

牦牛奶酪中产细菌素乳酸菌菌株的筛选

杨吉霞, 贺稚非*, 陈宗道

(西南大学食品科学学院, 重庆市农产品加工技术重点实验室, 重庆 400715)

摘要: 本研究用分离自西藏、新疆、云南地区牦牛奶酪的39株乳酸菌作为供试菌株, 制备细菌素粗提液, 用琼脂扩散法分析粗提液对9株致病菌(蜡样芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、埃希氏大肠杆菌O157:H7、单增李斯特菌、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)和2株非致病菌(无害李斯特菌、嗜热链球菌)指示菌株的抑菌作用。测定结果表明有30株菌的细菌素粗提液对指示菌株有抑菌作用, 筛选出Y13、X29和X30这3株抑菌谱较宽的细菌素产生菌。

关键词: 乳酸菌; 牦牛奶酪; 细菌素; 致病菌

Screening for Bacteriocin-Producing Strains of Lactic Acid Bacteria in Yak Cheeses

YANG Jixia, HE Zhifei*, CHEN Zongdao

(Chongqing Key Laboratory of Agricultural Products Processing, College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: This study analyzed the bacteriocin-producing capability of 39 lactic acid bacteria strains isolated from yak cheeses collected from Tibet, Xinjiang and Yunnan province of China. The crude extracts rich in bacteriocin were prepared. Agar well-diffusion method was used to test their bacteriostatic activities against 9 pathogenic reference strains (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter cloacae*, *Clostridium perfringens*, and *Bacterium sonnei*) as well as 2 non-pathogenic reference strains (*Listeria monocytogenes* and *Streptococcus thermophilus*). The crude extracts of 30 out of the 39 stains exhibited bacteriostatic activities against these reference strains. Three strains, namely Y13, X29 and X30, were selected as excellent bacteriocin-producing strains with a broad antimicrobial spectrum. They hold promise for potential applications in the prevention and control of food-borne pathogenic bacteria.

Key words: lactic acid bacteria; yak cheese; bacteriocin; pathogenic strain

中图分类号: TS252.54

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2015)03-0122-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201503023

细菌素是某些细菌在代谢过程中通过核糖体合成的一类具有抑菌活性的多肽或前体多肽^[1]。部分乳酸菌能够产生主要对革兰氏阳性细菌和一些亲缘关系相近的乳酸菌种类有抑制作用的细菌素^[2]。乳酸菌是食用安全的微生物(generally recognized as safe, GRAS), 它们产生的细菌素也是安全的, 允许应用于食品中^[3]。目前细菌素的应用主要有三方面: 1) 控制食源致病菌: 乳酸菌对食品中可能污染的大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、单增李斯特菌等致病菌有抑制或者杀灭作用, 可添加于食品中以增强安全性^[4-9]; 2) 用作生物防腐剂: 细菌素对乳制品和肉制品中的腐败菌有抑制或者杀灭作用, 可部分代替化学防腐剂, 使加工的食品更为“天然”和“安

全”^[10-12]; 3) 益生功能: 乳酸菌是益生菌最主要的菌属, 可定植于宿主肠道中, 产生的细菌素能够拮抗肠道中的致病菌和腐败菌, 发挥一定的益生功能^[13]。

目前已发现大约70余种乳酸菌细菌素, Nisin是唯一获准作为食品防腐剂的细菌素, 在50多个国家和地区较为广泛地应用于食品工业^[14-15]。总的来说, 细菌素的抑菌谱较窄, 提取制备成本比较高, 限制了其在食品工业中的应用^[16]。筛选抑菌活性强和抑菌谱宽的细菌素产生菌仍然是国内外细菌素研究的主要内容之一。

我国的传统发酵乳制品种类繁多、分布广泛, 其中蕴含着丰富的乳酸菌菌种资源, 从中发掘出抑菌活性强和抑菌谱宽的细菌素产生菌, 对于丰富工业菌种有重

收稿日期: 2014-04-09

基金项目: 2013年西南大学博士启动基金项目(SWU113035); 中央高校基本科研业务费专项资金项目(XDJK2009C039)

作者简介: 杨吉霞(1978—), 女, 讲师, 博士, 研究方向为食品生物技术。E-mail: yangjx@188.com

*通信作者: 贺稚非(1960—), 女, 教授, 博士, 研究方向为食品微生物学。E-mail: zfh2003@yahoo.com.cn

要意义。然而至今只有少数学者研究了这些乳酸菌产生的细菌素,例如,李远^[17]从新疆骆驼乳中筛选出1株干酪乳杆菌MLS5,其细菌素粗提物对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、坚强肠球菌(*Enterococcus durans*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)有抑菌作用。方芳^[18]从内蒙古传统乳制品中鉴定出1株戊糖乳杆菌(*Lactobacillus pentosus*)WH12-2-1,其细菌素对蜡样芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌有抑菌作用。陈芝兰^[19]和张彦斌^[20]等也分别以西藏和内蒙古地区传统发酵乳制品为材料筛选和鉴定产细菌素的乳酸菌菌株。传统发酵乳制品中的乳酸菌在长期的生产实践中积累了优良的性能,发掘出其中抑菌活性强和抑菌谱宽的细菌素产生菌株,将不同抑菌谱的菌株搭配使用,可以起到拓宽和增强抗菌效果的作用。

本研究用分离自西藏、新疆、云南地区牦牛奶酪的39株乳酸菌作为供试菌株,筛选出产细菌素的菌株,并对其抑菌谱进行初步研究,以期在传统乳制品中优良菌株的开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 菌株、培养基与试剂

供试菌株为分离自牦牛奶酪的39株乳酸菌,菌株编号为1~39,数字前用字母表示采样地点:T(西藏)、Y(云南)、X(新疆),如表1所示,它们的分离鉴定已在文献[21]中报道。

表1 供试菌株16S rRNA序列鉴定结果
Table 1 Species identifications of strains isolated from yak milk cheeses by 16S rRNA sequence analysis

菌种鉴定结果	菌株编号
<i>L. buchneri</i>	Y15、Y16
<i>L. casei</i>	T7、Y19、X21、X22、X23、X26、X27、X28、X29、X30、X31、X32、X33、X34、X35、Y36
<i>L. diolivorans</i>	Y18、X24、X25
<i>L. fermentum</i>	T1、T2、T3
<i>L. helveticus</i>	T6、T8、Y9
<i>L. kefir</i>	Y10、Y12、Y20
<i>L. plantarum</i>	T4、Y13、Y37、X38、X39
<i>P. acidilactici</i>	T5
<i>P. pentosaceus</i>	Y11、Y14、Y17

指示菌株为:9株致病菌菌株:蜡样芽孢杆菌ATCC 10876、金黄色葡萄球菌、埃希氏大肠杆菌O157:H7、单增李斯特菌、费氏柠檬酸杆菌ATCC 8090、鼠伤寒沙门氏菌ATCC 13311、阴沟肠杆菌ATCC 23355、产气荚膜梭菌ATCC 3624、宋内志贺菌;2株非致病菌菌株:无害李斯特菌、嗜热链球菌。均为本实验室保藏菌株。

MRS液体培养基、脑心浸液(brain heart infusion,

BHI)琼脂、Mueller-Hinton琼脂 青岛海博生物技术有限公司;过氧化氢酶、蛋白酶K 美国Sigma公司;Tris碱 美国Amresco公司;麦氏比浊管(McFarland) 生物梅里埃中国有限公司;盐酸、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、氢氧化钠、硫酸铵等均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 待测菌株的细菌素提取^[22-25]

将待测乳酸菌菌株活化,并按1%体积分数接种于50 mL MRS液体培养基中,37℃培养24 h,10 000 r/min离心10 min,取上清液25 mL,用1 mol/L NaOH调节上清液的pH值至7.0,以排除有机酸的抗菌活性,再向上清液中加入250 mg 过氧化氢酶,使其终质量浓度为10 mg/mL,37℃水浴反应2 h,以排除过氧化氢的抗菌活性,用0.22 μm微孔滤膜过滤除去菌细胞,制成无细胞的上清液(cell free supernatant, CFS),然后加入质量分数40%饱和硫酸铵溶液沉淀CFS中的蛋白质,混和物在4℃条件下搅拌2 h,4℃、20 000 r/min离心15 min,沉淀用5 mL 0.05 mol/L磷酸钾缓冲液(pH 7.0)重新悬浮,于3 500 D透析袋中透析24 h以脱盐,用相同浓度磷酸钾缓冲液作为膜外透析液,再用0.22 μm微孔滤膜过滤除菌,制成细菌素提取液。取50 mL MRS液体培养基不接种菌株,加入试剂和操作处理相同,制作空白对照,以监测培养基和试剂的成分是否对指示菌株有抗菌作用。

1.2.2 琼脂井法测细菌素的抑菌作用^[22-25]

指示菌株用BHI培养基培养。将菌株活化后按1%接种量接种于BHI培养液,培养至菌液混浊度相当于0.5 McFarland(1.5×10^8 CFU/mL)。取菌液100 μL与10 mL软琼脂(0.6%琼脂,pH 7.0,45℃)混合均匀,此时菌液终浓度为 1.5×10^6 CFU/mL,平铺于Mueller-Hinton琼脂平板上,静置直至软琼脂凝固并且干燥。用打孔器无菌操作在琼脂上打孔(直径7 mm),每孔加入用待测菌株制备的细菌素粗提液或者空白对照50 μL,37℃培养24 h(有氧)后测抑菌圈的直径,读数至毫米,测量6次取平均值,作为单次测量的结果。每个实验重复3次。

1.2.3 蛋白酶敏感实验^[25]

在同1.2.1节方法制备的无细胞上清液中加入10 mg/mL蛋白酶K溶液至终质量浓度为1.0 mg/mL,在37℃水浴中保持2 h后取出,用琼脂井法再次检测抑菌活性。

2 结果与分析

用待测菌株制备的细菌素粗提液排除了菌细胞,也排除了有机酸、过氧化氢的抑菌作用,对指示菌株做琼脂井扩散实验,空白对照无抑菌作用,排除了培养基和试剂的抑菌作用,所以抑菌圈主要是由粗提液中的抑菌物质形成的,在经过蛋白酶K处理后,抑菌作用消失,由此证实抑菌作用来自细菌素。

39 株待测菌株的细菌素粗提液对9 株致病菌和2 株非致病菌指示菌株的抑菌作用分别归纳于表2和表4，部分实验结果见图1。结果表明：9 株菌没有检出抑菌作用：Y15、Y16、X22、Y18、X24、X25、Y10、Y20、X39，其余30 株菌有抑菌作用。

2.1 乳酸菌所产细菌素对致病性指示菌株的抑菌作用
引起食品污染的微生物主要有：沙门氏菌、单核细

胞增生李斯特菌、大肠埃希氏菌O157:H7、金黄色葡萄球菌、副溶血弧菌，我国对这5 种致病菌制定了限量标准^[26]并且实行严格监管。费氏柠檬酸杆菌可引起尿道感染、菌血症、婴儿脑膜炎和其他肠外感染^[27]，已经逐步成为引发我国婴幼儿医源性疾病的重要病原菌^[28]；阴沟肠杆菌引起婴幼儿腹泻的发病率有逐年增高的趋势，严重的感染可致新生儿化脓性胃炎^[29-31]。联合国粮食及农

表 2 乳酸菌细菌素粗提液对致病性指示菌株的抑菌谱
Table 2 Antimicrobial spectrum of bacteriocin-rich crude extracts from 39 lactic acid bacteria strains against pathogenic reference strains

菌株鉴定结果	菌株编号	指示菌株									mm
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
<i>L. buchneri</i>	Y15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Y16	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T7	—	—	—	—	—	11.00±0.00 (+)	—	—	—	—
	Y19	10.70±0.58 (+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	X21	11.70±0.58 (+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	X22	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	X23	10.70±0.58 (+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	X26	—	—	—	—	9.70±0.58 (+)	—	—	—	—	—
	X27	11.00±0.00 (+)	10.00±0.00 (+)	9.00±0.00 (+)	—	—	—	—	—	—	—
	X28	11.30±0.58 (+)	9.00±0.00 (+)	—	—	9.00±0.00 (+)	—	—	—	—	—
<i>L. casei</i>	X29	11.30±0.58 (+)	—	—	—	10.00±0.00 (+)	9.00±0.00 (+)	9.00±0.00 (+)	—	—	—
	X30	11.00±0.00 (+)	—	—	—	10.00±0.00 (+)	11.00±0.00 (+)	9.70±0.58 (+)	—	—	—
	X31	11.00±0.00 (+)	10.00±0.00 (+)	—	—	—	10.00±0.00 (+)	—	—	—	—
	X32	—	—	—	—	—	10.00±0.00 (+)	—	—	—	—
	X33	10.00±0.00 (+)	—	—	—	—	9.30±0.58 (+)	—	—	—	—
	X34	10.30±0.58 (+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	X35	11.00±0.00 (+)	10.00±0.00 (+)	11.00±0.00 (+)	—	—	—	—	—	—	—
	Y36	11.00±0.00 (+)	10.00±0.00 (+)	—	—	10.00±0.00 (+)	—	—	—	—	—
	Y18	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	X24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>L. diolivorans</i>	X25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T1	9.00±0.00 (+)	9.00±0.00 (+)	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>L. fermentum</i>	T2	—	—	—	—	—	13.00±0.00 (++)	—	—	—	—
	T3	—	—	—	—	—	10.00±0.00 (+)	—	—	—	—
<i>L. helveticus</i>	T6	9.00±0.00 (+)	—	—	—	—	13.00±0.00 (++)	—	—	—	—
	T8	—	—	9.00±0.00 (+)	—	—	12.00±0.00 (++)	—	—	—	—
	Y9	9.00±0.00 (+)	—	10.00±0.00 (+)	—	—	11.00±0.00 (+)	—	—	—	—
<i>L. kefiri</i>	Y10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Y12	—	—	—	16.00±0.00 (++)	—	—	—	—	—	—
	Y20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	T4	9.30±0.58 (+)	9.00±0.00 (+)	—	—	—	12.00±0.00 (++)	—	—	—	—
<i>L. plantarum</i>	Y13	10.70±0.58 (+)	—	9.30±0.58 (+)	9.70±0.58 (+)	9.30±0.58 (+)	11.00±0.00 (+)	—	—	—	—
	Y37	11.00±0.00 (+)	—	11.00±0.00 (+)	—	9.00±0.00 (+)	—	—	—	—	—
	X38	—	—	—	—	—	—	—	—	10.00±0.00 (+)	—
	X39	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>P. acidilactici</i>	T5	9.00±0.00 (+)	—	—	—	—	12.00±0.00 (++)	—	—	—	—
	Y11	—	—	10.00±0.00 (+)	—	—	12.00±0.00 (++)	—	—	—	—
<i>P. pentosaceus</i>	Y14	11.30±0.58 (+)	—	—	10.70±0.58 (+)	—	—	—	—	—	—
	Y17	10.30±0.58 (+)	9.00±0.00 (+)	—	—	—	—	—	—	—	—
对照		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

注：1. 蜡样芽孢杆菌 ATCC 10876；2. 金黄色葡萄球菌；3. 大肠埃希菌 O157：H7；4. 单增李斯特菌；5. 费氏柠檬酸杆菌 ATCC 8090；6. 鼠伤寒沙门氏菌 ATCC 13311；7. 阴沟肠杆菌 ATCC 23355；8. 产气荚膜梭菌 ATCC 3624；9. 宋内志贺菌。参照文献 [39] 中的水解圈直径判断标准：直径< 9 mm，无抑菌活性，记为“—”；9 mm ≤ 直径< 12 mm，有抑菌活性，记为“+”；直径≥ 12 mm，抑菌活性强，记为“++”；下同。

业组织/世界卫生组织 (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization, FAO/WHO) 将费氏柠檬酸杆菌和阴沟肠杆菌列为“B类危险生物因子”^[32], 蜡样芽孢杆菌和产气荚膜梭菌污染的食物种类分别为乳及乳制品、米饭、调料、面粉^[33]和畜禽肉类、鱼类、牛奶^[34], 也是常见的食源致病菌。

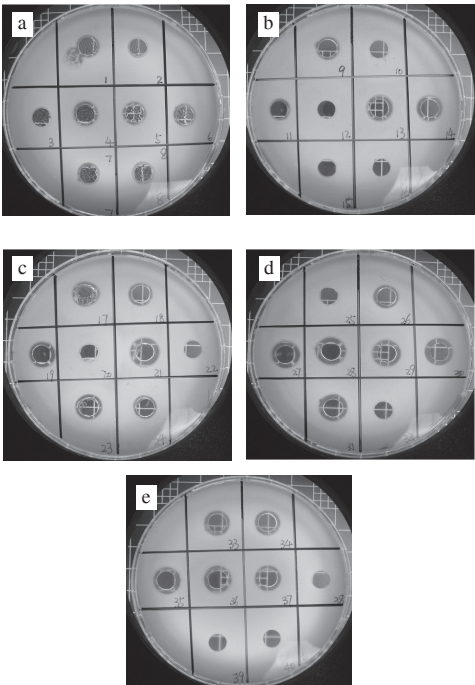


图1 39株乳酸菌对*Bacillus cereus* ATCC 10876的抑菌作用照片
Fig.1 Bacteriostatic effect of 39 lactic acid bacteria strains against *Bacillus cereus* ATCC 10876

由表2和图1可知, 就细菌素抗菌的广谱性来说, 菌株Y13能够抑制5种致病菌: 蜡样芽孢杆菌ATCC 10876、大肠埃希菌O157:H7、单增李斯特菌、费氏柠檬酸杆菌ATCC 8090、鼠伤寒沙门氏菌ATCC 13311, 抑菌谱最宽。菌株X29和X30能抑制4种致病菌: 蜡样芽孢杆菌ATCC 10876、弗氏柠檬酸杆菌ATCC 8090、鼠伤寒沙门氏菌ATCC 13311、阴沟肠杆菌ATCC 23355。X27、X28、X31、X35、X36、Y9、T4、Y37 8株菌(占待测菌株总数的26.7%)能抑制3株致病菌, 大部分菌株只对1株(11株菌, 占28.2%)或者2株(8株菌, 占26.7%)指示菌有抑菌作用。就菌株种类来说, *L. buchneri*、*L. diolivorans*的菌株对指示菌都没有抑制作用, *L. kefir*的菌株抑制作用很弱, 而*L. fermentum*、*L. helveticus*、*P. pentosaceus*对指示菌有抑制作用的菌株占100%, *L. casei*和*L. plantarum*的比例也分别达到了93.8%和80%, 可见在这5个菌种中产细菌素的菌株比例较大。

表3 细菌素粗提液分别对9株致病性指示菌株有抑菌作用的乳酸菌菌株
Table 3 Summary of lactic acid bacteria strains selected for bacteriocin-rich crude extracts with inhibitory effect against each pathogenic reference strain

项目	指示菌	毒素类型	有抑菌作用的菌株	抑菌活性强的菌株
革兰氏染色阳性	蜡样芽孢杆菌ATCC 10876	肠毒素	21株菌: Y19、X21、X23、X27、X28、X29、X30、X31、X33、X34、X35、Y36、T1、T6、Y9、T4、Y13、Y37、T5、Y14、Y17	
	金黄色葡萄球菌	肠毒素	8株菌: X27、X28、X31、X35、Y36、T1、T4、Y17	
	单增李斯特菌	溶血毒素	3株菌: Y12、Y13、Y14	Y12
	产气荚膜梭菌ATCC 3624	肠毒素	0株菌	
革兰氏染色阴性	埃希氏大肠杆菌O157:H7	志贺样毒素、溶血素和黏附素	7株菌: X27、X35、T8、Y9、Y13、Y37、Y11	
	费氏柠檬酸杆菌ATCC 8090		7株菌: X26、X28、X29、X30、Y36、Y13、Y37	
	鼠伤寒沙门氏菌ATCC 13311	内毒素和肠毒素	15株菌: T7、X29、X30、X31、X32、X33、T2、T3、T6、T8、Y9、T4、Y13、T5、Y11	T2、T6、T8、T4、T5、Y11
	阴沟肠杆菌ATCC 23355		2株菌: X29、X30	
	宋内志贺菌	细菌毒素、肠毒素和神经毒素	1株菌: X38	

表3归纳了其细菌素粗提液分别对9株致病性指示菌有抑菌作用的乳酸菌菌株。从致病菌的基本性质来看, 沙门氏菌、大肠埃希菌、费氏柠檬酸杆菌、阴沟肠杆菌、宋内志贺菌都是革兰氏阴性细菌, 产生有抑菌作用细菌素的菌株分别有15株、7株、7株、2株、1株。一般认为乳酸菌细菌素主要对革兰氏阳性细菌和一些亲缘关系相近的乳酸菌种类有抑菌作用^[35], 但是也有较多研究指出它能抑制某些革兰氏阴性细菌, 与本实验的结果是一致的^[36-38]。

2.2 乳酸菌细菌素粗提液对非致病性指示菌株的抑菌作用

表4 乳酸菌细菌素粗提液对非致病性指示菌株的抑菌作用
Table 4 Antimicrobial effect of bacteriocin-rich crude extracts from 39 lactic acid bacteria strains against non-pathogenic reference strains mm

菌种鉴定结果	菌株编号	指示菌株		菌种鉴定结果	菌株编号	指示菌株	
		10	11			10	11
<i>L. buchneri</i>	Y15	-	-	<i>L. fermentum</i>	T1	-	-
	Y16	-	-		T2	-	-
	T7	-	-		T3	-	-
	Y19	-	-		T6	-	-
<i>L. casei</i>	X21	-	-	<i>L. helveticus</i>	T8	-	-
	X22	-	-		Y9	-	-
	X23	11.70±0.58 (+)	-		Y10	-	-
	X26	-	-		Y12	-	-
	X27	-	-	<i>L. kefir</i>	Y20	-	-
	X28	-	-		T4	-	-
	X29	-	-		Y13	-	-
	X30	-	-	<i>L. plantarum</i>	Y37	14.00±0.00 (++)	-
	X31	-	-		X38	-	-
	X32	-	-		X39	-	-
	X33	-	-	<i>P. acidilactici</i>	T5	-	-
	X34	-	-		Y11	10.00±0.00 (+)	-
	X35	-	-		Y14	-	-
	Y36	12.70±0.58 (++)	-		Y17	-	-
<i>L. diolivorans</i>	Y18	-	-	<i>P. pentosaceus</i>	对照	-	-
	X24	-	-				
	X25	-	-				

注: 10. 无害李斯特菌; 11. 嗜热链球菌。

无害李斯特菌是一种革兰氏阳性、不产生孢子、杆状、嗜冷细菌,非溶血性及非致病的微生物,通常可从巴氏灭菌牛奶、软奶酪中分离出来^[40]。嗜热链球菌是革兰氏阳性、兼性厌氧、无芽孢和鞭毛的细菌,是最重要的工业发酵菌种,对人体健康有益^[41]。由表4可知,在39株乳酸菌中,仅有4株菌可抑制无害李斯特菌:X23、Y36、Y37、Y11,其中Y36和Y37抑菌活性较强。所有乳酸菌细菌素对嗜热链球菌都没有抑菌活性,在发酵乳制品时,这些乳酸菌可与嗜热链球菌合用,不会有抑制作用。

3 结 论

本研究用分离自西藏、新疆、云南地区牦牛奶酪的39株乳酸菌作为供试菌株,研究了它们的细菌素粗提液对9株致病菌和2株非致病菌指示菌株的抑菌作用,其中有9株菌没有检出抑菌作用:Y15、Y16、X22、Y18、X24、X25、Y10、Y20、X39,其余30株菌有抑菌作用。

筛选出了3株抑菌谱宽的细菌素产生菌:菌株Y13能够抑制5种致病菌:蜡样芽孢杆菌ATCC 10876、大肠埃希菌O157:H7、单增李斯特菌、费氏柠檬酸杆菌ATCC 8090、鼠伤寒沙门氏菌ATCC 13311,抑菌谱最宽。菌株X29和X30能抑制4种致病菌:蜡样芽孢杆菌ATCC 10876、费氏柠檬酸杆菌ATCC 8090、鼠伤寒沙门氏菌ATCC 13311、阴沟肠杆菌ATCC 23355。它们对无害李斯特菌和嗜热链球菌都没有抑菌作用,可应用于食品中以防范食源致病菌。

参考文献:

- [1] 陈静,张玉苍,何连芳. 乳酸菌产细菌素的研究进展及其应用前景[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(4): 1925-1927.
- [2] 胡杨,项松涛,杨宇清,等. 泡菜中产细菌素的乳酸菌分离研究[J]. 西南大学学报:自然科学版, 2012, 34(3): 144-148.
- [3] 周志江,韩焯. 细菌素及其在食品安全中的应用[J]. 农产品加工: 学刊, 2005(9/10): 159-162.
- [4] 刘程惠,胡文忠,何煜波,等. 鲜切果蔬病原微生物侵染及其生物控制的研究进展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(18): 362-366.
- [5] 宁佳. 具有抑制单核细胞增生李斯特菌的乳酸菌的筛选及抑菌性质的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2012: 1-6.
- [6] 崔建超. 乳酸菌产生的细菌素的生物学特性及其在乳品中的应用[D]. 保定: 河北农业大学, 2002: 1-18.
- [7] 王小娜,宋达峰,顾青. 产细菌素乳酸菌的鉴定及其特性研究[J]. 中国食品学报, 2011, 11(3): 181-186.
- [8] 吴桂荣,戴常明,马春平. 乳酸菌素体外抑菌实验的研究[J]. 内蒙古民族大学学报, 2010, 16(2): 19-20.
- [9] 张秀红,刘婷婷. 具广谱抑菌活性乳酸菌的筛选[J]. 乳业科学与技术, 2010, 33(2): 56-59.
- [10] 诸永志,姚丽娅,徐为民,等. 乳酸菌细菌素应用于肉制品防腐剂的的研究进展[J]. 食品科技, 2008, 33(2): 136-139.
- [11] 靳慧杰. 细菌素及其在乳制品中的应用[J]. 中国乳业, 2007(1): 35-36.
- [12] 刘国荣,李平兰,王成涛. 乳酸菌细菌素作为天然生物防腐剂在食品工业中的应用进展[J]. 北京工商大学学报: 自然科学版, 2012, 30(2): 64-69.
- [13] 周凌华,王豪,王荫榆,等. 功能性益生乳酸菌的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2012(24): 990-997.
- [14] 袁静,李元端,刘变芳,等. 乳酸菌的细菌素及乳链菌肽在食品工业中的发酵与应用[J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2002, 18(5): 533; 544-549.
- [15] 李平兰,张麓,江汉湖. 乳酸菌细菌素研究进展[J]. 微生物学通报, 1998, 25(5): 295-298.
- [16] 徐进,冉陆,罗雪云. 乳酸菌细菌素的生物合成与应用[J]. 卫生研究, 2002, 31(3): 211-213.
- [17] 李远. 新疆酸乳中乳酸菌分离鉴定及其细菌素研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2011: 36-45.
- [18] 方芳. 产细菌素乳酸菌的筛选、细菌素的纯化及其特性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2008: 9-39.
- [19] 陈芝兰,田发益,何建清,等. 西藏地区发酵牛乳中产细菌素乳酸菌的筛选及鉴定[J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(10): 6-11.
- [20] 张彦斌,方芳,李莉,等. 内蒙古传统乳制品中产细菌素乳酸菌的筛选及鉴定[J]. 中国乳品工业, 2009, 37(8): 9-12.
- [21] 杨吉霞,陈芝兰,杨海燕,等. 牦牛奶酪中乳酸菌的分离鉴定及发酵性能分析[J]. 食品科学, 2013, 34(9): 198-204.
- [22] AMMOR S, TAUVERON G, DUFOUR E, et al. Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility, 1-screening and characterization of the antibacterial compounds[J]. Food Control, 2006, 17(6): 454-461.
- [23] CASTRO M P, PALAVECINO N Z, HERMAN C, et al. Lactic acid bacteria isolated from artisanal dry sausages: characterization of antibacterial compounds and study of the factors affecting bacteriocin production[J]. Meat Science, 2011, 87(4): 321-329.
- [24] 姚丽娅,徐为民,诸永志,等. 产细菌素乳酸菌的筛选及鉴定[J]. 食品工业科技, 2008, 29(1): 160-161; 164.
- [25] 于凯慧,霍贵成. 产抗李斯特菌细菌素乳酸菌的筛选与鉴定[J]. 食品科技, 2011, 36(5): 2-7.
- [26] 国家卫生和计划生育委员会. GB 29921—2013 食品安全国家标准食品中致病菌限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- [27] 周联,张希圣,刘添发,等. 一起弗氏柠檬酸杆菌引起的食物中毒[J]. 现代预防医学, 2002, 29(5): 678-680.
- [28] 李卫华,张建军,张敏爱,等. 奶粉中费氏柠檬酸杆菌影响因素的研究[J]. 食品科学, 2009, 30(15): 211-213.
- [29] 吕敬章,黄李华,赵贵明,等. 奶粉中阴沟肠杆菌的检测方法研究[J]. 食品科学, 2009, 30(2): 159-163.
- [30] 周文华,岳晓红. 阴沟肠杆菌致小儿腹泻临床观察[J]. 职业与健康, 2005, 21(3): 453-454.
- [31] 周文华,王芳. 新生儿化脓性胃炎141例临床研究[J]. 中华医学论坛, 2003, 17(2): 7-8.
- [32] Jonit FAO/WHO Food Standards Program. Risk profile of *Enterobacter sakazakii* and other microorganisms in powdered infant formula[R]. Geneva: WHO Headquarters, 2004.
- [33] 张伟伟,鲁绯,张金兰,等. 食品中蜡样芽孢杆菌的研究进展[J]. 中国酿造, 2010, 28(5): 1-4.
- [34] 邓志爱,李孝权,李钊华,等. 食品中产气荚膜梭菌的分离鉴定与基因分型[J]. 热带医学杂志, 2006, 6(6): 682-684; 690.
- [35] 田召芳,牛钟相,常维山,等. 乳酸菌细菌素的研究进展[J]. 微生物学杂志, 2003, 23(6): 47-49.
- [36] 张艾青,刘书亮,敖灵. 产广谱细菌素乳酸菌的筛选和鉴定[J]. 微生物学通报, 2007, 34(4): 753-756.
- [37] STEVENS K A, SHELDON B W, KLAPES N A, et al. Nisin treatment for inactivation of *Salmonella* species and other gram-negative bacteria[J]. Applied and Environment Microbiology, 1991, 57(12): 3613-3615.
- [38] SKYTTE E, MATTILA-SANDHOLM T. A quantitative method for assessing bacteriocins and other food antimicrobials by automated turbidimetry[J]. Journal of Microbiological Methods, 1991, 14(2): 77-88.
- [39] RAI A K, BHASKAR N, PRAKASH M. et al. Characterization and application of a native lactic acid bacterium isolated from tannery fleshings for fermentative bioconversion of tannery fleshings[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2009, 83(4): 757-766.
- [40] 黄微,刘雪,刘少伟. 不同条件下Camembert奶酪中无毒害李斯特菌空间生长分布[J]. 食品工业科技, 2011, 32(11): 166-169.
- [41] 郇洪涛,吕嘉彬,闫肃,等. 嗜热链球菌对酸奶发酵的影响及应用前景[J]. 中国酿造, 2010, 29(11): 5-8.