

# 传统发酵食品中具有抑菌活性乳酸菌筛选及其代谢产物稳定性分析

黄晓英<sup>1</sup>, 李启明<sup>2</sup>, 吴华星<sup>2</sup>, 刘绒梅<sup>2</sup>, 曹璐<sup>2</sup>, 万倩<sup>1</sup>, 于基成<sup>3</sup>, 唐俊妮<sup>1\*</sup>

(1. 西南民族大学食品科学与技术学院, 西南民族大学青藏高原动物遗传资源保护与利用教育部重点实验室, 四川成都 610041) (2. 乳品营养与功能四川省重点实验室, 新希望乳业股份有限公司, 四川省优质乳品制备与质量控制技术工程实验室, 四川成都 610023) (3. 大连民族大学生物技术与资源利用教育部重点实验室, 沈阳大连 116600)

**摘要:** 本文以传统发酵食品中筛选的 39 株乳酸菌为研究对象, 采用牛津杯法筛选具有优良抑菌特性的乳酸菌, 分别对菌株的生长曲线、产酸能力、耐胆盐、耐渗透压、耐酸碱、抑菌谱进行检测, 并研究代谢产物的稳定性。结果表明: 筛选出三株具有良好抑菌特性的菌株, 分别为植物乳杆菌 HS011、德氏乳杆菌 HS023、嗜热链球菌 HS033。三株菌经培养 20 h 后, 发酵液 pH 分别由 5.44、5.44、5.42 下降到 3.55、3.54、3.57; 三株乳酸菌能耐受 0.1% 以下的胆盐和 14% 的 NaCl 溶液; 在 pH 5.0~8.0 时生长情况良好; 且具有较为广泛的抑菌谱, 对大肠杆菌 O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>、蜡样芽孢杆菌、单增李斯特氏菌、阪崎肠杆菌等均有较好抑制作用, 但对霉菌和酵母无作用; 代谢产物经温度 (20~121 °C)、pH (2.0~8.0) 处理后仍有较好抑菌活性; 经木瓜蛋白酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶、蛋白酶 K、过氧化氢酶处理后菌株代谢产物抑菌活性未有明显变化。表明从传统发酵食品中筛选的乳酸菌具有良好益生特性, 其代谢产物稳定性好, 可作为发酵产品中的生产菌株, 可进一步开发利用。

**关键词:** 传统发酵食品; 乳酸菌; 代谢产物; 抑菌活性

文章编号: 1673-9078(2021)11-68-78

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.11.0423

## Screening of Traditional Fermented Food Products for Lactic Acid Bacteria with Antibacterial Activity and Stability Analysis of Their Metabolites

HUANG Xiaoying<sup>1</sup>, LI Qiming<sup>2</sup>, WU Huaxing<sup>2</sup>, LIU Rongmei<sup>2</sup>, CAO Jun<sup>2</sup>, WAN Qian<sup>1</sup>, YU Jicheng<sup>3</sup>, TANG Junni<sup>1\*</sup>

(1. College of Food Sciences and Technology, Key Laboratory of Qinghai-Tibetan Plateau, Animal Genetic Resource Reservation and Utilization of Ministry of Education, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China)

(2. Dairy Nutrition and Function, Key Laboratory of Sichuan Province, New Hope Dairy Company Limited, High-quality Dairy Processing and Quality Control, Engineering Laboratory of Sichuan Province, Chengdu 610023, China)

(3. Key Laboratory of Biotechnology and Bioresources Utilization, Dalian Minzu University, Dalian 116600, China)

**Abstract:** To identify lactic acid bacteria with excellent antibacterial properties, 39 strains of lactic acid bacteria from traditional fermented food products were screened using the Oxford cup method. The growth curve, acid production ability, bile salt tolerance, osmotic tolerance, acid and alkali tolerance, and antibacterial spectrum of each of the selected strains were investigated. Then, the stability of the metabolites of each of the chosen strains was studied. Finally, three strains with good antibacterial properties were identified. They are *Lactobacillus plantarum* HS011, *Lactobacillus delbrueckii*

引文格式:

黄晓英, 李启明, 吴华星, 等. 传统发酵食品中具有抑菌活性乳酸菌筛选及其代谢产物稳定性分析[J]. 现代食品科技, 2021, 37(11): 68-78

HUANG Xiaoying, LI Qiming, WU Huaxing, et al. Screening of traditional fermented food products for lactic acid bacteria with antibacterial activity and stability analysis of their metabolites [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(11): 68-78

收稿日期: 2021-4-18

基金项目: 四川省科技计划项目 (2019YJ0261; 2020YFN0153); 生物技术与资源利用教育部重点实验室开放课题 (KF2020008); 西南民族大学研究生创新项目 (CX2020SZ43)

作者简介: 黄晓英 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 畜产品加工与安全, Email: 718908262@qq.com

通讯作者: 唐俊妮 (1971-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品安全与食品微生物, E-mail: junneytang@aliyun.com

HS023, and *Streptococcus thermophilus* HS033. The pH values of their fermentation supernatants decreased from 5.44, 5.44 and 5.42 to 3.55, 3.54 and 3.57, respectively, after cultivation for 20 h. The three lactic acid bacteria can tolerate less than 0.1% bile salt and 14% NaCl, and grow well within the pH range of 5.0~8.0. All three strains have broad bacteriostatic spectrum and can effectively suppress the growth of *Escherichia coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, and *Enterobacter sakazakii*. However, the chosen *L. plantarum* strains have no inhibitory effects on molds and yeasts. The metabolites of these strains retained their antibacterial activity even after various treatments such as temperature (20~121 °C), pH (2.0~8.0), papain, trypsin, pepsin, proteinase K, and catalase treatments. The lactic acid bacteria isolated from traditional fermented food products have good probiotic properties, and their metabolites are stable, and can, therefore, be used as starters in fermented products and can be further developed and utilized.

**Key words:** traditional fermented food; lactic acid bacteria; metabolite; antibacterial activity

传统发酵食品中拥有大量的微生物类群, 其中最主要的类群是乳酸菌<sup>[1]</sup>。乳酸菌 (lactic acid bacteria, LAB) 是一类无芽孢、厌氧或兼性需氧的革兰氏阳性细菌, 能利用可发酵碳水化合物产生大量乳酸的细菌, 并且是属于基因多样性的细菌, 包括杆状细菌、球菌等<sup>[2]</sup>。研究发现, 乳酸菌产生的代谢产物有机酸、细菌素及其他抑菌物质对腐败菌和致病菌拥有较强的抑制作用, 从而能够防止食品腐败变质、延长食品的保质期, 可作为新型生物抑菌剂<sup>[3,4]</sup>。

随着食品工业的发展, 传统的抑菌保鲜方式已经不能满足现代食品行业的需求, 而乳酸菌作为生物抑菌剂的良好备选菌株, 可代替化学食品添加剂<sup>[5]</sup>。张颖等<sup>[6]</sup>将筛选到的具有抗真菌活性的乳酸菌作为辅助发酵剂用于酸奶的生产中, 发现该乳酸菌不仅能改善酸奶后酸化现象, 还能延长酸奶货架期。Axel 等<sup>[7]</sup>将具有抗菌活性的乳酸菌与酵母同时发酵烘焙产品时, 可以减少化学防腐剂的使用量, 并延长烘焙产品的保质期。同时, 乳酸菌又具有良好的安全性, 是公认的食品级安全微生物, 在食品中的安全性和有效性得到反复验证<sup>[8]</sup>。目前, 文献已报道将乳酸菌作为生物抑菌剂开始应用于不同食品保鲜中, 如肉制品保鲜<sup>[9]</sup>、水产品保鲜<sup>[10]</sup>、面制品保鲜<sup>[11]</sup>、果蔬保鲜<sup>[12]</sup>、豆制品保鲜<sup>[13]</sup>、乳制品保鲜<sup>[14]</sup>、鲜蛋保鲜<sup>[15]</sup>等。目前, 对于乳酸菌的资源开发还有很大的空间, 优良的菌种资源仍然比较匮乏。因此, 本研究拟从传统发酵食品中筛选具有良好抑菌作用的乳酸菌, 并进一步研究菌株代谢产物的稳定性, 为具有抑菌作用乳酸菌的开发和天然生物防腐剂的研究奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

MRS 肉汤培养基、LB 液体培养基、LB 琼脂培养基购自青岛海博生物技术有限公司; 马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)自配; 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、沙门氏菌

(*Salmonella*)、阪崎肠杆菌 (*Enterobacter sakazakii*)、大肠杆菌 O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> (*Escherichia coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>)、蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*)、单增李斯特氏菌 (*Listeria monocytogenes*) 标准菌株由西南民族大学食品微生物实验室保藏; 酿酒酵母购自安琪酵母股份有限公司; 青霉菌自行分离; 胃蛋白酶(100 U/mg)、胰蛋白酶(250 USP/mg)、木瓜蛋白酶(800 U/mg) 购自上海源叶生物科技有限公司; 氢氧化钠分析纯、氯化钠分析纯、浓盐酸、乳酸购自成都科龙化工试剂厂; 牛胆盐购自广东环凯微生物科技有限公司。

### 1.2 仪器与设备

SC-15 数控超级恒温槽, 宁波新芝生物科技股份有限公司; 318C+酶标仪, 上海沛欧分析仪器有限公司; TGL-16K 医用离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; UV-6100 分光光度计, 上海美普达仪器有限公司; MLS-3020 电热自动灭菌锅, 日本 SANYO 公司; GHP-9080 隔水式恒温培养箱, 上海齐欣科学仪器有限公司; HZQ-F160 恒温振荡培养箱, 江苏省太仓市实验设备厂。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 菌株来源

由新希望乳业股份有限公司从全国不同地区传统发酵食品中分离鉴定的 39 株乳酸菌作为本实验的试验菌株。包括植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) 10 株、德氏乳杆菌 (*Lactobacillus delbrueckii*) 13 株、乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*) 6 株、嗜热链球菌 (*Streptococcus thermophilus*) 9 株, 乳明串珠菌 (*Leuconostoc lactis*) 1 株, 具体菌株来源见表 1。

#### 1.3.2 优良抑菌活性乳酸菌筛选

指示菌悬液的制备<sup>[16]</sup>: 将指示菌金黄色葡萄球菌 ATCC43300、大肠杆菌 ATCC25922、沙门氏菌 H9812 接种到 LB 液体培养基中, 在 37 °C 下震荡培养 24 h, 用分光光度计调节菌浓度至 0.5 MCF (OD<sub>625 nm</sub> =0.08~0.13), 配制菌悬液备用。

表1 菌株的来源信息

Table 1 Source information of the strain		
菌株名称	菌株来源	菌株编号
<i>Lactobacillus plantarum</i>	牛羊奶混合酸奶	HS001
	牛羊奶混合酸奶	HS004
	牛羊混合酸奶	HS005
	奶疙瘩	HS006
	大白菜酸菜	HS007
	泡椒水	HS010
	泡椒水	HS011
	泡菜水	HS012
	酸菜	HS013
	泡菜水	HS014
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	酸奶	HS002
	牦牛酸奶	HS003
	酸奶	HS008
	酸奶	HS009
	毛豆腐	HS015
	腐乳半成品	HS 016
	腐乳酸水	HS017
	腐乳半成品	HS018
	牦牛酸奶	HS019
	牦牛酸奶	HS020
<i>Lactococcus lactis</i>	牦牛酸奶	HS021
	毛豆腐	HS022
	牦牛酸奶	HS023
	酸奶	HS024
	牛羊混合酸奶	HS 028
<i>Streptococcus thermophilus</i>	毛豆腐	HS029
	毛豆腐	HS030
	毛豆腐	HS032
	酸奶	HS040
<i>Leuconostoc lactis</i>	酥油	HS027
	牦牛酸奶	HS033
	酸奶	HS034
	牦牛酸奶	HS035
	牦牛酸奶	HS036
	酸奶	HS037
	酸奶	HS039
	牦牛酸奶	HS041
牦牛酸奶	HS042	
<i>Leuconostoc lactis</i>	毛豆腐	HS031

发酵上清液的制备<sup>[17]</sup>: 将分离鉴定过的 39 株乳酸菌以 2% 的接种量接种到 MRS 液体培养基中, 活化两代, 取第三代发酵培养液, 8000 r/min 离心 10 min,

收集上清液, 经 0.22  $\mu\text{m}$  的细菌过滤器过滤, 即为乳酸菌的无细胞上清液 (cellfree supernatant, CFS)。

采用牛津杯琼脂扩散法<sup>[18]</sup>进行筛选, 以金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、沙门氏菌为指示菌, 测定抑菌圈直径大小, 平行测定三次取平均值。

### 1.3.3 乳酸菌生长特性试验

#### 1.3.3.1 生长曲线和产酸曲线的测定<sup>[19]</sup>

取活化两次的乳酸菌按 2% 的接种量接种于 50 mL MRS 肉汤培养基中, 37  $^{\circ}\text{C}$  振荡培养, 分别在 0、2、4、6、8、10、12、16、20、24、36、48 h 处取适量测定发酵液的吸光值 ( $\text{OD}_{600\text{nm}}$ ) 以及其 pH 值, 平行测定三次取平均值, 绘制生长曲线图以及产酸曲线图。

#### 1.3.3.2 乳酸菌耐胆盐性测定<sup>[20]</sup>

取活化两次的乳酸菌按 2% 的接种量接种于含有 0%、0.03%、0.1%、0.2%、0.3% 的牛胆盐的 MRS 液体培养基中, 37  $^{\circ}\text{C}$  振荡培养 24 h 后测定发酵液的吸光值 ( $\text{OD}_{630\text{nm}}$ ), 平行测定三次取平均值。

#### 1.3.3.3 乳酸菌耐渗透压性测定<sup>[21]</sup>

取活化两次的乳酸菌按 2% 的接种量接种于含有 0%、2%、4%、6%、8%、10%、12%、14% 的氯化钠的 MRS 液体培养基中, 37  $^{\circ}\text{C}$  振荡培养 24 h 后测定发酵液的吸光值 ( $\text{OD}_{630\text{nm}}$ ), 平行测定三次取平均值。

#### 1.3.3.4 乳酸菌耐酸碱性测定<sup>[22]</sup>

调节 MRS 液体培养基的 pH 至 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0, 按 2% 接种量接种活化两次的乳酸菌, 37  $^{\circ}\text{C}$  振荡培养 24 h 后测定发酵液的吸光值 ( $\text{OD}_{630\text{nm}}$ ), 平行测定三次取平均值。

### 1.3.4 抑菌谱测定<sup>[23]</sup>

指示菌: 阪崎肠杆菌 ATCC29544、大肠杆菌 O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>、蜡样芽孢杆菌 ATCC11778、单增李斯特氏菌 CCIC21633、酿酒酵母、青霉菌。将指示菌按 1.3.2 制成一定浓度的菌悬液, 采用牛津杯琼脂扩散法测定, 细菌用 LB 琼脂培养基平板, 真菌用 PDA 琼脂培养基平板, 测定抑菌圈直径大小, 平行测定三次取平均值。

### 1.3.5 代谢产物稳定性试验

#### 1.3.5.1 抑菌物质对温度敏感性试验<sup>[24]</sup>

设立温度梯度 20  $^{\circ}\text{C}$ 、40  $^{\circ}\text{C}$ 、60  $^{\circ}\text{C}$ 、80  $^{\circ}\text{C}$ 、100  $^{\circ}\text{C}$ 、121  $^{\circ}\text{C}$ , 将乳酸菌的代谢产物分别在不同的温度里处理 15 min, 以金黄色葡萄球菌为指示菌, 按 1.3.2 测定抑菌圈直径大小, 平行测定三次取平均值。

#### 1.3.5.2 抑菌物质对 pH 敏感性试验<sup>[25]</sup>

用 1 mol/L 的盐酸和 1 mol/L 的氢氧化钠调节发酵上清液的 pH 值至 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0, 保持 2 h 后再调回发酵上清液的初始 pH 值, 以未调节过的发酵上清液为对照, 金黄色葡萄球菌为指示菌,

按 1.3.2 测定抑菌圈直径大小,平行测定三次取平均值。

### 1.3.5.3 抑菌物质对酶敏感性试验<sup>[26]</sup>

将木瓜蛋白酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶、蛋白酶 K、过氧化氢酶溶于 PBS 缓冲液中,得到一定浓度的蛋白酶母液。调节发酵上清液的 pH 至木瓜蛋白酶 (pH 5.0~7.0)、胰蛋白酶 (pH 7.8~8.5)、胃蛋白酶 (pH 2.0~4.0)、蛋白酶 K (pH 4.0~12.5)、过氧化氢酶 (pH 5.0~8.0) 反应的最适 pH,加入 PBS 蛋白酶母液使其最终浓度为 1 mg/mL,在 37 °C 恒温水浴 2 h 进行酶反应,再在 100 °C 下加热 10 min 进行灭酶处理,调节发酵上清液的 pH 至初始 pH 值,以未处理的发酵上清液作为对照,金黄色葡萄球菌为指示菌,按 1.3.2 测定抑菌圈直径大小,平行测定三次取平均值。

## 1.4 数据处理

使用 SPSS 21.0 和 Excel 统计软件进行数据分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 具有抑菌活性的乳酸菌筛选结果

采用牛津杯琼脂扩散法测定了 39 株乳酸菌对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、沙门氏菌的抑菌效果,结果详见表 2。由表 2 可知,56.41% 的实验菌株对三种指示菌均有抑菌作用,64.10% 的菌株对金黄色葡萄球菌有抑制作用,61.54% 的菌株对大肠杆菌、沙门氏菌有抑制作用。综合 HS011、HS023、HS033 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、沙门氏菌的平均抑菌直径达到了 14.83 mm、16.16 mm、15.00 mm,作为后续试验的菌株,这三株乳酸菌对指示菌都具有较好的抑菌效果,三株乳酸菌分别为 *Lactobacillus plantarum* MG5276、*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* strain NDO4、以及 *Streptococcus thermophilus* 3233。

乳酸菌可产生具有抑菌活性的代谢产物,利用乳酸菌的代谢产物作为生物防腐剂,或者直接利用具有抑菌特性的乳酸菌作为生物保护菌运用于发酵制品和食品原料保鲜中,这已经成为食品的热点研究领域<sup>[27,28]</sup>。吕欣然等<sup>[29]</sup>从辽西传统发酵食品中获得一株对单增李斯特菌有较强拮抗活性的植物乳杆菌,刘彩琴等<sup>[30]</sup>从黄酒米浆水中筛选出 36 株对蜡样芽孢杆菌和大肠杆菌具有抑菌作用的乳杆菌,吴诗敏等<sup>[31]</sup>从高山牧场的鲜牛奶中筛选到了对李斯特菌具有良好抑菌作用的乳酸乳球菌。本研究从传统发酵食品中筛选了具有优良抑菌特性的植物乳杆菌、德氏乳杆菌、嗜热链球菌,与文献报道中的结果相似,反映了传统发酵食品是优良乳酸菌菌株的重要来源。

表 2 具有抑菌活性乳酸菌的筛选结果

Table 2 Screening results of lactic acid bacteria with antibacterial activity

菌株编号	抑菌活性		
	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	沙门氏菌
HS001	+++	+	+
HS002	-	-	+
HS003	+	-	-
HS004	++	++	+++
HS005	+++	+	+
HS006	++	+	+
HS007	++	+	+
HS008	+	+	-
HS009	+++	+	+
HS010	+	+	+++
<b>HS011</b>	+++	++	+++
HS012	++	++	+
HS013	+	+	+
HS014	+++	+	+
HS015	++	+	+
HS016	++	+	+
HS017	+++	-	+
HS018	+++	+	++
HS019	+++	+	+
HS020	+	+	+++
HS021	+++	+++	+
HS022	+	++	++
<b>HS023</b>	+++	+++	+++
HS024	-	-	-
HS027	++	+	+++
HS028	-	+	-
HS029	-	-	-
HS030	-	-	-
HS031	-	-	-
HS032	-	-	-
<b>HS033</b>	+++	++	+++
HS034	+	++	++
HS035	-	-	-
HS036	-	-	-
HS037	-	-	-
HS039	-	-	-
HS040	-	-	-
HS041	-	-	-
HS042	-	-	-

注:“+++”、“++”、“+”表示不同的抑菌强度;“-”表示无

抑菌作用。

## 2.2 三株乳酸菌的生长特性

### 2.2.1 生长曲线和产酸曲线的测定

菌株 HS011、HS023、HS033 的生长曲线与产酸曲线如图 1 和图 2 所示。

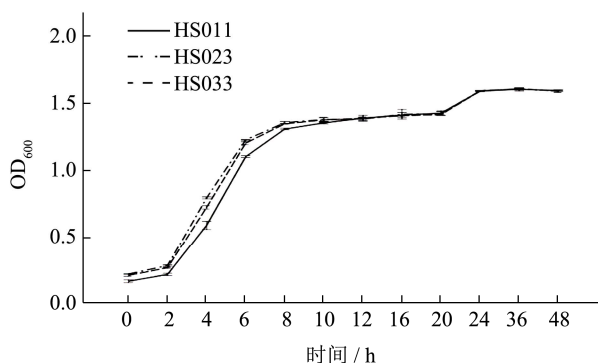


图 1 HS011、HS023、HS033 的生长曲线

Fig.1 Growth curve of HS011, HS023, HS033

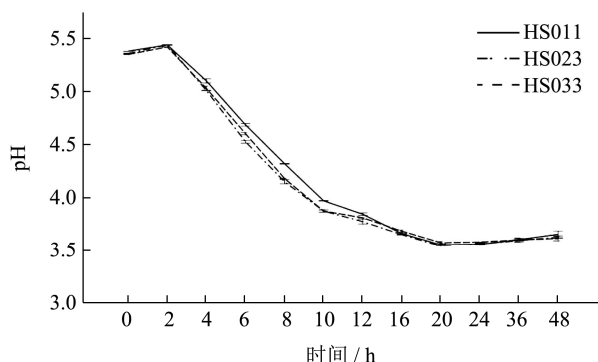


图 2 HS011、HS023、HS033 的产酸曲线

Fig.2 Acid production curve of HS011, HS023, HS033

将试验菌株按 2% 的接种量接种于 MRS 液体培养基中 37 °C 振荡培养 48 h, 每隔一段时间测定吸光度值 (OD<sub>600nm</sub>) 绘制生长曲线与产酸曲线。如图 1 所示为 HS011、HS023、HS033 的生长曲线, 0~2 h 内为延滞期, 时间较短; 2~8 h 为对数生长期, 这个期间三株乳酸菌的 OD<sub>600nm</sub> 的值分别由 0.202、0.269、0.252 左右增加到了 1.293、1.341、1.333; 8~36 h 是稳定期, 36 h 以后是衰亡期, HS023 最先到达稳定期, 但三株菌到达稳定期的时间都相差不大。由图 2 所示为 HS011、HS023、HS033 的产酸曲线, 主要是在对数生长期产酸最多, 2 h 后的培养基 pH 开始下降, 到 20 h 时产酸曲线趋于稳定, 三株菌发酵液的 pH 分别由 5.44、5.44、5.42 下降到 3.55、3.54、3.57。综上所述, HS023 的生长性能和产酸性能相对较好。

### 2.2.2 三株乳酸菌的耐胆盐性测定

菌株 HS011、HS023、HS033 的耐胆盐曲线如图 3 所示。

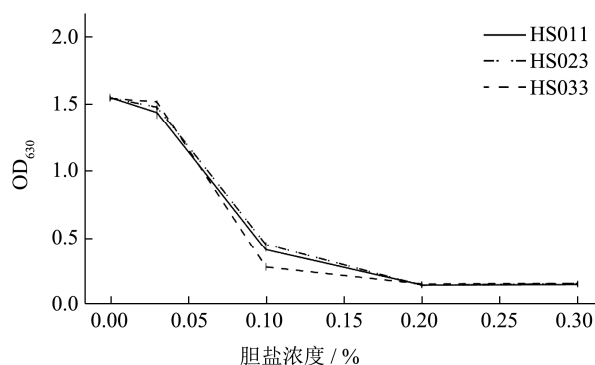


图 3 HS011、HS023、HS033 的耐胆盐曲线

Fig.3 The tolerance curve to bile salt of HS011, HS023, HS033

将试验菌株 HS011、HS023、HS033 分别接到牛胆盐含量为 0.03%、0.1%、0.2%、0.3% 的 MRS 培养基中培养 24 h 后测定其吸光度 OD<sub>630nm</sub> 值, 如图 3 所示, 胆盐含量在 0.1% 以下时对三种乳酸菌的生长影响较小, 随着胆盐含量从 0.03% 增加到 0.3%, 三株菌的生物量分别由 1.537、1.545、1.546 降到了 0.161、0.168、0.156。由图可知, HS023 的耐胆盐能力比另外两株乳酸菌好, 但都耐 0.10% 以下的胆盐。

小肠中胆汁浓度在 0.03%~0.30% 范围内波动<sup>[32]</sup>, 优良的乳酸菌应具备一定的耐受能力, 因为食品中添加的一些盐、酸类物质会对细菌的生长会造成一定的影响<sup>[33]</sup>。Dowarah 等<sup>[34]</sup>从仔猪粪便中分离得到的 30 株乳酸菌中有 20 株对胆盐有着良好的耐受性, Reuben 等<sup>[35]</sup>从农作物和肉鸡肠道中分离的 15 株乳酸菌对 0.3% 的胆盐具有良好耐受性。本实验三株乳酸菌对小于 0.1% 的胆盐具有一定的耐受性, 对 0.3% 的胆盐耐受性较差, 其生长受到较大的抑制。

### 2.2.3 三株乳酸菌的耐渗透压性测定

菌株 HS011、HS023、HS033 的耐渗透压曲线如图 4 所示。

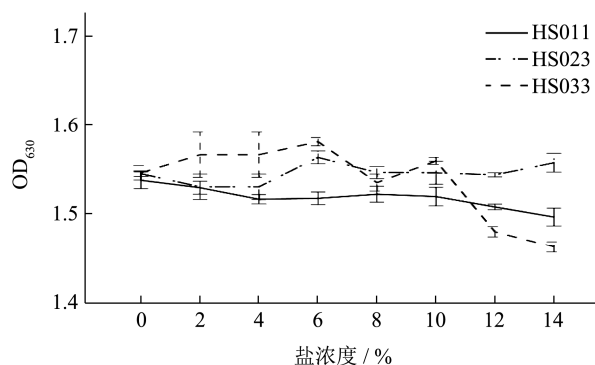


图 4 HS011、HS023、HS033 的耐渗透压曲线

Fig.4 The osmotic pressure curve of HS011, HS023, HS033

由图 4 所示为 HS011、HS023、HS033 的耐渗透压曲线, HS011 的耐渗透压曲线相对较稳定, 随着 NaCl 的浓度增加, 菌体浓度呈下降趋势, 从 0% 到 14%

下降了 2.67%，该菌的耐渗透压性较好；HS023 和 HS033 的耐渗透压曲线在 NaCl 含量为 6.0% 的时候菌体浓度最高，吸光度分别达到了 1.563、1.581，其耐渗透压性较好，随着 NaCl 的含量增加，HS033 的菌体浓度下降较为明显，相比最高生物量时下降了 7.53%，HS023 的生物量则比较稳定。

尽管微生物对外界环境有一定的耐渗透压能力，但是盐胁迫引起的渗透压变化可导致细胞结构受损，导致细胞生理和代谢紊乱甚至死亡<sup>[36]</sup>。赵山山等<sup>[37]</sup>从贵州不同家庭自制的泡菜中分离得到的 11 株乳酸菌，对含量 8% 以下的 NaCl 具有较好的耐受性。本试验中嗜热链球菌 HS023 有着显著的渗透压性，在 8% NaCl 含量以上时依然有着较好的生长活性。

### 2.2.4 三株乳酸菌的耐酸碱性测定

菌株 HS011、HS023、HS033 的耐酸碱曲线如图 5 所示。

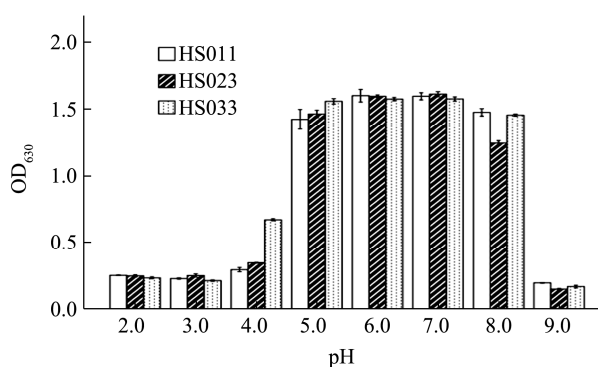


图 5 HS011、HS023、HS033 的耐酸碱能力

Fig.5 Acid and alkali resistance of HS011, HS023, HS033

乳酸菌在不同 pH 环境的生物量不同，如图 5 所示，三株乳酸菌在 5.0 ≤ pH ≤ 8.0 时生长情况良好，其 OD<sub>630 nm</sub> 值在 1.422~1.611 之间，在 pH < 5.0 和 pH > 8.0 时生长情况受到抑制，从牦牛酸奶中分离出的 HS033 比从泡椒水中分离的 HS011 能耐受更低的 pH。Lee 等<sup>[38]</sup>等发现从传统发酵泡菜中筛选到的植物乳杆菌比其它来源分离得到的菌株对低 pH 具有更好的耐受性。Szutowaska 等<sup>[39]</sup>等从羽衣甘蓝发酵汁中分离到的植物乳杆菌和短乳杆菌对低 pH 有着显著的耐受性。本试验中，从牦牛酸奶中分离得到的嗜热链球菌 HS033 对低 pH 的耐受性最好，这与报道的结果一致。

### 2.3 三株乳酸菌的抑菌谱测定

通过牛津杯法抑菌试验，探索筛选出的三株乳酸菌对其它 4 株致病菌以及霉菌和酿酒酵母的抑菌效果，结果如表 3、图 6 所示。

由表 3 可知，HS011 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、大肠杆菌 O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>、蜡样芽孢杆菌、单增李斯特菌

的抑菌效果较好，对沙门氏菌、阪崎肠杆菌的抑菌效果相对弱一些，对大肠杆菌 O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> 的抑菌圈直径达 20.15 mm；HS023 对阪崎肠杆菌、单增李斯特菌的抑菌效果不好，对其它有害菌均有较好的抑菌效果，对蜡样芽孢杆菌的抑菌圈直径达 19.20 mm；HS033 对大肠杆菌、大肠杆菌 O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>、蜡样芽孢杆菌的抑菌效果较好，对阪崎肠杆菌的抑菌效果相对最差，三株乳酸菌对真菌（霉菌和酿酒酵母）无抑制作用。

表 3 三株乳酸菌发酵上清液对不同微生物的抑菌谱

Table 3 Antibacterial spectrum of three lactic acid bacteria fermentation supernatants on different microorganisms

微生物	指示菌	HS011	HS023	HS033
G <sup>-</sup> 细菌	沙门氏菌	++	+++	++
	大肠杆菌	+++	+++	+++
	阪崎肠杆菌	++	+	+
	大肠杆菌 O <sub>157</sub> :H <sub>7</sub>	+++	+++	+++
G <sup>+</sup> 细菌	金黄色葡萄球菌	+++	+++	++
	蜡样芽孢杆菌	+++	+++	+++
	单增李斯特菌	+++	+	++
真菌	酿酒酵母	-	-	-
	霉菌	-	-	-

注：“+++”、“++”、“+”表示不同的抑菌强度；“-”表示无抑菌作用。

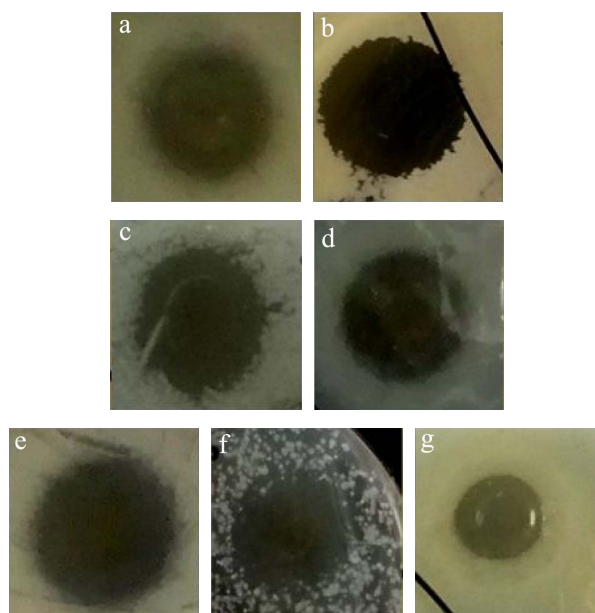


图 6 HS023 对细菌的抑菌圈

Fig.6 Inhibition zone of HS023 on different bacteria

注：(a) 金黄色葡萄球菌；(b) 蜡样芽孢杆菌；(c) 单增李斯特菌；(d) 沙门氏菌；(e) 大肠杆菌；(f) 大肠杆菌 O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>；(g) 阪崎肠杆菌。

不同的乳酸菌有不同的生物学特性，其产生的抑菌物质也不尽相同，对不同的有害菌抑菌效果也会不

同<sup>[40]</sup>。王志新等<sup>[41]</sup>从传统东北酸菜中筛选到的 *plantarum* CNQ3 菌株也具有广谱抑菌活性; 孙悦等<sup>[42]</sup>从腌制白菜中分离筛选出 1 株乳酸菌, 对突变性大肠杆菌具有较强的拮抗活性; 伍元值等<sup>[43]</sup>从斜带石斑鱼肠道中分离了乳酸乳球菌对大肠杆菌无抑制作用, 但是对溶藻弧菌、副溶血弧菌、哈氏弧菌和嗜水气单胞菌有较显著的作用; 杨吉霞等<sup>[44]</sup>从牦牛奶酪中分离的 39 株乳酸菌对 9 株致病菌(蜡样芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌 O157:H7、单增李斯特氏菌、费氏柠檬酸杆菌、鼠伤寒沙门氏菌、阴沟肠杆菌、产气荚膜梭菌、宋内志贺菌)均有着良好的抑菌作用。本试验中, 三株乳酸菌产生的抑菌物质具有广谱抑菌活性, 但抑菌谱有一定差异, 对指示阳性菌的抑菌效果大于指示阴性菌, 对霉菌和酵母无抑菌效果。

## 2.4 三株乳酸菌代谢产物稳定性试验

### 2.4.1 代谢产物对温度的敏感性试验

菌株 HS011、HS023、HS033 的发酵上清液经过 20 °C、40 °C、60 °C、80 °C、100 °C、121 °C 不同温度处理后金黄色葡萄球菌的抑菌效果如图 7 所示。

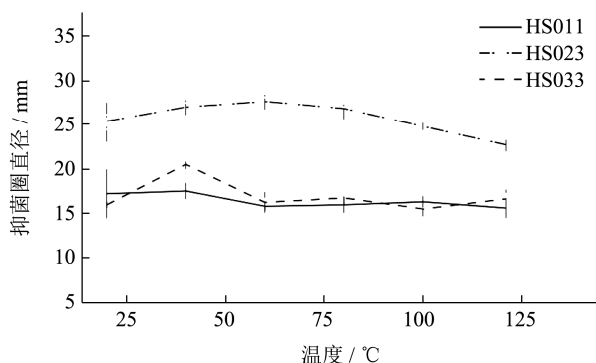


图 7 温度对菌株发酵液中抑菌物质抑菌活性的影响

Fig.7 The influence of temperature on the antibacterial activity of antibacterial substances in the fermentation broth

表 4 不同 pH 处理下发酵上清液抑菌活性的变化

Table 4 Changes of antibacterial activity of fermentation supernatant under different pH treatments

菌株编号	抑菌活性变化百分比/%						
	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0
HS011	-18.79	-10.90	-10.30	-1.82	-25.45	-16.97	-12.72
HS023	-21.35	-12.92	-27.53	-29.21	-29.21	-22.47	-20.79
HS033	-16.77	+1.20	+4.19	-11.38	-11.38	-18.56	-14.97

由图 8 可知, 未经 pH 处理的发酵上清液, HS023 对金黄色葡萄球菌的抑菌效果最好, 其抑菌圈直径达 16.50 mm, 经过不同 pH 处理后抑菌活性均有变化, 如表 4 所示, HS023 的发酵上清液对 pH 最敏感, 经过 pH 处理过后抑菌活性变化较大, 在 pH 3.0 的时候变化最小, 说明 HS023 代谢产物中的抑菌物质可能是有机

由图 7 可知, 在常温 20 °C 条件下三株菌的抑菌活性大小分别是 HS023>HS011>HS033, 经过不同温度处理后三株菌对指示菌的抑菌效果略有变化, HS011、HS023 的代谢产物抑菌活性对温度较为稳定, HS033 的代谢产物在 40 °C 时具有最强抑菌活性, 其它温度梯度内则较为稳定。HS023 的代谢产物抑菌活性高, 并且热稳定性好, 可用于高温加热处理的食品中。

乳酸菌产生的抑菌物质具有较好的热稳定性, 郭颖等<sup>[45]</sup>从内蒙古传统发酵乳制品中分离筛选的 1 株具有抑菌活性的乳酸菌产生的抑菌物质经过 100 °C 处理后仍然有较好的抑菌活性, 张君超等<sup>[46]</sup>从广西巴马村天然发酵米粉中分离的一株植物乳杆菌产生的抑菌物质经过 121 °C 处理 15 min 后仍具有抑菌活性。本研究中经过各种温度处理后, 乳酸菌代谢产物依然有较好的热稳定性, 这与以上报道结果一致。

### 2.4.2 代谢产物对 pH 的敏感性试验

菌株 HS011、HS023、HS033 的发酵上清液的初始 pH 为 3.6 左右(对照组), 具有较好的抑菌活性。通过对发酵上清液进行不同 pH 处理后, 对金黄色葡萄球菌的抑菌效果如图 8 所示。

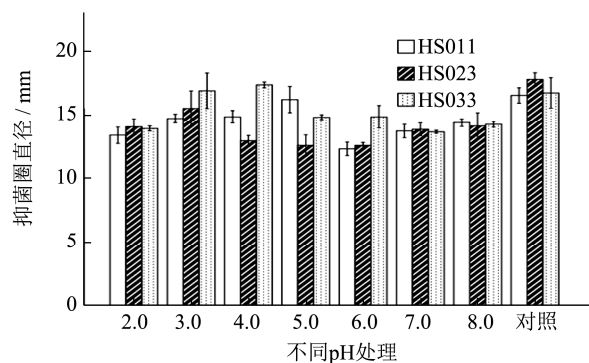


图 8 pH 对菌株发酵液中抑菌物质抑菌活性的影响

Fig.8 The effect of pH on the antibacterial activity of antibacterial substances in the fermentation broth

酸类, 在 pH 3.0 的时候具有最大抑菌活性; HS011 的发酵上清液在 pH 5.0 的时候抑菌活性变化最小, HS033 分别在 pH 3.0 的时候抑菌活性变化最小, 且比对照组的抑菌活性高。HS033 的代谢产物对 pH 的耐受性最好, 可能是抑菌类有机酸在抑菌物质中含量较少。

据报道, 乳酸菌产生的抑菌物质有蛋白质多肽类

物质、有机酸类、双乙酰、过氧化氢等<sup>[47]</sup>。路春波等<sup>[48]</sup>通过 GC-MS 代谢组学方法分析乳酸菌发酵上清液代谢物,发现对指示菌有抑菌作用主要成分是有有机酸,其代谢产物在 pH>5.0 时无抑菌效果,李卫娜等<sup>[49]</sup>利用高效液相色谱分析乳酸菌发酵液中的主要有机酸成分是乙酸,对大肠杆菌 O157:H7,金黄色葡萄球菌和单核细胞增生李斯特菌三种食源性致病菌均表现出很好的抑菌效果。本文研究了三株菌产生的抑菌物质对不同条件的敏感性,发现三株菌的抑菌物质在酸性条件下的抑菌活性较好。

### 2.4.3 代谢产物对酶的敏感性试验

菌株 HS011、HS023、HS033 的发酵上清液经过各种蛋白酶处理后,对金黄色葡萄球菌的抑菌效果如图 9 所示。

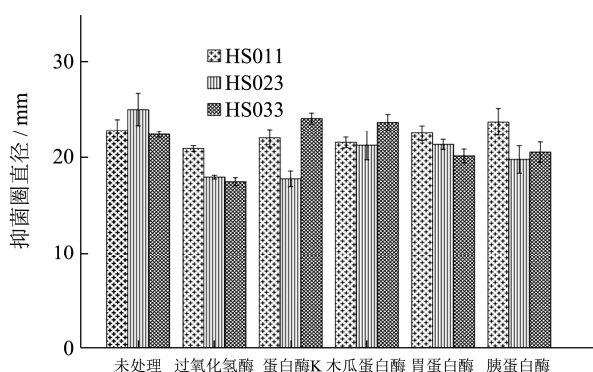


图 9 酶处理对菌株发酵液中抑菌物质抑菌活性的影响

Fig.9 The effect of enzyme treatment on the antibacterial activity of antibacterial substances in the fermentation broth

为了验证三株菌中的蛋白多肽类物质是否有抑菌活性,对三株菌的代谢产物进行酶处理试验。由图 9 可知,经过蛋白酶 K、木瓜蛋白酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶处理过的发酵上清液,其抑菌活性变化较小,但是没有明显降低,在蛋白酶 K 的作用下,HS023 的代谢产物抑菌活性降低最多,为 29.06%,说明三株菌代谢产物的抑菌活性的主要来源并不是蛋白多肽类物质,同时,也说明三株菌代谢产物的抑菌活性对酶类比较稳定,不易受酶的影响而改变抑菌活性。三株菌的代谢产物经过过氧化氢酶的处理,其抑菌活性均有降低,HS023 降低的最多(为 28.40%),这表明三株菌都有抑菌活性成分过氧化氢的产生。MAO 等<sup>[17]</sup>通过对植物乳杆菌的无细胞上清液用胰蛋白酶、胃蛋白酶和蛋白酶 K 处理后,抑菌活性对酶的敏感性小,稳定性好,这与本实验的研究结果一致。

## 3 结论

3.1 随着食品行业的不断发展,人们越来越注重食品的安全问题,传统抑菌方法添加化学食品添加剂有潜

在残留的危害,所以开发新型食品抑菌剂来代替传统食品抑菌剂对保证食品安全尤其重要。

3.2 本研究筛选出三株具有良好抑菌特性的菌株,分别为植物乳杆菌 HS011、德氏乳杆菌 HS023、嗜热链球菌 HS023。三株菌经培养 20 h 后,发酵液 pH 分别由 5.44、5.44、5.42 下降到 3.55、3.54、3.57;三株乳酸菌能耐受 0.1%以下的胆盐和 14%的 NaCl 溶液;在 5.0≤pH≤8.0 时生长情况良好;且具有较为广泛的抑菌谱,对大肠杆菌 O157:H7、蜡样芽孢杆菌、单增李斯特氏菌、阪崎肠杆菌等均有较好抑制作用,但对霉菌和酵母无作用;代谢产物经温度(20~121 °C)、pH(2.0~8.0)处理后仍有较好抑菌活性;经木瓜蛋白酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶、蛋白酶 K、过氧化氢酶处理后菌株代谢产物抑菌活性未有明显变化;通过 pH 敏感性实验和蛋白酶敏感性实验可以推测,三株乳酸菌的抑菌活性成分主要是有机酸和过氧化氢,HS023 产生的抑菌性有机酸最多,其中三株菌产生的蛋白多肽类物质具有一定的抑菌活性,但不是主要抑菌成分。

3.3 本研究从传统发酵食品中筛选到的三株具有优良抑菌活性的乳酸菌将来可用于食品发酵行业或者天然防腐剂领域,在食品保鲜方面将具有运用潜力。后续我们会对三株乳酸菌的发酵上清液进行深入研究,进一步分析其具体抑菌成分,并对其抑菌机理进行研究,为乳酸菌资源的开发应用提供科学依据。

## 参考文献

- [1] 刘飞翔,董其惠,吴蓉,等.不同国家和地区传统发酵食品及其发酵微生物研究进展[J].食品科学,2020,41(21):338-350  
LIU Feixiang, DONG Qihui, WU Rong, et al. Recent advances in traditional fermented foods and starter cultures for their production in different countries and regions [J]. Food Science, 2020, 41(21): 338-350
- [2] 陈森怡,刘振民,焦晶凯,等.干酪用乳酸菌的特性比较及新鲜干酪的制作[J].食品科学,2020,41(22):112-118  
CHEN Senyi, LIU Zhenmin, JIAO Jingkai, et al. Comparison of characteristics of lactic acid bacteria as starter cultures for cheese and application in fresh cheese production [J]. Food Science, 2020, 41(22): 112-118
- [3] 姚沛琳,王剑,张新剑,等.对大肠杆菌生物膜具有高抑制能力的乳酸菌的筛选[J].食品与发酵工业,2019,45(6):59-64  
YAO Peilin, WANG Jian, ZHANG Xinjian, et al. Screening of lactic acid bacteria with strong inhibitory effects on *Escherichia coli* biofilm formation [J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(6): 59-64
- [4] Aymerich T, Rodriguez M, Garriga M, et al. Assessment of



- the bioprotective potential of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes* on vacuum-packed cold-smoked salmon stored at 8 °C [J]. Food Microbiology, 2019, 83(8): 64-70
- [5] 杨慧轩,罗欣,梁荣蓉,等.乳酸菌作为生物抑菌剂在肉与肉制品中的应用研究进展[J/OL].食品科学:1-18 [2021-08-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20210224.1806.002.html>
- YANG Huixuan, LUO Xin, LIANG Rongrong, et al. Research progress in the application of lactic acid bacteria as biological antibacterial agents in meat and meat products [J/OL]. Food Science: 1-18[2021-08-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20210224.1806.002.html>
- [6] 张颖,刘同杰,公丕民,等.抗真菌乳酸菌的筛选及其在酸奶发酵中的应用[J/OL].食品与发酵工业:1-8[2021-04-22]. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.026864
- ZHANG Ying, LIU Tongjie, GONG Pimin, et al. Screening of anti-fungal lactic acid bacteria and its application in yogurt fermentation [J/OL]. Science and Technology of Food Industry: 1-8[2021-04-22]. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.026864
- [7] Axel C, Brosnan B, Zannini E, et al. Antifungal sourdough lactic acid bacteria as biopreservation tool in quinoa and rice bread [J]. Int J Food Microbiol, 2016, 239: 86-94
- [8] 高慢慢,焦新雅,张志胜,等.侗族传统发酵酸肉中乳酸菌的筛选、发酵特性及安全性分析[J].食品工业科技,2020,41(12):94-99,105
- GAO Manman, JIAO Xinya, ZHANG Zhisheng, et al. Screening, fermentation characteristics and safety analysis of lactic acid bacteria in Dong traditional fermented sour meat [J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(12): 94-99, 105
- [9] Giello M, Stora A L, Filippis F D, et al. Impact of *Lactobacillus curvatus* 54M16 on microbiota composition and growth of *Listeria monocytogenes* in fermented sausages [J]. Food Microbiology, 2018, 72(7): 1-15
- [10] Beatriz G S, Carmen H, Belen D F, et al. Strategies to increase the hygienic and economic value of fresh fish: biopreservation using lactic acid bacteria of marine origin [J]. International Journal of Food Microbiology, 2016, 223: 41-49
- [11] 全永亮,何忠宝,樊镇棣,等.乳酸菌在生湿面条保鲜的研究[J].现代食品,2016,1:124-126
- QUAN Yongliang, HE Zhongbao, FAN Zhendi, et al. Study on fresh keeping of lactic acid bacteria in fresh wet noodle [J]. Modern Food, 2016, 1: 124-126
- [12] Dhundale, Hemke, Desai. Evaluation and exploration of lactic acid bacteria for preservation and extending the shelf life of fruit [J]. International Journal of Fruit Science, 2018, 18(4): 355-368
- [13] 柴明艳.乳酸菌发酵液在豆浆保鲜中的应用研究[J].食品科技,2014,39(10):284-288
- CHAI Mingyan. Application of lactic acid bacteria fermentation liquor in soybean milk preservation [J]. Food Science and Technology, 2014, 39(10): 284-288
- [14] Pandey K K, Sood S K, Verma S K, et al. Bioutilization of paneer whey waste for production of paneer making powder containing pediocin PA-1 as a biopreservative to enhance shelf life of paneer [J]. LWT, 2019, 113: 108243-108243
- [15] 吴玲.乳酸菌发酵液涂膜保鲜剂对鸡蛋保鲜效果的研究[J].中国食品添加剂,2013,2:229-232
- WU Ling. The study of the effect of lactic acid bacteria fermentation liquor coating on the preservation of eggs [J]. China Food Additives, 2013, 2: 229-232
- [16] Lei S, Zhao R, Sun J, et al. Partial purification and characterization of a broad-spectrum bacteriocin produced by a *Lactobacillus plantarum* zrx03 isolated from infant's feces [J]. Food Science & Nutrition, 2020, 8(5): 2214-2222
- [17] Mao Y, Zhang X, Xu Z. Identification of antibacterial substances of *Lactobacillus plantarum* DY-6 for bacteriostatic action [J]. Food Science & Nutrition, 2020, 8(6): 2854-2863
- [18] Zhao J, Wang J, Yan Y, et al. *In vitro* assessment of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from vaginas of healthy cows [J]. Indian Journal of Animal Research, 2015, 49(3): 355-359
- [19] 潘晓倩,赵燕,张顺亮,等.中温乳化香肠中一株优势腐败菌的分离鉴定与生物学特性[J].食品科学,2016,37(7):93-98
- PAN Xiaoqian, ZHAO Yan, ZHANG Shunliang, et al. Isolation, identification and biological characterization of a dominant spoilage strain in emulsified sausages sterilized at medium temperature [J]. Food Science, 2016, 37(7): 93-98
- [20] Hyejin S, Hyun C Y, Hyeok Y J, et al. Probiotic properties of *Lactiplantibacillus plantarum* LB5 isolated from kimchi based on nitrate reducing capability [J]. Foods (Basel, Switzerland), 2020, 9(12)
- [21] Vo T, Park J H. Characteristics of potential gamma-aminobutyric acid-producing bacteria isolated from Korean and Vietnamese fermented fish products [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2019, 29(2): 209-221
- [22] Pooja P, Prakash T J. Probiotic properties of lactic acid

- bacteria isolated from traditionally prepared dry starters of the eastern Himalayas [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2021, 37(1)
- [23] Wang W, Ma H, Yu H, et al. Screening of *Lactobacillus plantarum* Subsp. *plantarum* with potential probiotic activities for inhibiting ETEC K88 in weaned piglets [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2020, 25(19): 4481-4481
- [24] Ren D, Zhu J, Gong S, et al. Antimicrobial characteristics of lactic acid bacteria isolated from homemade fermented foods [J]. Biomed Res Int, 2018: 5416725
- [25] Digaitiene A, Hansen Å S, Juodeikiene G, et al. Lactic acid bacteria isolated from rye sourdoughs produce bacteriocin-like inhibitory substances active against *Bacillus subtilis* and fungi [J]. J Appl Microbiol, 2012, 112(4): 732-742
- [26] Techo S, Visessanguan W, Vilaichone R K, et al. Characterization and antibacterial activity against helicobacter pylori of lactic acid bacteria isolated from Thai fermented rice noodle [J]. Probiotics Antimicrob Proteins, 2019, 11(1): 92-102
- [27] 吕懿超,李香澳,王凯博,等.乳酸菌作为生物保护菌的抑菌机理及其在食品中应用的研究进展[J/OL]. 食品科学 :1-14[2021-08-11].<http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20200924.1359.012.html>
- LYU Yichao, LI Xiang'ao, WANG Kaibo, et al. The antibacterial mechanism of lactic acid bacteria as biological protection bacteria and the research progress of its application in food [J/OL]. Food Science: 1-14[2021-08-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20200924.1359.012.html>
- [28] Ulpathakumbura C P, Ranadheera C S, Senavirathne N D, et al. Effect of biopreservatives on microbial, physico-chemical and sensory properties of Cheddar cheese [J]. Food Bioscience, 2016, 13: 21-25
- [29] 吕欣然,李莹,马欢欢,等.辽西传统发酵食品中抗单增李斯特菌乳酸菌的筛选与鉴定[J].食品工业科技,2016,37(3): 143-148
- LYU Xinran, LI Ying, MA Huanhuan, et al. Screening and identification of lactic acid bacteria with anti-*Listeria monocytogenes* from traditional fermented food in western Liaoning province [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(3): 143-148
- [30] 刘彩琴,陆胤,王石磊,等.黄酒米浆水中抗单增李斯特菌乳酸菌的筛选及特性分析[J].食品工业科技,2020,41(9):114-118
- LIU Caiqin, LU Yin, WANG Shilei, et al. Screening and characteristic analysis of antibacterial lactic acid bacteria from rice pulp of Huangjiu [J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(9): 114-118
- [31] 吴诗敏,雷文平,周辉,等.南山牧场牛乳中具有抑菌活性乳酸菌的筛选及鉴定[J].中国酿造,2019,38(5):108-112
- WU Shimin, LEI Wenping, ZHOU Hui, et al. Screening and identification of lactic acid bacteria with antibacterial activity in the milk of Nanshan pasture [J]. China Brewing, 2019, 38(5): 108-112
- [32] 赵芳,李艳琴,李彬春.模拟人体胃肠道环境筛选益生乳杆菌[J].微生物学通报,2016,43(6):1396-1403
- ZHAO Fang, LI Yanqin, LI Binchun. Screening of probiotic *Lactobacillus* in simulated gastrointestinal environment [J]. Microbiology, 2016, 43(6): 1396-1403
- [33] 熊蝶,袁岚玉,李媛媛,等.陕西泡菜中降解亚硝酸盐乳酸菌的筛选及其发酵特性与耐受性研究[J].食品与发酵工业,2021,47(6):139-144
- XIONG Die, YUAN Lanyu, LI Yuanyuan, et al. Screening of nitrite degrading lactic acid bacteria from Shaanxi pickles and their fermentation characteristics and tolerance [J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 47(6): 139-147
- [34] Dowarah R, Verma A K, Agarwal N, et al. Selection and characterization of probiotic lactic acid bacteria and its impact on growth, nutrient digestibility, health and antioxidant status in weaned piglets [J]. PLoS One, 2018, 13(3): e0192978
- [35] Reuben R C, Roy P C, Sarkar S L, et al. Isolation, characterization, and assessment of lactic acid bacteria toward their selection as poultry probiotics [J]. BMC Microbiol, 2019, 19(1): 253
- [36] 林松洋,郝利民,刘鑫,等.乳酸菌耐盐分子机制研究进展[J].食品科学,2018,39(3):295-301
- LIN Songyang, HAO Limin, LIU Xin, et al. Progress in molecular mechanism of salt tolerance in lactic acid bacteria [J]. Food Science, 2018, 39(3): 295-301
- [37] 赵山山,杨园园,周玉岩,等.贵州泡菜中乳酸菌的分离鉴定及其在泡菜发酵中的应用[J].中国酿造,2020,39(12):113-119
- ZHAO Shanshan, YANG Yuanyuan, ZHOU Yuyan, et al. Isolation and identification of lactic acid bacteria from Guizhou pickles and its application in pickle fermentation [J]. China Brewing, 2020, 39(12): 113-119
- [38] Lee K W, Shim J M, Park S K, et al. Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potentials from kimchi, traditional Korean fermented vegetable [J]. LWT Food Sci Technol, 2016, 71: 130-137

- [39] Szutowaska J, Gwiazdowska D. Probiotic potential of lactic acid bacteria obtained from fermented curly kale juice [J]. Arch Microbiol, 2021, 203(3): 975-988
- [40] 路则宝,王靓贤,姬志林,等.具抑菌活性乳酸菌筛选及抑菌活性物质分析[J].江苏农业科学,2019,47(6):170-173  
LU Zebao, WANG Liangxian, JI Zhilin, et al. Screening of lactic acid bacteria with antibacterial activity and analysis of antibacterial active substances [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2019, 47(6): 170-173
- [41] 王志新,韩烁培,王雨,等.植物乳杆菌的筛选、鉴定及其抑菌物质研究[J].食品工业科技,2019,40(9):133-139,146  
WANG Zhixin, HAN Shuopei, WANG Yu, et al. Screening and identification of *Lactobacillus plantarum* and studies on its antibacterial substances [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(9): 133-139, 146
- [42] 孙悦,刘佳伊,陈璐,等.抗耐药性大肠杆菌乳酸菌的筛选及抑菌机制[J].食品科学,2021,42(2):121-127  
SUN Yue, LIU Jiayi, CHEN Lu, et al. Screening of lactic acid bacteria for antagonistic activity against drug-resistant *Escherichia coli* and underlying mechanism [J]. Food Science, 2021, 42(2): 121-127
- [43] 伍元植,韦光本,简纪常,等.斜带石斑鱼肠道乳酸菌的分离、鉴定及特性分析[J].基因组学与应用生物学,2019,38(10): 4447-4455  
WU Yuanzhi, WEI Guangben, JIAN Jichang, et al. Isolation, identification and characteristics of lactic acid bacteria from intestine of *Epinephelus coioides* [J]. Genomics and Applied Biology, 2019, 38(10): 4447-4455
- [44] 杨吉霞,贺稚非,陈宗道.牦牛奶酪中产细菌素乳酸菌菌株的筛选[J].食品科学,2015,36(3):122-126  
YANG Jixia, HE Zhifei, CHEN Zongdao. Screening for bacteriocin-producing strains of lactic acid bacteria in yak cheeses [J]. Food Science, 2015, 36(3): 122-126
- [45] 郭颖,杨相宜,单艺,等.一株植物乳杆菌的鉴定及其抑菌特性研究[J].中国乳品工业,2013,41(8):12-16  
GUO Ying, YANG Xiangyi, SHAN Yi, et al. Identification of a *Lactobacillus plantarum* and analysis of its antibacterial properties [J]. China Dairy Industry, 2013, 41(8): 12-16
- [46] 张君超,谢远红,金君华,等.产乳酸菌素菌株的筛选鉴定及其特性分析[J].食品工业科技,2016,37(9):169-174  
ZHANG Junchao, XIE Yuanhong, JIN Junhua, et al. Identification and antimicrobial characters of a strain producing lactobacillin [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(9): 169-174
- [47] Salas M L, Mounier J, Valence F, et al. Antifungal microbial agents for food biopreservation - a review [J]. Micro Organisms, 2017, 5(3): 37
- [48] 陆春波,毛银,李国辉,等.植物乳杆菌 DY6 主要抑菌代谢物的分析和鉴定[J].微生物学通报,2019,46(9):2258-2271  
LU Chunbo, MAO Yin, LI Guohui, et al. Analysis and identification of main antibacterial metabolites secreted by *Lactobacillus plantarum* DY6 [J]. Microbiology, 2019, 46(9): 2258-2271
- [49] 李卫娜,黄文宇,柳陈坚,等.干酪乳杆菌发酵液中的主要有机酸及其抑菌性[J].食品工业科技,2019,40(3):60-64,70  
LI Weina, HUANG Wenyu, LIU Chenjian, et al. Main organic acids and antibacterial activity of *Lactobacillus casei* fermentation broth [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(3): 60-64, 70