

## 低温环境中乳酸菌的开发利用

杨洪岩, 王小芬, 崔宗均\*

(中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100094)

**摘要:** 乳酸菌作为一种益生资源, 越来越为人们所重视。在自然界存在的乳酸菌中, 有一类虽然人们一直在利用, 但是还没有充分的研究和开发, 这类乳酸菌就是低温环境中生长的乳酸菌。国外目前所见有关低温乳酸菌的报道多集中于低温冷藏肉、鱼制品及泡菜中的乳酸菌, 集中研究和应用的菌属主要包括 *Leuconostoc* 和 *Lactobacillus*, 而国内这方面的研究并不多见。笔者根据目前国内外低温乳酸菌的研究现状, 阐述了其存在环境、种类及相应作用, 并对其研究涉及的领域、趋势及应用前景进行了探讨和展望, 以期为国内这类乳酸菌资源的研究开发提供参考和依据。

**关键词:** 低温; 乳酸菌; 发酵食品; 冷藏

中图分类号: Q939 文献标识码: A 文章编号: 0001-0209(2008)-01-0132-06

近些年来, 随着人们对微生物益生作用认识的不断提高, 越来越多的乳酸菌被广泛应用于医疗、食品和饲料领域中。不同种类的乳酸菌适应生长在不同的环境条件下, 它们在自然界分布广泛。人类及动物的肠道内、奶制品中及一些植物的表面都存在着不同类型的乳酸菌。在这些乳酸菌中, 有一类虽然人们一直在利用, 但是还没有充分的研究和开发, 即低温环境中的乳酸菌。这类乳酸菌在一些发酵食品的生产中起着关键性的作用。例如, 在发酵食品韩式泡菜(Kimchi)的制作过程中, 存在的主要微生物 *Leuconostoc mesenteroides*, 它可以在 5-7 的低温环境中相对于一些乳酸杆菌(如, *Lactobacillus plantarum*)生长更为快速, 产生更多量的乳酸, 因此使得 Kimchi 的风味维持更久<sup>[1]</sup>。

本文从乳酸菌的生物学特性展开, 综述了目前国内外低温乳酸菌的研究现状, 阐述了其存在环境、存在种类及相应作用, 以期为国内这类资源的研究与利用提供参考依据。

### 1 乳酸菌的生物学特性

乳酸菌是一类革兰氏阳性, 通常不移动, 不产

孢子, 发酵代谢的主要或者唯一产物为乳酸的微生物的统称, 过氧化氢酶反应普遍呈阴性<sup>[2, 3]</sup>。常见乳酸菌的不同特征参见表 1<sup>[2]</sup>。

表 1 不同属乳酸菌的基本特性

Table 1 The basic differential properties of lactic acid bacteria

Genus	Fermentation	Single cells	Cell arrangement
<i>Streptococcus</i>	homolactic	cocci	pair, chain
<i>Leuconostoc</i>	heterolactic	cocci	pair, chain
<i>Pediococcus</i>	homolactic	cocci	tetrad, cluster
<i>Aerococcus</i>	homolactic	cocci	tetrad, cluster
<i>Enterococcus</i>	homolactic	cocci	pair, chain
<i>Vagococcus</i>	homolactic	cocci or rods	pair, chain
<i>Lactobacillus</i>	homo-or hetero-lactic	rods	pair, chain
<i>Carnobacterium</i>	heterolactic	rods	pair, chain

乳酸菌在生长过程中需要碳源、氨基酸、缩氨酸、维生素等各种营养因子, 不同种类的乳酸菌适宜生长在不同的环境, 在自然界广泛分布。因此有目的地选择某些种类的乳酸菌, 将其应用在可控条件下, 可以提高一些食品或者饲料的品质及稳定性。目前乳酸菌在乳酪、酸奶、奶油、酸味冰淇淋、香肠、泡菜以及青贮饲料制作中已大规模应用。

基金项目: 国家自然科学基金(30571088)

\*通讯作者。Tel: +86-10-62733437; Fax: +86-10-62731857; E-mail: acuizj@cau.edu.cn

作者简介: 杨洪岩(1979-), 女, 黑龙江绥化人, 博士研究生, 研究方向为生物质资源综合利用。E-mail: yangdier@gmail.com

收稿日期: 2007-04-02; 修回日期: 2007-08-30

## 2 低温乳酸菌的界定

环境温度是影响微生物种类分布及生命活动的重要因素。根据微生物的生长温度,传统上将微生物分为三类,即低温微生物(Psychrophiles)、中温微生物(Mesophiles)和高温微生物(Thermophiles)。根据 Morita 的定义<sup>[3]</sup>,低温微生物区分为两类,一类是专性低温微生物(Obligate psychrophiles),也称嗜冷微生物,这种微生物可以在 0℃ 生长,优势生长温度小于 15℃,最高生长温度不超过 20℃;另一类是兼性低温微生物(Facultative psychrophiles, 或 psychrotrophs, 或 psychrotolerants),也称耐冷微生物,这种微生物可以在 0℃ 生长,优势生长温度高于 20℃。

生长于低温环境中(如韩式泡菜发酵过程和低温肉鱼制品贮藏过程)的乳酸菌,在 0℃ 可以生长,但其优势生长温度往往超过 20℃<sup>[4]</sup>,所以,在此类环境中的乳酸菌多数属于兼性低温乳酸菌,或称耐冷乳酸菌。

## 3 冷藏肉、鱼制品中的乳酸菌

肉及熟制的鱼类制品是微生物生长的优良基质,尽管肉及鱼制品的腐败可以通过冷藏来得以延迟,但是耐冷微生物的生长最终会导致此类食品的腐败。

对于低温冷藏肉鱼制品微生物的研究,有些学者认为,在低温冷藏的肉及鱼制品中,乳酸菌为有益群体,可以延长肉及鱼制品的货架寿命,它们的生长对肉及鱼制品的品质没有影响,并且乳酸菌可以作为生物保护剂来应用在这些肉及鱼制品的加工及贮藏过程中。研究表明<sup>[5]</sup>:在厌氧条件下,冷冻肉类的耐冷微生物主要是由一些革兰氏染色阳性、不使肉类腐烂的乳酸菌组成。缺氧条件有利于乳酸菌生长,而乳酸菌生长会使冷贮肉类货架寿命得以延长。但在有氧条件下,冷冻的肉类上面生长的耐冷微生物主要由不形成孢子的革兰氏阴性菌组成,这些菌会引起肉类腐烂。又如法式香肠和熏制的切片式猪肉等<sup>[6,7]</sup>,在刚刚熟制后的好氧条件下,其上面主要包含的正常的微生物区系为乳酸菌,但数量太低,不足以来抵制革兰氏阴性菌。当这些肉制品被附上真空或低温下略有空气的包装后,肉制品中的微生物区系渐渐向 CO<sub>2</sub> 耐受型而又生长缓慢的群体方向发展,占主体的微生物为乳酸菌。这些乳酸菌主要包括乳酸杆菌(*Lactobacillus* sp.) 如: *Lact. sakei*, *Lact. curvatus*<sup>[8]</sup> 和明串珠菌(*Leuconostoc* sp.), 如: *Leuc. Gelidum*, *Leuc. carnosum* 及 *Leuc. mesenteroides*<sup>[9]</sup>。

为抑制病原菌或者延长货架寿命,同时尽可能

的不改变制品的风味,所加入到肉制品中的培养物叫做抗性培养物(Antagonistic cultures)。用这些培养物或其代谢产物(细菌素或酶)来保护食品的方法通常被称为生物保护<sup>[10]</sup>,主要起保护性作用的微生物,就是乳酸菌。它可以抑制产品中易产生食品毒素的生物生长。Metaxopoulos 等<sup>[11]</sup>用 *Leuc. mesenteroides* 和 *Lact. curvatus* 对两种低温冷藏食品进行接种发现,实验中的两种乳酸菌菌株在低温贮存过程中有产生抗生成分(细菌素)的能力,可以在肉制品中很好的生长,成为肉制品的主导微生物,且对肉制品质量没有不良的影响。最近相似的研究也表明<sup>[12,13]</sup>,应用 *Lact. curvatus*、*Lact. sakei* 及其产生的细菌素对 2~5℃ 贮存的真空包装肉制品进行接种处理,能够不同程度的延长制品的货架寿命。

对冷藏鱼类制品微生物种类研究表明<sup>[14]</sup>,真空包装的三文鱼,冷藏三周后其上存在的微生物数量可以达到 10<sup>6</sup>~10<sup>8</sup>。其中 60% 是乳酸菌属,如 *Carnobacterium* spp. 和 *Lactobacillus* spp.。余下的 40% 是革兰氏阴性菌,如: *Enterobacteriaceae*、*Shewanella putrefaciens*、*Photobacterium phosphoreum* 和 *Aeromonas* spp., 这些革兰氏阴性菌有很强的变质能力,使鱼产生一些腥臭气味<sup>[15]</sup>。由于不使用添加剂及抗毒物质是目前消费领域的需求,使得这些鱼易受到病原菌如 *Listeria monocytogenes* 的感染,该菌可以在低温、酸性和盐性环境下生长<sup>[16]</sup>,有很强的致病能力。已有一些报道表明,从熏制三文鱼身上分离的 *Lactobacillus* 和 *Carnobacterium* 属的某些种,在抑制 *Listeria* spp. 方面具有良好的应用前景<sup>[17-19]</sup>。Vescovo 等<sup>[20]</sup> 研究结果表明,向熏鱼中单独或者联合接种 *Lact. casei*、*Lact. plantarum* 和 *C. piscicola*, 在 4℃ 下可抑制 *List. innocua* 达 30d,而且不影响产品的质量。Ghalfi 等<sup>[21]</sup> 将 *Lact. curvatus* CWBI-B28 菌株的细菌素接入到熏制三文鱼,在 4℃ 贮藏的过程中,测试其抑菌活性,结果表明,该细菌素可以有效抑制 *Listeria* sp.。

然而,另一种观点则普遍认为,乳酸菌与真空低温贮存的肉及鱼制品腐败有联系<sup>[22-24]</sup>。这种观点认为,在低温厌氧(如真空袋)贮存过程中,乳酸菌是构成肉及肉制品上腐败微生物区系的主要类型,当乳酸菌数达到最大时,肉制品的味道改变明显,这种改变可能是由于乳酸菌代谢产物的积累或产品形态改变而致。实验证据之一是向 4℃ 贮存的切片熟牛肉中分别接种 *Lactobacillus* sp. 93 SMRICC 235 和 *Leuconostoc* sp. 89 SMRICC 189: 接种了 *Lactobacillus* sp. 93 SMRICC 235 的牛肉,当菌数达到

最大时,牛肉的味道指数开始下降,而接种 *Leuconostoc* sp. 89 SMRICC 189 的牛肉,当菌数没达到最大时,味道分数就开始迅速下降;接种前者的牛肉,乙酸和 D 型乳酸量增加,而葡萄糖含量及 L 型乳酸含量下降,接种后者的牛肉乙醇及 D 型乳酸含量增加,葡萄糖含量下降。该实验结果表明 *Lactobacillus* sp. 93 形成高水平的  $H_2S$ , 并且只是在这种菌存在的情况下腐败牛肉硫磺味道浓重, D 型乳酸和乙醇的存在说明在肉的表面有很高数量的 *Leuconostoc* sp. 89<sup>[23]</sup>。Samelis 等<sup>[25]</sup> 研究结果表明:在 4 和 12 贮存下的切片火腿主要腐败微生物为 *Lact. sake* 和 *Leuc. mesenteroides*。Dalgaard 等<sup>[26]</sup> 从冷藏腐败的熟制和腌制的虾上分离了 102 株细菌,通过表型和分子生态学手段鉴定,确认 78 株是乳酸菌,13 株为其他种类的革兰氏阳性菌,11 株为革兰氏阴性菌;从 78 株乳酸菌中选择 48 株进一步确定, *Enterococcus faecalis* 与 15 和 25 条件下的腐败有关,其代谢活力与腐败鱼制品的化学变化相对应; *C. divergens* 和 *Lact. curvatus* 是与 0, 5 条件下的腐败有关。

对于生长在低温贮存肉、鱼制品中乳酸菌的作用,国际上目前尚且存在不同的观点。这种观点的不同多半由应用的技术手段、采样时间及研究目的不同而导致。肉鱼制品中存在的微生物类型非常复杂,采用分离培养技术或者采用分子生态学手段对该环境中的乳酸菌进行检测,目前的研究结果表明,主要为乳杆菌属 (*Lactobacillus*) 和明串珠菌属 (*Leuconostoc*), 此外,肉毒杆菌属 (*Carnobacterium*) 也常被分离到。

笔者等认为虽在腐败的肉、鱼制品中经常可以检测到乳酸菌,但由此推断乳酸菌是导致制品腐败的主要微生物直接证据尚不充足。综合上述相关文献,在可控条件下,将一些产细菌素或有细菌素产生潜力的菌株接种于肉、鱼制品中,即将其作为生物保护剂,将具有更大的利用潜力。在我国,对于肉、鱼制品中低温乳酸菌的研究还限于采用传统培养技术<sup>[24, 27]</sup>, 对低温冷藏肉、鱼制品上存在的乳酸菌的具体种属分析未见报道,此方面研究工作亟待加强。

#### 4 泡菜中的乳酸菌

Kimchi 是源于朝鲜及韩国的一组乳酸菌发酵食品的统称,这种食品目前深受许多国家人们喜爱,在亚洲国家更是如此。东方白菜和萝卜是制作

Kimchi 的主要材料,辅料包括蒜,红辣椒,绿葱,生姜,芥菜和洋葱等。Kimchi 发酵是通过来自于生原料中的各种微生物启动的。在发酵过程中,乳酸菌的数量随着 Kimchi 中酸量的增加而增加。在已经成功发酵后的 Kimchi 中,乳酸菌仍占主导优势 ( $10^7 \sim 10^9$  CFU/g)<sup>[28]</sup>。在 Kimchi 研究中,已报道过的乳酸菌有 30 多种<sup>[29, 30]</sup>。

在 Kimchi 中存在的乳酸菌,或嗜冷,或耐冷,兼性厌氧,并具有耐盐特性<sup>[30]</sup>。在 Kimchi 发酵过程中,乳酸菌生长模式的变化依赖于发酵温度及发酵的进程。一些明显的证据表明异型发酵乳酸菌 *Leuconostoc* 在 Kimchi 发酵初期占优势,随着发酵的继续,在发酵后期,乳杆菌迅速生长,取代其优势地位。Lee 等<sup>[28]</sup> 研究结果表明, Kimchi 在 5 下发酵, *Leuc. mesenteroides* 在早期占据优势, *Lact.*, *Lact. brevis* 或 *Lact. plantarum* 在后期占优势。从 *Leuc. mesenteroides* 到乳杆菌 (*Lactobacilli*) 的这种优势菌群变化,在发酵温度达到 20 情况下更为快速。Kim 等<sup>[31]</sup> 的研究结果表明:在 8 下, Kimchi 发酵早期 *Leuc. gelidum* 是主要种,而 *Leuc. mesenteroides* 只占一小部分。Choi 等<sup>[32]</sup> 研究了在 15 条件下 Kimchi 发酵,结果表明,在中早期发酵过程中, *Leuc. citreum* 是主要种,而 *Lact. sake*、*Lact. curvatus* 或 *Lact. brevis* 在发酵的后期被发现。在发酵第 5d 的 Kimchi 中所分离 120 株菌中,82 株 (68%) 通过多种方法 (包括 16S rDNA 测序和 DNA/DNA 杂交) 被鉴定为 *Leuc. citreum*。在发酵的中期,有一些像 *Weissella confusa* 的菌株也被分离到。20 下 Kimchi 发酵过程中乳酸菌的变化也已有报道<sup>[33]</sup>, 结果表明,在 4~6d 发酵过程中分离到 31 株乳酸菌,组成如下: *Leuc. mesenteroides* (12.9%), *Lact. curvatus* (9.7%), *Lact. brevis* (35.5%), *Lact. sake* (25.8%), 以及 *Lact. plantarum* (16.1%)。在更高温度下,如 20 ~ 30, Kimchi 中起始增殖的菌属为 *Leuconostoc*、*Lactococcus* 和 *Pediococcus*, 然后随着发酵进程的继续,这些菌的数目下降。在 *Lactobacillus* 中,经常在 Kimchi 发酵后期检测到 *Lact.*、*Lact.*、和 *Lact. plantarum*<sup>[28]</sup>。

制作 Kimchi 时,使用接种物的研究已有报道。Choi 等<sup>[32]</sup> 将从 Kimchi 中分离的 *Leuc. citreum* 接种回 Kimchi 中,来评价其在 Kimchi 发酵中的生长及产酸情况。该菌株在 Kimchi 5d 发酵结束时占发酵微生物群体的 95%,而在对照中则检测到多种异质乳酸菌。用此菌株处理过的 Kimchi, pH 下降比对照

更为迅速, pH 下降后, 在前 5d 的发酵过程中, 一直保持稳定。这种结果表明, 此菌在 Kimchi 中可以迅速生长, 并且抑制其它微生物, 同时表明其可以作为维持 Kimchi 质量、延长保质期的起始接种物。

有几个因素影响着 Kimchi 中的乳酸菌区系, 主要包括, 原材料、盐度和发酵温度。另外, 由于鉴定方法的不同, 对于内含的乳酸菌数目及种类的研究结果也不一致。最近, Lee 等<sup>[34]</sup> 采用变性梯度胶电泳(DGGE) 技术检查出乳酸菌 *Weissella confusa*, *Leuc.*, *Lact. sake* 和 *Lact. curvatus* 是 Kimchi 中的主要发酵类群。Cho 等<sup>[35]</sup> 采用 16S rRNA 基因限制性酶分析技术对 Kimchi 的微生物群体动态进行了分析, 发现在-1 时, *W. koreensis* 成为 Kimchi 中存在的主要优势种。而微生物基因组 芯片技术的应用, 进一步揭示出<sup>[36]</sup>, Kimchi 在 4 发酵时, *Weissella* 属的几个种是发酵微生物中的优势菌。对于 Kimchi 中的乳酸菌区系, 目前普遍公认存在的是 *Leuconostoc* spp., 其在 10 以下可以大量繁殖, 而且在 Kimchi 发酵前期较为多见。相比之下, *Lactobacillus* spp. 大量繁殖的温度要高些, 由于此菌属更为耐酸, 在发酵 Kimchi 发酵后期较为多见。而分子生态学技术应用, 揭示出 *Weissella* spp. 可能在 4 以下具有更强发酵优势。

## 5 低温乳酸菌的研究趋势及利用前景

### 5.1 分子生态学与传统培养相结合是开发利用低温乳酸菌的主要技术手段

微生物多样性的研究是开发微生物资源的前提<sup>[37]</sup>。当前的微生物多样性研究, 主要依赖于分子生态学技术的发展。目前的分子生态学手段主要包括 16S rDNA 基因克隆文库、变性/温度梯度凝胶电泳(DGGE/TGGE)、基因芯片法、末端限制性片段长度多态性(T-RFLP)、荧光原位杂交技术(FISH)、宏基因组法等。如前所述, 前三者在目前的低温乳酸菌的研究中已经广泛应用。这些技术和方法的应用, 为人类深入揭示低温乳酸菌的多样性做出了卓越贡献。采用新的技术手段, 揭示微生物多样性, 其目的是挖掘更多可为人们所利用的资源。而获取这些资源, 培养手段是必不可少的。尽管目前由于实验条件所限, 使得许多微生物还处于未培养状态。但随着对微生物原始生态环境的不断认识, 相信会有更多低温乳酸菌资源被分离, 并为人所用。因此分子生态学与传统培养相结合将成为未来低温乳酸菌开发利用的主要技术手段。

采用限制性培养技术获取特定环境的微生物, 随后利用分子生态学技术对所获得的微生物群体进行分析, 进而揭示特定群体的微生物多样性是笔者等研究思路的一个创新<sup>[38, 39]</sup>。目前, 笔者等采用 5 长期限制性培养, 从东北水稻产区的土壤和水稻秸秆体系中分离到一组低温复合微生物, 将其用于 10 水稻秸秆发酵, 可以明显增加发酵体系的乳酸含量。采用 DGGE, 16S rRNA 基因克隆文库及定量 PCR 分子生态学技术对其进行分析, 明确该复合系主要由低温乳酸菌 *Lactobacillus* 和 *Leuconostoc* 组成, 具体结果将另文发表。

### 5.2 生物保护剂或接种剂是今后低温乳酸菌研究中开发的重点

应用保护剂是增强食品安全的一项常用措施。目前研究的保护剂分两类, 一类为化学保护剂, 一类为生物保护剂。关于化学保护剂, 已有研究报道硝酸盐和乳酸盐的抗 *Listeria* sp. 特性, 这些物质或对人体有害、或会破坏制品的感观品质, 应用起来比较困难。很多研究已经表明, 将低温乳酸菌及其代谢物用作生物保护剂具有很大的应用潜力。目前研究较多的低温乳酸菌保护剂是 *Lact. curvatus* 及其细菌素<sup>[13, 21]</sup>, 另据报道, *Lact. sakei* 亦具有很好的应用潜力<sup>[19]</sup>。

目前, 对从冷藏腐败肉鱼制品中分离的乳酸菌作用还存在争议, 故将其用做保护剂存在一定的风险。Kimchi 是传统发酵食品, 其中所含乳酸菌具有更高的使用安全性。现有的研究表明: Kimchi 中的乳酸菌, 除用于 Kimchi 发酵, 还可用于发酵肉制品的保藏, 且效果不错<sup>[33]</sup>。因此, 大力开发 Kimchi 中的可用乳酸菌资源及研究其代谢物将成为今后低温乳酸菌的研究重点。

综上所述, 低温环境中的乳酸菌是一类非常有应用价值的资源。目前, 对于低温环境中的乳酸菌, 国外的研究主要集中文中论述的两个方面, 而国内在此方面的研究并不多见。国内外对于低温环境中乳酸菌的耐冷机制研究还属空白。对于低温环境中的乳酸菌的鉴定, 过去主要集中在应用传统培养, 最近许多研究者将分子生态学方法应用于低温乳酸菌的鉴定和分离, 使得对这一领域的研究又深入了一层。而传统分离方法与分子生态学方法的结合运用, 必将进一步加深对低温乳酸菌这一资源的认识和开发。随着人们对低温乳酸菌功能及耐冷机制认识的逐步深入, 相信, 这类资源会被更多的应用于更广阔的领域, 有着更为广泛的应用前景。

## 参 考 文 献

- [1] Lee CH. Lactic acid fermented foods and their benefits in Asia. *Food Control*, 1997, 8: 259–269.
- [2] Ringø E, Gatesoupe FJ. Lactic acid bacteria in fish: a review. *Aquaculture*, 1998, 160: 177–203.
- [3] Morita RY. Psychrophilic bacteria. *Bacteriol Rev*, 1975, 39: 144–167.
- [4] Hugas M, Monfort JM. Bacterial starter cultures for meat fermentation. *Food Chem*, 1997, 59 (4): 547–554.
- [5] Stiles ME, Hastings JW. Bacteriocin production by lactic acid bacteria: potential for use in meat preservation. *Trends Food Sci Technol*, 1991, 10: 247–251.
- [6] Kotzekidou P, Bloukas JG. Effect of protective cultures and packaging film permeability on shelf life of sliced vacuum-packed cooked ham. *Meat Sci*, 1996, 42: 333–345.
- [7] Borch E, Kant-Muermans ML, Blixt Y. Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *Int J Food Microbiol*, 1996, 33: 103–120.
- [8] Dykes GA, von Holy A. Taxonomic status of atypical *Lactobacillus sake* and *Lactobacillus curvatus* strains associated with vacuum packaged meat spoilage. *Curr Microbiol*, 1994, 28: 197–200.
- [9] Dykes GA, Cloete TE, von Holy A. Identification of *Leuconostoc* species associated with the spoilage of vacuum packaged Vienna sausage by DNA–DNA hybridization. *Food Microbiol*, 1994, 11: 271–274.
- [10] Lücke FK. Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Sci*, 2000, 56: 105–115.
- [11] Metaxopoulos J, Mataragas M, Drosinos EH. Microbial interaction in cooked cured meat products under vacuum or modified atmosphere at 4 °C. *J Appl Microbiol*, 2002, 93: 363–373.
- [12] Katikou P, Ambrosiadis I, Georgantelis D, *et al.* Effect of *Lactobacillus*-protective cultures with bacteriocin-like inhibitory substances' producing ability on microbiological, chemical and sensory changes during storage of refrigerated vacuum-packaged sliced beef. *J Appl Microbiol*, 2005, 99: 1303–1313.
- [13] Castellano P, Vignolo G. Inhibition of *Listeria innocua* and *Brochothrix thermosphacta* in vacuum-packaged meat by addition of bacteriocinogenic *Lactobacillus curvatus* CRL705 and its bacteriocins. *Lett Appl Microbiol*, 2006, 43: 194–199.
- [14] Leroi F, Joffraud JJ, Chevalier F *et al.* Study on the microbial ecology of cold-smoked salmon during storage at 8°C. *Int J Food Microbiol*, 1998, 39: 111–121.
- [15] Stohr V, Joffraud JJ, Cardinal M, *et al.* Spoilage potential and sensory profile associated with bacteria isolated from cold-smoked salmon. *Food Res Int*, 2001, 34: 797–806.
- [16] Rorvik LM. *Listeria monocytogenes* in smoked salmon industry. *Int J Food Microbiol*, 2000, 62: 183–190.
- [17] Vaz-Velho M, Todorov S, Ribeiro J. *et al.* Growth control of *Listeria innocua* 2030c during processing and storage of cold-smoked salmon-trout by *Carnobacterium divergens* V 41 culture and supernatant. *Food Control*, 2005, 16: 540–548.
- [18] Tomé E, Teixeira P, Gibbs PA. Anti-listerial inhibitory lactic acid bacteria isolated from commercial cold smoked salmon. *Food Microbiol*, 2006, 23: 399–405.
- [19] Weiss A, Hammes WP. Lactic acid bacteria as protective cultures against *Listeria* spp. on cold-smoked salmon. *Eur Food Res Technol*, 2006, 222: 343–346.
- [20] Vescovo M, Scolari G, Zacconi C. Inhibition of *Listeria innocua* growth by antimicrobial-producing lactic acid cultures in vacuum-packed cold-smoked salmon. *Food Microbiol*, 2006, 23: 689–693.
- [21] Ghalfi H, Allaoui A, Destain J, *et al.* Bacteriocin activity by *Lactobacillus curvatus* CWBI-B28 to inactivate *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon during 4°C storage. *J food pro*, 2006, 69: 1066–1071.
- [22] Reuter G. Psychrotrophic lactobacilli in meat products. In: Roberts TA, *et al.* ed. Psychrotrophic Microorganism in Spoilage and Pathogenicity. London: Academic Press, 1981.
- [23] Borch E, Agerhem H. Chemical, microbial of sensory changes during the anaerobic cold storage of beef inoculated with a homofermentative *Lactobacillus* sp. or *Leuconostoc* sp.. *Int J Food Microbiol*, 1992, 15: 99–108.
- [24] 马丽珍, 南庆贤, 戴瑞彤. 不同气调包装方式的冷却猪肉在冷藏过程中的微生物变化. *农业工程学报*, 2004, 20(4): 160–164.
- [25] Samelis J, Kakouri A, Georgiadou KG *et al.* Evaluation of the extent and type of bacterial contamination at different stages of processing of cooked ham. *J Appl Microbiol*, 1998, 84: 649–660.
- [26] Dalgaard P, Vancanneyt M, Euras V N *et al.* Identification of lactic acid bacteria from spoilage associations of cooked and brined shrimps stored under modified atmosphere between 0 °C and 25 °C. *J Appl Microbiol*, 2003, 94: 80–89.
- [27] 傅鹏, 李平兰. 冷却猪肉初始菌相分析与冷藏过程中的菌相变化规律研究. *食品科学*, 2006, 27(11): 119–123.
- [28] Lee CW, Ko CY, Ha DH. Microfloral changes of the lactic acid bacteria during kimchi fermentation and identification of the isolates. *Korean J Appl Microbiol Biotechnol*, 1992, 20: 102–109.
- [29] Lim CR, Park HK, Han HU. Reevaluation of isolation and identification of Gram-positive bacteria in kimchi. *Korean J Microbiol*, 1989, 27: 404–414.
- [30] Cheigh HS, Park KY. Biochemical, microbiological, and nutritional aspects of kimchi (Korean fermented vegetable products). *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1994, 34: 175–203.
- [31] Kim BJ, Lee HJ, Park SY, *et al.* Identification and characterization of *Leuconostoc gelidum*, isolated from kim-

- chi, a fermented cabbage product. *J Microbiol*, 2000, 38: 132–136.
- [32] Choi IK, Jung SH, Kim BJ, *et al.* Novel *Leuconostoc citreum* starter culture system for the fermentation of kimchi, a fermented cabbage product. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2003, 84: 247–253.
- [33] Lee JY, Kim CJ, Kunz B. Identification of lactic acid isolated from kimchi and studies on their suitability for application as starter culture in the production of fermented sausages. *Meat Sci*, 2006, 72: 437–445.
- [34] Lee JS, Heo GY, Lee JW, *et al.* Analysis of kimchi microflora using denaturing gradient gel electrophoresis. *Int J Food Microbiol*, 2005, 102: 143–150.
- [35] Cho J, Lee D, Yang C, *et al.* Microbial population dynamics of kimchi, a fermented cabbage product. *FEMS Microbiol Lett*, 2006, 257: 262–267.
- [36] Bae JW, Rhee SK, Park R. Development and evaluation of genome-probing microarrays for monitoring lactic acid bacteria. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71: 8825–8835.
- [37] 蒋云霞, 郑天凌, 田蕴. 红树林土壤微生物的研究: 过去、现在、未来. *微生物学报(Acta Microbiologica Sinica)*, 2006, 46(5): 848–851.
- [38] Haruta S, Cui ZJ, Huang ZY, *et al.* Construction of a stable microbial community with high cellulose degradation ability. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2002, 59: 529–534.
- [39] Wang XF, Haruta S, Wang P, *et al.* Diversity of a stable enrichment culture which is useful for silage inoculant and its succession in alfalfa silage. *FEMS Microbiol Ecol*, 2006, 57: 106–115.

## Lactic acid bacteria growing at low temperature with a high exploitability—A Review

Hongyan Yang, Xiaofen Wang, Zongjun Cui\*

(College of Agronomy and Biotechnology, China Agriculture University, Beijing 100094, China)

**Abstract:** At present, increasing attentions have been paid to lactic acid bacteria because of their probiotic effects. In the nature, there exists a kind of lactic acid bacteria growing at low temperature with a long history of use. However, they have not been well studied and developed. Most articles about the lactic acid bacteria growing at low temperature focused on meat and fish storage at low temperature, or Kimchi, a kind of fermented vegetable. Many microorganisms studied are *Leuconostoc* and *Lactobacillus* species. Nevertheless, a few researches in this field are reported in China. In this paper, we review the living environment, varieties and functions of lactic acid bacteria growing at low temperature, to provide an overview for further studies. We also discuss perspectives of further development and utilization of these lactic acid bacteria.

**Keywords:** low temperature; lactic acid bacteria; fermented food; cold storage