

热处理对生乳中益生菌的影响研究进展

李宁, 赵圣国, 郑楠, 张养东*

(中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 农业部奶产品质量安全风险评估试验室(北京), 畜禽营养与饲养全国重点实验室, 北京 100193)

摘要: 生乳中的益生菌在食品领域中起着重要的作用。它们能够通过发酵过程改变产品的特性、增加营养价值, 并对人体健康产生积极影响。在生乳的加工和储存过程中, 热处理常用于控制微生物的生长并延长产品的保质期。热处理的温度和时间对生乳中的益生菌产生影响, 可能会对产品的质量和功能产生重要影响。本综述旨在总结生乳中常见的益生菌, 以及热处理对乳中益生菌的影响, 并探讨相应的保护和恢复方法。

关键词: 热处理; 生乳; 益生菌

文章编号: 1673-9078(2024)08-367-373

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.8.0837

Research Progress on the Impact of Heat Treatment on Probiotic Microorganisms in Raw Milk

LI Ning, ZHAO Shengguo, ZHENG Nan, ZHANG Yangdong*

(Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment for Dairy Products of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, State Key Laboratory of Animal Nutrition and Feeding, Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: Probiotic microorganisms in raw milk play a significant role in the food sector. They can alter product characteristics and increase nutritional value through fermentation, while exerting positive effects on human health. During the processing and storage of raw milk, heat treatment is commonly used to control pathogenic microbial growth and extend product shelf life. However, the temperature and duration of heat treatment can affect the probiotic microorganisms, potentially impacting the quality and functionality of the product. The aims of this review are to present an overview of common probiotic microorganisms in raw milk, investigate the effects of heat treatment on these microorganisms, and explore potential methods for their protection and restoration.

Key words: heat treatment; probiotic microorganisms; raw milk

引文格式:

李宁, 赵圣国, 郑楠, 等. 热处理对生乳中益生菌的影响研究进展[J]. 现代食品科技, 2024, 40(8): 367-373.

LI Ning, ZHAO Shengguo, ZHENG Nan, et al. Research progress on the impact of heat treatment on probiotic microorganisms in raw milk [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(8): 367-373.

收稿日期: 2023-07-12

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFD1301004), 国家奶牛产业技术体系(CARS-36), 中国农业科学院科技创新工程(ASTIP-IAS12)

作者简介: 李宁(1996-), 女, 博士生, 研究方向: 动物营养与饲料科学, E-mail: lining20211114@163.com

通讯作者: 张养东(1982-), 博士, 副研究员, 研究方向: 奶牛营养与牛奶品质调控, E-mail: zhangyangdong@caas.cn

近年来, 人们对健康问题的关注不断增加, 尤其是对于乳制品中的益生菌的认可度与重视程度也日益提高。乳制品中的益生菌被发现具有调节肠道菌群、增强免疫力、促进消化和吸收等多种功能^[1-3]。乳酸菌(Lactic Acid Bacteria, LAB)是生乳中最常见的益生菌之一, 它们通过发酵过程将乳糖转化为乳酸, 并产生酸性环境, 抑制有害

菌的生长^[4,5]。双歧杆菌 (*Bifidobacterium*) 也是一类常见的益生菌, 具有抑制致病菌生长、增强免疫功能和改善肠道健康等益处^[2,6]。此外, 生乳中还存在其他具有益生作用的微生物, 如酵母和霉菌等。

热处理方法常用于生乳的杀菌和保质处理, 常见的热处理方法包括巴氏杀菌处理、超高温 (Ultra High Temperature, UHT) 处理等^[7]。这些方法能够有效地杀灭有害菌和延长产品的保质期, 但同时也会对生乳中的益生微生物产生影响。研究表明, 不同的热处理方法对益生微生物的生存能力和活性有不同程度的影响^[8]。因此, 本文从生乳中常见的益生微生物、热处理对生乳益生微生物的影响以及保护和恢复益生微生物活性等方面进行综述。

1 生乳中常见的益生微生物

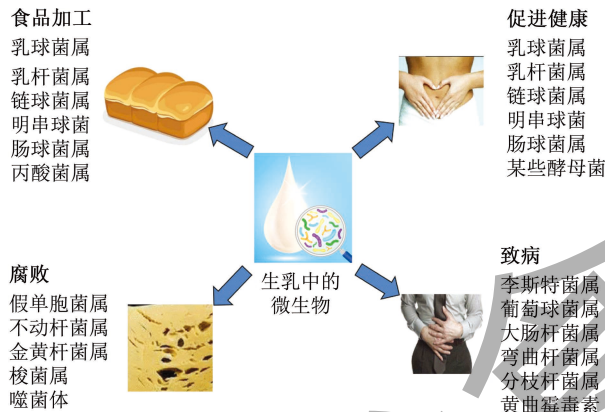


图 1 生乳中微生物的作用

Fig.1 Role of microorganisms in raw milk

生乳中微生物群体丰富^[9], 并且其微生物群的具体组成可直接影响乳制品的后续开发 (图 1)。益生微生物作为生乳中的生物活性成分 (图 2), 发挥重要的生理功能。比如, 益生微生物能下调下丘脑 - 垂体 - 肾上腺 (Hypothalamic-Pituitary-Adrenal, HPA) 轴 (被认为在抑郁症中过度活跃), 促进 γ -氨基丁酸的生物合成 (已知在抑郁症患者中 γ -氨基丁酸会减少), 从而减少抑郁症的发生^[10]。益生微生物常用于食品加工和开发, 促进人体健康。LAB 是最为重要的益生微生物之一, 它们通过将乳糖转化为乳酸进行发酵, 降低产品的 pH 值, 抑制有害菌的生长^[11]。LAB 在牛奶加工过程中扮演着至关重要的角色^[12-14], 这类微生物参与牛奶的发酵和微生物细胞产能过程, 其产生的物质可以显著改变最终产品的质地、风味和感官特性^[15]。值得一提的是,

LAB 还具备分解脂肪和水解蛋白的能力, 通过将氨基酸和甘油三酯转化, LAB 在加工过程中形成芳香化合物。因此, 在生乳加工过程中, 合理利用 LAB 的功能, 可以提高产品的品质和口感。

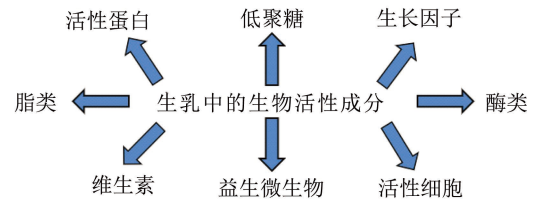


图 2 生乳中的生物活性成分

Fig.2 Bioactive components in raw milk

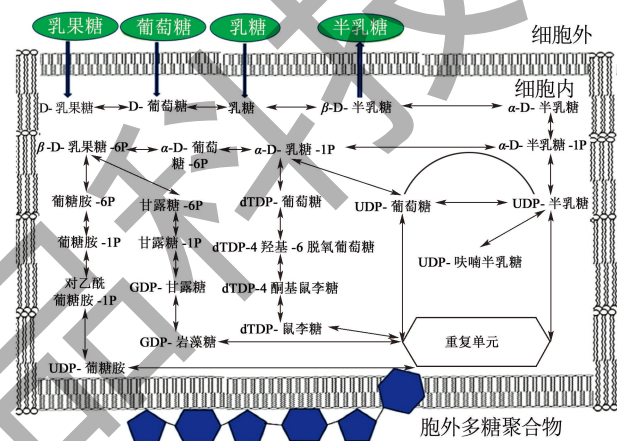


图 3 乳果糖、葡萄糖、乳糖和半乳糖产生胞外多糖的生物合成途径

Fig.3 Biosynthetic pathways for the production of extracellular polysaccharides from lactofructose, glucose, lactose and galactose

LAB 能够代谢产生多种有益物质, 包括胞外多糖和细菌素等。LAB 从乳糖、果糖、半乳糖和葡萄糖中产生胞外多糖的生物合成途径见图 3。细菌素是一种抗菌肽, 通过核糖体合成, 具有抗菌能力强、易降解、无残留、绿色安全等优点, 因此在食品添加剂领域有着良好的应用前景^[16]。一般情况下, 细菌素会从微生物产物或发酵培养物中提取, 并添加到食品中。此外, 由于细菌素对致病微生物和腐败微生物有抑制作用, 因此可以使用产生抗菌素的微生物 (如粪肠球菌、乳杆菌、乳球菌、片球菌等) 来替代传统的化学防腐剂^[17], 这些由微生物产生的抗菌肽会影响细菌细胞膜的通透性, 抑制细胞壁合成或针对细菌的 RNA 聚合酶, 从而发挥抑菌作用^[18]。生牛乳中常见的 LAB 包括乳球菌、链球菌、乳杆菌、明串珠菌、肠球菌 (表 1), 还包含一些酵母菌和霉菌^[9]。

表 1 生牛乳中常见的LAB种类及其含量
Table 1 Common lactic acid bacteria species and their content in raw cow's milk

微生物	含量/(CFU/mL)	参考文献
乳球菌	$8.2 \times 10^1 \sim 1.4 \times 10^4$	
链球菌	$1.41 \times 10^1 \sim 1.5 \times 10^4$	Delbes 等 2007 ^[19]
乳杆菌	$1.0 \times 10^2 \sim 3.2 \times 10^4$	Masoud 等 2011 ^[20]
肠球菌	$2.57 \times 10^1 \sim 1.58 \times 10^3$	Quigley 等 2013 ^[21]
明串珠菌	$9.8 \times 10^1 \sim 2.5 \times 10^3$	

1.1 乳球菌

乳球菌 (*Lactococcus*) 中的乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*)、乳酸乳球菌乳亚种 (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*) 和乳酸乳球菌乳脂亚种 (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) 通常用作奶酪制作过程中的发酵剂。乳酸乳球菌乳亚种变种 *diacetylactis* 在生产芳香族化合物方面起着作用^[22]。尽管这些微生物在生乳中天然存在,但它们常被添加到巴氏杀菌过的乳制品中,用于奶酪的制作^[23]。在奶酪制作过程中,这些微生物能产生 L-乳酸,并有助于蛋白质水解、氨基酸转化为风味化合物(醇、酮、醛)、柠檬酸利用和 / 或脂肪代谢^[24]。

1.2 乳杆菌

乳杆菌 (*Lactobacillus*) 约由 174 个不同的物种和 27 个亚种组成,存在于植物、动物、青贮饲料和生乳等环境中^[25]。随着人们对乳杆菌生物学功能的日益了解,乳杆菌的应用越来越广泛。一项荟萃分析表明,戊酸乳杆菌 (*Lactobacillus pentosus*) 菌株 b240 对老年人有免疫保护作用,口服 b240 可以降低老年人普通感冒的发病率^[26]。罗伊氏乳杆菌 (*Lactobacillus reuteri*) GMNL-263 可以降低高果糖喂养大鼠血液中的血清葡萄糖、糖化血红蛋白和 c 肽等糖尿病标志物^[27]。此外,乳杆菌水解蛋白,能产生芳香化合物和胞外多糖,对提高乳制品品质及营养价值都有帮助^[28]。如酸奶生产中常使用保加利亚乳杆菌 (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*),它与嗜热葡萄球菌 (*Streptococcus thermophilus*) 协同作用,能快速生长并酸化^[29]。瑞士乳杆菌 (*Lactobacillus helveticus*) 最早是从奶酪中分离出来的,但后来人们常从生乳和生乳制品中分离^[30]。在奶酪制作时,瑞士乳杆菌能迅速自溶,并释放胞内酵素,从而降低奶酪的苦味并增加其风味^[31]。

1.3 嗜热链球菌

嗜热链球菌 (*Streptococcus thermophilus*) 是一种嗜热的 LAB,作为发酵剂被广泛应用于乳制品生产中。该菌株具有快速将乳糖转化为乳酸的能力,使 pH 值降低,并产生甲酸、乙酸、乙醛等代谢产物^[32]。许多嗜热链球菌菌株能够产生胞外多糖,这有助于提高发酵乳制品的黏性和流变性^[33]。在奶酪生产过程中,嗜热链球菌可以单独使用或与其他 LAB 和嗜热链球菌发酵剂联合使用^[34]。而在酸奶的制作中,通常会与保加利亚乳杆菌一起使用^[35,36]。此外,传统的微生物学方法在分离嗜热链球菌时往往容易低估其含量,因此需要采用快速的分子和非培养依赖的方法,如变性梯度凝胶电泳 (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, DGGE) 和单链构象多态性 (Single Strand Conformation Polymorphism, SSCP),来检测其存在性^[37,38]。最新的一项研究表明,嗜热链球菌可以作为一种抑制小鼠结肠癌发生的新型药物,还可以增加肠道中双歧杆菌和乳杆菌等益生微生物的丰度^[39]。

1.4 明串珠菌

明串珠菌 (*Leuconostoc*) 通常存在于植物中,然而近年来在牛奶中发现了肠膜明串珠菌^[40]。明串珠菌的蛋白质水解活性较弱,需要依赖其他微生物代谢产生的氨基酸或肽来提供生长和繁殖所需的营养^[41]。明串珠菌在乳制品中可以进行代谢产生 CO₂,常被应用于蓝纹奶酪的制作过程中,其产生的大量气体可以形成奶酪中的孔洞结构^[42]。Yusuf 等^[43]还发现假肠膜明串珠菌 Y6 对肠胃环境有较强的抵抗力,具有良好的抗氧化和抗癌活性。

1.5 肠球菌

肠球菌 (*Enterococcus*) 是与食品加工相关的 LAB 中最具争议性的一种。它广泛分布于人类和动物的胃肠道中^[44]。根据不同的菌株,肠球菌可以被认为是发酵剂、益生菌、腐败菌或病原体^[45]。肠球菌能够在高温和高盐环境下生长,并且适应于不同的生长基质和条件。研究表明,肠球菌能够在巴氏杀菌乳中存活^[44,46,47],因此可能成为生乳、巴氏杀菌乳以及后续加工乳制品中微生物群的一部分。Foulquie 等^[48]对生乳制成的奶酪进行研究发现,肠球菌是参与发酵的重要组成部分,对奶酪的成熟和改善风味起着积极作用。肠球菌由于其蛋白水解活

性对乳制品的发酵起着重要作用,同时具备水解脂肪的能力,还能促使乙醛、丁二酮等风味化合物的形成^[49]。

1.6 其他微生物

除了前面提到的 LAB,还有一些与食品加工相关的微生物群体存在于乳中,尽管它们的含量相对较低。这些微生物包括一些细菌(如革兰阳性菌和革兰阴性菌)、酵母和霉菌。

革兰阳性菌在食品加工中常见。在奶酪生产过程中,棒状杆菌可以产生挥发性硫化物,这些化合物赋予奶酪大蒜、洋葱甚至卷心菜的味道,从而对奶酪的风味和香气形成起到重要作用^[50]。另外,双歧杆菌与人类和动物的胃肠道有关,它在生乳和发酵乳制品中常常被检测到,对于促进健康具有积极的影响^[51],已有研究证实双歧杆菌可改善轻至中度慢性肠炎患者的临床症状^[52]。在乳制品中引入双歧杆菌可以提供益生菌,有助于调节肠道菌群平衡,增强免疫力和消化功能。

革兰氏阴性菌在乳制品中也很常见,在奶酪中其数量可达到 $10^6\sim 10^7$ CFU/g^[49]。尽管革兰氏阴性菌通常被认为是乳制品卫生状况不佳的指标,如果存在致病菌,可能对健康构成风险,但某些细菌可能在乳制品的发酵过程中发挥作用,并对乳制品的感官质量产生积极影响^[53]。例如,蜂房哈夫尼菌(*Hafnia alvei*)在奶酪中有助于挥发性化合物的产生,特别是挥发性硫化物,这些化合物赋予奶酪特殊的风味和香气^[54]。因此,尽管乳制品中存在革兰氏阴性菌,但并非所有菌株都对产品质量有害。在乳制品的生产过程中,对这些微生物进行控制和合理利用是确保产品质量和安全的重要因素。

酵母和霉菌也是生乳中重要的微生物群体。汉斯德巴氏酵母菌(*Debaryomyces hansenii*)是一种具有利用乳糖和半乳糖能力的酵母菌。它能够在乳制品发酵过程中发挥重要作用^[55]。解脂耶氏酵母(*Yarrowia lipolytica*)则具有高蛋白水解或脂溶活性,对乳制品的口感和香气改善起到积极的作用^[56]。这些酵母菌耐高盐,并且可以在低温环境下生长。相比之下,霉菌在生乳中的水平通常较低。霉菌具有较强的蛋白质水解和脂肪水解能力,能够增强乳制品的风味和香气,改变其质地和结构。在生乳中常检测到的霉菌包括青霉菌、地衣菌、曲霉菌、毛霉菌和镰刀菌等^[57]。因此,酵母和霉菌在乳制品生产中发挥重要作用。它们的存在和活动对于

乳制品的口感、风味和质地具有影响。控制和管理这些微生物的生长和活性是确保乳制品质量和安全性的重要措施。

2 热处理对乳中益生菌的影响

在生乳的加工和储存过程中,热处理是常见的控制微生物生长和延长产品保质期的方法,主要包括巴氏杀菌处理和 UHT 处理等。不同的热处理方法对益生菌的影响存在差异。

巴氏杀菌处理对益生菌的影响相对较小。比如,大多数肠球菌可以在 $62.8\text{ }^\circ\text{C}$ 下存活 30 min,这也是肠球菌可以在巴氏杀菌乳生产的奶酪中存在的原因^[44]。嗜酸乳杆菌可以形成热休克蛋白,在 $65\text{ }^\circ\text{C}$ 下存活 40 min^[58]。但双歧杆菌耐受性较差,生长的最适温度为 $37\sim 41\text{ }^\circ\text{C}$,最低 $25\sim 28\text{ }^\circ\text{C}$,最高 $43\sim 45\text{ }^\circ\text{C}$ ^[59]。因此低温长时杀菌处理($60\sim 65\text{ }^\circ\text{C}$, $20\sim 30\text{ min}$)对双歧杆菌的存活率和活性有一定程度的影响。乳酸乳杆菌的最适生长温度为 $30\sim 42\text{ }^\circ\text{C}$,在 $50\text{ }^\circ\text{C}$ 热处理 30 min 后其生长几乎不能恢复^[60]。植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*) CGMCC 15013 细胞对热处理也非常敏感,在 $55\text{ }^\circ\text{C}$ 下加热 10 min 后,活细胞数量从 9.54 log CFU/g 减少至 3.57 log CFU/g ;在 $75\text{ }^\circ\text{C}$ 下加热 10 min 后,细胞无存活^[61]。

UHT 处理是一种较为极端的热处理方法,其温度一般在 $135\sim 150\text{ }^\circ\text{C}$,处理时间很短,通常在 $2\sim 5\text{ s}$ 。UHT 处理能够彻底杀灭绝大部分微生物,包括益生菌^[62]。因此,UHT 处理的产品中很难找到有活性的益生菌。

3 热处理对乳中益生菌的影响机制

热处理对益生菌的影响主要通过细胞结构和代谢过程的改变来实现。高温处理会导致微生物细胞膜的破坏和蛋白质的变性,从而引起微生物细胞结构的变化,影响其生存能力^[60]。在细胞学中,微生物细胞膜扮演着重要的角色,它不仅是细胞的保护屏障,还能够维持细胞的完整性和稳定性。然而,当微生物经历热处理时,细胞膜脂质会发生熔化和流动,导致细胞内的物质泄漏并最终引起细胞的死亡。Sharareh 等^[63]研究热处理对双歧杆菌 BB-12 细胞特性的影响发现,热处理导致双歧杆菌 BB-12 细胞膜损伤,可培养性降低。此外,高温处理还会引起微生物蛋白质的变性,蛋白质是微生物

细胞的重要组成部分,参与细胞的结构和功能。高温处理会使蛋白质的三维结构发生变化,使其失去正常功能^[64]。蛋白质的变性会导致细胞代谢和生理活动受到严重影响,进而降低微生物的生存能力。

热处理影响微生物的代谢途径和酶活性,影响其生存能力。Zhen 等^[65]研究热处理对嗜酸乳杆菌存活率的影响时发现,糖酵解途径中葡萄糖-6-磷酸异构酶和乳酸脱氢酶以及糖原生物合成途径中的磷酸葡萄糖糖化酶、UDP-葡萄糖焦磷酸化酶和糖基转移酶等关键酶的活性显著改变。双歧杆菌也具有特定的代谢途径和产物,高温处理可能会导致这些途径受到抑制或改变,从而影响其对宿主的益处^[66]。

4 保护和恢复生乳中益生菌的方法

为了保护和恢复生乳中的益生菌,研究人员提出了一些方法。一种常见的方法是通过低温贮存和包装技术,减缓微生物的代谢活动和细胞损伤,从而提高其存活率和稳定性^[67,68]。Chonticha 等^[69]将粪肠杆菌在脱脂乳条件下冻干发现,粪肠杆菌在储存 30 d 后仍保持对艰难梭状芽孢杆菌的抗菌活性。

此外,将益生菌进行微胶囊化处理可以进一步提高其存活率和稳定性,延长其在产品中的存活时间^[70]。微胶囊化可以将微生物包裹在保护层中,保护其免受热处理的影响。Orazio 等^[71]通过体外法研究微胶囊化对植物乳杆菌 PBS067、鼠李糖乳杆菌 PBS070 和动物双歧杆菌乳亚种 PBS075 活力的影响,结果表明,微胶囊可以提供物理屏障,阻止热传递和细胞膜破坏,从而提高菌株的存活率和稳定性。

5 结语

综上所述,热处理对生乳中的益生菌产生明显的影响。研究热处理对益生菌的影响机制和方法对于优化生乳加工和保证产品品质具有重要意义。未来的研究可以进一步探索不同热处理方法对微生物的影响机制,开发更加有效的保护和恢复方法,以提高生乳制品的品质和营养价值。

参考文献

[1] 崔欣美,乌力吉德力根.益生菌及其食品中应用研究进展[J].赤峰学院学报(自然科学版),2023,39(2):34-38.

- [2] SANDERS M E, MERENSTEIN D J, OUWEHAND A C, et al. Probiotic use in at-risk populations [J]. J Am Pharm Assoc, 2016, 56(6): 680-686.
- [3] HILL C, GUARNER F, REID G, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2014, 11(8): 506-514.
- [4] 焦璐,巨家升,周连玉,等.乳酸菌富硒特性及生物活性的研究进展[J].食品研究与开发,2021,42(14):178-184.
- [5] 谢玉锋,王龙飞,刘洋,等.功能性乳酸菌在食品中的应用及展望[J].粮食与油脂,2021,34(5):4-6.
- [6] 李吉平,陈雪,刘建华,等.双歧杆菌生物特性及其功能研究进展[J].中国奶牛,2020,6:57-61.
- [7] 郭利亚,杜兵耀,赵广英,等.基于牛奶的热处理加工工艺变化比较分析[J].中国乳业,2021,5:91-99.
- [8] MORTAZAVIAN A M, EHSANI M R, MOUSAVI S M, et al. Combined effects of temperature-related variables on the viability of probiotic micro-organisms in yogurt [J]. Australian Journal of Dairy Technology, 2006, 61(3): 248-252.
- [9] QUIGLEY L, O'SULLIVAN O, BERESFORD T P, et al. Molecular approaches to analysing the microbial composition of raw milk and raw milk cheese [J]. Int J Food Microbiol, 2011, 150(2-3): 81-94.
- [10] MUSAZADEH V, ZAREZADEH M, FAGHFOURI A H, et al. Probiotics as an effective therapeutic approach in alleviating depression symptoms: an umbrella meta-analysis [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2023, 63(26): 8292-8300.
- [11] 吴兴壮,李潇,王琛,等.乳酸菌在食品加工中的研究进展[J].辽宁农业科学,2023,1:60-63.
- [12] MORANDI S, BRASCA M, LODI R. Technological, phenotypic and genotypic characterisation of wild lactic acid bacteria involved in the production of Bitto PDO Italian cheese [J]. Dairy Science & Technology, 2011, 91(3): 341-359.
- [13] PERIN L M, BELVISO S, BELLO B D, et al. Technological properties and biogenic amines production by *Bacteriocinogenic lactococci* and *enterococci* Strains Isolated from Raw Goat's Milk [J]. J Food Prot, 2017, 80(1): 151-157.
- [14] RIBEIRO S C, COELHO M C, TODOROV S D, et al. Technological properties of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from Pico cheese an artisanal cow's milk cheese [J]. J Appl Microbiol, 2014, 116(3): 573-585.
- [15] MONTEL M C, BUCHIN S, MALLETA, et al. Traditional cheeses: rich and diverse microbiota with associated benefits [J]. Int J Food Microbiol, 2014, 177: 136-154.
- [16] 李海新,寇秀颖,谢新强,等.高抗菌活性乳酸菌拮抗食源性致病菌的研究进展[J].微生物学报,2022,62(10):3732-3740.
- [17] PERIN L M, BELLO B D, BELVISO S, et al. Microbiota of Minas cheese as influenced by the nisin producer *Lactococcus*

- lactis* subsp. *lactis* GLc05 [J]. Int J Food Microbiol, 2015, 214: 159-167.
- [18] DEEGAN L H, COTTER P D, HILL C, et al. Bacteriocins: Biological tools for bio-preservation and shelf-life extension [J]. International Dairy Journal, 2006, 16(9): 1058-1071.
- [19] DELBES C, MANDJEE L A, MONTEL M C. Monitoring bacterial communities in raw milk and cheese by culture-dependent and -independent 16S rRNA gene-based analyses [J]. Appl Environ Microbiol, 2007, 73(6): 1882-1891.
- [20] MASOUD W, TAKAMIYA M, VOGENSEN F K, et al. Characterization of bacterial populations in Danish raw milk cheeses made with different starter cultures by denaturing gradient gel electrophoresis and pyrosequencing [J]. International Dairy Journal, 2011, 21(3): 142-148.
- [21] QUIGLEY L, MCCARTHY R, SULLIVAN O O, et al. The microbial content of raw and pasteurized cow milk as determined by molecular approaches [J]. J Dairy Sci, 2013, 96(8): 4928-4937.
- [22] FUSIEGER A, PERIN L M, TEIXEIRA C G, et al. The ability of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* bv. *diacetylactis* strains in producing nisin [J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2020, 113(5): 651-662.
- [23] SMIT G, SMIT B A, ENGELS W J. Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products [J]. FEMS Microbiol Rev, 2005, 29(3): 591-610.
- [24] KAHALA M, MAKI M, LEHTOVAARA A, et al. Characterization of starter lactic acid bacteria from the Finnish fermented milk product viili [J]. J Appl Microbiol, 2008, 105(6): 1929-1938.
- [25] BERNARDEAU M, VERNOUX J P, DUBERNET S H, et al. Safety assessment of dairy microorganisms: the *Lactobacillus* genus [J]. Int J Food Microbiol, 2008, 126(3): 278-285.
- [26] SHINKAI S, TOBA M, SAITO T, et al. Immunoprotective effects of oral intake of heat-killed *Lactobacillus pentosus* strain b240 in elderly adults: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial [J]. British Journal of Nutrition, 2016, 116(6): 1138-1140.
- [27] SHARMA S, TRIPATHI P. Gut microbiome and type 2 diabetes: where we are and where to go? [J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2019, 63: 101-108.
- [28] LEROY F, VUYST L D. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry [J]. Trends in Food Science & Technology, 2004, 15(2): 67-78.
- [29] JIMENEZ L H, GUILLOUARD I, GUEDON E, et al. Postgenomic analysis of *Streptococcus thermophilus* cocultivated in milk with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*: involvement of nitrogen, purine, and iron metabolism [J]. Appl Environ Microbiol, 2009, 75(7): 2062-2073.
- [30] NASER S M, HAGEN K E, VANCANNEYT M, et al. *Lactobacillus suntoryeus* Cachat and Priest 2005 is a later synonym of *Lactobacillus helveticus* (Orla-Jensen 1919) Bergey et al. 1925 (Approved Lists 1980) [J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2006, 56(Pt 2): 355-360.
- [31] BROADBENT J R, CAI H, LARSEN R L, et al. Genetic diversity in proteolytic enzymes and amino acid metabolism among *Lactobacillus helveticus* strains [J]. J Dairy Sci, 2011, 94(9): 4313-4328.
- [32] HUANG Y Y, LU Y H, LIU X T, et al. Metabolic Properties, Functional Characteristics, and Practical Application of *Streptococcus thermophilus* [J]. Food Reviews International, 2023, 17: 792-813.
- [33] 李莎, 马成杰, 徐志平, 等. 不同发酵特性的嗜热链球菌与保加利亚乳杆菌共发酵的特性 [J]. 食品科学, 2015, 36(15): 123-127.
- [34] DELORME C. Safety assessment of dairy microorganisms: *Streptococcus thermophilus* [J]. Int J Food Microbiol, 2008, 126(3): 274-287.
- [35] URIOT O, DENIS S, JUNJUA M, et al. *Streptococcus thermophilus*: From yogurt starter to a new promising probiotic candidate? [J]. Journal of Functional Foods, 2017, 37: 74-89.
- [36] 黄艳娜, 游春苹, 刘振民. 保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌相互作用的研究进展 [J]. 乳业科学与技术, 2016, 39(6): 25-28.
- [37] RANDAZZO C L, TORRIANI S, AKKERMANS A D, et al. Diversity, dynamics, and activity of bacterial communities during production of an artisanal Sicilian cheese as evaluated by 16S rRNA analysis [J]. Appl Environ Microbiol, 2002, 68(4): 1882-1892.
- [38] DUTHOIT F, CALLON C, TESSIER L, et al. Relationships between sensorial characteristics and microbial dynamics in "Registered Designation of Origin" Salers cheese [J]. Int J Food Microbiol, 2005, 103(3): 259-270.
- [39] BOLOTIN A, QUINQUIS B, RENAULT P, et al. Complete sequence and comparative genome analysis of the dairy bacterium *Streptococcus thermophilus* [J]. Nat Biotechnol, 2004, 22(12): 1554-1558.
- [40] 臧文晶, 刘丽娜, 赵丹. 肠膜明串珠菌HDE1的分离鉴定及其胞外多糖抗氧化和牛奶凝结特性研究 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(4): 155-162.
- [41] HEMME D, SCHEUNEMANN C F. *Leuconostoc*, characteristics, use in dairy technology and prospects in functional foods [J]. International Dairy Journal, 2004, 14(6): 467-494.
- [42] RAMOS I M, SÁNCHEZ S R, SESEÑA S, et al. Assessment of safety characteristics, postbiotic potential, and technological stress response of *Leuconostoc* strains from different origins for their use in the production of functional dairy foods [J]. Lwt, 2022, 165: 113722.
- [43] ALAN Y, SAVCI A, KOCPINAR E F, et al. Postbiotic metabolites, antioxidant and anticancer activities of probiotic *Leuconostoc pseudomesenteroides* strains in natural pickles [J].

- Archives of Microbiology, 2022, 204(9): 571-584.
- [44] GIRAFFA G. Functionality of *enterococci* in dairy products [J]. Int J Food Microbiol, 2003, 88(2-3): 215-222.
- [45] BHARDWAJ A, KAPILA S, MANI J, et al. Comparison of susceptibility to opsonic killing by *in vitro* human immune response of *Enterococcus* strains isolated from dairy products, clinical samples and probiotic preparation [J]. Int J Food Microbiol, 2009, 128(3): 513-515.
- [46] LADERO V, LLANA E S, FERNÁNDEZ M, et al. Survival of biogenic amine-producing dairy LAB strains at pasteurisation conditions [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2011, 46(3): 516-521.
- [47] MCAULEY C M, GOBIUS K S, BRITZ M L, et al. Heat resistance of thermophilic *enterococci* isolated from milk [J]. Int J Food Microbiol, 2012, 154(3): 162-168.
- [48] MORENO M R F, SARANTINOPOULOS P, TSAKALIDOU E, et al. The role and application of *enterococci* in food and health [J]. Int J Food Microbiol, 2006, 106(1): 1-24.
- [49] QUIGLEY L, O'SULLIVAN O, STANTON C, et al. The complex microbiota of raw milk [J]. FEMS Microbiol Rev, 2013, 37(5): 664-698.
- [50] DEETAE P, BONNARME P, SPINLER H E, et al. Production of volatile aroma compounds by bacterial strains isolated from different surface-ripened French cheeses [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2007, 76(5): 1161-1171.
- [51] LAMENDELLA R, SANTO DOMINGO J W, KELTY C, et al. Bifidobacteria in feces and environmental waters [J]. Appl Environ Microbiol, 2008, 74(3): 575-584.
- [52] PLAZA-DIAZ J, RUIZ-OJEDA F J, VILCHEZ-PADIAL L M, et al. Evidence of the anti-inflammatory effects of probiotics and synbiotics in intestinal chronic diseases [J]. Nutrients, 2017, 9(6): 555.
- [53] PAUS C D, POCHET S, HELINCK S, et al. Impact of Gram-negative bacteria in interaction with a complex microbial consortium on biogenic amine content and sensory characteristics of an uncooked pressed cheese [J]. Food Microbiol, 2012, 30(1): 74-82.
- [54] IRLINGER F, YUNG S A, SARTHOU A S, et al. Ecological and aromatic impact of two Gram-negative bacteria (*Psychrobacter celer* and *Hafnia alvei*) inoculated as part of the whole microbial community of an experimental smear soft cheese [J]. Int J Food Microbiol, 2012, 153(3): 332-338.
- [55] POLOMSKA X, NEUVEGLISE C, ZYZAK J, et al. New cytoplasmic Virus-like elements (VLEs) in the yeast *Debaryomyces hansenii* [J]. Toxins (Basel), 2021, 13(9): 615.
- [56] SACRISTAN N, GONZALEZ L, CASTRO J M, et al. Technological characterization of *Geotrichum candidum* strains isolated from a traditional Spanish goats' milk cheese [J]. Food Microbiol, 2012, 30(1): 260-266.
- [57] LAVOIE K, TOUCHETTE M, GELAIS D S, et al. Characterization of the fungal microflora in raw milk and specialty cheeses of the province of Quebec [J]. Dairy Sci Technol, 2012, 92(5): 455-468.
- [58] KULKARNI S, HAQ S F, SAMANT S, et al. Adaptation of *Lactobacillus acidophilus* to thermal stress yields a thermotolerant variant which also exhibits improved survival at pH 2 [J]. Probiotics Antimicrob Proteins, 2018, 10(4): 717-727.
- [59] SHAH N P. Functional cultures and health benefits [J]. International Dairy Journal, 2007, 17(11): 1262-1277.
- [60] 满丽莉, 向殿军, 布日额, 等. 乳酸菌的热胁迫研究进展 [J]. 现代食品科技, 2019, 35(1): 281-287.
- [61] 万欣, 卢宗梅, 周勇, 等. β -葡聚糖作为包封剂对植物乳杆菌在模拟胃肠道和环境储存条件存活的影响 [J]. 现代食品, 2021, 22(58): 210-214.
- [62] LINDSAY D, ROBERTSON R, FRASER R, et al. Heat induced inactivation of microorganisms in milk and dairy products [J]. International Dairy Journal, 2021, 121: 105096.
- [63] BEHZADI S S, WU S, TOEGEL S, et al. Impact of heat treatment and spray drying on cellular properties and culturability of *Bifidobacterium bifidum* BB-12 [J]. Food Research International, 2013, 54(1): 93-101.
- [64] CEBRIÁN G, CONDÓN S, MAÑAS P. Heat resistance, membrane fluidity and sublethal damage in *Staphylococcus aureus* cells grown at different temperatures [J]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 289: 49-56.
- [65] ZHEN N, ZENG X, WANG H, et al. Effects of heat shock treatment on the survival rate of *Lactobacillus acidophilus* after freeze-drying [J]. Food Res Int, 2020, 136: 109507.
- [66] AAKKO J, SANCHEZ B, GUEIMONDE M, et al. Assessment of stress tolerance acquisition in the heat-tolerant derivative strains of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 and *Lactobacillus rhamnosus* GG [J]. J Appl Microbiol, 2014, 117(1): 239-248.
- [67] DIVYA J B, NAMPOOTHIRI K M. Folate fortification of skim milk by a probiotic *Lactococcus lactis* CM28 and evaluation of its stability in fermented milk on cold storage [J]. J Food Sci Technol, 2015, 52(6): 3513-3519.
- [68] 洪川, 张昊, 郭慧媛, 等. 低温保藏对维持益生菌酸奶品质作用的研究进展 [J]. 中国乳业, 2013, 2: 42-44.
- [69] ROMYASAMIT C, SAENG SUWAN P, BOONSERM P, et al. Optimization of cryoprotectants for freeze-dried potential probiotic *Enterococcus faecalis* and evaluation of its storage stability [J]. Drying Technology, 2021, 40(11): 2283-2292.
- [70] 田文静, 孙玉清, 刘小飞. 益生菌微胶囊技术及其在食品中的应用研究进展 [J]. 食品工业科技, 2019, 40(16): 354-362.
- [71] ORAZIO G D, GENNARO P D, BOCCARUSSO M, et al. Microencapsulation of new probiotic formulations for gastrointestinal delivery: *in vitro* study to assess viability and biological properties [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2015, 99(22): 9779-9789.