

发酵黄油用乳酸菌的筛选、鉴定及功能特性比较

刘丹丹¹, 徐佳薇¹, 陆妍¹, 田舒彤¹, 蔡国屹¹, 于玺², 钱磊^{3*}, 张业尼^{1*}

(1. 天津农学院食品科学与生物工程学院, 天津 300392) (2. 山东德正乳业股份有限公司, 山东威海 264400)
(3. 天津农学院农学与资源环境学院, 天津 300392)

摘要: 发酵黄油发酵剂长期依赖国外, 为了开发适用于发酵黄油的优良乳酸菌发酵剂, 从广东水牛生牛乳、河北生羊乳、内蒙古生牛乳、内蒙古奶豆腐及西藏雪莲菌群中分离乳酸菌, 经黄油选择性培养基初筛与复筛、16S rRNA 基因鉴定获得核心菌株, 通过感官评价、发酵性能 (生长曲线、产酸曲线)、生物安全性 (溶血性、药敏性) 及益生特性 (β -半乳糖苷酶活性、耐酸性、耐胆盐、抑菌性) 进行逐级筛选。共获得 11 株核心乳酸菌, 均符合食品级微生物安全要求, 其中 9 株感官评分 >80 分。格氏乳球菌 (*Lactococcus garvieae*) DZ 发酵性能优异, 生长快速、产酸启动迅速; 其 β -半乳糖苷酶活力为 $0.271 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$, 在 pH 值 3.0 条件下存活率达 94.75%, 在 0.3% (m/V) 胆盐中存活率为 40.43%, 对 6 种食源性病原菌具有弱抑菌活性。该菌在黄油基质适应性、感官品质、发酵性能、胃肠道耐受性及益生特性方面表现全面优异, 可作为发酵黄油开发的优选菌株, 为专用发酵剂研发提供理论与实验基础。

关键词: 发酵黄油; 乳酸菌; 筛选鉴定; 感官评价; 发酵性能; 益生特性; β -半乳糖苷酶; 格氏乳球菌

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2027.6.0522

Screening, Identification, and Comparative Functional Characterization of Lactic Acid Bacteria for Fermented Butter

LIU Dandan¹, XU Jiawei¹, LU Yan¹, TIAN Shutong¹, CAI guoyi¹, YU Xi², QIAN Lei^{3*}, ZHANG Yeni^{1*}

(1.College of Food Science and Bioengineering, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300392, China)

(2.Shandong Dezheng Dairy Co. Ltd., Weihai 264400, China)

(3.College of Agronomy and Resources Environment, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300392, China)

Abstract: Fermented butter starter cultures have long been dependent on foreign sources. To develop an excellent lactic acid bacterial starter culture suitable for fermented butter, lactic acid bacteria were isolated from Guangdong buffalo raw milk, Hebei goat raw milk, Inner Mongolia cow raw milk, Inner Mongolian milk curd, and Tibetan kefir grains. Core strains were obtained through preliminary and secondary screening using butter-selective medium, followed by 16S rRNA gene identification. Stepwise screening was conducted based on sensory evaluation, fermentation performance (growth curve, acid production curve), biosafety (hemolytic activity, antibiotic susceptibility), and probiotic properties (β -galactosidase activity, acid tolerance, bile salt tolerance, antibacterial activity). A total of 11 core lactic acid bacterial strains were obtained, all of which met the safety requirements for food-grade microorganisms, with nine strains achieving sensory scores above 80. *Lactococcus garvieae* DZ demonstrated excellent fermentation performance, with fast growth and rapid acid production initiation. Its β -galactosidase activity was $0.271 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$, with a survival rate of 94.75% at pH value of 3.0 and 40.43% in 0.3% (m/V) bile salt. It showed weak antibacterial activity against six foodborne pathogens. This strain demonstrated comprehensive advantages in butter matrix adaptability, sensory quality, fermentation performance, gastrointestinal tolerance, and probiotic properties, making it a preferred candidate for the development of fermented butter and providing theoretical and experimental basis for the development of specialized starter cultures.

Key words: fermented butter; lactic acid bacteria; screening and identification; sensory evaluation; fermentation performance; probiotic properties; β -galactosidase; *Lactococcus garvieae*

收稿日期: 2026-04-07; 修回日期: 2026-05-26; 接受日期: 2026-05-26

基金项目: 甘肃省科技计划项目 (25CXNH008); 天津市科技计划项目 (25ZYCGSN00900); 天津市蔬菜现代农业产业技术体系创新团队 (ITTVRS2025016); 天津市大学生创新创业项目 (202610061118; 202610061018)

作者简介: 刘丹丹 (1999), 女, 硕士研究生, 研究方向: 功能性乳制品开发, E-mail: liudandan20001013@163.com

通讯作者: 张业尼 (1984), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 功能性乳制品开发, E-mail: zhangyeni@tjau.edu.cn; 共同通讯作者: 钱磊 (1982), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 功能性食品开发, E-mail: qianlei507@126.com

发酵黄油，又称酸黄油，是以乳酸菌等微生物发酵制成的乳脂制品。相较于普通黄油，发酵黄油因乳酸菌的代谢作用，风味更浓郁、层次更丰富，香气柔和自然，且具有潜在的健康增益^{[1][3]}，契合消费者对天然、营养、风味俱佳食品的追求。发酵黄油的典型工艺为：乳酸菌接种于稀奶油中发酵，经后熟、离心即得发酵黄油。风味形成主要发生在稀奶油发酵阶段，但离心后菌体仍保留于黄油基质中。

目前，国际上已构建起成熟的发酵黄油产业链。主流发酵剂多由乳酸乳球菌、肠膜明串珠菌及乳杆菌属等复配而成，通常发酵温度 20~30 ℃，接种量 1%~3%，时间 12~48 h。菌株筛选方面，国际普遍采用“从何处用，即从何处选”的定向策略。例如 Sağdıç 等^[4]从传统黄油中分离乳酸菌并优选发酵剂；Ostadzadeh 等^[5]从传统黄油中分离降胆固醇菌株以开发低胆固醇发酵黄油；Ciniviz 等^[6]将传统 Ezine 奶酪来源的乳杆菌与商业发酵剂共发酵，显著改善黄油品质。这些研究为专用发酵剂筛选提供了有效思路。

相比之下，我国发酵黄油研究起步较晚。国内研究虽有开展，但仍存在短板：肖琳等^[7]采用酶解结合商业乳酸菌提升黄油风味，未涉及自主菌株筛选；Fan 等^[8]使用从乳源中自主筛选乳酸乳球菌 BL19，结合酶解制备风味强化黄油；Feng 等^[9]从传统酸奶中分离副干酪乳杆菌 RH5 发酵黄油并改善风味。但这些研究均采用 MRS 等通用培养基筛选菌株，未针对黄油高脂低水特性建立专属筛选体系。

造成这一研究局限的原因在于黄油基质本身的特殊性。黄油为高脂低水体系，菌株若缺乏对其耐受能力，则难以存活。传统通用培养基无法模拟这种压力环境，筛选出的菌株未必适应黄油基质。因此，从我国传统发酵乳制品中筛选适配黄油的本土乳酸菌，是打破进口发酵剂依赖、培育中国特色风味黄油的关键，也为开发香气独特且富含活菌的功能性发酵黄油奠定基础。

基于此，本研究采用“基质适配性导向”筛选策略，首次构建黄油选择性培养基，在筛选阶段即对候选菌株施加黄油环境选择压。从多种传统乳制品中分离乳酸菌，经黄油选择性培养基初筛、16S rRNA 鉴定获得核心候选菌株，再通过感官评价、发酵性能、安全性评估，以及 β -半乳糖苷酶活性、耐酸、耐胆盐、抑菌性等益生特性逐级筛选，最终获得一株兼具优良感官品质与良好胃肠道耐受性的专用发酵剂——格氏乳球菌 DZ(原编号 snsnr3)。本研究为打破进口发酵剂技术垄断、开发具有自主知识产权的高品质发酵黄油提供了理论与实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 样品来源

河北生羊乳、内蒙古生牛乳、内蒙古奶豆腐、西藏雪莲菌群、广东水牛生牛乳。

1.1.2 主要试剂与培养基

X-gal，上海麦克林生化科技股份有限公司；ONPG、溶菌酶、脱纤维绵羊血，上海源叶生物科技有限公司；哥伦比亚血琼脂基础，北京陆桥技术股份有限公司；抗生素药敏片，杭州微生物试剂有限公司；金黄色葡萄球菌等 7 种指示菌，中国工业微生物菌种保藏管理中心（CICC）。其余试剂均为国产分析纯。黄油选择性培养基配方见表 1。

表 1 黄油选择性培养基成分

Table 1 Composition of butter selective medium

成分	初筛培养基/(g/100 mL)	复筛培养基/(g/100 mL)
黄油	2	2
琼脂	2	2
胰蛋白胨	1	-
牛肉浸膏	1	-
酵母粉	0.5	-
磷酸氢二钾	0.2	0.2
柠檬酸氢二铵	0.2	0.2
乙酸钠	0.5	0.5
吐温 80	0.2	0.2

硫酸镁	0.02	0.02
硫酸锰	0.005	0.005

1.1.3 仪器设备

GSP-9160MBE 隔水式恒温培养箱，上海博迅医疗生物仪器股份有限公司；LDZX-50KBS 立式高压蒸汽灭菌器，上海中安医疗器械厂；EX124 电子分析天平，奥豪斯仪器（常州）有限公司；SW-CJ-2FD 洁净工作台，苏州安泰空气技术有限公司；FlexA-200 酶标仪，杭州奥盛仪器有限公司；5810R 台式大容量冷冻离心机，艾本德（上海）国际贸易有限公司；D1012U 微量高速离心机，大龙兴创实验仪器（北京）股份公司；VORTEX-5 涡旋振荡器，海门其林贝尔仪器制造有限公司；ZX-S24 恒温水浴锅，上海知信实验仪器技术有限公司；Elmasonic P 超声波清洗机，艾尔玛（中国）有限公司；DHG-9013A 电热鼓风干燥箱，上海一恒科学仪器有限公司；BA210 生物显微镜，麦克奥迪实业集团有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品采集与菌株分离

所有样品采用梯度稀释法处理后涂布于 MRS 固体培养基，37 ℃厌氧培养 48 h。

1.2.2 菌落形态学观察与镜检

根据菌落形态差异，从每个样品中挑选典型单菌落，记录形态特征，并通过平板划线法纯化获得纯培养物。挑取纯化后的单菌落进行革兰氏染色，油镜下观察菌体形态及染色结果并拍照记录。将镜检符合乳酸菌特征的菌株保存备用。

1.2.3 黄油选择性培养基筛选

初筛：将纯化后的菌株制备成菌悬液，接种于黄油初筛培养基（成分见表 1）表面，37 ℃培养 48 h，以 48 h 内形成可见菌落为阳性判定标准。

复筛：挑取初筛阳性菌株的单菌落制备菌悬液，接种于黄油复筛培养基（成分见表 1）表面，37 ℃培养 48 h，以 48 h 内形成可见菌落为通过标准。

1.2.4 菌株分子鉴定

提取菌株基因组 DNA，进行 16S rRNA 基因 PCR 扩增和测序。将测序结果在 NCBI 数据库中进行 BLAST 比对，采用邻接法构建系统发育树。以 16S rRNA 基因序列相似性≥99.0%为菌种鉴定阈值。

1.2.5 感官评价

将活化后的待测菌株以 3%（V/V）接种量接种于稀奶油中，37 ℃发酵 16 h，4 ℃冰箱后熟 12 h，得到发酵稀奶油样品。以未接种的稀奶油为空白对照。

采用模糊数学综合评价法对上述发酵稀奶油样品进行感官评价。由 10 名评价员按表 2 标准^[10]对气味、滋味、组织状态、色泽、总体喜好 5 个指标进行评分。统计各指标在各等级的评价人数，经归一化处理得到隶属度向量，构建模糊综合评价矩阵 T。权重集 $X=\{0.25, 0.25, 0.20, 0.20, 0.10\}$ ，评语集 $K=\{85, 50, 20\}$ ，计算综合评得分 $W=K \times (X \times T)$ 。

表 2 感官评价标准
Table 2 Sensory evaluation standards

项目	评分标准	评分/分
气味	酸味较重，无明显奶香味	0~40
	香气寡淡	41~70
	自然浓郁的奶香味和适度酸香味	71~100
滋味	酸味重，有苦味、涩味等不良滋味	0~40
	香气寡淡，滋味较差但可接受	41~70
	酸味柔和，口感微甜顺滑	71~100
组织状态	大量乳清析出，有块状凝乳	0~40
	基本均匀细腻，少量乳清析出	41~70
	均匀细腻，无乳清析出，稠度适中	71~100

色泽	色泽灰暗, 褐变或异常变色	0~40
	色泽发白或浅灰, 分布不均	41~70
	色泽均匀, 乳白色或微黄色	71~100
总体喜好	不喜欢	0~40
	一般	41~70
	喜欢	71~100

1.2.6 发酵性能分析

1.2.6.1 生长曲线

将待测菌株以 3% (V/V) 接种于 MRS 液体培养基中, 取 200 μL 培养液加入 96 孔板, 置于酶标仪中, 设置温度为 37 $^{\circ}\text{C}$, 每 2 h 自动测定一次 $\text{OD}_{600\text{ nm}}$, 连续测定 24 h。以时间为横坐标、 $\text{OD}_{600\text{ nm}}$ 值为纵坐标绘制生长曲线。每组设 3 个平行, 结果以平均值 $\pm$ 标准差表示。

1.2.6.2 产酸曲线

将待测菌株以 3% (V/V) 接种于稀奶油, 37 $^{\circ}\text{C}$ 发酵 24 h, 每隔 2 h 测定 pH 值, 绘制产酸曲线。每组 3 个平行, 结果以平均值 $\pm$ 标准差表示。

1.2.7 生物安全性评估

1.2.7.1 溶血性实验

将菌株划线接种于哥伦比亚血琼脂平板, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24~48 h, 以铜绿假单胞菌为阳性对照, 观察菌落周围溶血现象。根据溶血环特征判定溶血类型: α -溶血 (草绿色)、 β -溶血 (透明)、 γ -溶血 (无溶血环)。每组设 3 个平行样。

1.2.7.2 药敏性实验

采用纸片扩散法测定菌株对抗生素的敏感性。取 200 μL 新鲜菌液均匀涂布于 MRS 平板, 干燥后贴附药敏片, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h, 测量抑菌圈直径。受试抗生素包括氨苄西林、四环素、氯霉素、红霉素、克林霉素、庆大霉素、链霉素、环丙沙星、万古霉素和利福平。判定标准参照 CLSI M100-Ed35 (2025) 及张丽鸿^[1]。每组设 3 个平行。

1.2.8 益生特性逐级筛选

1.2.8.1 β -半乳糖苷酶活性检测

粗酶液提取: 将活化后的待测菌株以 3% (V/V) 接种于 MRS 液体培养基中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h。取 1.5 mL 发酵液于 4 $^{\circ}\text{C}$ 、8 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 收集菌体。用磷酸盐缓冲液 (pH 值 6.5) 洗涤菌体 2 次, 重悬后加入 0.3 mL 溶菌酶 (1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 3 h, 再于冰浴条件下超声破碎 (200 W, 工作 5 s, 间歇 10 s, 总时间 15 min)。破碎液于 4 $^{\circ}\text{C}$ 、8 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 30 min, 上清液即为粗酶液。

定性检测: 将待测菌株接种于以乳糖为唯一碳源的 MRS 液体培养基活化后, 涂布于含 X-gal (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的 MRS 固体培养基, 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光培养 48 h, 菌落呈蓝色者为阳性。

标准曲线绘制: 准确称取邻硝基苯酚 1.39 mg, 用 0.1 mL 无水乙醇溶解后定容至 10 mL, 制成标准储备液。分别取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mL 储备液于 10 mL 容量瓶中, 加入 2.5 mL 碳酸钠溶液, 用磷酸盐缓冲液 (pH 值 6.5) 定容, 于 420 nm 处测定吸光度, 以 ONP 浓度为横坐标、 OD_{420} 值为纵坐标绘制标准曲线。

定量测定: 参照 GB/T 33409-2016 方法。取 0.1 mL 粗酶液于 37 $^{\circ}\text{C}$ 预热 5 min, 加入 0.5 mL ONPG 底物溶液, 混匀后反应 10 min, 加入 0.2 mL 碳酸钠溶液终止反应, 静置 5 min 后于 420 nm 处测定吸光度。以蒸馏水代替酶液、底物与终止液倒序加入为空白对照。酶活力计算公式如下:

$$E = \frac{c \times 0.8 \times D}{0.1 \times 10} \tag{1}$$

式中:

E ——酶活力, $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$

C ——试验液中邻硝基苯酚的浓度, 由标准曲线得出, $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$;

0.8——反应试剂总体积, mL;

D ——稀释倍数;

0.1——酶液体积, mL;

10——反应时间，min。

计算结果保留 3 位有效数字。

1.2.8.2 耐酸性实验

将待测菌株培养液以 3% (V/V) 接种于 pH 值为 3.0 的 MRS 肉汤培养基，37 ℃培养 3 h。采用平板计数法测定 0 h 和 3 h 活菌数，计算存活率：

$$A = \frac{N_3}{N_0} \times 100\%$$
(2)

式中：

A——耐酸性存活率，%

N₀——0 h 的活菌数，CFU/mL；

N₃——3 h 的活菌数，CFU/mL。

1.2.8.3 耐胆盐实验

将待测菌株培养液以 3% (V/V) 接种于含 0.3% (m/V) 牛胆盐的 MRS 肉汤培养基中，37 ℃培养 4 h。采用平板计数法测定 0 h 和 4 h 活菌数，计算存活率：

$$B = \frac{N_4}{N_0} \times 100\%$$
(3)

式中：

B——耐胆盐存活率，%

N₀——0 h 的活菌数，CFU/mL；

N₄——4 h 的活菌数，CFU/mL。

1.2.8.4 抑菌性实验

采用牛津杯法测定菌株对 7 种食源性病原指示菌的抑菌活性。指示菌包括：金黄色葡萄球菌、单核增生李斯特菌、乙型副伤寒沙门氏菌、鼠伤寒沙门氏菌、痢疾志贺菌、坂崎克罗诺杆菌和铜绿假单胞菌。

取待测菌株培养液，于 10 000 r·min⁻¹ 离心 3 min，上清液经 0.22 μm 滤膜过滤除菌。将指示菌浓度调整至 10⁶~10⁷ CFU/mL，涂布于 LB 琼脂平板。放置牛津杯，加入 150 μL 待测菌株的无菌上清液。以无菌 MRS 肉汤为阴性对照。平板于 4 ℃预扩散 2 h 后，37 ℃培养 24 h，测量抑菌圈直径。每组 3 个平行。

1.3 数据分析

所有实验重复 3 次，结果以平均值±标准差表示。采用 Design-Expert 13 进行响应面分析，SPSS 进行方差分析 (ANOVA)，Tukey HSD 法进行多重比较 (P<0.05 为差异显著)。图表绘制使用 Origin 2021。

2 结果与讨论

2.1 菌株分离与黄油适应性筛选

2.1.1 基于形态特征的菌株筛选

各菌株的菌落形态特征详见表 3，革兰氏染色镜检结果汇总于图 1。

表 3 不同来源样品中分离菌株的菌落形态与革兰氏染色结果

Table 3 Colony morphology and Gram staining results of strains isolated from different sources									
样品来源	菌株编号	直径/mm	形状	边缘整齐	隆起特征	颜色特征	光泽	镜检描述	筛选处理
广东水牛	snsnr1	0.7	圆形	✓	凸起	白色	湿润	紫色链球状，G ⁺	进入筛选
	snsnr2	0.2	圆形	✓	扁平	透明	湿润	紫色链球状，G ⁺	进入筛选
	snsnr3	0.3	圆形	✓	微凸	半透明	湿润	紫色链球状，G ⁺	进入筛选
生牛乳	snsnr4	1.5	圆形	✓	扁平	中心半透、边缘透明	湿润	紫色链球状，G ⁺	进入筛选
	snsnr5	1.0	圆形	✓	微凸	白色	湿润	紫色链球状，G ⁺	进入筛选
	snsnr6	0.5	圆形	✓	凸起	白色	湿润	紫色链球状，G ⁺	进入筛选

内蒙古 生牛乳	snr1	0.8	圆形	✓	微凸	白色	湿润	红色球状, G ⁻	剔除(G ⁻)
	snr2	0.5	圆形	✓	微凸	白色	湿润	紫色链球状, G ⁺	进入筛选
	snr3	1.0	圆形	✓	凸起	白色	湿润	紫色球状, G ⁺	进入筛选
	snr4	1.0	放射形	✓	微凸	半透明	湿润	紫色球状, G ⁺	进入筛选
	snr5	2.0	圆形	✓	扁平	半透明	湿润	紫色链球状, G ⁺	进入筛选
河北 生羊乳	syr1	1.6	圆形	×	扁平	半透明	湿润	紫色细长杆状, G ⁺	进入筛选
	syr2	1.8	圆形	✓	凸起	白色	湿润	紫色短杆状, G ⁺	进入筛选
	syr3	2.0	不规则	×	扁平	半透明	湿润	紫色长杆状, G ⁺	进入筛选
	syr4	0.9	圆形	✓	凸起	白色	湿润	紫色球状, G ⁺	进入筛选
	syr5	1.0	圆形	✓	扁平	半透明	湿润	紫色链球状, G ⁺	进入筛选
	syr6	0.3	圆形	✓	微凸	透明	湿润	紫色球状, G ⁺	进入筛选
内蒙古 奶豆腐	ndf1	2.5	圆形	✓	凸起	中间白、边缘透明	湿润	紫色短杆状, G ⁺	进入筛选
	ndf2	2.5	圆形	✓	扁平	白色	湿润	紫色短杆状, G ⁺	进入筛选
	ndf3	3.0	圆形	✓	扁平	白色	湿润	紫色短杆状, G ⁺	进入筛选
	ndf4	1.0	圆形	✓	微凸	白色	湿润	紫色短杆状, G ⁺	进入筛选
	ndf5	0.5	圆形	✓	扁平	白色	湿润	紫色链球状, G ⁺	进入筛选
	ndf6	0.3	圆形	✓	扁平	微透明	湿润	紫色长杆状, G ⁺	进入筛选
西藏雪 莲菌群	XL1	3.0	不规则	✓	微凸	白色	湿润	紫色杆状, G ⁺	进入筛选
	XL2	3.5	圆形	✓	凸起	白色	湿润	紫色短杆状, G ⁺	进入筛选
	XL3	1.5	圆形	✓	凸起	白色	湿润	紫色细长杆状, G ⁺	进入筛选
	XL4	0.5	不规则	✓	扁平	透明	湿润	紫色细长杆状, G ⁺	进入筛选
	XL5	1.0	圆形	✓	微凸	中间白、边缘透明	湿润	紫色杆状, G ⁺	进入筛选
	XL6	2.0	圆形	✓	微凸	白色	湿润	紫色杆状, G ⁺	进入筛选
	XL7	2.0	圆形	✓	扁平	微透明	湿润	紫色球状, G ⁺	进入筛选

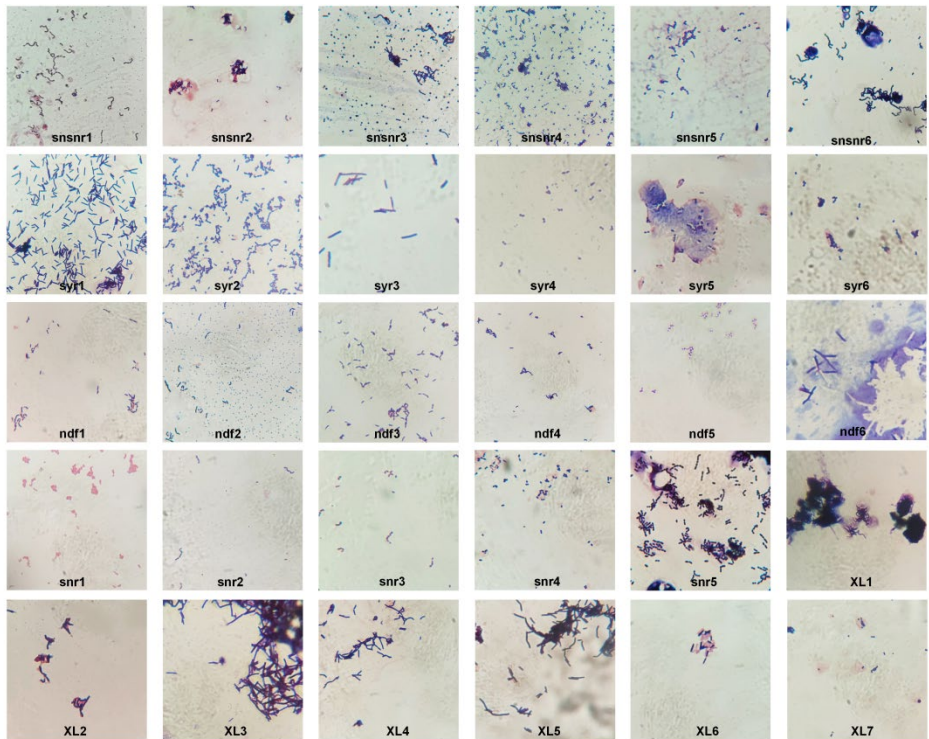


图 1 各菌株革兰氏染色显微形态观察结果 (100×油镜)

Fig.1 Microscopic morphology observation results of Gram-stained strains (100× oil immersion objective)

综合表 3 与图 1, 从 5 类样品中共筛选获得 29 株革兰氏阳性 (G⁺) 菌, 菌体形态包括链球状、球状、短杆状、

长杆状及细长杆状，符合乳酸菌典型特征；1株（snr1）为革兰氏阴性（G⁻）球状菌，予以剔除。上述29株疑似乳酸菌菌株进入后续黄油适应性筛选实验。

2.1.2 黄油选择性培养基筛选结果

将剔除革兰氏阴性菌后的待测菌株首先接种于黄油初筛培养基，筛选获得初筛阳性菌株。进一步将这些菌株接种于黄油复筛培养基。筛选结果如表4所示。

表4 不同来源菌株黄油选择性培养基筛选结果

Table 4 Screening results of strains from different sources on butter selective medium

样品来源	菌株编号	初筛结果	复筛结果	筛选结论
广东水牛生牛乳	snsnr1	×	--	不合格
	snsnr2	√	×	不合格
	snsnr3	√	√	合格
	snsnr4	√	√	合格
	snsnr5	×	--	不合格
	snsnr6	×	--	不合格
内蒙古生牛乳	snr2	×	--	不合格
	snr3	×	--	不合格
	snr4	√	√	合格
	snr5	√	√	合格
河北生羊乳	syr1	√	√	合格
	syr2	×	--	不合格
	syr3	√	×	不合格
	syr4	×	--	不合格
	syr5	√	√	合格
	syr6	√	×	不合格
内蒙古奶豆腐	ndf1	√	×	不合格
	ndf2	√	×	不合格
	ndf3	√	√	合格
	ndf4	√	√	合格
	ndf5	×	--	不合格
	ndf6	√	×	不合格
西藏雪莲菌群	XL1	√	√	合格
	XL2	√	√	合格
	XL3	√	√	合格
	XL4	√	×	不合格
	XL5	√	√	合格
	XL6	√	√	合格
	XL7	√	√	合格

注：√生长，×未生长；--未进行复筛（初筛未生长）。

如表4所示，经黄油初筛与复筛两步筛选，从29株疑似乳酸菌中共获得14株合格菌株。其中，初筛生长20株，复筛生长14株。合格菌株来源分布为：广东水牛生牛乳2株（snsnr3、snsnr4）、内蒙古生牛乳2株（snr4、snr5）、河北生羊乳2株（syr1、syr5）、内蒙古奶豆腐2株（ndf3、ndf4）、西藏雪莲菌群6株（XL1、XL2、XL3、XL5、XL6、XL7）。其中，菌株snsnr3经后续鉴定后命名为格氏乳球菌DZ。

2.2 菌株分子鉴定与核心菌株确定

2.2.1 16S rRNA 基因鉴定结果

经黄油选择性培养基筛选获得 14 株菌株，经 16S rRNA 基因测序和 NCBI BLAST 比对鉴定，初步鉴定分别归属于乳杆菌属、乳球菌属、魏斯氏菌属、片球菌属和肠球菌属，与模式菌株相似性在 99.44%~99.93% 之间（表 5）。

其中，菌株 snsnr3 在后续发酵性能与益生特性筛选中表现优异，命名为格氏乳球菌 DZ（*Lactococcus garvieae* DZ），保藏编号 CGMCC No. 37371。以该菌株为代表构建系统发育树（图 2），结果显示 DZ 与 *Lactococcus garvieae* BP14 菌株聚为一支，bootstrap 支持率达 100%，初步鉴定为格氏乳球菌。

表 5 菌株分子初步鉴定结果

Table 5 Preliminary Molecular Identification Results of Strains				
样品来源	菌株编号	鉴定结果	相似性/%	bootstrap 支持率/%
广东水牛生牛乳	snsnr3	格氏乳球菌	99.86	≥99
	snsnr4	粪肠球菌	99.79	≥99
内蒙古生牛乳	snr4	乳酸乳球菌	99.58	≥99
	snr5	乳酸乳球菌	99.44	≥95
河北生羊乳	syr1	德氏乳杆菌保加利亚亚种	99.86	≥99
	syr5	酪黄肠球菌	99.65	≥99
内蒙古奶豆腐	ndf3	融合魏斯氏菌	99.93	≥99
	ndf4	融合魏斯氏菌	99.73	≥99
西藏雪莲菌群	XL1	融合魏斯氏菌	99.80	≥98
	XL2	绿色魏斯氏菌	99.73	≥99
	XL3	开菲尔乳杆菌	99.52	≥99
	XL5	融合魏斯氏菌	99.59	≥99
	XL6	融合魏斯氏菌	99.93	≥99
	XL7	乳酸片球菌	99.52	≥99

注：本鉴定基于 16S rRNA 基因序列，为初步种水平鉴定结果。

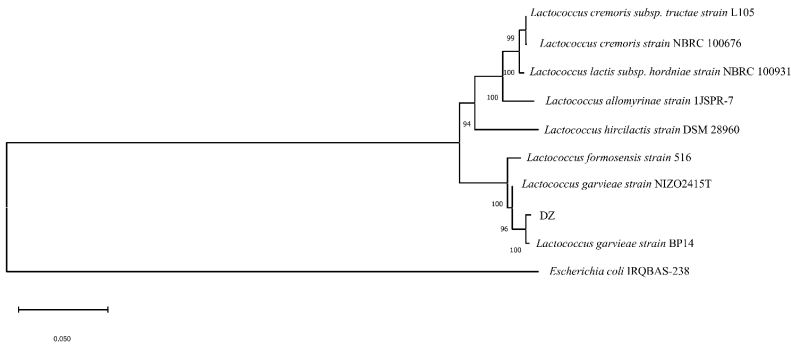


图 2 基于 16S rRNA 基因序列构建的格氏乳球菌 DZ 邻接法系统发育树

Fig.2 Neighbor-joining phylogenetic tree of *Lactococcus garvieae* DZ based on 16S rRNA gene sequences

2.2.2 核心乳酸菌菌株的确定

综合黄油适应性筛选、16S rRNA 基因初步鉴定结果及《可食用菌种名单》要求，剔除肠球菌属（syr5、snsnr4）及绿色魏斯氏菌（XL2）等非食品级菌株，最终筛选出 11 株核心乳酸菌，包括德氏乳杆菌保加利亚亚种 syr1、格氏乳球菌 DZ、乳酸乳球菌 snr4 和 snr5、开菲尔乳杆菌 XL3、乳酸片球菌 XL7、融合魏斯氏菌 XL1、XL5、XL6、ndf3 和 ndf4，上述菌株均属于《可食用菌种名单》所列物种，或为文献中广泛报道的食品发酵常用菌，予以保留并进入后续安全性及益生特性实验。

2.3 感官评价

对 11 株核心菌株发酵制备的稀奶油样品进行感官评价，结果如表 6 所示。大部分菌株表现优良（评分>80 分），其中乳酸片球菌 XL7 评分最高（86.98 分），乳酸乳球菌 snr4 评分最低（61.90 分）。所有菌株评分均超过 60 分，

达到可接受水平，因此全部进入后续实验。9 株菌评分超过 80 分，说明从传统乳制品分离的乳酸菌普遍能在黄油基质中形成良好风味，这可能与其产丁二酮、乙偶姻等关键风味物质的能力有关^[12]。优选菌株 DZ 评分为 80.95 分，虽排名第 9，但仍满足基础感官要求，后续可通过工艺优化进一步提升其风味表现。

表 6 11 株核心乳酸菌感官评价结果

Table 6 Sensory evaluation results of 11 core LAB strains

菌株	物种	感官评分/分	排名
XL7	乳酸片球菌	86.98	1
XL5	融合魏斯氏菌	85.63	2
syr1	德氏乳杆菌保加利亚亚种	84.85	3
ndf3	融合魏斯氏菌	83.65	4
XL3	开菲尔乳杆菌	83.30	5
XL6	融合魏斯氏菌	83.00	6
snr5	乳酸乳球菌	82.60	7
ndf4	融合魏斯氏菌	81.25	8
DZ	格氏乳球菌	80.95	9
XL1	融合魏斯氏菌	78.10	10
snr4	乳酸乳球菌	61.90	11

2.4 发酵性能分析

2.4.1 生长曲线

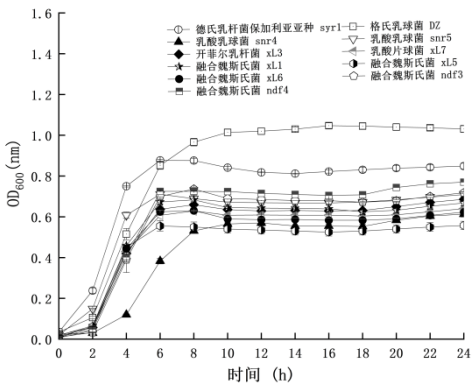


图 3 11 株核心乳酸菌的生长曲线

Fig.3 Growth curves of 11 core lactic acid bacteria strains

11 株核心菌株的生长曲线如图 3 所示。各菌株的生长能力差异显著：格氏乳球菌 DZ 生长迅速，在发酵初期即可快速增殖，有利于缩短发酵周期、提高生产效率；乳酸乳球菌 snr4 生长最为迟缓；其余菌株则呈稳定生长模式。菌株的生长能力与其酸化性能及风味代谢密切相关。Nugroho 等^[13]研究发现，生长速率显著影响风味化合物的产量，快速生长菌株更有利于风味形成。

2.4.2 产酸曲线

产酸速率是评价发酵性能的关键指标^[14]，具有快速产酸能力的菌株能迅速降低 pH、抑制杂菌、缩短发酵周期^[15]，适合高效生产场景。对 11 株核心乳酸菌在稀奶油中的产酸能力进行比较，结果如图 4 所示。

从产酸进程来看，融合魏斯氏菌 XL6 在发酵前期（0~8 h）产酸最快，pH 值从 6.75 降至 5.49，降幅达 1.26；格氏乳球菌 DZ 次之，同期降幅为 1.22（6.75→5.53）；融合魏斯氏菌 XL5 和 XL1 也表现出较快的前期产酸速率，降幅分别为 1.17 和 1.15。

从终点 pH 来看，乳酸乳球菌 snr4 的酸化能力最强，24 h 时 pH 值降至 4.50，为所有菌株中最低，显著低于其他菌株（ $P<0.05$ ）；融合魏斯氏菌 XL6、XL1、XL5、ndf3、ndf4 的终点 pH 值介于 4.78~4.86 之间；格氏乳球菌 DZ 的终点 pH 为 4.91，与 XL6 等菌株差异不显著（ $P>0.05$ ）；德氏乳杆菌保加利亚亚种 syr1 的产酸能力最弱，终

点 pH 值仍维持在 5.83。上述产酸性能的差异为筛选适合单一菌株发酵的发酵剂提供了重要依据。

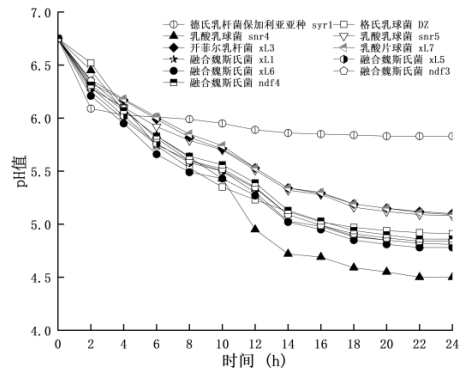


图 4 11 株核心乳酸菌的产酸曲线

Fig.4 Acid production curves of 11 core lactic acid bacteria strains

2.5 生物安全性评估

2.5.1 溶血性实验

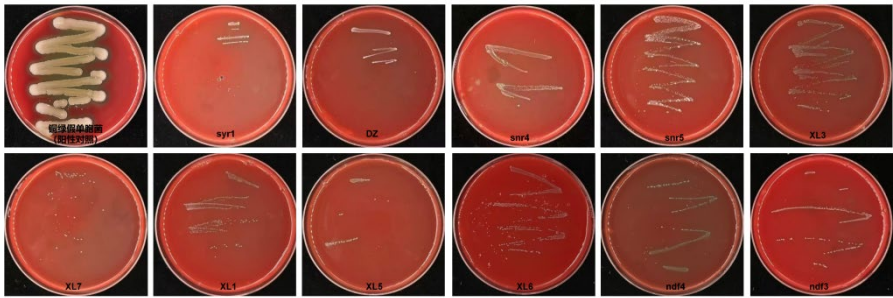


图 5 11 株核心乳酸菌及阳性对照的溶血性实验结果

Fig.5 Hemolysis results of 11 core lactic acid bacteria strains and positive control

乳酸菌代谢可能产生溶血毒素，引起红细胞溶解，诱发疾病^[16]。溶血性分为 α 溶血与 β 溶血： α 溶血亦称草绿色溶血，菌落周围形成 1~2 mm 草绿色透明环，由高铁血红蛋白所致，通常不致病； β 溶血又称完全溶血，由溶血素导致红细胞完全破坏，菌落周围呈现透明溶血环，与猩红热、扁桃体炎等疾病相关^[17]。

采用血平板划线法检测菌株溶血性，结果见图 5。阳性对照铜绿假单胞菌呈现典型 β 溶血（透明溶血环），验证了血平板质量和实验体系的可靠性。10 株菌株出现草绿色溶血环，判定为 α 溶血；仅格氏乳球菌 DZ 无溶血现象。结果表明，11 株乳酸菌均无溶血毒素产生，符合食品安全要求。

2.5.2 药敏性实验

表 7 11 株核心乳酸菌药敏性实验结果

Table 7 Antibiotic susceptibility of 11 core LAB strains

抗生素	syr1	DZ	snr4	snr5	XL3	XL7	XL1	XL5	XL6	ndf3	ndf4
氨苄西林	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
四环素	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
氯霉素	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
红霉素	I	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
克林霉素	I	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
庆大霉素	I	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S
链霉素	S	R	S	R	R	R	R	S	R	S	S
环丙沙星	R	S	R	S	I	S	I	I	I	I	S
万古霉素	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
利福平	R	R	R	I	R	R	R	R	I	I	I

注：S-敏感，I-中介，R-耐药。

抗生素耐药性是评价乳酸菌安全性的关键指标之一。畜牧业等领域抗生素的过度使用，导致乳酸菌中获得性耐药基因的出现，这些基因存在向人体肠道微生物群及致病菌转移的风险，构成潜在安全威胁^[18]。因此，开展乳酸菌耐药性筛查，评估其安全性具有重要意义。采用纸片扩散法测定 11 株核心菌株对 10 种抗生素的敏感性，结果见表 7。所有菌株均对氨苄西林和四环素敏感，符合食品乳酸菌的基础药敏要求。氯霉素、红霉素、克林霉素和庆大霉素中，多数菌株敏感，个别中介。链霉素：5 株敏感、6 株耐药（DZ、snr5、XL3、XL7、XL1、XL6）；环丙沙星：4 株敏感、5 株中介、2 株耐药；万古霉素：仅 syr1 和 DZ 敏感，其余 9 株耐药。万古霉素耐药是魏斯氏菌属的典型特征，亦常见于部分乳球菌属菌株^[19]，其机制与细胞壁肽聚糖前体结构变化有关。研究表明，乳酸菌对万古霉素的耐药多为固有耐药，不具可转移性，不构成安全隐患^[20]。值得注意的是，同为乳球菌属的 DZ 对万古霉素敏感，这与香港地区分离的格氏乳球菌菌株普遍对万古霉素敏感的报道一致^[21]，表明该属内不同菌株在万古霉素耐药性上存在差异，可能与其细胞壁合成相关基因的表达差异有关。

2.6 益生特性逐级筛选

2.6.1 β-半乳糖苷酶活性检测

表 8 11 株核心乳酸菌 β-半乳糖苷酶活性检测结果

Table 8 β-galactosidase activity of 11 core LAB strains

菌株	物种	X-gal 显色	β-半乳糖苷酶	筛选结果
XL6	融合魏斯氏菌	蓝色	+	通过
XL5	融合魏斯氏菌	蓝色	+	通过
XL1	融合魏斯氏菌	蓝色	+	通过
ndf4	融合魏斯氏菌	蓝色	+	通过
ndf3	融合魏斯氏菌	蓝色	+	通过
snr5	乳酸乳球菌	蓝色	+	通过
DZ	格氏乳球菌	蓝色	+	通过
XL3	开菲尔乳杆菌	蓝色	+	通过
XL7	乳酸片球菌	蓝色	+	通过
snr4	乳酸乳球菌	白色	-	淘汰
syr1	德氏乳杆菌保加利亚亚种	白色	-	淘汰

注：+表示阳性，-表示阴性

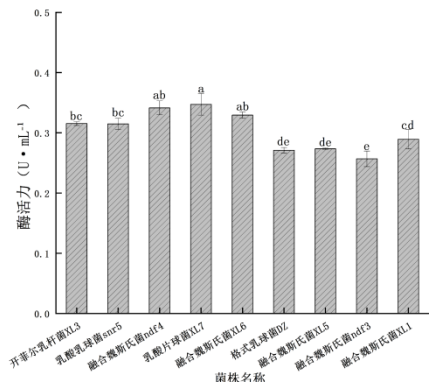


图 6 9 株 β-半乳糖苷酶阳性乳酸菌的酶活力

Fig.6 β-Galactosidase activity of nine enzyme-positive LAB strains

注：表中不同字母表示具有统计学差异（P<0.05），下同。

β-半乳糖苷酶能水解乳糖生成葡萄糖和半乳糖，具有缓解乳糖不耐受、改善乳制品消化特性的益生功能^[22]，是评价乳酸菌发酵性能的重要指标。对 11 株核心乳酸菌进行定性检测，结果如表 8 所示：融合魏斯氏菌 XL6、XL5、XL1、ndf4、ndf3，乳酸乳球菌 snr5，格氏乳球菌 DZ，开菲尔乳杆菌 XL3 及乳酸片球菌 XL7 共 9 株显色

阳性（蓝色），而 *snr4* 与 *syr1* 为阴性（白色）。

为进一步量化产酶能力，采用分光光度法测定酶活力，结果如图 6 所示。9 株阳性菌株的酶活力存在显著差异（ $P<0.05$ ）。乳酸片球菌 XL7 的酶活力最高（ $0.347\text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ ），显著高于其他菌株；融合魏斯氏菌 *ndf4*（ $0.342\text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ ）与 XL6（ $0.329\text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ ）次之，两者差异不显著，表明同样具有较高的产酶潜力。优选菌株 DZ 的酶活力为 $0.271\text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，处于中等水平。融合魏斯氏菌 *ndf3* 的酶活力最低（ $0.257\text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ ），显著低于其他菌株，这可能与其代谢特性、基因表达调控或酶蛋白稳定性有关^[23]。此外，开菲尔乳杆菌 XL3 与乳酸乳球菌 *snr5* 的酶活力无显著差异，说明二者水平相近，可能在遗传背景或培养条件响应上具有相似性。

2.6.2 耐酸性实验

表 9 9 株产酶乳酸菌耐酸实验结果

Table 9 Acid tolerance of 9 enzyme-producing LAB strains

菌株	存活率/%	筛选结果
DZ	94.75±1.42	通过
<i>ndf4</i>	52.03±3.26	通过
<i>snr5</i>	51.67±0.01	通过
XL3	39.77±1.24	通过
XL1	33.97±0.91	通过
XL6	23.54±0.10	通过
XL5	17.14±0.84	淘汰
<i>ndf3</i>	13.81±0.67	淘汰
XL7	2.99±0.20	淘汰

耐酸性是乳酸菌通过胃部屏障的关键。胃液 pH 值通常在 2.5~3.5 之间，食物停留时间约 2~3 h^[25]，因此本研究选择 pH 值为 3.0 处理 3h 作为筛选条件。9 株 β -半乳糖苷酶阳性菌株的存活率如表 9 所示。以存活率 $\geq 20\%$ 为筛选阈值，获得 6 株耐酸菌株：DZ（94.75%）、*ndf4*（52.03%）、*snr5*（51.67%）、XL3（39.77%）、XL1（33.97%）、XL6（23.54%）；其余菌株（XL5、XL7、*ndf3*）存活率低于 20%，耐受性极差，予以淘汰。其中，DZ 存活率高达 94.75%，远高于其他菌株，表明其对低 pH 值具有极强的适应性，这可能与其细胞膜结构、 H^+ -ATPase 活性或应激蛋白表达有关^[26]。*snr5* 和 *ndf4* 存活率均在 50%以上，也表现出良好的耐酸能力。

2.6.3 耐胆盐实验

表 10 6 株乳酸菌耐胆盐实验结果

Table 10 Bile salt tolerance of 6 LAB strains

菌株	存活率/%	筛选结果
DZ	40.43±1.75	通过
<i>snr5</i>	26.27±0.38	通过
XL3	1.13±0.12	淘汰
<i>ndf4</i>	0.02±0.00	淘汰
XL1	0.00±0.00	淘汰
XL6	0.00±0.00	淘汰

胆盐耐受性是乳酸菌在小肠存活并发挥益生作用的关键。人体小肠胆盐浓度通常在 0.1%~0.3%之间，食物停留时间 1~4 h^[27]，因此本研究选择 0.3%牛胆盐处理 4 h 作为筛选条件。6 株耐酸菌株在含 0.3%牛胆盐的 MRS 中培养，存活率如表 10 所示。以存活率 $>20\%$ 为阈值，获得 2 株耐胆盐菌株：DZ（40.43%）和 *snr5*（26.27%），其余菌株予以淘汰。耐酸筛选中表现良好的 XL3、XL1、XL6、*ndf4* 在胆盐环境中存活率极低，说明虽能耐受胃酸，但难以在小肠存活，不宜作为口服益生菌候选。综合耐酸与耐胆盐两项结果，DZ 是唯一存活率均保持在 40%以上的菌株，表现出最均衡且优异的胃肠道耐受能力，为其作为益生菌发酵剂的应用奠定了坚实基础。

2.6.4 抑菌性实验

乳酸菌可产生细菌素、有机酸等抑菌物质，抑制食源性病原菌生长^[28]。采用牛津杯法检测 DZ 和 *snr5* 的抑菌活性，结果如表 11 所示。*snr5* 对所有 7 种病原菌均有抑菌活性（12.47~21.83 mm），尤其对单核增生李斯特菌抑

菌圈达 22.00 mm，推测其可能分泌细菌素，具有天然食品防腐剂开发潜力。DZ 对 6 种病原菌有弱抑菌活性（9.86~12.67 mm），但对铜绿假单胞菌无抑制。尽管格氏乳球菌具有产细菌素的代谢潜能^[29]，但不同菌株的抑菌能力存在差异^[30]，DZ 抑菌活性较弱可能与其代谢产物组成或抑菌物质分泌量有关。

表 11 两株乳酸菌抑菌活性实验结果

Table 11 Antibacterial activity of two LAB strains

抑菌圈直径/mm	乳酸乳球菌 snr5	格氏乳球菌 DZ
金黄色葡萄球菌	16.00±0.82	12.67±0.47
单核增生李斯特菌	21.83±0.29	10.17±0.29
乙型副伤寒沙门氏菌	18.00±1.41	10.33±0.47
鼠伤寒沙门氏菌	18.33±0.47	10.67±0.47
痢疾志贺菌	16.67±0.47	10.23±0.40
坂崎克罗诺杆菌	12.47±0.50	9.86±0.23
铜绿假单胞菌	18.00±0.82	8.00±0.00

注：抑菌圈直径 8.00 mm 表示无抑菌活性（与牛津杯外径一致）。

3 结论

本研究从广东水牛生牛乳、河北生羊乳、内蒙古生牛乳、内蒙古奶豆腐及西藏雪莲菌群 5 种传统乳制品中分离获得 29 株革兰氏阳性乳酸菌，经黄油选择性培养基初筛与复筛，获得 14 株能适应黄油基质的菌株，剔除肠球菌属等非食品级菌株后最终确定 11 株核心乳酸菌。

通过感官评价、发酵性能、生物安全性及益生特性逐级筛选，获得一株表现全面的优选菌株——格氏乳球菌 DZ。感官评价方面，该菌株发酵稀奶油样品得分为 80.95 分，香气和滋味接受度良好。发酵性能方面，DZ 产酸启动迅速（发酵前期 8 h 内 pH 降幅达 1.22）、生长快速，有利于缩短发酵周期。生物安全性方面，该菌株无溶血活性，除对链霉素和利福平表现为耐药外，对其他 8 种受试抗生素均敏感，符合食品级微生物安全要求。益生特性方面，其 β -半乳糖苷酶活力为 $0.271\text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，在 pH 3.0 条件下存活率达 94.75%，在 0.3%（m/V）胆盐中存活率为 40.43%，对 6 种食源性病原菌具有弱抑菌活性。

本研究构建的逐级筛选体系可为发酵黄油用乳酸菌发酵剂的开发提供方法学参考。本研究尚存在一定局限：风味特性分析主要依赖感官评价，缺乏挥发性风味物质的定量数据。后续研究将围绕格氏乳球菌 DZ 的发酵工艺优化、风味物质解析及全基因组测序分析等方面深入开展，并将进一步评估其在黄油发酵中对质地和储藏稳定性的影响。

参考文献

[1] 葛雨星,成姝洁,吴时敏.黄油的研究进展[J].食品与生物技术学报,2022,41(6):21-30.

[2] 刘昊.酶解与发酵技术在黄油增香中的应用研究[D].广州:华南农业大学,2017.

[3] NAMI Y, BARGHI A, SADEGHI M, et al. *Lactobacillus delbrueckii*: A functional powerhouse in dairy fermentation and emerging probiotic applications [J]. Food Science & Nutrition, 2026, 14(2): e71546.

[4] SAĞDIÇ O, ARICI M, ŞİMŞEK O. Selection of starters for a traditional Turkish yayik butter made from yoghurt [J]. Food Microbiology, 2002, 19(4): 303-312.

[5] OSTADZADEH M, HABIBI NAJAFI M B, EHSANI M R. Lactic acid bacteria isolated from traditional Iranian butter with probiotic and cholesterol-lowering properties: In vitro and in situ activity [J]. Food Science & Nutrition, 2023, 11(1): 350-363.

[6] CINIVIZ M, YILMAZ-ERSAN L. Comprehensive characterization of butter fermented with region-specific starter cultures [J]. International Dairy Journal, 2026, 172: 106453.

[7] 肖琳,苟中军,邹滢,等.酶解与发酵工艺改善黄油风味研究[J].食品与发酵科技,2023,59(5):71-75+103.

[8] FAN Y, LI W C, SUI Y X, et al. Development of cheese-flavored butter essence through enzymatic hydrolysis and lactic acid fermentation [J]. Food Chemistry: X, 2025, 32: 103239.

[9] FENG J, XUE J, ZHANG Y, et al. Impact of *Lactocaseibacillus paracasei* RH5 fermentation on flavor of butter: Insights from GC-MS,

- GC-IMS and E-nose analysis [J]. LWT, 2026, 240: 118944.
- [10] 王梦松.发酵稀奶油产品中脂质变化及其对风味形成的影响[D].银川:宁夏大学,2023.
- [11] 张丽鸿.牦牛胃肠道细菌群落组成及乳酸杆菌益生特性研究[D].武汉:华中农业大学,2021.
- [12] LIU J M, CHEN L, JENSEN P R, et al. Food grade microbial synthesis of the butter aroma compound butanedione using engineered and non-engineered *Lactococcus lactis* [J]. Metabolic Engineering, 2021, 67: 443-452.
- [13] NUGROHO A D W, VAN OLST B, MOLENAAR D, et al. Growth rate influences flavour formation in *Lactococcus cremoris* independently of metabolic protein levels [J]. International Journal of Food Microbiology, 2026, 451: 111662.
- [14] 白宝超,郑少龙,刘叶飞,等.3 种乳酸菌添加剂对柠条青贮品质及微生物群落结构的影响[J].动物营养学报,2026,38(2):1480-1491.
- [15] ZIOGA E, HOLDT S L, GRÖNDAHL F, et al. Screening approaches and potential of isolated lactic acid bacteria for improving fermentation of *Saccharina latissima* [J]. BMC Biotechnology, 2025, 25(1): 2.
- [16] EFFENBERGER-NEIDNICH K, HARTMANN M. Mechanisms of hemolysis during sepsis [J]. Inflammation, 2018, 41(5): 1569-1581.
- [17] CANÉ L, SAFFIOTI N A, GENETET S, et al. Alpha hemolysin of *E. coli* induces hemolysis of human erythrocytes independently of toxin interaction with membrane proteins [J]. Biochimie, 2024, 216: 3-13.
- [18] CHAMPAGNE C P, GOMES DA CRUZ A, DAGA M. Strategies to improve the functionality of probiotics in supplements and foods [J]. Current Opinion in Food Science, 2018, 22: 160-166.
- [19] 王璐,赵嘉俊,袁建波,等.1 株致脓毒症融合魏斯氏菌的鉴定[J].中华医院感染学杂志,2023,33(20):3075-3079.
- [20] 于鸿晶,孙宁云,文彬.嗜酸乳杆菌 YIT2004 株的抗生素敏感性及对万古霉素耐药机制[J].中国微生态学杂志,2019,31(12):1385-1388.
- [21] CHAN Y X, CAO H, YAU C Y, et al. Antimicrobial susceptibility and genomic characterization of *Lactococcus formosensis*, *Lactococcus garvieae*, and *Lactococcus petauri* in Hong Kong [J]. Microbiology Spectrum, 2025, 13(10): e00101-25.
- [22] ANGIMA G, QU Y, PARK S H, et al. Prebiotic strategies to manage lactose intolerance symptoms [J]. Nutrients, 2024, 16(7): 1002.
- [23] KITTIBUNCHAKUL S, PHAM M L, TRAN A M, et al. β -galactosidase from *Lactobacillus helveticus* DSM 20075: Biochemical characterization and recombinant expression for applications in dairy industry [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(4): 947.
- [24] HU H, PENG Q, TAI J, et al. Unveiling the genetic basis and metabolic rewiring behind the galactose-positive phenotype in a *Streptococcus thermophilus* mutant [J]. Microbiological Research, 2024, 289: 127894.
- [25] BORNHORST G M. Gastric mixing during food digestion: mechanisms and applications [J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2017, 8: 523-542.
- [26] GAO R, BO X, WANG H, et al. Unraveling novel acid tolerance mechanisms in *Lactococcus lactis* through physiological and multi-omics analyses [J]. LWT, 2025, 214: 118387.
- [27] 陈润桐.基于甘青藏区牦牛乳及乳制品筛选抑菌乳酸菌及其在甜樱桃生物保鲜中的应用研究[D].兰州:兰州大学,2025.
- [28] CHEN X, BAI H, MO W, et al. Lactic acid bacteria bacteriocins: safe and effective antimicrobial agents [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2025, 26(9): 4124.
- [29] KOMORI Y, OZAWA N, KUWAHARA H, et al. Identification and characterization of a circular bacteriocin, garvicin SC, a novel garvicin ML variant, produced by *Lactococcus garvieae* ABG0038 [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2025, 139(2): 95-99.
- [30] LOFORTE Y, FERNANDES N, DE ALMEIDA A M, et al. A meta-analysis on the in vitro antagonistic effects of lactic acid bacteria from dairy products on foodborne pathogens [J]. Foods, 2025, 14(6): 907.