

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250222002

引用格式: 陈心瑜, 郑茵, 李淳, 等. 乳酸菌拮抗蜡样芽孢杆菌的拮抗机制及应用研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(16): 113–120.

CHEN XY, ZHENG Y, LI C, *et al.* Research progress on the antagonistic mechanism and application of lactic acid bacteria against *Bacillus cereus* [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(16): 113–120. (in Chinese with English abstract).

乳酸菌拮抗蜡样芽孢杆菌的拮抗机制及应用研究进展

陈心瑜, 郑茵*, 李淳, 江蓉蓉, 尧玉婷

(广州工商学院工学院, 佛山 528000)

摘要: 蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)污染问题严重影响我国食品安全, 对其防控技术的研制迫在眉睫。乳酸菌作为安全、高效的生物防控手段, 对蜡样芽孢杆菌的精准防控具有良好的发展前景。已有研究发现, 乳植物杆菌(*Lactiplantibacillus*)、乳杆菌(*Lactobacillus*)、乳酪杆菌(*Lacticaseibacillus*)是主要的拮抗菌属类型, 乳酸菌发挥拮抗蜡样芽孢杆菌作用的成分主要为细菌素、有机酸及胞外多糖等, 抑菌机制主要包括破坏细胞膜完整性、抑制芽孢萌发、抑制生物膜形成及毒素表达, 但对内部基因的表达调控作用机制仍缺乏深入的探究。本文综述了利用乳酸菌在蜡样芽孢杆菌生物防控方面取得的研究进展, 阐述了蜡样芽孢杆菌的拮抗乳酸菌的菌种、抑菌物质及其抑菌机制以及在食品中的应用情况, 并对微生物抑菌成分新种类的挖掘、作用机制及应用前景等提出了展望, 以期为食源性致病菌的绿色防控技术的研制提供新思路。

关键词: 抑菌; 生物防控; 细菌素; 有机酸; 胞外多糖

Research progress on the antagonistic mechanism and application of lactic acid bacteria against *Bacillus cereus*

CHEN Xin-Yu, ZHENG Yin*, LI Chun, JIANG Rong-Rong, RAO Yu-Ting

(School of Engineering, Guangzhou College of Technology and Business, Foshan 528000, China)

ABSTRACT: The contamination problem of *Bacillus cereus* seriously affects the food safety of China, the development of prevention and control technology against *Bacillus cereus* is urgent. Lactic acid bacteria, as a safe and efficient biological control method, have a good prospect in controlling *Bacillus cereus* precisely. Previous studies have found that *Lactiplantibacillus*, *Lactobacillus* and *Lacticaseibacillus* are the main genus of antagonistic bacteria. The antibacterial components against *Bacillus cereus* are mainly bacteriocins, organic acids and extracellular

收稿日期: 2025-02-22

基金项目: 广州工商学院校级科研项目(KYYB202430); 2023—2024 学年广州工商学院校级大学生创新创业训练计划项目(XJ202313714372); 广东省重点建设学科科研能力提升项目(2024ZDJS089); 广东省工程技术研究中心项目(2024GCZX011); 佛山市自筹经费类科技创新项目(2420001004679)

第一作者: 陈心瑜(2004—), 女, 主要研究方向为致病菌防控。E-mail: 2501613549@qq.com

*通信作者: 郑茵(1992—), 女, 博士, 讲师, 主要研究方向为食品微生物安全防控。E-mail: zhengyin2@gzgs.edu.cn

polysaccharides. The antagonistic mechanism mainly included destroying the integrity of cell membrane, inhibiting spore germination, biofilm formation and toxin expression, but the mechanism of internal gene expression regulation is still lack of in-depth exploration. This paper reviewed the progress in controlling of *Bacillus cereus* by lactic acid bacteria, summarized the lactic acid bacteria species, antibacterial compounds and their antagonistic mechanisms against *Bacillus cereus*, as well as the applications in food, also prospected the investigation of new types of microbial antibacterial components, the mechanism of action and the future applications, to provide new insights for the development of green prevention and control technologies of foodborne pathogens.

KEY WORDS: antibacterial; biological control; bacteriocin; organic acid; extracellular polysaccharide

0 引言

随着食品工业的发展,食品安全问题日益受到关注。其中,食品微生物污染问题是重中之重,也最难防控。蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)是一种产芽孢、需氧或兼性厌氧的革兰氏阳性杆菌,广泛存在于谷类制品、乳和乳制品、水果、蔬菜、香料及方便膳食制品等食品中^[1-2]。根据我国 2010—2019 年细菌性食物中毒事件数据显示,由蜡样芽孢杆菌引起的食物中毒事件数量仅次于非伤寒沙门菌和副溶血性弧菌,位列第三^[3]。蜡样芽孢杆菌的主要致病性因素来源于其能够产生多种毒素、高抗性芽孢和生物膜的能力^[4-5]。为了保障食品安全、提升食品品质及公众健康水平,研究人员相继研制出蜡样芽孢杆菌的防控技术,包括物理法^[6]、化学法^[7-9]和生物法^[10]等,旨在对蜡样芽孢杆菌进行精准防控。然而,物理和化学法虽然有效,却受限于其成本和应用场景,还可能影响食品原本的质构和风味。生物法因其较高的安全性、高效性而被广泛研究,并逐渐在多种食品保鲜领域得到良好应用。

乳酸菌是常见的益生菌,具有抑制病原菌、调节肠道菌群、提高免疫和抗肿瘤等活性,被广泛应用于乳制品、传统发酵食品以及益生菌产品中。利用乳酸菌进行食源性致病微生物的防控,可以在获得有效的致病菌污染防控的前提下提高食品的品质和安全性,具有极大的发展前景。乳酸菌在蜡样芽孢杆菌防控上的研究正逐渐兴起,并已有部分应用于食品模型。已有研究表明,利用不同的乳酸菌为主要防控技术,结合低水分活度、高盐含量、低乳糖含量和高酸度等条件,在发酵乳或布里干酪等多种食品中能够发挥抑制蜡样芽孢杆菌孢子萌发和生长灭活的作用^[11]。本文将综述近 20 年(2003—2024 年)研究中利用乳酸菌对蜡样芽孢杆菌进行生物防控方面取得的研究进展,分别从拮抗蜡样芽孢杆菌的乳酸菌菌种、拮抗物质、拮抗机制以及在食品中的应用情况展开讨论,以期对未来食品中蜡样芽孢杆菌生物防控新技术的研制提供理论参考。

1 拮抗蜡样芽孢杆菌的乳酸菌

1.1 乳杆菌科

已有研究表明,多种乳酸菌具有显著抑制蜡样芽孢杆菌生长的活性,乳植物杆菌属(genus *Lactiplantibacillus*)、乳杆菌属(genus *Lactobacillus*)、乳酪杆菌属(genus *Lacticaseibacillus*)是蜡样芽孢杆菌拮抗菌的主要菌株类型。

乳植物杆菌属中的植物乳植物杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)是研究最多的可食用菌种。李明泽等^[12]发现从朝鲜族传统酱类中分离纯化获得的植物乳植物杆菌对蜡样芽孢杆菌有抑制作用。XIE 等^[13]发现植物乳植物杆菌在抑制当归果汁中的蜡样芽孢杆菌具有良好的效果,并能显著减少呕吐毒素合成酶基因的表达。发酵酸豆乳中分离获得的植物乳植物杆菌 ZDY2013 对产肠毒素蜡样芽孢杆菌 HN001 有拮抗作用,同时能够通过抑制、竞争和置换抑制蜡样芽孢杆菌与 Caco-2 细胞的黏附,阻止蜡样芽孢杆菌对小肠上皮细胞的定植^[14-15];随后李金梅^[16]采用共培养模型阐释了植物乳植物杆菌 ZDY2013 对蜡样芽孢杆菌 HN001 的抑制生长作用,发现低聚糖能够促进 ZDY2013 的发酵上清液对蜡样芽孢杆菌的抑制活性^[17]。刘彩琴等^[18]发现从黄酒米浆水中筛选获得的植物乳植物杆菌对蜡样芽孢杆菌具有抑制作用,并初步判断抑菌物质为除了乳酸、乙酸和盐酸等有机酸以外的物质。杨悦^[19]从豆瓣酱酱醅中筛选获得一株对蜡样芽孢杆菌有明显抑制作用的植物乳植物杆菌 2-12-2,发现其通过产生细菌素类物质发挥抑制生长的作用。AHMED 等^[20]采用植物乳植物杆菌 EMCC 1027 对卡雷什奶酪和酸奶中的蜡样芽孢杆菌污染进行防控。此外,研究人员还从发酵酸菜中分离出多株对蜡样芽孢杆菌有拮抗作用的植物乳植物杆菌,包括 JLA-9^[21-23]、JL-A65^[24]、HLJ-174^[25]等,还从鲫鱼肠和侗族腌鱼中分别分离出植物乳植物杆菌 JY22^[26]和 GZ1-27^[27],这些植物乳植物杆菌都能通过分泌细菌素来达到拮抗作用。黄晓英等^[28-29]发现传统发酵食品来源的植物乳植物杆菌 HS011 的发酵上清液及粗提物对蜡样芽孢杆菌的生长和生物膜具有明显的抑制和清除作用。

乳酪杆菌属中干酪乳酪杆菌 (*Lactocaseibacillus casei*)^[13,30]、鼠李糖乳酪杆菌 (*Lactocaseibacillus rhamnosus*)^[31-33]等常见的可食用菌种也被发现对蜡样芽孢杆菌有抑菌活性。徐小轻^[30]研究发现, 从酸菜中分离获得的干酪乳酪杆菌 NA-2 可以不同程度抑制蜡样芽孢杆菌的生长, 且具有黏附蜡样芽孢杆菌的作用, 并抑制其黏附 Caco-2 细胞。陈莹^[31]从 102 株乳酸菌中筛选出 1 株鼠李糖乳酪杆菌 YT, 其对蜡样芽孢杆菌等致病菌均具有抑菌能力, 并挖掘出抑菌物质为有机酸等小分子物质。WEI 等^[33]从牦牛酸奶中分离获得鼠李糖乳酪杆菌 XN2, 可通过细菌素对蜡样芽孢杆菌起拮抗作用。

片球菌属 (*Pediococcus*) 菌株对蜡样芽孢杆菌的抑制研究较少。李明泽等^[12]从朝鲜族传统酱类中筛选出对蜡样芽孢杆菌有抑制作用的乳酸菌菌株, 分别鉴定为戊糖片球菌 (*Pediococcus pentosaceus*) 和乳酸片球菌 (*Pediococcus acidilactici*)。王瑞^[34]研究发现不同地区的戊糖片球菌与酿酒酵母混合制成的面团对蜡样芽孢杆菌的抑制程度不一, 可能与其菌群产生特定的抑菌物质有关。周伟涛^[35]从河南地区老酵头中分离获得的 18 株戊糖片球菌中筛选出 1 株对蜡样芽孢杆菌具有较强抑制作用的 ACX0180, 并发现该菌株能够产生戊糖片球菌素 SZ49; 同时, 发现发酵馒头中的蘑菇醇能够显著抑制蜡样芽孢杆菌的活性, 但未能证实产蘑菇醇的特定菌株。

此外, 常见的还有乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、联合乳杆菌属 (*Ligilactobacillus*)、促生乳杆菌属 (*Levilactobacillus*) 等菌株的报道, 如嗜酸乳杆菌 (*Lactobacillus acidophilus*)^[13]、德氏乳杆菌 (*Lactobacillus delbrueckii*)^[28-29]等。SORIA 等^[36]发现约氏乳杆菌 (*Lactobacillus johnsonii*) CRL1647 可通过有机酸类物质抑制蜡样芽孢杆菌营养态细胞和芽孢的生长。从泰国发酵食品中分离出的短促生乳杆菌 (*Levilactobacillus brevis*) F064A 也被发现可用于桑椹汁中蜡样芽孢杆菌的控制^[37]。

1.2 链球菌科

已有研究关于拮抗蜡样芽孢杆菌的链球菌包括了乳球菌属 (genus *Lactococcus*) 和链球菌属 (genus *Streptococcus*), 主要以乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*)^[38-41] 和嗜热链球菌 (*Streptococcus thermophilus*)^[28-29] 两种为主。研究表明, 在春冬季毛豆腐样品中分离出 133 株乳酸菌菌株筛选出的 1 株乳酸乳球菌 LJL7m20, 能够显著抑制蜡样芽孢杆菌 ATCC14579 及蜡样芽孢杆菌类群的生长^[38-39]。

拮抗蜡样芽孢杆菌的乳酸菌种类总结如表 1。

2 乳酸菌对蜡样芽孢杆菌的拮抗机制

乳酸菌拮抗蜡样芽孢杆菌主要通过其分泌的细菌素、

有机酸和胞外多糖来实现, 其拮抗作用可以分为抑制生长和减弱毒性两种方式(表 1)。

2.1 细菌素及其作用机制

乳酸菌发挥抑菌作用的成分中, 细菌素 (Bacteriocin) 是目前研究人员关注较多的物质^[21,26-27]。传统的研究手段通常以乳酸菌的发酵上清液为研究对象, 通过对发酵代谢产物进行分离纯化, 验证混合或单一代谢物质的抑菌活性, 从而解析其抑菌机制, 然而这种方法较难获得单一抑菌物质。近年来, 研究人员开始尝试通过基因组学比较分析手段, 预测抑菌活性肽结构, 并通过体外表达验证其抑菌活性^[42], 高效获得单一的抑菌活性物质。

细菌素可作用于蜡样芽孢杆菌的营养态细胞或芽孢态细胞来抑制蜡样芽孢杆菌的生长。对于营养细胞, 细菌素可通过改变细胞膜的完整性、抑制细胞壁合成来达到抑制其生长的作用; 还可通过抑制毒素合成酶基因的表达从而抑制毒素合成。植物乳植物杆菌 JL-A65 中表达获得的细菌素 JL-A65 可通过诱导细胞膜通透性变化产生杀菌作用^[24-25]。DU 等^[27]从植物乳植物杆菌发酵上清中分离得到的植物乳植物杆菌素 GZ1-27 可以提高细胞膜通透性、引发 K^+ 渗漏和孔隙形成; 通过显著抑制细菌细胞壁肽聚糖合成关键基因 *glmS*、介导细胞分裂的鸟苷三磷酸酶基因 *ftsZ* 的表达, 从而调控蜡样芽孢杆菌的生长; 同时, GZ1-27 降低了肠毒素 *hblDCA* 和 *nheABC* 的表达, 达到减毒的作用。LV 等^[26]从植物乳植物杆菌发酵上清中分离得到的植物乳植物杆菌素 JY22 能够破坏营养细胞和芽孢的细胞膜完整性, 从而抑制蜡样芽孢杆菌生长。XU 等^[43]发现戊糖乳植物杆菌 (*Lactiplantibacillus pentosus*) NO.22226 产生的细菌素 Pentocin 能够破坏蜡样芽孢杆菌细胞膜、抑制 DNA 复制和蛋白质合成。WEI 等^[33]发现鼠李糖乳酪杆菌 XN2, 可通过产生细菌素 XN2 破坏蜡样芽孢杆菌的细胞膜、减少 α -溶血素的产生和生物膜的形成。乳酸乳球菌 LJL7m20 能产生细菌素 nisin Z 和 nisin A/Q^[38-39], nisin 主要通过与其与 lipid II 的锚定作用并抑制肽聚糖的生物合成, 从而形成孔洞以抑制蜡样芽孢杆菌^[45]。

细菌素可通过破坏芽孢膜、影响芽孢萌发而最终抑制其生长成营养态细胞, 还可通过调控基因表达从而抑制生物膜的合成。从发酵酸菜中分离获得对蜡样芽孢杆菌具有高抑制活性的植物乳植物杆菌 JLA-9 能够产生细菌素 JA-9^[22-23], 其能够抑制蜡样芽孢杆菌芽孢的萌发、破坏芽孢膜完整性, 影响芽孢萌发后的细胞膜电位, 最终抑制芽孢萌发生长成营养菌体^[21]。XU 等^[43]发现细菌素 Pentocin 能够通过下调双组分系统信号通路中的基因 (*kinB*、*kinC* 和 *spo0B*)、下调群体感应信号通路中 *luxS* 和 *lsrB* 基因抑制蜡样芽孢杆菌的芽孢形成和生物膜合成。

表 1 拮抗蜡样芽孢杆菌的乳酸菌种类、抑菌机制及应用
Table 1 Species, antagonistic mechanism and application of lactic acid bacteria in controlling *Bacillus cereus*

菌种名称	分离来源	抑菌成分	拮抗机制	应用	引用文献
植物乳植物杆菌、戊糖片球菌和乳酸片球菌	朝鲜族传统酱类	—	—	—	[12]
植物乳植物杆菌 CGMCC NO.0847、干酪乳酪杆菌 CGMCC NO.0828、嗜酸乳杆菌 BD0399	菌种库	—	抑制毒素合成	发酵当归汁	[13]
植物乳植物杆菌 ZDY2013	发酵酸豆乳	胞外多糖	竞争吸附、降低小肠上皮细胞的毒性	固体饮料	[14-17]
植物乳植物杆菌	黄酒米浆水	非发酵产有机酸	—	—	[18]
植物乳植物杆菌 2-12-2	豆瓣酱酱醅	蛋白质类细菌素	—	低盐豆瓣酱	[19]
植物乳植物杆菌 EMCC 1027	标准菌	—	—	奶酪和酸奶	[20]
植物乳植物杆菌 JLA-9	发酵酸菜	植物乳植物杆菌素 JA-9	抑制芽孢萌发、破坏芽孢膜完整性、影响芽孢细胞膜电位	—	[21-23]
植物乳植物杆菌 JL-A65	泡菜	植物乳植物杆菌素 JL-A65	改变细胞膜通透性	发酵果蔬汁	[24]
植物乳植物杆菌 HLJ-174	酸菜	细菌素	—	—	[25]
植物乳植物杆菌 JY22	鲫鱼肠	植物乳植物杆菌素 JY22	破坏营养细胞和芽孢的细胞膜完整性	—	[26]
植物乳植物杆菌 GZ1-27	侗族腌鱼	植物乳植物杆菌素 GZ1-27	提高细胞膜通透性、抑制细胞壁合成和抑制产毒	—	[27]
植物乳植物杆菌 HS011、德氏乳杆菌 HS023、嗜热链球菌 HS023	传统发酵食品	—	破坏细胞膜、清除生物膜	泡菜	[28-29]
干酪乳酪杆菌 NA-2	酸菜	胞外多糖: 抑制吸附	抑制吸附、抑制生物膜形成、分散生物膜	—	[30]
鼠李糖乳酪杆菌 YT、鼠李糖乳酪杆菌 YT	—	有机酸	—	—	[31]
鼠李糖乳酪杆菌 GG	标准菌	胞外多糖	降低小肠上皮细胞的毒性和对红细胞的溶血作用	—	[32]
鼠李糖乳酪杆菌 XN2	牦牛酸奶	细菌素 XN2	破坏细胞膜、减少 α -溶血素、抑制生物膜形成	—	[33]
戊糖片球菌 SQ-1、LY-1、ZK-1、NY-1	老酵头	—	—	发酵面团	[34]
戊糖片球菌 ACX0180	老酵头	戊糖片球菌素 SZ49	—	馒头	[35]
约氏乳杆菌 CRL1647	蜜蜂肠道	有机酸	—	—	[36]
短促生乳杆菌 F064A	泰国发酵食品	—	—	发酵桑椹汁	[37]
乳酸乳球菌 LJL7m20	春冬季毛豆腐	细菌素 Nisin	—	腐乳	[38-39]
类干酪乳酪杆菌类干酪亚种 INF-15D、干酪乳酪杆菌 2756、植物乳植物杆菌 2741、乳酸乳球菌 952	奶酪、商业菌	有机酸	对营养物质的竞争	发酵牛奶	[40-41]
嗜酸乳杆菌	NCBI 数据库	嗜酸乳杆菌膜蛋白	—	—	[42]
戊糖乳植物杆菌 NO.22226	菌种库	戊糖乳植物杆菌	破坏细胞膜、抑制芽孢形成和生物膜合成	—	[43]
乳酸菌混菌	发酵米粉	有机酸	—	发酵米制品	[44]

注: —表示未有此项内容。

尽管乳酸菌细菌素对营养细胞的抑制机制在分子水平上已经得到较为广泛的研究, 但细菌素对芽孢萌发和生物膜形成的抑制机制仍不清晰, 目前大多停留在对微观结构观察及代谢表型的分析^[21,26], 对于芽孢萌发、生物膜形成过程中内部基因表达、蛋白调控的过程仍缺乏深入的挖掘。

2.2 有机酸及其作用机制

乳酸菌在发酵过程中代谢产生的有机酸, 包括乳酸、乙酸、苯乳酸等, 能够降低环境中的 pH。外部环境进入蜡样芽孢杆菌细胞内的有机酸对细胞的稳态可能存在多重负面影响, 包括破坏细胞膜的完整性和形态、干扰离子平衡及核糖体代谢, 从而减少营养细胞和芽孢的数量^[36,44,46]。研究表明, 单一的苯乳酸和乳酸能够破坏细胞膜的完整性和形态, 苯乳酸能够下调 *kdpB* 基因, 抑制 K^+ 转运, 干扰核糖体功能和能力基因的表达; 乳酸能够下调周质磷结合蛋白, 抑制磷转运, 干扰核糖体功能、三羧酸循环循环以及嘌呤和嘧啶代谢; 苯乳酸和乳酸的联合则协同增强对蜡样芽孢杆菌的抗菌作用, 二者的联合抑制了 K^+ 和磷的转运, 影响了嘌呤和嘧啶的代谢^[47-48]。乳酸菌通过分泌有机酸发挥的抑菌作用已在多种食源性致病菌中有所体现, 然而对于单一有机酸的挖掘仍停留在常见的类别, 如乳酸、乙酸等。相比于细菌素, 有机酸具有较高稳定性、在发挥抑菌作用中潜力巨大, 对于有机酸中新物质的挖掘仍具有良好的研究前景。

2.3 胞外多糖及其作用机制

乳酸菌生长过程中分泌到胞外的胞外多糖 (exopolysaccharide, EPS), 除了具有益生功能, 在抑制蜡样芽孢杆菌中也发挥了潜在作用。其主要作用于抑制营养态细胞生长、抑制生物膜形成或分散已形成的生物膜, 并帮助减少蜡样芽孢杆菌对肠细胞的黏附作用及毒性损伤。植物乳植物杆菌 ZDY2013 可通过抑制、竞争和置换的方式抑制蜡样芽孢杆菌与小肠上皮细胞的黏附, 其分泌的胞外多糖能够降低蜡样芽孢杆菌对小肠上皮细胞的毒性^[14-15]。徐小轻^[30]发现干酪乳酪杆菌 NA-2 可抑制蜡样芽孢杆菌的生长、抑制生物膜的形成, 并分散已形成的生物膜, 同时可以抑制蜡样芽孢杆菌对 Caco-2 细胞的黏附, 这可能与分泌的胞外多糖及其结构有关。RUAS-MADIEDO 等^[32]发现鼠李糖乳酪杆菌 GG 产生的 EPS 能够拮抗蜡样芽孢杆菌毒素诱导的 Caco-2 细胞毒性和对红细胞的溶血作用。然而, 乳酸菌胞外多糖的研究多为混合物, 对于单一多糖的抑菌活性表征仍需进一步的深化研究。

目前, 针对蜡样芽孢杆菌的抑菌研究大多聚焦于乳酸菌中的非挥发性物质 (细菌素、有机酸及胞外多糖), 但由于其抗菌手段属于直接接触抑制^[49], 存在时效性短、易分解等问题, 还可能会改变食品的理化及感官特征, 极大限

制了其应用场景。大量研究表明, 微生物能够产生具有抑菌活性的挥发性有机物质^[50-51], 其具有覆盖范围广、扩散能力高、不与食品直接接触等优点。然而, 目前尚未有对乳酸菌挥发性物质抑菌能力的研究分析, 基于乳酸菌挥发性抑菌手段的研究将进一步扩大乳酸菌在食品中的应用范围。

3 蜡样芽孢杆菌拮抗乳酸菌在不同食品中的应用

3.1 乳制品

乳制品是致呕型蜡样芽孢杆菌污染较为严重的食品^[52], 因此常作为蜡样芽孢杆菌污染的食品基质模型, 也是较早用于蜡样芽孢杆菌防控的模型。ROSSLAND 等^[41]研究发现, 蜡样芽孢杆菌在牛奶中单独培养时菌数可达 10^8 CFU/mL, 当分别与 18 种不同的乳杆菌或乳球菌共培养 72 h 后, 蜡样芽孢菌活菌数可控制在小于 10 CFU/mL 至 10^6 CFU/mL 之间; 其中, 类干酪乳酪杆菌类干酪亚种 INF-15D、干酪乳酪杆菌 2756 和植物乳植物杆菌 2741 将蜡样芽孢杆菌活菌数控制在 10 CFU/mL 以内 (表 1)。不同乳杆菌和乳球菌对蜡样芽孢杆菌的抑制模式各不相同, 总体规律发现体系的 pH 和产酸速率与对蜡样芽孢杆菌的控制密切相关, 同时排除了双乙酰、二氧化碳和乙醇可能带来的抑菌作用^[40]。此外, 研究发现相比于单纯添加有机酸降低 pH 而言, 与乳酸菌共培养所带来的抑制作用更强, 这可能是由于乳酸菌对营养物质的竞争、对蜡样芽孢杆菌的细胞密度以及产芽孢的影响等更为显著^[53]。

3.2 淀粉类制品

淀粉类制品 (如米面、谷类) 也是蜡样芽孢杆菌污染的主要食品类型^[54]。研究人员发现, 将乳酸菌及其细菌素添加于米饭、青稞鲜湿面等鲜米面食品中, 能够对蜡样芽孢杆菌活菌数进行有效控制, 提高食品品质。YANG 等^[44]利用天然乳酸菌混合菌群代谢产酸的特性, 将混合菌群接种至米制品中以抑制蜡样芽孢杆菌, 可将蜡样芽孢杆菌从 10^4 CFU/mL 降至 $10^2 \sim 10^3$ CFU/mL。王舒媛等^[55]将 0.025% 乳酸链球菌素添加到青稞鲜湿面中, 可一定程度抑制蜡样芽孢杆菌在贮藏期间的菌数增长 (比对照组显著低 0.83 log CFU/g), 并提高青稞鲜湿面在贮藏期内的硬度和贮藏咀嚼性。王瑞^[34]利用戊糖片球菌 SQ-1、LY-1、ZK-1、NY-1 与酿酒酵母混合发酵面团, 可显著控制蜡样芽孢杆菌的增殖 (与对照组相比最大差值达 1.78 log CFU/g)。

3.3 发酵植物基制品

除了乳制品、淀粉类食品外, 发酵植物基食品也极易受到蜡样芽孢杆菌的污染^[1], 因此也成为了蜡样芽孢杆菌防控的重点对象。XIE 等^[13]利用植物乳植物杆菌、干酪乳

酪杆菌和嗜酸乳杆菌对当归汁进行发酵,抑制了当归汁中蜡样芽孢杆菌的生长,从对照组的 3.23 log CFU/mL 降至 1.30~2.04 log CFU/mL。KANKLAI 等^[37]利用短促生乳杆菌 F064A 接种发酵桑葚汁获得的高 GABA 含量的发酵桑葚汁能够抑制蜡样芽孢杆菌 TISTR 687 的生长[抑菌圈直径(13.58±1.26) mm]。洗佳露^[39]通过接种乳酸乳球菌 LJL7m20 于腐乳白坯中,能够将蜡样芽孢杆菌活菌数从 4.78 log CFU/g 降至 3.30 log CFU/g,使污染菌数下降 1.48 log CFU/g,展现出较好的抑制效果。

目前,蜡样芽孢杆菌防控技术的应用场景以乳制品和植物基食品为主,在真实食品中实际抑制效果差异较大,仍需通过开发新菌种或工艺优化来提高抑制效应。同时,仍需进一步研究不同食品类型的应用以及大规模终试的效果。

4 结束语

本文综述了乳酸菌在蜡样芽孢杆菌防控中的研究进展。目前报道的乳酸菌发挥拮抗蜡样芽孢杆菌作用的成分主要为细菌素、有机酸及胞外多糖等。然而,目前针对蜡样芽孢杆菌的抑菌研究多聚焦于乳酸菌中非挥发性物质的抑菌作用及机制,尚未有对其挥发性物质抑菌能力的研究分析,挥发性抑菌手段的研究将进一步扩大乳酸菌在食品中的应用。此外,乳酸菌作用于蜡样芽孢杆菌时,对其芽孢的萌发和生物膜形成的影响,以及此过程中对内部基因的表达和蛋白调控的作用机制等仍缺乏深入的挖掘探究。另外,目前对于蜡样芽孢杆菌防控技术的应用仍停留在乳制品和植物基食品,尚未有更多的食品类型以及大规模终试的效果研究,值得未来进一步的探索。

参考文献

- 洗佳露 李理. 三类传统发酵食品中蜡样芽孢杆菌的污染状况研究[J]. 中国酿造, 2023, 42(12): 33-37.
XIAN JL, LI L. Contamination status of *Bacillus cereus* in three kinds of traditional fermented food [J]. China Brewing, 2023, 42(12): 33-37.
- GUO H, YU P, YU S, *et al.* Incidence, toxin gene profiling, antimicrobial susceptibility, and genetic diversity of *Bacillus cereus* isolated from quick-frozen food in China [J]. LWT, 2021, 140: 110824.
- 胡金宇, 王锐. 2010—2019 年全国细菌性食物中毒事件流行病学特征分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2023, 35(8): 1225-1230.
HU JY, WANG R. Epidemiological characteristics of bacterial food poisoning events in China from 2010 to 2019 [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2023, 35(8): 1225-1230.
- YANG S, WANG Y, LIU Y, *et al.* Cereulide and emetic *Bacillus cereus*: Characterizations, impacts and public precautions [J]. Foods, 2023, 12(4): 833.
- REN F, CHEN Y, YANG S, *et al.* Characterization of emetic *Bacillus cereus* biofilm formation and cereulide production in biofilm [J]. Food Research International, 2024, 192: 114834.
- JANAHAH JX, BALASUBRAMANIAM VM, YOUSEF A, *et al.* Inactivation of *Lactobacillus brevis* cells and *Bacillus cereus* spores as influenced by pressure, shear, thermal, and valve geometry [J]. International Journal of Food Properties, 2023, 26: 628-646.
- JIN Z, LI L, ZHENG Y, *et al.* Diallyl disulfide, the antibacterial component of garlic essential oil, inhibits the toxicity of *Bacillus cereus* ATCC 14579 at sub-inhibitory concentrations [J]. Food Control, 2021, 126: 108090.
- JIN Z, LI L, ZHENG Y, *et al.* Inhibition of *Bacillus cereus* by garlic (*Allium sativum*) essential oil during manufacture of white sufu, a traditional Chinese fermented soybean curd [J]. LWT, 2020, 130: 109634.
- ZHENG Y, XU W, GUO H, *et al.* The potential of lactose to inhibit cereulide biosynthesis of emetic *Bacillus cereus* in milk [J]. International Journal of Food Microbiology, 2024, 411: 110517.
- HUANG Z, YUAN X, ZHU Z, *et al.* Isolation and characterization of *Bacillus cereus* bacteriophage DZ1 and its application in foods [J]. Food Chemistry, 2024, 431: 137128.
- JESSBERGER N, DIETRICH R, GRANUM PE, *et al.* The *Bacillus cereus* food infection as multifactorial process [J]. Toxins, 2020, 12(11): 701.
- 李明泽, 王新, 崔惠先, 等. 朝鲜族传统大酱中乳酸菌的分离及其抑菌特性分析[J]. 食品科技, 2015, 40(7): 50-54.
LI MZ, WANG X, CUI HX, *et al.* Isolation lactic acid bacteria and study on the antibacterial activity in the Korean traditional soybean paste [J]. Food Science and Technology, 2015, 40(7): 50-54.
- XIE F, WANG Y, ZHOU Y, *et al.* Effect of lactic acid bacteria on microbial safety of angelica keiskei juice [J]. Journal of Food Safety, 2017, 37(3): e12325.
- 张志鸿. 植物乳杆菌 ZDY2013 拮抗食源性致病蜡样芽孢杆菌的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2019.
ZHANG ZH. *Lactobacillus plantarum* ZDY2013 antagonize food-borne pathogen *Bacillus cereus* [D]. Nanchang: Nanchang University, 2019.
- ZHANG Z, TAO X, SHAH NP, *et al.* Antagonistics against pathogenic *Bacillus cereus* in milk fermentation by *Lactobacillus plantarum* ZDY2013 and its anti-adhesion effect on Caco-2 cells against pathogens [J]. Journal of Dairy Science, 2016, 99(4): 2666-2674.
- 李金梅. 低聚半乳糖促进植物乳杆菌拮抗产毒素蜡样芽孢杆菌的应用研究及合生元固体饮料的制备[D]. 南昌: 南昌大学, 2024.
LI JM. Application of galactooligosaccharides to promote antagonization of *Lactiplantibacillus plantarum* against enterotoxigenic *Bacillus cereus* and preparation of synbiotic solid beverages [D]. Nanchang: Nanchang University, 2024.
- 刘乐, 邹开翔, 邵开生, 等. 低聚半乳糖对植物乳杆菌发酵乳特性及抗蜡样芽孢杆菌活性的改善[J]. 食品工业科技, 2022, 43(15): 139-147.
LIU L, ZOU KX, SHAO KS, *et al.* The improvement of *Lactobacillus plantarum* fermented milk in characterization and anti-*Bacillus cereus* activity by galactooligosacchari [J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(15): 139-147.
- 刘彩琴, 陆胤, 王石磊, 等. 黄酒米浆水中抗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 CQ, LU Y, WANG SL, *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.
- [19] 杨悦. 豆瓣酱降盐工艺的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2021.
YANG Y. Effect of salt reduction on *doubanjiang* fermentation [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021.
- [20] AHMED WI, KAMAR AM, HAMAD GM, *et al.* Biocontrol of *Bacillus cereus* by *Lactobacillus plantarum* in Kareish cheese and yogurt [J]. LWT, 2023, 183: 114946.
- [21] 赵圣明. 植物乳杆菌素 JLA-9 的鉴定及其对芽孢杆菌抑菌机制的研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2016.
ZHAO SM. Study on identification of plantaricinjla-9 and its antibacterial mechanism against *Bacillus* [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2016.
- [22] ZHAO S, HAN J, BIE X, *et al.* Purification and characterization of plantaricin JLA-9: A novel bacteriocin against *Bacillus* spp. produced by *Lactobacillus plantarum* JLA-9 from Suan-Tsai, a traditional Chinese fermented cabbage [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(13): 2754–2764.
- [23] 赵圣明, 曹雪珂, 赵岩岩, 等. 抑制芽孢杆菌乳酸菌的筛选鉴定及其抗菌物质的分离纯化[J]. 食品工业科技, 2018, 39(11): 144–150, 165.
ZHAO SM, CAO XK, ZHAO YY, *et al.* Screening and identification of lactic acid bacteria with anti-*Bacillus* spp. activities and isolation and purification of antimicrobial substance [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(11): 144–150, 165.
- [24] 陈瑞龙. 植物乳杆菌细菌素高产菌株的诱变选育、抑菌机理及应用[D]. 南京: 南京农业大学, 2018.
CHEN RL. Screening of high-yield bacteriocin producing strains induced by mutations and the antimicrobial mechanism and application of plantaricin [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2018.
- [25] 高鹏, 韩金志, 陆兆新, 等. 广谱抗菌乳酸菌的分离鉴定及细菌素的提取和纯化[J]. 食品科学, 2016, 37(11): 160–166.
GAO P, HAN JZ, LU ZX, *et al.* Isolation and Identification of lactic acid bacterial strain with broad-spectrum antibacterial activity and extraction and purification of bacteriocin produced by it [J]. Food Science, 2016, 37(11): 160–166.
- [26] LV X, MIAO L, MA H, *et al.* Purification, characterization and action mechanism of plantaricin JY22, a novel bacteriocin against *Bacillus cereus* produced by *Lactobacillus plantarum* JY22 from golden carp intestine [J]. Food Science and Biotechnology, 2018, 27(3): 695–703.
- [27] DU H, YANG J, LU X, *et al.* Purification, characterization, and mode of action of plantaricin GZ1-27, a novel bacteriocin against *Bacillus cereus* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(18): 4716–4724.
- [28] 黄晓英. 传统发酵食品中具有抑菌特性乳酸菌的筛选、抑菌机理及其在泡菜发酵中的应用[D]. 成都: 西南民族大学, 2022.
HUANG XY. Screening, antibacterial mechanism and application of lactic acid bacteria with antibacterial properties in traditional fermented foods [D]. Chengdu: Southwest Minzu University, 2022.
- [29] 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 XY, LI QM, WU HX, *et al.* Screening of traditional fermented food products for lactic acid bacteria [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(11): 68–78.
- [30] 徐小轻. 食源性干酪乳杆菌 NA-2 抑菌特性及其胞外多糖功效研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2021.
XU XQ. Antibacterial properties of foodborne *Lactobacillus casei* NA-2 and activities of its exopolysaccharide [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2021.
- [31] 陈萱. 具有抑菌能力乳酸菌的筛选及其抑菌特性研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2021.
CHEN X. Isolation of lactic acid bacteria with antibacterial ability and characterization of its antibacterial properties [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2021.
- [32] RUAS-MADIEDO P, MEDRANO M, SALAZAR N, *et al.* Exopolysaccharides produced by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains abrogate *in vitro* the cytotoxic effect of bacterial toxins on eukaryotic cells [J]. Journal of Applied Microbiology, 2010, 109(6): 2079–2086.
- [33] WEI Y, WANG J, LIU Z, *et al.* Isolation and characterization of bacteriocin-producing *Lactocaseibacillus rhamnosus* XN2 from yak yoghurt and its bacteriocin [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2022, 27(7): 2066.
- [34] 王瑞. 传统老酵头发酵面团对金黄色葡萄球菌和蜡样芽孢杆菌的抑菌作用[D]. 郑州: 河南农业大学, 2021.
WANG R. Antibacterial effect of traditional Jiaotou starter dough on *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2021.
- [35] 周伟涛. 基于戊糖片球菌的馒头品质提升和保鲜技术研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2024.
ZHOU WT. Study on quality improvement and preservation technology of steamed bread based on *Pediococcus pentosus* [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2024.
- [36] SORIA MC, AUDISIO MC. Inhibition of *Bacillus cereus* strains by antimicrobial metabolites from *Lactobacillus johnsonii* CRL1647 and *Enterococcus faecium* SM21 [J]. Probiotics Antimicrob Proteins, 2014, 6(3-4): 208–216.
- [37] KANKLAI J, SOMWONG TC, RUNGSIRIVANICH P, *et al.* Screening of GABA-producing lactic acid bacteria from Thai fermented foods and probiotic potential of *Levilactobacillus brevis* F064A for GABA-fermented mulberry juice production [J]. Microorganisms, 2021, 9(1): 33.
- [38] XIAN J, WANG H, DIAO S, *et al.* *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* LJL7m20 strongly inhibits growth of the *Bacillus cereus* group from sufu [J]. Food Bioscience, 2024, 62: 105549.
- [39] 洗佳露. 毛豆腐微生物菌群的季节性变化及功能性乳酸菌筛选[D]. 广州: 华南理工大学, 2023.
XIAN JL. Seasonal variation of microbial flora in Mao-tofu and functional Lactic acid bacteria screening [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2023.
- [40] RÖSSLAND E, LANGSRUD T, GRANUM PE, *et al.* Production of antimicrobial metabolites by strains of *Lactobacillus* or *Lactococcus* co-cultured with *Bacillus cereus* in milk [J]. International Journal of Food Microbiology, 2005, 98(2): 193–200.
- [41] RÖSSLAND E, ANDERSEN-BORGE GI, LANGSRUD T, *et al.* Inhibition of *Bacillus cereus* by strains of *Lactobacillus* and *Lactococcus*

- in milk [J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 89(2): 205–212.
- [42] 吕蕾. 嗜酸乳杆菌膜蛋白 LaDUF1129 的鉴定表达及抑菌机理研究[D]. 佛山: 佛山科学技术学院, 2022.
- LV L. Identification, expression and antibacterial mechanism of *Lactobacillus acidophilus* membrane protein LaDUF1129 [D]. Foshan: Foshan University, 2022.
- [43] XU Z, YANG Q, ZHU Y. Transcriptome analysis reveals the molecular mechanisms of the novel *Lactobacillus pentosus* pentocin against *Bacillus cereus* [J]. Food Research International, 2022, 151: 110840.
- [44] ANUMUDU C, HART A, MIRI T, *et al.* Recent advances in the application of the antimicrobial peptide nisin in the inactivation of spore-forming bacteria in foods [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2021, 26(18): 5552.
- [45] TIRLONI E, BERNARDI C, CELANDRONI F, *et al.* Effectiveness of lactic and acetic acids on the growth of *Listeria monocytogenes* and *Bacillus cereus* in primo sale fresh cheese [J]. LWT, 2021, 151: 112170.
- [46] YANG Y, TAO WY, LIU YJ, *et al.* Inhibition of *Bacillus cereus* by lactic acid bacteria starter cultures in rice fermentation [J]. Food Control, 2008, 19(2): 159–161.
- [47] NING Y, FU Y, HOU L, *et al.* iTRAQ-based quantitative proteomic analysis of synergistic antibacterial mechanism of phenyllactic acid and lactic acid against *Bacillus cereus* [J]. Food Research International, 2021, 139: 109562.
- [48] 付浴男. 苯乳酸与乳酸联用对蜡样芽孢杆菌协同抑菌效应及作用机理[D]. 石家庄: 河北科技大学, 2020.
- FU YN. Study on synergistic antibacterial activities and mechanism of phenyllactic acid and lactic acid against *Bacillus cereus* [D]. Shijiazhuang: Hebei University of Science and Technology, 2020.
- [49] HAMAD G, ABDELMOTILIB N, DARWISH A, *et al.* Commercial probiotic cell-free supernatants for inhibition of *Clostridium perfringens* poultry meat infection in egypt [J]. Anaerobe, 2020, 62: 102181.
- [50] 白穆冉, 于婷, 陈培, 等. 芽孢杆菌抑菌物质作用研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2024, 49(5): 481–489.
- BAI MR, YU T, CHEN P, *et al.* Research advances on the antimicrobial effect of bacteriostatic substances from *Bacillus* spp [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2024, 49(5): 481–489.
- [51] 姜北辰, 贺凯茹, 杨姗姗, 等. 枯草芽孢杆菌抑菌成分研究进展[J]. 乳业科学与技术, 2023, 46(2): 35–41.
- JIANG BC, HE KR, YANG SS, *et al.* Advances in the study of bacteriostatic substances from *Bacillus subtilis* [J]. Journal of Dairy Science and Technology, 2023, 46(2): 35–41.
- [52] JOVANOVIĆ J, TRETIK S, BEGYN K, *et al.* Detection of enterotoxigenic psychrotrophic presumptive *Bacillus cereus* and cereulide producers in food products and ingredients [J]. Toxins, 2022, 14(4): 289.
- [53] RØSSLAND E, LANGSRUD T, SØRHAUG T. Influence of controlled lactic fermentation on growth and sporulation of *Bacillus cereus* in milk [J]. International Journal of Food Microbiology, 2005, 103(1): 69–77.
- [54] YANG S, WANG Y, REN F, *et al.* The sources of *Bacillus cereus* contamination and their association with cereulide production in dairy and cooked rice processing lines [J]. Food Quality and Safety, 2023, 7: fyad023.
- [55] 王舒媛, 王子元, 张敏. 不同抑菌剂对青稞鲜湿面中蜡样芽孢杆菌的抑制作用[J]. 食品科学, 2020, 41(13): 206–211.
- WANG SAI, WANG ZY, ZHANG M. Inhibitory effects of different bacteriostatic agents on *Bacillus cereus* inoculated in fresh wet noodles made from wheat flour blended with highland barley flour [J]. Food Science, 2020, 41(13): 206–211.

(责任编辑: 韩晓红 蔡世佳)