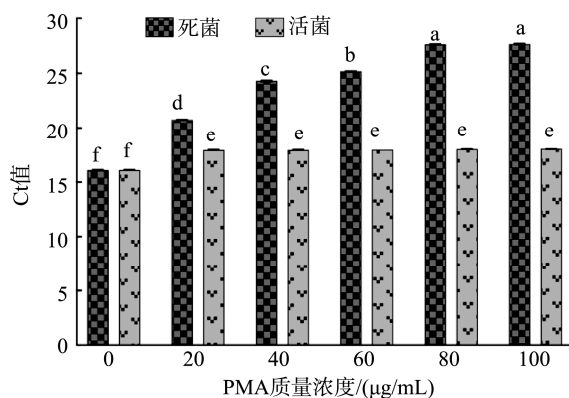
Fig.1 Primer specificity verification for *Pediococcus pentosaceus*

2.2 戊糖片球菌 PMA 处理条件优化

2.2.1 PMA 质量浓度的优化

分别添加不同质量浓度的 PMA 溶液对两类菌悬液进行处理, 并监测其 Ct 值的变化, 以探究不同 PMA 质量浓度对戊糖片球菌活菌/死菌悬液在 qPCR 扩增中的影响。如

图 2 所示, 不同质量浓度 PMA 处理的 Ct 值整体上呈现显著差异, 这说明 PMA 溶液可以有效抑制死菌 DNA 扩增。具体而言, PMA 质量浓度低于 80 $\mu\text{g/mL}$ 时, 随 PMA 质量浓度增加, 死菌 Ct 值逐渐增大, 可见低浓度 PMA 不能完全抑制死菌 DNA 的扩增, 而当 PMA 质量浓度达到或超过 80 $\mu\text{g/mL}$ 时, 各 PMA 浓度间 Ct 值无显著差异, 说明 80 $\mu\text{g/mL}$ 的 PMA 溶液已足够与死菌 DNA 充分结合, 从而有效抑制其扩增。同时, 不同浓度 PMA 处理对活菌 qPCR 扩增均无显著抑制作用, 故戊糖片球菌的最佳 PMA 处理质量浓度为 80 $\mu\text{g/mL}$ 。



注: 不同字母表示同种物质组间具有显著性差异 ($P < 0.05$), 图 3~5 同。

图 2 不同质量浓度 PMA 处理对戊糖片球菌死菌活菌 qPCR 扩增的影响

Fig.2 Effects of different mass concentrations of PMA treatment on the qPCR amplification of heat-killed and live *Pediococcus pentosaceus*

2.2.2 暗孵育时间的优化

适当增加暗孵育时间可以提升 PMA 结合死菌细胞 DNA 的效率, 从而更有效地抑制其 qPCR 扩增信号。如图 3 所示, 在暗孵育时间 0~15 min 范围时, 死菌 Ct 值随之显著上升, 而暗孵育时间为 15、20 或 25 min 时, Ct 值间不再表现出显著差异, 这说明暗孵育 15 min 已足够使 PMA 充分渗透并完全结合死菌 DNA, 实现对其扩增的有效抑制。此外, 不同暗孵育时间处理的活菌 Ct 值间基本无显著差异, 说明暗孵育处理对活菌 DNA 扩增无影响, 故戊糖片球菌的最佳暗孵育时间为 15 min。

2.2.3 曝光时间的优化

光照条件下, PMA 会释放叠氮基团与死菌 DNA 发生共价交联, 形成稳定的碳氮键, 进而抑制其 DNA 扩增。如图 4 所示, PMA 曝光时间少于 25 min 时, 死菌 Ct 值随曝光时间延长而显著上升, 这说明曝光时间不足以使 PMA 充分光解, 无法完全抑制死菌 DNA 扩增, 而当曝光时间超过 25 min 时, 死菌 Ct 值间不再表现出显著差异, 意味着进一步的延长曝光时间不会增强交联反应效果, 曝光 25 min 已足以使 PMA 充分光解。此外, 不同曝光时间处理的活菌 Ct 值之间无显著差异, 说明曝光时间处理同样对活菌 DNA 扩增无影响, 故戊糖片球菌的最佳 PMA 曝光时间为 25 min。

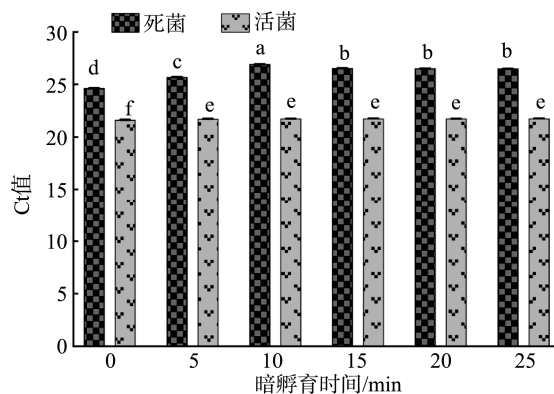


图 3 不同暗孵育时间处理对戊糖片球菌死菌活菌 qPCR 扩增的影响

Fig.3 Effects of different dark incubation time treatments on the qPCR amplification of heat-killed and live *Pediococcus pentosaceus*

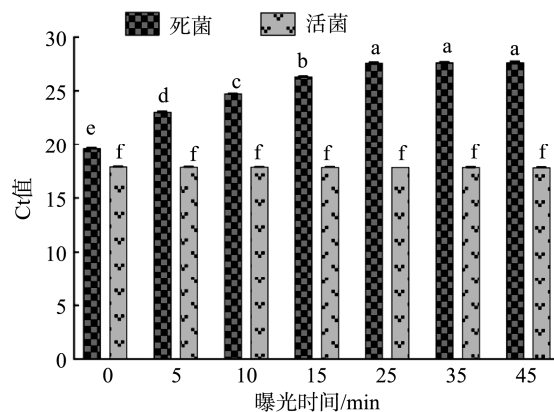


图 4 不同曝光时间处理对戊糖片球菌死菌/活菌 qPCR 扩增的影响
Fig.4 Effects of different exposure incubation time treatments on the qPCR amplification of heat-killed and live *Pediococcus pentosaceus*

2.3 PMA 对戊糖片球菌不同比例混合菌样的影响

如图 5 所示, 在无 PMA 处理的对照组中, Ct 值不受活菌比例的变化影响, 而在 PMA 处理的实验组中, Ct 值随活菌比例上升而显著下降, 且显著高于无 PMA 处理的 Ct 值, 当活菌比例达到 100% 时, 两者间的 Ct 值差异不再显著。这一结果表明, PMA 处理能够有效抑制死菌 DNA 扩增, 从而避免出现假阳性结果, 同时该处理对活菌 DNA 扩增无影响, 防止了假阴性结果产生。

2.4 PMA 处理的玫瑰酱样品中戊糖片球菌的最低检出限

通过构建玫瑰酱样品的 PMA-qPCR 方法标准曲线, 确定了该方法检测玫瑰酱中戊糖片球菌的最低检出限。对戊糖片球菌浓度范围为 10^7 至 10^2 CFU/mL 的玫瑰酱样品实施 PMA-qPCR 检测后, 如图 6 所示, 各菌浓度下的扩增曲线呈现出明显的分离趋势: 高浓度菌样的扩增曲线较早地跨越了阈值线, 而低浓度菌样则需要更多循环才能达到阈值线。细菌浓度的降低伴随着 qPCR 检测 Ct 值的逐渐升高,

说明了 qPCR 技术在检测不同菌浓度时的高灵敏度。标准曲线进一步揭示了 Ct 值与细菌浓度对数值间的良好线性关系,其回归方程为 $Y = -3.4926X + 47.68$, $r^2 = 0.9983$, 确定的最低检出限为 3.98×10^3 CFU/g。

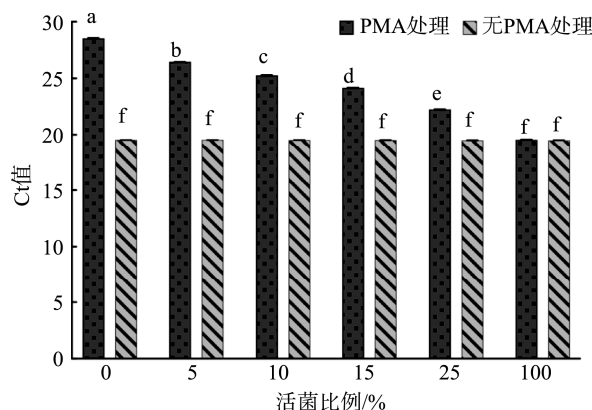


图5 PMA处理对不同死/活菌比例样品的影响

Fig.5 Effects of PMA treatment on the samples with different ratios of heat-killed and live bacteria

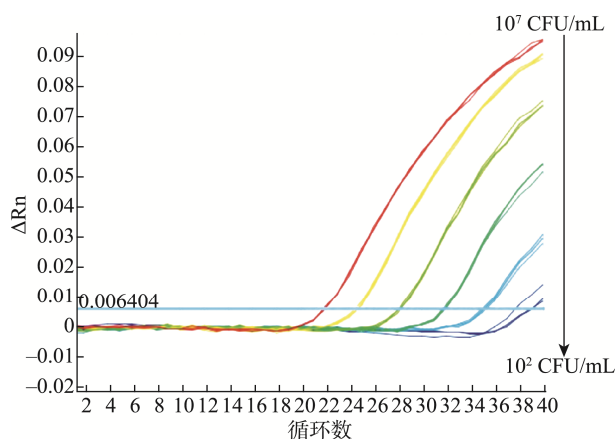


图6 玫瑰酱样品中戊糖片球菌的qPCR扩增图谱

Fig.6 qPCR amplification map of *Pediococcus pentosaceus* in rose jam samples

3 讨论与结论

戊糖片球菌因其在发酵食品中的功能性和益生特性而备受关注,并被报道为多种发酵基质的优势菌种^[25-26],但过量的戊糖片球菌可能会导致不良的发酵效果,影响产品质量,据研究报道,啤酒酿造过程中,戊糖片球菌作为一种潜在的污染微生物,可能会引起酒体混浊或出现酸败,并产生过量的双乙酰^[27]。因此,建立有效的戊糖片球菌活菌检测方法对于玫瑰酱质量控制具有重要意义。

相较于传统的平板菌落计数方法相比,PMA-qPCR 技术具有灵敏度高、检测周期短的显著优势,同时又弥补了传统 PCR 和 qPCR 在活菌检测中的局限性^[28],已被广泛应用于发酵微生物的定量检测^[29-32]。然而,目前尚未见其在戊糖片球菌活菌检测中的应用研究。特异性引物设计是

PCR 技术的关键步骤之一,能够确保仅针对目标基因进行扩增,本研究基于 NCBI 数据库选取 *murI* 基因作为戊糖片球菌的目标基因,设计了特异性引物和探针,该基因是一种不依赖辅因子的酶,对细菌肽聚糖的生物合成途径至关重要^[33],实验结果表明 PMA-qPCR 能够特异性检测戊糖片球菌,同时对于常见的乳酸菌和食源性致病菌均无非特异性扩增,证实了设计的戊糖片球菌特异性引物和探针具有良好的特异性和排他性。

但 PMA-qPCR 技术依赖于 PMA 与死菌 DNA 结合的效率,而这种效率受菌株特性显著影响,尤其是革兰氏阴性菌与革兰氏阳性菌之间细胞膜结构的差异,研究表明,与革兰氏阳性菌相比,膜受损的革兰氏阴性菌更容易被 PMA 所渗透^[19]。此外,PMA 的浓度、暗孵育时间以及曝光处理时间也是影响 PMA 处理效果的关键因素,本研究通过优化 PMA 处理条件,确定适宜的 PMA 浓度和处理时间,即有效去除死菌 DNA 的干扰,又确保了活菌信号的完整性,随着 PMA 浓度增加以及处理时间延长,死菌 DNA 的抑制效果逐渐增强,但在达到平衡点后进一步提高这些参数对抑制效果的改善不明显,这与其他研究的优化结果相符^[21,31,34]。此外,在不同死菌/活菌比例混合菌液中,该方法能够有效抑制死菌 DNA 的扩增,特别是在死菌比例较高时,有效减少了假阳性结果的发生。本研究通过标准曲线的线性回归分析,验证了 PMA-qPCR 方法在检测玫瑰酱中戊糖片球菌的稳定性和可靠性,菌浓度对数值与 Ct 值之间具有良好的线性关系($r^2 = 0.9983$),最低检出限为 3.98×10^3 CFU/g。然而,与发酵乳制品基质的相关研究结果相比^[31,34],该检出限略高,这可能与食品基质的特性差异有关。玫瑰酱作为高糖食品,其较高的黏稠度可能限制 PMA 分子与死菌 DNA 结合的效率;此外,其基质中富含的酚类化合物等复杂成分可能干扰 qPCR 扩增反应,从而影响检测灵敏度。

本研究建立了玫瑰酱中戊糖片球菌的 PMA-qPCR 检测方法,并优化了 PMA 处理条件(80 μ g/mL PMA、暗孵育 15 min、曝光处理 25 min),在此条件下,该方法能够快速、准确地检测玫瑰酱中戊糖片球菌的活菌数,最低检出限为 3.98×10^3 CFU/g,这为功能性玫瑰酱的质量控制提供了有效的检测手段,也为 PMA-qPCR 技术在其他高糖食品基质中的应用奠定了基础,未来研究可进一步评估该方法在复杂食品基质中的适用性,并结合自动化和高通量检测技术推动其在食品工业中的大规模应用。

参考文献

- [1] QI Y, HUANG L, ZENG Y, et al. *Pediococcus pentosaceus*: screening and application as probiotics in food processing [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 762467.
- [2] JIANG S, CAI L, LV L, et al. *Pediococcus pentosaceus*, a future additive or probiotic candidate [J]. *Microbial Cell Factories*, 2021, 20: 45.
- [3] SABOORI B, SHAHIDI F, HEDAYATI S, et al. Investigating the probiotic properties and antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from an Iranian fermented dairy product, Kashk [J]. *Foods*, 2022, 11(23): 3904.

- [4] HA JH, KIM AR, LEE KS, *et al.* Anti-aging activity of *Lavandula angustifolia* extract fermented with *Pediococcus pentosaceus* DK1 isolated from *Diospyros kaki* fruit in UVB-irradiated human skin fibroblasts and analysis of principal components [J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2019, 29(1): 21–29.
- [5] AHMED S, ASHRAF F, TARIQ M, *et al.* Aggrandizement of fermented cucumber through the action of autochthonous probiotic cum starter strains of *Lactiplantibacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus* [J]. *Annals of Microbiology*, 2021, 71(1): 33.
- [6] LU K, WANG X, ZHOU Y, *et al.* Genomic characterization and probiotic potential assessment of an exopolysaccharide-producing strain *Pediococcus pentosaceus* LL-07 isolated from fermented meat [J]. *BMC Microbiology*, 2024, 24(1): 142.
- [7] JEONGHYUN Y, TAE WK, CHANG WC, *et al.* Antifungal mechanisms investigation of lactic acid bacteria against *Aspergillus flavus*: Through combining microbial metabolomics and co-culture system [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2024, 135(5): 112.
- [8] ZHANG Y, HU P, XIE Y, *et al.* Co-fermentation with *Lactobacillus curvatus* LAB26 and *Pediococcus pentosaceus* SWU73571 for improving quality and safety of sour meat [J]. *Meat Science*, 2020, 170: 108240.
- [9] SONG G, HE Z, WANG X, *et al.* Improving the quality of Suancai by inoculating with *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus* [J]. *Food Research International*, 2021, 148: 110581.
- [10] FUJIWARA M, KUWAHARA D, HAYASHI M, *et al.* Lowering effect of viable *Pediococcus pentosaceus* QU 19 on the rise in postprandial glucose [J]. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 2020, 39(2): 57–64.
- [11] CAO Z, PAN H, TONG H, *et al.* In vitro evaluation of probiotic potential of *Pediococcus pentosaceus* L1 isolated from paocai-a Chinese fermented vegetable [J]. *Annals of Microbiology*, 2016, 66(3): 963–971.
- [12] KIM JS, KIM JH, PALANIYANDI SA, *et al.* Yak-Kong soybean (*Glycine max*) fermented by a novel *Pediococcus pentosaceus* inhibits the oxidative stress-induced monocyte–endothelial cell adhesion [J]. *Nutrients*, 2019, 11(6): 1380.
- [13] BIAN X, YANG L, WU W, *et al.* *Pediococcus pentosaceus* LI05 alleviates DSS-induced colitis by modulating immunological profiles, the gut microbiota and short-chain fatty acid levels in a mouse model [J]. *Microbial Biotechnology*, 2020, 13(4): 1228–1244.
- [14] SHIN JS, JUNG JY, LEE SG, *et al.* Exopolysaccharide fraction from *Pediococcus pentosaceus* KFT18 induces immunostimulatory activity in macrophages and immunosuppressed mice [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2016, 120(5): 1390–1402.
- [15] 郑淑珍, 王伟, 董金金, 等. 食用玫瑰营养保健功能及产品开发研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2016, 37(23): 206–211.
- [15] ZHENG SY, WANG W, DONG JJ, *et al.* Research progress on nutrition health function and product development of edible rose [J]. *Food Research and Development*, 2016, 37(23): 206–211.
- [16] 杨文清, 李梦茹, 李西西, 等. 玫瑰酱的功能特性与香气成分分析[J]. *中国调味品*, 2023, 48(3): 156–160, 169.
- [16] YANG WQ, LI MR, LI XX, *et al.* Analysis of functional properties and aroma components of rose sauce [J]. *China Condiment*, 2023, 48(3): 156–160, 169.
- [17] 续钊, 张元馨, 卢前明. 玫瑰酱中微生物多样性分析及优势菌群的鉴定[J]. *中国调味品*, 2023, 48(3): 179–182.
- [17] XU Z, ZHANG YX, LU QM. Analysis of microbial diversity and identification of dominant microbial communities in rose sauce [J]. *China Condiment*, 2023, 48(3): 179–182.
- [18] 夏傲喃. 玫瑰酱中微生物多样性分析及优势菌群的鉴定[D]. 乌鲁木齐: 新疆大学, 2021.
- [18] XIA AON. Analysis of microbial diversity and identification of dominant flora in rose jam [D]. Urumqi: Xinjiang University, 2021.
- [19] 陈卓君, 魏铭, 林果, 等. PMA-qPCR 技术在发酵食品活菌计数中的应用[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 12(45): 242–248.
- [19] CHEN ZJ, WEI M, LIN G, *et al.* Application of PMA-qPCR in enumerating living microbes in fermented foods [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2019, 12(45): 242–248.
- [20] 王力均, 谭强来, 朱江, 等. 应用 PMA-qPCR 方法快速准确检测发酵乳制品中副干酪杆菌活菌的研究[J]. *中国微生物学杂志*, 2013, 25(1): 1–4.
- [20] WANG LJ, TAN QL, ZHU J, *et al.* Development of PMA-qPCR assay for rapid and accurate detection of viable *Lactobacillus paracasei* in fermented dairy products [J]. *Chinese Journal of Microecology*, 2013, 25(1): 1–4.
- [21] 张亚豪, 梁会朋, 常聪, 等. 基于实时荧光定量 PCR 技术监测四川工业泡菜发酵过程中主要细菌的变化[J]. *中国调味品*, 2018, 43(1): 35–38, 47.
- [21] ZHANG YH, LIANG HP, CHANG C, *et al.* The variation of main bacteria in fermentation of Sichuan industrial pickles monitored by real-time fluorescence quantitative PCR [J]. *China Condiment*, 2018, 43(1): 35–38, 47.
- [22] 盖冬雪, 任洪林, 卢士英, 等. 乳品中大肠杆菌 PMA-qPCR 活菌检测方法的建立[J]. *中国畜牧兽医*, 2016, 43(2): 493–498.
- [22] GAI DX, REN HL, LU SY, *et al.* Establishment of PMA-qPCR assay for detection of viable *E.coli* in milk [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2016, 43(2): 493–498.
- [23] 陶怡君. 叠氮溴化丙锭结合 qPCR 检测与区分活菌和死菌的研究进展[J]. *微生物学免疫学进展*, 2020, 48(6): 63–68.
- [23] TAO YJ. Advances in detection and differentiation of live and dead bacteria by PMA-qPCR technology [J]. *Progress In Microbiology and Immunology*, 2020, 48(6): 63–68.
- [24] 彭琳媛, 林洪, 王静雪. PMA-qPCR 定量检测 VBNC 副溶血弧菌方法的建立与优化[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(1): 247–252.
- [24] PENG LY, LIN H, WANG JX. Development and optimization of PMA-qPCR for the quantitative detection of viable but non-culturable *Vibrio parahaemolyticus* [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(1): 247–252.
- [25] 吕旭聪, 刘志彬, 张雯, 等. 红曲黄酒传统酿造过程中优势细菌活菌检测方法的构建及应用[J]. *中国食品学报*, 2018, 18(7): 210–219.
- [25] LU XC, LIU ZB, ZHANG W, *et al.* Construction and application of detection method for viable dominant bacteria during traditional brewing of Hong Qu glutinous rice wine [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2018, 18(7): 210–219.
- [26] QAMAR H, HE R, LI Y, *et al.* Metabolome and metagenome integration unveiled synthesis pathways of novel antioxidant peptides in fermented lignocellulosic biomass of palm kernel meal [J]. *Antioxidants*, 2024, 13(10): 1253.
- [27] 谢鑫, 梁云, 郭立芸. 荧光定量 PCR 检测啤酒酿造过程中的戊糖片球菌[J]. *中外酒业*, 2016, 4(7): 19–24.
- [27] XIE X, LIANG Y, GUO LY. Detection of *Pediococcus pentosaceus* during beer brewing by fluorescence quantitative PCR [J]. *Global Alcinfo*, 2016, 4(7): 19–24.
- [28] GUO J, FAN F, WANG W, *et al.* Development of PMA-qPCR assay to accurately and reproducibly quantify viable bacteria of *Paenibacillus polymyxa* [J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2023, 76(11): ova127.
- [29] 曹怡芳, 周爱莲, 白泓, 等. 牛奶发酵过程中阪崎克罗诺杆菌可形成活的非可培养状态[J]. *现代食品科技*, 2022, 38(3): 56–62.
- [29] CAO YF, ZHOU AIL, BAI H, *et al.* Formation of viable but non-culturable state of *Cronobacter sakazakii* during milk fermentation [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2022, 38(3): 56–62.
- [30] 段亮杰, 沙雨婷, 罗意, 等. 叠氮溴化丙锭-荧光定量 PCR 法实时快速检测 5 种乳杆菌活菌数方法的建立与应用[J]. *微生物学通报*, 2020, 47(12): 4317–4327.
- [30] DUAN LJ, SHA YT, LUO Y, *et al.* Quantitative PCR combined with propidium monoazide treatment for real-time and rapid determination of five viable *Lactobacillus* [J]. *Microbiology China*, 2020, 47(12): 4317–4327.
- [31] 李畅, 任洪林, 卢士英, 等. 乳品中的酵母活菌数 PMA-qPCR 检测方法的建立及初步应用[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(22): 128–132.
- [31] LI C, REN HL, LU SY, *et al.* Development and application of PMA-qPCR method for detecting viable yeasts in dairy products [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2018, 39(22): 128–132.
- [32] SHI Z, LI X, FAN X, *et al.* PMA-qPCR method for the selective quantitation of viable lactic acid bacteria in fermented milk [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 984506.
- [33] WANG X, CHEN C, SHEN T, *et al.* Heterologous expression, purification and biochemical characterization of a glutamate racemase (Murl) from *Streptococcus mutans* UA159 [J]. *Peer J Life & Environment*, 2019, 7: e8300.
- [34] 马丹, 杨彬彬, 陶文靖, 等. 叠氮溴化丙锭-qPCR 法定量检测植物乳杆菌[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(12): 4867–4875.
- [34] MA D, YANG BB, TAO WJ, *et al.* Quantitative detection of *Lactobacillus plantarum* by propidium monoazide-qPCR [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2021, 12(12): 4867–4875.

(责任编辑: 韩晓红 安香玉)