

蒙古族传统奶嚼口的微生物组成分析

徐伟良^{1,2}, 李春冬^{1,2}, 郭梁^{*1,2,3}, 郭元晟^{1,2,3}, 朱建军^{1,2},
郝苗苗^{1,3}, 钱俊平^{1,2,3}, 雅梅^{1,2,3}

(1. 锡林郭勒职业学院, 内蒙古 锡林浩特 026000; 2. 锡林郭勒生物工程研究院, 内蒙古 锡林浩特 026000; 3. 锡林郭勒食品检验检测和风险评估中心, 内蒙古 锡林浩特 026000)

摘要: 通过对蒙古族传统奶嚼口进行微生物组成分析, 以期为地方标准制定及工业化产品开发提供理论依据和有益借鉴。采用纯培养方法对奶嚼口样品中乳酸菌、双歧杆菌和大肠杆菌培养计数, 并通过 16S rDNA 基因序列分析对其进行种属鉴定。结果显示, 奶嚼口样品中乳酸菌活菌数为 (7.91~8.69) lg(CFU/mL), 双歧杆菌活菌数为 (4.09~6.64) lg(CFU/mL), 大肠杆菌活菌数为 (0~5.45) lg(CFU/mL); 样品中菌种分属于 5 个属, 其中优势菌株为粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis* 34.55%)、植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum* 25.45%) 和乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis* 16.36%)。研究表明, 蒙古族传统奶嚼口含有丰富的乳酸菌和双歧杆菌资源, 其中的污染指标菌 (大肠杆菌) 是工业化生产的掣肘所在, 而蒙古族传统奶嚼口具有酸性高脂的天然属性, 为潜在功能益生菌的开发提供了丰富的菌种资源。

关键词: 奶嚼口; 微生物分析; 乳酸菌; 分离; 鉴定

中图分类号: TS 252.54 文章编号: 1673-1689(2020)08-0106-06 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2020.08.013

Analysis of Microbial Composition in Mongolian Jiaokou

XU Weiliang^{1,2}, LI Chundong^{1,2}, GUO Liang^{*1,2,3}, GUO Yuansheng^{1,2,3}, ZHU Jianjun^{1,2},
HAO Miaomiao^{1,3}, QIAN Junping^{1,2,3}, YA Mei^{1,2,3}

(1. Xilingol Vocational College, Xilinhot 026000, China; 2. Xilingol Institute of Bioengineering, Xilinhot 026000, China; 3. Xilingol Food Testing and Risk Assessment Center, Xilinhot 026000, China)

Abstract: The microbial community analysis from Mongolian Jiaokou was carried out in order to provide theoretical basis and beneficial references for establishment of local standards and development of industrial products derived from Jiaokou. The *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* and *Escherichia coli* in Jiaokou were counted by culture-dependent method, and their species identification was analyzed by 16S rDNA sequencing. The viable counts of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, and *E. coli* were 7.91~8.69, 4.09~6.64 and 0~5.45 lg (CFU/mL), respectively. The strains in the samples were classified into 5 genera, of which the dominant strains were *Enterococcus faecalis* 34.55%, *Lactococcus plantarum* 25.45% and *Lactococcus lactis* 16.36%. Mongolian Jiaokou

收稿日期: 2019-03-23

基金项目: 内蒙古自治区高等学校科学研究项目(NJZY19336); 锡林郭勒职业学院重点科研项目(ZD-2019-06); 锡林郭勒职业学院重点科研项目(ZD-2020-04)。

* 作者简介: 徐伟良(1988—), 男, 硕士, 助理研究员, 主要从事微生物学方面的研究。E-mail: xwlg@126.com

* 通信作者: 郭梁(1986—), 男, 博士, 助理研究员, 主要从事微生物学方面的研究。E-mail: herdman86@163.com

is rich in *Lactococcus* and *Bifidobacterium*, however, pollution indicating bacteria (coliforms) is the constraint its industrial production. Mongolian traditional Jiaokou is naturally acid and high-fat, providing a potential wealth of strain resource for the functional probiotics development.

Keyword: Jiaokou, microorganism analysis, *Lactococcus*, isolation, identification

蒙古族传统乳制品具有悠久的历史,其种类多样,味道鲜美,拥有独特的风味口感,含有丰富的蛋白质、脂肪及多种维生素,是提供营养物质的良好食品,在蒙古族的传统饮食结构中具有重要地位^[1-2]。蒙古族传统奶嚼口是将新鲜牛奶放置在阴凉避光处,使其自然低温发酵,发酵后上浮的乳白色稠油状物质即为奶嚼口。蒙古族传统奶嚼口是一种高油脂类乳制品,根据刘文丽对蒙古族传统奶嚼口的理化性质和营养成分研究报道可知,其固形物平均质量分数可达到 91.25%;平均蛋白质质量分数为 1.82%;平均总糖质量分数为 54.45 mg/g;平均 pH 值为 3.765。然而目前对蒙古族传统奶嚼口微生物多样性的研究还未见报道。

作者对锡林郭勒盟地区采集的蒙古族奶嚼口样品中乳酸菌、双歧杆菌和大肠杆菌进行活菌分离计数,通过脂肪和酸度的检测指标来分析其对奶嚼口样品中菌群结构变化的影响。利用分子生物学方法对乳酸菌进行鉴定,为潜在功能益生菌的开发提供了丰富的菌种资源,并对其地方标准制定以及工业化产品开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 样品来源 试验所用 14 份蒙古族传统奶嚼口样品均采于内蒙古锡林郭勒盟地区牧民家中,稀奶油样品是将牧民家中蒙古族传统奶嚼口发酵的前体原乳离心后所得。

1.1.2 培养基 菌种的鉴定使用乳酸细菌培养基(MRS)、月桂基硫酸盐胰蛋白胨培养基(LST)、煌绿乳糖胆盐培养基(BGLB)、结晶紫中性红胆盐琼脂培养基(VRBA)。

1.1.3 主要试剂与仪器 Takara 快速提取试剂盒(Code No.9164): 购于大连宝生物工程公司; EasyTaq® PCR Super Mix (Lot#K20614): 购于北京全式金生物技术有限公司; 引物 27F 和 1495R: 北京睿博生物科技有限公司合成; SW-J-2FD 净化工

作台: 购于苏州博莱尔净化设备有限公司; HWS-250BX 恒温恒湿培养箱: 购于天津市泰斯特仪器有限公司; 2720 Thermal Cycler PCR 扩增仪: 购于 BIORAB 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 奶嚼口样品采集 将在牧民家采集的传统奶嚼口搅拌均匀,将其装入无菌采样袋中,并编号和记录。将所有样品放入便携低温恒温冰箱中暂时储存,尽快将样品送回实验室并进行菌种分离和理化检测。

1.2.2 样品脂肪和酸度测定 脂肪的测定参照 GB 5009.6-2016^[4]; 酸度的测定参照 GB 5009.239-2016^[5]。

1.2.3 样品中微生物活菌计数 乳酸菌计数参照 GB 4789.35-2016^[6]; 大肠杆菌计数参照 GB 4789.3-2016^[7]; 双歧杆菌计数参照 GB 4789.34-2016^[8]。

1.2.4 样品中菌种的鉴定

1) 菌种 DNA 提取 传统奶嚼口的基因组总 DNA 的提取采用 Takara 快速提取试剂盒。取 30 μL 裂解液于灭菌的 Eppendorf (EP) 管中,灭菌枪头过火后,冷却后的枪头挑取单菌落,置于 EP 管液面以下,使菌落完全接触溶液并充分搅拌。将 EP 管置于金属浴上,80 °C 热变性 15 min,8 000 r/min 离心 5 min,将上清液吸出,转移至新 EP 管中,所得菌液总 DNA 作为后续 PCR 反应的模板。

2) 菌种 PCR 扩增及序列鉴定 乳酸菌选用 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1495R (5'-CTACGGCTACCTTGTACGA-3') 用于扩增。PCR 反应体系: 模板 DNA 1 μL、引物 27F 和引物 1495R 各 1 μL、EasyTaq PCR Super Mix 10 μL、ddH₂O 7 μL。

反应设定程序: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 1 min、58 °C 退火 1 min、72 °C 延伸 2 min,共 30 循环; 72 °C 末端延伸 10 min。

扩增产物用 1.2 g/dL 的琼脂糖凝胶电泳进行检测,检测合格的扩增产物送至北京睿博生物科技有

限公司进行测序,测序结果经拼接后在美国国立生物技术信息中心 (national center for biotechnology information, NCBI) 进行 BLAST 同源比对。

2 结果与讨论

2.1 奶嚼口的微生物活菌计数

采集于锡林郭勒盟地区的蒙古族传统奶嚼口样品中乳酸菌、双歧杆菌和大肠杆菌活菌计数结果见表 1。

乳制品的活菌数可以指示出样品的新鲜程度,

并且高浓度的乳酸菌和双歧杆菌是发挥传统奶嚼口功效和筛选益生菌的必要条件。从表 1 可知,锡林郭勒盟地区 14 份奶嚼口样品中乳酸菌活菌数在 (7.91~8.69) lg(CFU/mL) 之间,双歧杆菌活菌数在 (4.09~6.64) lg(CFU/mL) 之间,由于 14 份奶嚼口样品均采自锡林郭勒盟地区,牧区气候和地理环境相差不大,因此测得 14 份样品间乳酸菌活菌数和双歧杆菌活菌数相差不大。其中所测样品的乳酸菌数与陈红霞等从鄂尔多斯地区传统乳制品中测得的乳酸菌数 (6.26~9.99) lg(CFU/mL)^[9] 和德亮亮等从

表 1 传统奶嚼口样品中菌落计数结果

Table 1 Colony counts of traditional Jiaokou samples

样品编号	乳酸菌/ lg(CFU/mL)	双歧杆菌/ lg(CFU/mL)	大肠杆菌/ lg(CFU/mL)	酸度/°T	脂肪质量分数/%
XJ01	7.91±0.19	5.33±0.22	1.35±0.43	92.8	41.4
XJ02	8.14±0.30	5.52±0.23	2.52±0.17	104	31.1
XJ03	8.62±0.19	6.07±0.29	4.79±0.63	85.4	45.9
XJ04	8.69±0.14	6.17±0.21	2.87±0.18	107	34.3
XJ05	8.40±0.11	6.36±0.08	1.59±0.30	111	48.5
XJ06	8.18±0.13	6.00±0.54	0.93±0.54	79.2	37.1
XJ07	8.16±0.32	6.64±0.22	5.14±0.12	88.9	31.1
XJ08	8.62±0.13	5.50±0.12	2.75±0.40	84.4	34.9
XJ09	7.98±0.14	6.22±0.20	ND	134	37.2
XJ10	8.14±0.05	4.09±0.90	ND	307	7.1
XJ11	8.31±0.26	6.24±0.23	2.24±0.61	105	26.4
XJ12	8.56±0.10	6.24±0.44	2.48±0.21	72.5	40.0
XJ13	8.00±0.47	6.22±0.30	4.76±0.81	90.9	44.0
XJ14	8.25±0.15	6.35±0.41	5.45±0.17	80.6	35.1

注:ND 为未检出。

包头和巴彦淖尔地区传统乳制品中测得的乳酸菌数 (6.74~9.16) lg(CFU/mL)^[10] 以及 Watanabe 等人从蒙古国地区以奶牛、牦牛、母马、山羊等为乳源的传统乳制品中测得的乳酸菌数 (3.41~9.03) lg(CFU/mL)^[11] 相比,均在平均水平范围。所测双歧杆菌活菌数与 Delcenserie 等人在羊奶酪中分离的双歧杆菌活菌数 (1.6~5) lg(CFU/g)^[12] 相比,高于上述数据。因此可知,所测奶嚼口样品的新鲜程度较好,并含有丰富的乳酸菌和双歧杆菌,有利于后续菌种的分离鉴定研究。

大肠杆菌作为乳制品的卫生指标菌,可以间接显示乳制品的卫生状况,大肠杆菌总数超标会对人体造成严重的危害。由表 1 可以看出,测得样品中大肠杆菌活菌平均数为 2.63 lg(CFU/mL),个别样品

中大肠杆菌总数较高。大肠杆菌的出现可能和牲畜驯养环境、原料的采集、传统奶嚼口的加工条件、气候等因素有关。自然发酵的传统奶嚼口保存了其中所含有益微生物,但是也含有对人体健康有潜在威胁性的微生物,因此需要对传统奶嚼口的微生物组成和乳酸菌菌群结构进行深入研究。

2.2 奶嚼口样品酸度与菌群之间的关系

从图 1 可看出,乳酸菌在酸度 80.6~307 °T 区间活菌数稳定,强酸条件对乳酸菌的生长几乎没有影响,说明乳酸菌对强酸环境有耐受性,这与刘亚东等人研究结果相类似^[13]。双歧杆菌在酸度 80.6~134 °T 区间时趋于稳定,说明酸度在小于 134 °T 时对双歧杆菌活菌数几乎没有影响,这与孟祥晨等对双歧杆菌生理功能特性的研究结果相类似^[14]。大肠

杆菌活菌数随着酸度的升高而减少,直至酸度到134 °T时大肠杆菌已经减少至零,说明大肠杆菌可能对高酸度环境耐受性差,这与 Malgorzata 等人对双歧杆菌发酵乳活性的研究相类似^[15]。

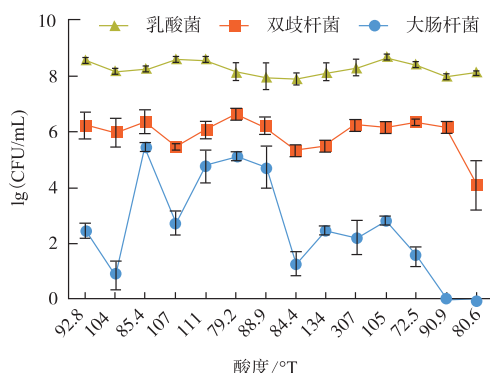


图1 奶嚼口样品中酸度和微生物活菌数之间的关系

Fig. 1 Relationship between the acidity and the number of viable microorganisms in traditional Jiaokou

表2 稀奶油样品菌落数与理化指标

Table 2 Colony counts and physicochemical profiles of cream samples

样品编号	乳酸菌/ lg(CFU/mL)	双歧杆菌/ lg(CFU/mL)	大肠杆菌/ lg(CFU/mL)	酸度/°T	脂肪质量分数/%
XN01	5.63±0.44	3.08±0.4	4.74±0.56	34.3	63.6
XN02	7.44±0.34	5.36±0.41	5.44±0.13	51.3	54.3
XN03	8.04±0.59	5.45±0.25	6.68±0.29	58.4	53.2

注: XN01-XN03 分别为室温发酵 0、1、2 天时的检测结果。

增长至6.68 lg(CFU/mL)。稀奶油样品中乳酸菌、双歧杆菌和大肠杆菌活菌数均呈上升趋势,并且菌群数量与奶嚼口样品中的菌群数量相近,从而可推测稀奶油样品和奶嚼口样品中含有相似的菌群结构。同时随着静置发酵时间的延长,稀奶油样品的酸度逐渐上升,脂肪含量呈下降趋势,这说明乳酸菌、双歧杆菌和大肠杆菌在稀奶油中大量繁殖并对稀奶油进行发酵。

2.4 奶嚼口样品中菌种鉴定结果

将传统奶嚼口通过微生物培养方法,分别接到不同培养基进行培养,按照菌落的颜色、大小、边缘是否整齐、表面是否光滑等特征挑选,在14份样品中共挑选出55株菌株。将挑取的菌株进行DNA提取和PCR扩增,并将扩增产物送测序公司进行测序分析。测序后的基因序列与NCBI数据库中已知序列进行同源性比较,结果见图2。分离的55株菌株分属于5个属:肠球菌属(*Enterococcus faecalis* 34.55%、*Enterococcus faecium* 1.82%),乳杆菌属

2.3 稀奶油中微生物活菌计数

蒙古族传统奶嚼口是生牛乳自然发酵后乳脂上浮的产物,通过表1可知其平均脂肪质量分数达35.3%。蒙古族传统奶嚼口作为一种高油脂类乳制品,类似于商用生产中通过离心的方法将原牛乳中的乳脂分离出来制成的稀奶油产品^[16-17]。稀奶油是原牛乳未经发酵而制成的乳脂产品,相当于蒙古族传统奶嚼口发酵的前体,因此,作者也对稀奶油中微生物菌群组成进行研究,以期发掘稀奶油与蒙古族传统奶嚼口微生物菌群之间的相互关系以及对奶嚼口产品发酵的影响,并为奶嚼口商用产品的研发提供有益借鉴。

从表2可以看出,稀奶油样品随着静置发酵时间的延长,乳酸菌数从5.63 lg(CFU/mL)增长至8.04 lg(CFU/mL);双歧杆菌数从3.08 lg(CFU/mL)增长至5.45 lg(CFU/mL);大肠杆菌数从4.74 lg(CFU/mL)

(*Lactobacillus plantarum* 25.45%、*Lactobacillus paracasei* 9.09%、*Lactobacillus helveticus* 1.82%),乳球菌属(*Lactococcus lactis* 16.36%),双歧杆菌属(*Bifidobacterium crudilactis* 5.45%、*Bifidobacterium psychraophilum* 3.46%)及链球菌属(*Streptococcus thermophilus* 1.82%)。

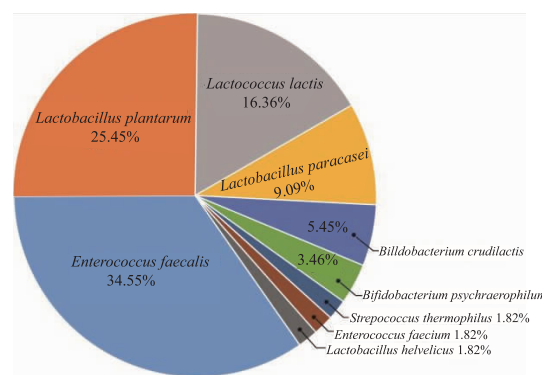


图2 奶嚼口菌种序列鉴定结果

Fig. 2 Sequencing results of strains in traditional Jiaokou

肠球菌属是人和动物肠道的正常菌群,通常被当做益生菌,有着良好的生物安全性和益生特性。Nuenopalop 等在人的粪便中分离出的 *E. faecalis* 具有良好胃酶和低 pH 耐受性,并且对万古霉素、利福平、四环素和红霉素敏感,对四环素氯霉素和卡那霉素具有耐药性^[18]。Haghshenas 等人在 150 种传统乳制品中分离出的 *E. faecium* 不仅对低 pH 环境有较强的抵抗力,还能在肠道壁上粘附增值并且还能有效的排斥病原菌的定植,从而达到抑制病原菌的效果^[19]。晏涛研究发现,*E. faecium* HDRsEf1 可以帮助维持和增强肠道的屏障功能,减轻感染 ETEC 的小鼠肠道炎症以及小鼠体重降低和腹泻症状^[20]。

乳杆菌属是由一类遗传和生理特性多样的杆状乳酸菌构成,到目前为止乳杆菌属是乳酸菌中最大的一个属。基于发酵的最终产物,这个属的种可以被划分为 3 组,即同型乳酸发酵的乳杆菌、兼性异型乳酸发酵的乳杆菌和专性异型乳酸发酵的乳杆菌。郭怡麟选取经过益生评价的 *L. plantarum* ZDY2013 对 *Helicobacter pylori* 进行拮抗抑制试验,发现其选取的 *L. plantarum* 可以有效拮抗 *Helicobacter pylori* SS1 粘附在人胃腺癌细胞上^[21]。张丹丹等人对实验室保藏的一株 *L. plantarum* 进行研究,发现此株 *L. helveticus* 具有一定的耐酸及耐胆盐能力,并且对 Caco-2 细胞具有较强的黏附能力^[22]。

乳球菌属是一类革兰氏阳性菌,部分菌种可从乳制品、植物产品等分出,其模式种为乳酸乳球菌。乳酸乳球菌是发酵工业中常用的发酵剂之一,特别是在发酵乳制品中。徐海燕等人在中国的内蒙古牧区、西部少数民族地区和蒙古国发酵乳中分离出了 204 株 *L. lactis*^[23]。张燕在酸马奶中分离 *L. lactis* 代谢产物对小鼠盲肠微生物以及营养代谢的影响,发现 *L. lactis* 可减少小鼠盲肠中的大肠杆菌数量,增加 *Lactobacillus* 和 *Bifidobacterium* 数量^[24]。

链球菌属广泛分布于自然界,从水、乳、尘埃、人和动物粪便皆可检出。常见的对人体有益的链球菌为嗜热链球菌,是制作酸奶的必需菌种。华鹤良等人对乳品厂保藏的乳酸菌样品进行分子鉴定,最终分离出了一株综合发酵性能良好的

S. thermophilus^[25]。Sun 等人在青海省传统发酵牦牛乳制品中分离出嗜热链球菌,通过发酵产物进行试验,最终成功筛选出具有优良发酵特性的 *S. thermophilus* ND03^[26]。王玥研究发现,*S. thermophilus* 有缓解细胞氧化应激作用^[27]。

双歧杆菌属的细菌是人和动物肠道菌群的重要组成部分之一,广泛存在于人和动物的消化道、口腔等生境中。一些双歧杆菌的菌株可以作为益生菌用在食品、医药和饲料方面。Bunesova 等人对羊奶酪中双歧杆菌进行分离鉴定,第一次证明了 *B. crudilactis* 存在于绵羊奶酪中^[28]。Hsieh 等人对开菲尔粒中微生物进行分离鉴定,其中分离出了 *B. psychraerophilum*^[3]。

3 结 语

作者对锡林郭勒盟地区采集的 14 份蒙古族传统奶嚼口样品进行了微生物组成分析,其中乳酸菌活菌数在 (7.91~8.69) lg(CFU/mL),双歧杆菌活菌数在 (4.09~6.64) lg(CFU/mL),大肠杆菌活菌数在 (0~5.45) lg(CFU/mL)。对奶嚼口样品进行菌种鉴定分析表明,奶嚼口样品中菌种分属于 5 个属,其中优势菌株为粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis* 34.55%)、植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum* 25.45%) 和乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis* 16.36%)。

奶嚼口样品的酸度和微生物活菌数之间的关系研究表明,乳酸菌对高酸度环境耐受性强,当酸度条件达 307 °T 任对乳酸菌的生长几乎没有影响;双歧杆菌在酸度 80.6~134 °T 区间时趋于稳定;大肠杆菌活菌数随着酸度的升高而减少,直至酸度到 134 °T 时大肠杆菌已减少至零,说明大肠杆菌可能对高酸度环境耐受性较差。通过对稀奶油样品中乳酸菌、双歧杆菌和大肠杆菌分析表明,其菌群数量与奶嚼口样品中的菌群数量相近,从而可推测稀奶油样品和奶嚼口样品中含有相似的菌群结构。上述研究表明,蒙古族传统奶嚼口具有丰富的益生菌资源,在微生物资源开发和商业化生产方面具有巨大潜力。

参考文献:

- [1] 肖芳. 内蒙古锡盟地区传统奶皮子和奶豆腐的营养分析[J]. 中国乳品工业, 2013, 41(11): 27-28.
- [2] 张红梅, 哈斯其木格, 肖芳, 等. 对内蒙古传统乳制品奶豆腐地方标准适用范围探析[J]. 中国乳品工业, 2016, 44(9): 47-48.

- [3] 徐伟良,李春冬,多拉娜,等. 蒙古族奶嚼口与下层凝乳中乳酸菌的筛选和比较研究[J]. 中国酿造,2020,39(5):60-64.
- [4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局. GB/T 5009.6-2016,食品安全国家标准食品中脂肪的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2016.
- [5] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局. GB/T 5009.239-2016,食品安全国家标准食品中酸度的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2016.
- [6] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局. GB/T 4789.35-2016,食品安全国家标准食品微生物学检验乳酸菌检验[S]. 北京:中国标准出版社,2016.
- [7] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局. GB/T 4789.3-2016,食品安全国家标准食品微生物学检验大肠菌群计数[S]. 北京:中国标准出版社,2016.
- [8] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局. GB/T 4789.34-2016,食品安全国家标准食品微生物学检验双歧杆菌检验[S]. 北京:中国标准出版社,2016.
- [9] 陈红霞. 内蒙古鄂尔多斯地区传统乳制品中乳酸菌的分离鉴定及优势菌群的定量分析[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2015.
- [10] 德亮亮. 内蒙古包头和巴彦淖尔地区传统乳制品中乳酸菌的分离鉴定及优势菌群 q-PCR 定量分析[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2015.
- [11] WATANABE K,FUJIMOTO J,SASAMOTOM,et al. Diversity of lactic acid bacteria and yeasts in Airag and Tarag,traditional fermented milk products of Mongolia[J]. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**,2008,24(8):1313-1325.
- [12] DELCENSERIEV,TAMINIAU B,GAVINIF,et al. Detection and characterization of *Bifidobacterium crudilactis* and *B. mongoliense* able to grow during the manufacturing process of French raw milk cheeses[J]. **BMC Microbiology**,2013,13(1):239-239.
- [13] 刘亚东,张悦,贺银凤,等. 西藏曲拉和发酵乳中抗氧化和益生特性乳酸菌的筛选及鉴定[J]. 食品工业科技,2019,40(02):142-147.
- [14] 孟祥晨. 双歧杆菌生理功能特性及其应用的研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2002.
- [15] MALGORZATA ZIARNO Z,DOROTA ZAREBA. Effects of milk components and food additives on survival of three *Bifidobacteria* strains in fermented milk under simulated gastrointestinal tract conditions[J]. **Microbial Ecology in Health and Disease**,2015,26:27812.
- [16] 林伟锋,周艳,鲍志宁,等. 蛋白酶和脂肪酶对稀奶油-乳清体系发酵特性及风味的影响[J]. 食品科学,2018,39(16):140-146.
- [17] 孙剑锋,王颀. 黄油的加工方法及其物理性质和营养成分[J]. 中国食物与营养,2011,17(11):33-35.
- [18] NUENOPALOP C,NARBAD A. Probiotic assessment of *Enterococcus faecalis* CP58 isolated from human gut[J]. **International Journal of Food Microbiology**,2011,145(2):390-394.
- [19] HAGHSHEENAS B,NAMI Y,ABDULLAH N,et al. Anti-proliferative effects of *Enterococcus* strains isolated from fermented dairy products on different cancer cell lines[J]. **Journal of Functional Foods**,2014,11:363-374.
- [20] 晏涛. 益生屎肠球菌 HDRsEfl 抗 ETEC 肠道感染作用的研究[D]. 武汉:华中农业大学,2016.
- [21] 郭怡麟. 两株潜在益生菌拮抗幽门螺杆菌的作用机制研究及其乳品工艺初探[D]. 南昌:南昌大学,2018.
- [22] 张丹丹,郭宇星,周慧敏,等. 瑞士乳杆菌的益生特性[J]. 食品与发酵工业,2014,40(5):32-36.
- [23] 徐海燕. 不同地区自然发酵乳中乳酸乳球菌多位点序列分型研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2013.
- [24] 张燕. 酸马奶源乳酸乳球菌代谢物和大黄联合作用对小鼠盲肠微生物以及营养代谢的影响[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2016.
- [25] 华鹤良,张军,杨仁琴,等. 乳酸菌复壮、鉴定及其优良菌株筛选[J]. 扬州大学学报:农业与生命科学版,2013,34(4):27-31.
- [26] SUN Z Z,CHEN X,WANG J,et al. Complete genome sequence of *Streptococcus thermophilus* strain ND03[J]. **Journal of Bacteriology**,2011,193(3):793-794.
- [27] 王玥. 嗜热链球菌缓解细胞氧化应激的作用机制研究[D]. 济南:山东大学,2018.
- [28] BUNESOVA V,KILLER J,VLKOVA E,et al. Isolation and characterization of *Bifidobacteria* from ovine cheese[J]. **International Journal of Food Microbiology**,2014,188C:26-30.
- [29] HSIEH H H,WANG S Y,CHEN T L,et al. Effects of cow's and goat's milk as fermentation media on the microbial ecology of sugary kefir grains[J]. **International Journal of Food Microbiology**,2012,157(1):73-84.