

# 东北粘豆包酸面团菌群多样性与自制酸面团中 菌群变化规律的研究

姚笛<sup>1</sup>, 孙大庆<sup>2</sup>, 李洪飞<sup>2</sup>

(1. 黑龙江八一农垦大学食品学院, 黑龙江大庆 163319) (2. 国家杂粮工程技术研究中心, 黑龙江大庆 163319)

**摘要:** 东北粘豆包是我国北方地区一种历史悠久、风味独特的民族传统食品, 长期以来深受广大北方人民的喜爱, 但对东北粘豆包酸面团的研究十分匮乏。本文以不同地区采集的东北粘豆包酸面团和自制的东北粘豆包酸面团为研究对象, 利用聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳(polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis, PCR-DGGE)技术探究了东北粘豆包酸面团中微生物菌群的多样性及动态变化。实验结果表明: 在东北粘豆包酸面团中共鉴定了 6 个菌属、11 个菌种的细菌, 推测其中的发酵乳杆菌和植物乳杆菌为细菌优势发酵菌种; 同时鉴定了 3 个菌属、4 个菌种的真菌, 推测其中的酿酒酵母为真菌优势发酵菌种; 自制东北粘豆包酸面团中微生物菌群多样性比较丰富, 在不同发酵阶段, 菌群多样性与优势发酵菌种都会随时间推移而有所改变。

**关键词:** 东北粘豆包; 变性梯度凝胶电泳; 微生物多样性

文章篇号: 1673-9078(2015)5-90-95

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.5.015

## Microfloral Diversity and Dynamics in the Sourdough of Northeast Sticky Bean Buns and Homemade Sourdough

YAO Di<sup>1</sup>, SUN Da-qing<sup>2</sup>, LI Hong-fei<sup>2</sup>

(1.College of Food Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

(2.National Coarse Cereals Engineering research Center, Daqing 163319, China)

**Abstract:** The Northeast sticky bean bun is a popular traditional food in Northeast China with a long history and unique flavor. However, little research has been conducted on the sourdough used to prepare Northeast sticky bean buns. In this study, the polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE) technique was employed to study the diversity and dynamic changes of the microflora in homemade sourdough and samples of sourdough used for Northeast sticky bean buns collected from different Northeast provinces. There were six genera and 11 species of bacteria identified from the sourdough of Northeast sticky bean buns, and *Lactobacillus fermentum* and *Lactobacillus plantarum* were estimated to be the dominant species during fermentation. Moreover, three genera and four species of fungi were identified from the sourdough of Northeast sticky bean buns, and *Saccharomyces cerevisiae* was estimated to be the dominant species during fermentation. The microfloral diversity of the homemade sourdough was relatively rich. However, the microfloral diversity and dominant bacterial species continuously changed at different fermentation stages.

**Key words:** Northeast sticky bean buns; denaturing gradient gel electrophoresis; microbial diversity

东北粘豆包是我国北方满族人的一种民族传统食品, 已有上千年的悠久历史, 至今在我国广大北方地区仍然深受人民的喜爱。传统东北粘豆包多以黄米为原料, 采用自然发酵工艺制作而成, 风味好、口感佳、抗饥耐寒、营养丰富, 并逐渐演变成一种休闲食品、

收稿日期: 2015-01-10

基金项目: 黑龙江省垦区科研项目 (HNK11A-10-03); 黑龙江省青年科学基金资助项目 (QC2014C020)

作者简介: 姚笛(1980-), 女, 在读博士, 讲师, 研究方向: 食品微生物

通讯作者: 孙大庆(1979-), 男, 在读博士, 助理研究员, 研究方向: 食品微生物

节日食品。然而, 长期以来东北粘豆包的微生物学、加工工艺学等相关研究十分匮乏, 至今东北粘豆包的生产仍以自然发酵、家庭或作坊式生产为主, 生产过程中存在较大的质量与安全风险隐患, 因此东北粘豆包这一传统特色食品发展十分缓慢, 严重阻碍了它的工业化生产。

国内外关于酸面团中微生物菌群的研究较多, 但大多集中于小麦粉酸面团的研究<sup>[1]</sup>, 例如国外主要集中于面包酸面团中微生物菌群各菌种之间以及各菌种对酸面团主要营养成分发酵机理的研究<sup>[2-3]</sup>, 国内学者多集中于馒头、包子酸面团中微生物多样性的研究

[4-5]。以往研究表明,酸面团是一个复杂的微生物生态系统,在发酵过程中微生物菌群结构变化与酸面团理化性质紧密相关,并最终决定了产品的营养品质和风味特征。目前,关于黄米酸面团中微生物菌群的研究十分匮乏,而黄米酸面团的发酵过程对东北粘豆包的营养成分和风味的形成至关重要。因此,揭示酸面团发酵过程中微生物菌群结构及其变化规律是保障东北粘豆包产品质量的前提与基础。为此,本研究以不同地区采集的东北粘豆包酸面团和自制的东北粘豆包酸面团为研究对象,利用聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳 PCR-DGGE 技术,探究了东北粘豆包酸面团中微生物菌群组成的多样性,及其在发酵过程中微生物菌群结构变化的规律,这不仅有利于认识东北粘豆包酸面团中复杂的微生态体系,还可以为下一步研究发酵过程中各微生物之间相互作用及其对产品品质影响奠定基础,同时也为东北粘豆包今后工业化大规模生产提供重要的参考数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 样品来源

东北粘豆包酸面团样品 S1~S6 来自东北三省常年手工制作东北粘豆包的农民家庭,样品 S7 为本实验自制。样品信息见表 1。

表 1 东北粘豆包酸面团样品信息

Table 1 Northeast sticky bean bun sourdough samples

样品	主料	辅料	采样地点
S1	黄米粉	玉米粉	黑龙江省齐齐哈尔市富拉尔基区
S2	黄米粉	玉米粉、小麦粉	黑龙江省大庆市肇州县
S3	黄米粉	玉米粉	黑龙江省哈尔滨市平房区
S4	黄米粉	玉米粉	黑龙江省哈尔滨市宾县
S5	黄米粉	玉米粉、小麦粉	吉林省四平市铁东区
S6	黄米粉	玉米粉	辽宁省本溪市平山区
S7	黄米粉	玉米粉	本实验自制

#### 1.1.2 主要试剂

基因组 DNA 快速抽提试剂盒、PCR 试剂盒、PAGE 胶 DNA 回收试剂盒、引物及其它生化试剂,均购自生工生物工程(上海)股份有限公司。

#### 1.1.3 主要仪器

ME 分析天平,梅特勒-托利多国际贸易有限公司;HD-1360 超净工作台,北京东联哈尔仪器制造有限公司;EDC-810 型 PCR 仪,北京东胜创新生物科技有限公司;PowerPac™HC 高电流电泳仪电源、ChemiDoc™XRS+凝胶成像系统、Dcode™ 通用突变

检测系统, Bio-Rad 生命医学产品有限公司。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 样品采集

采集样品 S1~S6 为经过 2 d 自然发酵的东北粘豆包酸面团,样品收集至无菌管后保存于冰盒中备用。自制样品 S7 中主料黄米粉占面粉总质量 80%,辅料玉米粉占面粉总质量 20%。面团 37 °C 发酵 0 h、12 h、24 h、36 h 和 48 h 后取样进行后续试验分析。

### 1.2.2 样品总 DNA 提取

无菌条件下称取 10 g 酸面团样品,加入到 90 mL 无菌生理盐水中,用无菌玻璃棒搅拌混匀,取 5 mL 悬浮液 200 r/min 离心 10 min,收集上清 10000 r/min 离心 10 min,弃上清,其余试验步骤按照基因组 DNA 快速抽提试剂盒进行。

### 1.2.3 PCR 扩增

以提取的总 DNA 为模版,细菌采用 16S rRNA 基因 V3 区特异性引物 F357-GC: 5'-CGCCCGCCGC GCGCGGCGGGCGGGGCGGGGACGCGGGG-3' 和 R518: 5'-ATTACC GCGGCTGCTG G-3'进行扩增。以提取的总 DNA 为模版,真菌采用 26S rRNA 基因 D1/D2 区特异性引物 NL1-GC: 5'-CGCCCGCCG CGCGCGGCGGGCGGGGCGGGGCCATATCAATA AGCGGAGGAAAAG-3'和 LS2: 5'-ATT CCC AAA CAA CTC GAC TC-3'进行扩增。细菌和真菌的 PCR 反应体系和反应条件按照 Spitaels 等人报道的方法<sup>[6]</sup>进行。

### 1.2.4 DGGE 与图谱分析

细菌和真菌 PCR 产物分离用聚丙烯酰胺凝胶的制作和电泳条件分别参照 Temmerman<sup>[7]</sup>和 Cocolin<sup>[8]</sup>方法进行。电泳后凝胶均采用溴化乙锭进行染色和成像。标记 DGGE 图谱中特异性条带,胶回收特异性条带,由上海生工生物工程技术有限公司测序,测序结果利用 NCBI 的 BLAST 软件进行比对分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 东北粘豆包酸面团样品的 PCR 扩增

以东北粘豆包酸面团样品总 DNA 为模板,经细菌和真菌特异性引物进行 PCR 扩增,扩增产物电泳图如图 1 所示。由图 1 可知,所有样品细菌引物 PCR 扩增均获得一条约 200 bp 大小的特异性条带,所有样品真菌引物 PCR 扩增均获得一条约 250 bp 大小的特异性条带,它们分别与细菌 16S rRNA 的 V3 区和真菌 26S rRNA 的 D1/D2 区预期条带大小一致,可用于后

续 DGGE 分析。

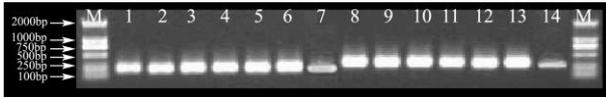


图1 样品总 DNA 扩增产物

Fig.1 Amplification product from the total DNA of samples

注: M: DNA Marker; 1~7: 样品S1~S7细菌PCR扩增产物; 8~14: 样品S1~S7真菌PCR扩增产物。

## 2.2 东北粘豆包酸面团中细菌多样性分析

经过 DGGE 电泳分离, 东北粘豆包酸面团采集样品 S1~S6 中细菌 PCR-DGGE 图谱如图 2 所示。

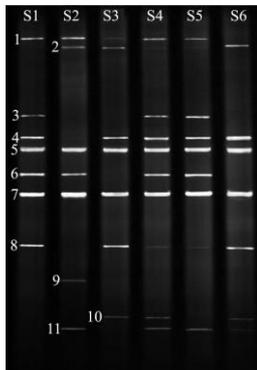


图2 东北粘豆包酸面团中细菌 PCR-DGGE 图谱

Fig.2 PCR-DGGE profiles of the bacteria in sourdough for Northeast sticky bean buns

由图 2 可知, 东北粘豆包酸面团 6 个样品的细菌 PCR-DGGE 图谱中共发现 11 个特异性扩增条带, 每个样品的扩增条带呈现出较大差异性, 得到的条带数量和清晰度均有不同, 这说明东北粘豆包酸面团中细菌多样性比较丰富。对 11 个特征条带进行回收和测序, 测序结果在 NCBI 数据库中进行 Blast 同源性比对, 比对结果如表 2 所示。

由图 1 和表 2 可知, 东北粘豆包酸面团 6 个样品中共检测到 11 种细菌, 它们分属于 6 个菌属, 其中发酵乳杆菌 (条带 5) 和植物乳杆菌 (条带 7) 存在于所有样品中; 短乳杆菌 (条带 4) 和罗伊氏乳杆菌 (条带 6) 存在于大部分样品中, 因此, 推测该 4 种乳杆菌是东北粘豆包酸面团的优势发酵菌种。对于丰度较低的 1、2、3、8、9、10 条带, 由于它们出现于部分样品中, 这表明, 这些菌种对于东北粘豆包酸面团发酵是机会发酵菌种。此外, 在 S2 样品中检测到一株恶臭假单胞菌的存在, 虽然过去在酸面团中较少检测到假单胞菌属的存在, 但近年利用非培养分子生物学方法已经证明, 假单胞菌属也是酸面团发酵的常见菌属<sup>[4]</sup>。

表 2 东北粘豆包酸面团细菌 PCR-DGGE 图谱中特征条带的比对结果

Table 2 Characteristic bands obtained in PCR-DGGE profiles of the bacteria in the sourdough samples

条带编号	鉴定菌种	一致性/%	序列登录号
1	解淀粉芽孢杆菌 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	96	NR116022.1
2	地衣芽孢杆菌 <i>Bacillus licheniformis</i>	98	NR074923.1
3	乳酸乳球菌 <i>Lactococcus lactis</i>	100	NR113960.1
4	短乳杆菌 <i>Lactobacillus brevis</i>	99	NR044704.1
5	发酵乳杆菌 <i>Lactobacillus fermentum</i>	98	NR113335.1
6	罗伊氏乳杆菌 <i>Lactobacillus reuteri</i>	97	NR075036.1
7	植物乳杆菌 <i>Lactobacillus plantarum</i>	99	NR115605.1
8	柠檬明串珠菌 <i>Leuconostoc citreum</i>	96	NR041727.1
9	恶臭假单胞菌 <i>Pseudomonas putida</i>	99	NR114479.1
10	醋化醋杆菌 <i>Acetobacter aceti</i>	100	NR026121.1
11	巴氏醋杆菌 <i>Acetobacter pasteurianus</i>	97	NR117257.1

由上述结果可知, 从东北粘豆包酸面团样品中共鉴定 6 个菌属、11 个菌种的存在, 不同地区采集样品中乳杆菌属相关菌种均表现为优势发酵菌种, 尤其是发酵乳杆菌和植物乳杆菌出现在所有样品中, 且条带相对丰度较高, 这与 Galli<sup>[9]</sup>、Van der Meulen<sup>[10]</sup>等人的研究结果是一致的。其他 5 个菌属相关菌种均为机会发酵菌种, 在不同来源样品中呈现出良好的多态性。

## 2.3 东北粘豆包酸面团中真菌多样性分析

经过 DGGE 电泳分离, 东北粘豆包酸面团采集样品 S1~S6 中真菌 PCR-DGGE 图谱如图 3 所示。

由图 3 可知, 从东北粘豆包酸面团 6 个样品的真菌 PCR-DGGE 图谱中可以发现 4 个特异性扩增条带, 条带 2 在所有样品中均出现, 其余 3 个条带在 6 个样品中具有一定的多样性。对 4 个特征条带进行回收和测序, 测序结果在 NCBI 数据库中进行 Blast 同源性比对, 比对结果如表 3 所示。

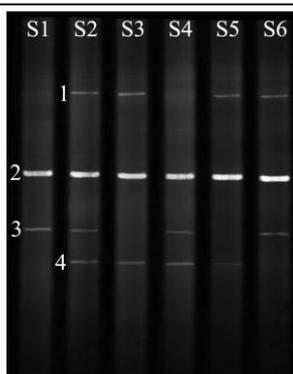


图3 东北粘豆包酸面团中真菌 PCR-DGGE 图谱

Fig.3 PCR-DGGE profiles of the fungi in the sourdough used for Northeast sticky bean buns

表3 东北粘豆包酸面团真菌 PCR-DGGE 图谱中特征条带的对比结果

Table 3 Characteristic bands obtained in PCR-DGGE profiles of the fungi in the sourdough samples

条带编号	鉴定菌种	一致性/%	序列登录号
1	奇异酵母 <i>Saccharomyces paradoxus</i>	96	EU669466.1
2	酿酒酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	99	AY152546.1
3	异常毕赤酵母 <i>Pichia anomala</i>	97	EF550341.1
4	东方伊萨酵母 <i>Issatchenkia orientalis</i>	95	EF550222.1

由图2和表3可知,东北粘豆包酸面团6个样品中共检测到4种酵母菌,它们分属于3个菌属,其中酿酒酵母(条带2)出现于所有样品中,且条带丰度最高,因此酿酒酵母是东北粘豆包酸面团的优势发酵真菌,这与以往学者的研究结论是一致的<sup>[11]</sup>。对于奇异酵母、异常毕赤酵母和东方伊萨酵母,它们仅出现于部分样品中,且条带丰度较低,这表明,这些菌种对于东北粘豆包酸面团发酵是机会发酵菌种。

#### 2.4 自制东北粘豆包酸面团发酵过程中菌群变化

为了进一步研究东北粘豆包酸面团在发酵过程中菌群的变化情况,我们采用传统配料和方法自制了东北粘豆包酸面团,在不同发酵时间下对酸面团中细菌和真菌菌群变化进行了PCR-DGGE试验。东北粘豆包酸面团发酵过程中细菌和真菌PCR-DGGE图谱如图4和图5所示。图4和图5中特征条带鉴定结果见表4和表5。

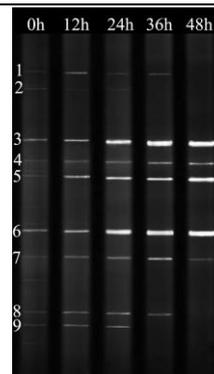


图4 东北粘豆包酸面团发酵过程中细菌 PCR-DGGE 图谱

Fig.4 PCR-DGGE profiles of the bacteria in the sourdough used for Northeast sticky bean buns during fermentation

由图4和表4可知,在酸面团发酵前,实验获得的细菌特征条带数量最多,其中9个特征条带被成功鉴定,它们分属于芽孢杆菌属、乳杆菌属、明串珠菌属和醋杆菌属。此外,由于部分条带丰度过低,并且在发酵开始后条带不再出现,这表明这些低丰度条带对应的菌株可能很少参与甚至不参与发酵过程,因此对这些低丰度条带没有进行菌种鉴定。随着发酵开始和发酵时间的延长,酸面团中细菌特征条带数量明显减少,但优势菌株条带丰度不断增加。例如蜡样芽胞杆菌和巴氏醋杆菌在发酵24h后已检测不到,而发酵乳杆菌、罗伊氏乳杆菌和植物乳杆菌特征条带丰度随时间一直在不断增加。经过48h发酵,酸面团中细菌特征条带显示为5条,包括乳杆菌属4个菌株和明串珠菌属1个菌株,其中发酵乳杆菌、罗伊氏乳杆菌和植物乳杆菌处于明显优势地位,比较36h和48h条带丰度可知,发酵乳杆菌和植物乳杆菌在36h时生长已趋于稳定。通过以上分析可知,实验室自制的东北粘豆包酸面团在发酵初期细菌菌群多样性比较丰富,通过鉴定至少有4个菌属9个不同菌种存在,在48h发酵过程中,乳杆菌属4个菌种条带丰度均有增加,其中发酵乳杆菌和植物乳杆菌条带丰度增长尤为显著,这表明乳杆菌属为酸面团优势发酵菌属,发酵乳杆菌和植物乳杆菌为酸面团优势发酵菌种,这一结论与不同地区东北粘豆包酸面团样品的实验结果一致,进一步证明了发酵乳杆菌和植物乳杆菌是东北粘豆包酸面团优势发酵菌种的结论。此外,自制酸面团中其余3个菌属5个菌种随着发酵时间的推移,其条带丰度基本呈现先上升后下降的趋势,并在不同的发酵时间后消失,这表明5个菌种在酸面团发酵过程中可能扮演着不同的阶段性角色,但总体而言这些菌种可称为机会发酵菌种。如芽孢杆菌属的解淀粉芽孢杆菌和蜡样芽胞杆菌都具有很强的淀粉和蛋白质分解能力<sup>[12,13]</sup>,

因此它们可能在面团发酵初期生长相当活跃，可以迅速将大分子淀粉和蛋白质分解成小分子的寡糖和寡肽，从而为其他微生物生长提供必要的营养物质。

表 4 东北粘豆包酸面团发酵过程中细菌 PCR-DGGE 图谱特征条带鉴定结果

Table 4 Characteristic bands obtained in PCR-DGGE profiles of the bacteria in the sourdough during fermentation

条带编号	鉴定菌种	一致性/%	序列登录号
1	解淀粉芽孢杆菌 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	97	NR116022.1
2	蜡样芽胞杆菌 <i>Bacillus cereus</i>	96	NR074540.1
3	发酵乳杆菌 <i>Lactobacillus fermentum</i>	97	NR113335.1
4	干酪乳杆菌 <i>Lactobacillus casei</i>	100	NR041893.1
5	罗伊氏乳杆菌 <i>Lactobacillus reuteri</i>	98	NR075036.1
6	植物乳杆菌 <i>Lactobacillus plantarum</i>	98	NR115605.1
7	柠檬明串珠菌 <i>Leuconostoc citreum</i>	95	NR041727.1
8	醋化醋杆菌 <i>Acetobacter aceti</i>	99	NR026121.1
9	巴氏醋杆菌 <i>Acetobacter pasteurianus</i>	96	NR117257.1

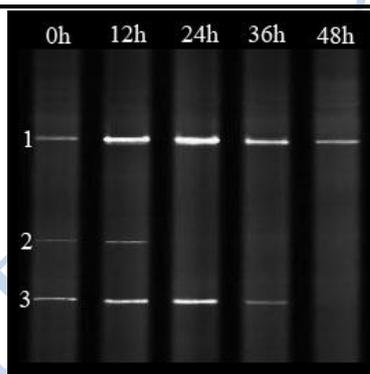


图 5 东北粘豆包酸面团发酵过程中真菌 PCR-DGGE 图谱

Fig.5 PCR-DGGE profiles of the fungi in the sourdough used for Northeast sticky bean buns during fermentation

由图 5 和表 5 可知，在实验室自制东北粘豆包酸面团中成功鉴定了 3 种真菌，它们分别是酿酒酵母、扣囊复膜酵母和异常毕赤酵母。在酸面团 48 h 发酵过程中，酿酒酵母始终可以检出，并在发酵 24 h 时，条带丰度达到最高，随后条带丰度逐渐减少；异常毕赤酵母在酸面团发酵过程中的生长趋势与酿酒酵母相似，条带丰度在发酵 24 h 时达到峰值，其后快速衰减，

在发酵 48 h 时，特征条带已没有检出；扣囊复膜酵母是检出真菌中生长最弱的，它在发酵 0~12 h 之间有低丰度的生长量，但发酵 24 h 已检测不到其特征条带。以上分析表明，自制东北粘豆包酸面团发酵过程中，酿酒酵母为优势发酵菌种，扣囊复膜酵母和异常毕赤酵母为机会发酵菌种。这一结论与不同地区来源的东北粘豆包酸面团样品的实验结果一致，进一步证明了酿酒酵母是东北粘豆包酸面团优势发酵菌种的结论。

表 5 东北粘豆包酸面团发酵过程中真菌 PCR-DGGE 图谱特征条带鉴定结果

Table 5 Characteristic bands obtained in PCR-DGGE profiles of the fungi in the sourdough during fermentation

条带编号	鉴定菌种	一致性/%	序列登录号
1	酿酒酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	99	AY152546.1
2	扣囊复膜酵母 <i>Saccharomycopsis fibuligera</i>	94	KJ883287.1
3	异常毕赤酵母 <i>Pichia anomala</i>	96	EF550341.1

### 3 结论

#### 3.1 东北粘豆包酸面团中细菌菌群组成

东北粘豆包酸面团中细菌多样性丰富，通过 PCR-DGGE 技术鉴定了 6 个菌属、11 个菌种，其中发酵乳杆菌和植物乳杆菌存在于所有采集样品中，推测它们是东北粘豆包酸面团优势发酵菌种，其余 9 个菌种在不同样品中呈现多态性，推测它们是东北粘豆包酸面团机会发酵菌种。

#### 3.2 东北粘豆包酸面团中真菌菌群组成

东北粘豆包酸面团中真菌种类较少，6 份样品中鉴定了 3 个菌属 4 个菌种真菌存在。酿酒酵母存在于所有采集样品中，推测酿酒酵母是东北粘豆包酸面团优势发酵菌种，其余 3 个菌种在不同样品中呈现多态性，推测它们是东北粘豆包酸面团机会发酵菌种。

#### 3.3 自制东北粘豆包酸面团发酵过程中菌群变化

在自制东北粘豆包酸面团发酵过程中，微生物菌群多样性逐渐减少，在不同发酵阶段菌群结构差异显著。细菌中发酵乳杆菌和植物乳杆菌为优势发酵菌种，参与整个发酵过程，发酵前期生长相对较弱，发酵中后期生长活跃，其余 9 个菌种为机会发酵菌种，参与

部分发酵过程, 扮演着阶段性发酵角色; 真菌中酿酒酵母为优势发酵菌种, 参与整个发酵过程, 发酵前期和中期生长活跃, 发酵后期生长减弱, 扣囊复膜酵母和异常毕赤酵母为机会发酵菌种, 仅在发酵前期或中期生长比较活跃, 之后减弱并消失。

### 参考文献

- [1] De Vuyst L, Van Kerrebroeck S, Harth H, et al. Microbial ecology of sourdough fermentations: Diverse or uniform? [J]. *Food Microbiology*, 2014, 37: 11-29
- [1] De Vuyst L, Vrancken G, Ravyts F, et al. Biodiversity, ecological determinants, and metabolic exploitation of sourdough microbiota [J]. *Food Microbiology*, 2009, 26(7): 666-675
- [2] Ercolini D, Pontonio E, De Filippis F, et al. Microbial ecology dynamics during rye and wheat sourdough preparation [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(24): 7827-7836
- [3] Zhang G, He G. Predominant bacteria diversity in chinese traditional sourdough [J]. *Journal of Food Science*, 2013, 78(8): M1218-M1223
- [4] 刘同杰, 李云, 吴诗榕, 等. 传统酸面团中细菌与酵母菌的分离与鉴定[J]. 现代食品科技, 2014, 30(9): 114-120  
LIU Tong-jie, LI Yun, WU Shi-rong, et al. Isolation and identification of bacteria and yeast from chinese traditional sourdough [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2014, 30(9): 114-120
- [5] Spitaels F, Wieme A D, Janssens M, et al. The microbial diversity of traditional spontaneously fermented lambic beer [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e95384
- [6] Temmerman R, Scheirlinck I, Huys G, et al. Culture-independent analysis of probiotic products by denaturing gradient gel electrophoresis [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(1): 220-226
- [7] Cocolin L, Bisson L F, Mills D A. Direct profiling of the yeast dynamics in wine fermentations [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2000, 189(1): 81-87
- [8] Galli A, Franzetti L, Fortina M G. Isolation and identification of sour dough microflora [J]. *Microbiologie, Aliments, Nutrition*, 1988, 6: 345-351
- [9] Van der Meulen R, Scheirlinck I, Van Schoor A, et al. Population dynamics and metabolite target analysis of lactic acid bacteria during laboratory fermentations of wheat and spelt sourdoughs [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(15): 4741-4750
- [10] Di Cagno R, Pontonio E, Buchin S, et al. Diversity of the lactic acid bacteria and yeast microbiota switching from firm to liquid sourdough fermentation [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(10): 3161-3172
- [11] Sietske A, Diderichsen B. On the safety of *Bacillus subtilis* and *B. amyloliquefaciens*: a review [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1991, 36(1): 1-4
- [12] Ceuppens S, Rajkovic A, Heyndrickx M, et al. Regulation of toxin production by *Bacillus cereus* and its food safety implications [J]. *Critical Reviews in Microbiology*, 2011, 37(3): 188-213