doi:10.3969/j.issn.1672-1292.2026.02.011

3 种传统发酵蔬菜制品中乳酸菌分离鉴定及其发酵特性分析

周　蕙[1,2],蔡泽田[1],王　晖[2],申　挥[2],于丽娟[2],孔晓雪[1],罗海波[1],苏火生[2]

(1.南京师范大学食品与制药工程学院,江苏 南京 210023)
(2.云南省农业科学院农产品加工研究所,云南 昆明 650221)

[**摘要**] 为开发适用于云南酸笋发酵的纯种发酵剂,从 3 种传统发酵蔬菜制品中分离筛选具有优良发酵性能的乳酸菌. 采用 MRS 平板培养分离获得 3 株乳酸菌,分别命名为 LAB1、LAB2、LAB3;通过生理生化特性和 16S rDNA 测序鉴定菌种,并分析其发酵特性及功能特性. 结果表明:LAB1、LAB3 为植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*),LAB2 为哈尔滨乳杆菌(*Lactobacillus harbinensis*). 菌株 LAB1 产酸能力较强,稳定期 pH≤3.60,且耐受 pH3.0 的环境,但 LAB3 在 pH3.0 的环境下生长受到抑制;菌株 LAB1、LAB3 耐盐性较强,能适应 8%盐浓度的环境;菌株 LAB2 的耐胆盐能力较强. 3 株菌均具有较强的亚硝酸盐降解能力,培养 24 h 后降解率均超过 99%. 3 株菌都有一定的抗氧化能力,对 DPPH 自由基和 $ABTS^+$ 自由基的清除率分别为 9.13%~11.83%和 6.02%~8.37%;无细胞提取液的抗氧化能力较弱. 3 株菌均能有效抑制大肠杆菌和金黄色葡萄球菌,抑菌圈直径为 15.77~18.00 mm. 以上结果表明,菌株 LAB1 和 LAB2 发酵性能优良,并具有降解亚硝酸盐和抑菌等特性,具有进一步制备酸笋纯种发酵剂的潜力.

[**关键词**] 酸笋,乳酸菌,生长特性,发酵特性,发酵剂
[**中图分类号**]TS255.3　[**文献标志码**]A　[**文章编号**]1672-1292(2026)02-0092-09

Isolation, Identification, and Characteristic Analysis of Lactic Acid Bacteria in Three Traditional Fermented Vegetable Products

Zhou Hui[1,2], Cai Zetian[1], Wang Hui[2], Shen Hui[2], Yu Lijuan[2],
Kong Xiaoxue[1], Luo Haibo[1], Su Huosheng[2]

(1.School of Food Science and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)
(2.Agro-products Processing Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650221, China)

Abstract: To develop pure strain starter suitable for Yunnan sour bamboo shoot fermentation, lactic acid bacteria (LAB) with excellent fermentation properties are isolated and screened from three traditional fermented vegetable products. Three strains of LAB named LAB1, LAB2 and LAB3 are isolated by MRS plate culture, the strains are identified by physiological and biochemical characteristics and 16S rDNA sequencing, fermentation and functional properties are analysed. The results show that LAB1 and LAB3 are *Lactobacillus plantarum*, LAB2 is *Lactobacillus harbinensis*. Strain LAB1 has strong acid producing ability, pH≤3.60 in the stable period, and can tolerate the environment of pH3.0 but the growth of LAB3 is inhibited in an environment with pH of 3.0, strains LAB1 and LAB3 has a strong salt tolerance and could adapt to the environment of 8% salt concentration, strain LAB2 has strong bile salt tolerance. The results show that the three strains has strong nitrite degradation ability, and the degradation rate is more than 99% after 24 hours of culture. All three strains have some antioxidant capacity, and the scavenging rates of DPPH radicals and $ABTS^+$ radicals are 9.13%~11.83% and 6.02%~8.37% respectively, the antioxidant activity of acellular extract is weak. The three strains are able to inhibit *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, and the diameter of inhibition zone is from 15.77 to

收稿日期:2025-04-16.
基金项目:云南省“兴滇英才支持”计划创业人才专项项目(竹笋无硫加工及产品多样性开发关键技术研究与示范)、中央引导地方科技发展专项资金项目(202407AC110018).
通讯作者:罗海波,博士,教授,研究方向:食品科学. E-mail:luohaibo_1216@126.com;苏火生,副研究员,研究方向:农产品加工. E-mail:shs304@163.com

18.00 mm. The above results show that the strains LAB1 and LAB2 have excellent fermentation performance, and have the characteristics of nitrite degradation and bacteriostasis, having the potential to further prepare pure strain starter of sour bamboo shoots.

Key words: sour bamboo shoots, lactobacillus, growth characteristics, fermentation characteristics, starter

竹笋翠香可口、营养丰富,有着悠久的食用历史和广泛的消费基础,被誉为“素食第一品”. 已有研究表明,竹笋具有抗癌、抗菌、抗氧化及降脂减肥等作用,可作为功能性食品或天然药物资源[1]. 然而,竹笋耐藏性差,且新鲜竹笋中常含有氰苷等不利于人体健康的成分. 因此,传统上通常采用自然发酵将竹笋制成酸笋以延长其保藏期,同时还可大量减少竹笋中的氰苷,提高竹笋的食用安全性. 竹笋发酵后可形成独特的风味和清爽脆嫩的口感,受到云南、广西和广东等地消费者的青睐,在螺蛳粉、酸笋炒肉等特色菜肴中扮演着不可或缺的角色[2-3].

酸笋在发酵过程中,乳酸菌作为主要优势微生物,其菌群组成及代谢活性对产品品质、风味形成等具有决定性作用[4]. 近年来,已有许多从传统发酵蔬菜中成功分离筛选出具有优良发酵特性的乳酸菌菌株的研究报道. 钟源[5]从柳州自然发酵酸笋中筛选出高产 γ-氨基丁酸、有良好亚硝酸盐降解能力和耐受性的乳酸菌,通过优化发酵条件,制备出感官品质优异的酸笋产品. 任亭等[6]以传统泡菜为材料,筛选出 1 株优势乳酸菌,将其结合植物乳植杆菌进行酸笋发酵,发现混菌发酵后酸笋中亚硝酸含量显著低于自然发酵. 桑建等[7]以东北传统发酵酸菜为样品进行菌株的分离纯化,获得 5 株性能良好的植物乳植杆菌,其可作为直投式发酵剂应用于工业化生产. 李宏洋等[8]在泡椒老卤水中筛选出一株耐受辣椒素的植物乳植杆菌,为高辣度辣椒制品的发酵提供了潜在的菌种资源. 因此,从传统发酵蔬菜制品中筛选出优质乳酸菌,并将其制备为纯种发酵剂,有利于解决传统自然发酵周期长、产品质量不稳定及存在安全隐患等诸多不足.

本研究以云南酸笋、云南酸菜膏及江苏泡椒 3 种传统发酵蔬菜制品为样品,进行乳酸菌的分离筛选,通过形态学观察、生理生化及分子生物学鉴定,并对其产酸耐酸能力、氯化钠耐受性、亚硝酸盐降解能力及抗氧化和抗菌等特性进行研究,旨在筛选各样品中优质乳酸菌生物资源,以期进一步制备适用于发酵酸笋生产的纯种发酵剂,为酸笋的工业化生产和品质提升提供菌种资源与科学支撑.

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

云南酸笋,云南省德宏州农家自制;云南酸菜膏,云南省昭通市农家自制;江苏泡椒,江苏省南京市农家自制.

亚硝酸钠、氯化钠,上海沪试实验室器材股份有限公司;德曼-罗戈萨-夏普(MRS)培养基,北京陆桥技术股份有限公司;无菌磷酸盐缓冲溶液(PBS)、革兰氏染色试剂盒,北京索莱宝科技有限公司;$ABTS^+$、DPPH,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;Trelief ® Hi-Pure Plant Genomic DNA Kit,南京擎科生物科技有限公司.

UV-2800A 紫外可见分光光度计,尤尼柯(上海)仪器有限公司;BIO-Rad S1000 PCR 扩增仪,赛默飞世尔科技公司;Gel Doc XR+凝胶成像分析系统,北京赛百奥科技有限公司;JY30CHE 凝胶电泳仪,北京君意东方电泳设备公司;FE28 pH 计,梅特勒托利多仪器(上海)有限公司.

1.2　实验方法

1.2.1　菌株分离纯化

参照李艺[9]的方法,挑选疑似乳酸菌的菌落,编号并接种于 MRS 斜面培养基,于 4 ℃保存备用.

1.2.2　菌株形态学鉴定

观察 MRS 平板上菌落的颜色、大小、边缘等形态学特征,革兰氏染色后用显微镜观察.

1.2.3　生理生化指标鉴定

按照《常见细菌系统鉴定手册》[10]中所述乳酸菌鉴定方法,选择革兰氏阳性且菌体形态疑似乳酸菌的菌株进行生理特性和生化试验分析.

1.2.4 菌株分子生物学鉴定

使用商品化试剂盒提取菌株基因组 DNA,选择 16S rDNA 保守区引物(27F/1492R)进行 PCR 扩增,经 1%琼脂糖凝胶电泳检测纯化后,对扩增产物进行测序. 将测序结果提交 NCBI-BLAST 比对,采用 MEGA 11.0 构建系统发育树[11].

1.2.5 菌株的发酵特性

1.2.5.1 菌株生长曲线

将乳酸菌菌株接种于 MRS 液体培养基中,(37±1)℃恒温培养 20 h 进行活化. 在新的 MRS 液体培养基中,接种 2%(*V*/*V*)活化菌株,(37±1)℃恒温培养. 前 16 h 每隔 2 h 取样,于培养 24 h 时再次取样测定 600 nm 处吸光度值(OD_{600}),吸光值越大表明乳酸菌数量越多.

1.2.5.2 菌株产酸能力

按照 1.2.5.1 的步骤准备乳酸菌培养液和取样,采用 FE28 pH 计测定 pH 值.

1.2.5.3 菌株耐受性

将活化菌株按 2%(*V*/*V*)的接种量,分别接入不同胆盐浓度(0%、0.05%、0.1%、0.2%、0.3%)、不同盐浓度(2%、4%、6%、8%、10%)和不同初始 pH 值(2.0、3.0、4.0、5.0、6.0)的 MRS 液体培养基,(37±1)℃恒温培养 24 h,取样测定 OD_{600}值,对照组为未接种菌株的 MRS 液体培养基.

1.2.5.4 菌株亚硝酸盐降解率测定

参考 GB 5009.33—2025《食品安全国家标准 食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》[12],在 MRS 液体培养基中,接种 2%(*V*/*V*)的活化菌株,(37±1)℃恒温培养 6 h、12 h 后取样测定亚硝酸盐含量,之后每隔 12 h 取样测定,直至 48 h.

1.2.6 乳酸菌的功能性分析

1.2.6.1 抗氧化能力检测

细胞悬浮液:将培养两代的乳酸菌培养液离心 15 min(5000 r/min,4 ℃),弃上清,用无菌磷酸盐缓冲溶液(PBS,pH 7.2)洗涤菌体沉淀 3 次,每次 50 mL,最后将菌体悬浮于 50 mL PBS 中备用.

无细胞提取物:将 20 mL 细胞悬浮液置于冰浴中,使用超声破碎仪处理 10 min,离心 15 min(5 000 r/min,4 ℃),上清液通过 0.22 μm 滤膜过滤除菌,得到无细胞提取物.

(1)清除 DPPH 自由基:参照 Chen 等[13]的方法进行检测.

(2)清除 $ABTS^+$自由基:参照 Wu 等[14]的方法进行检测.

1.2.6.2 抗菌能力检测

指示菌选用本实验室保存的大肠杆菌(*Escherichia coli*)和金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*),采用打孔法测定乳酸菌的抑菌能力,用 0.85%无菌生理盐水作为对照,通过测量抑菌圈的直径大小,比较不同乳酸菌株的抑菌性能.

1.3 数据处理

数据以平均值±标准差表示,采用 Excel 2019 处理数据,SPSS 26.0 进行显著性差异分析,Origin 2024 绘图,MEGA 11.0 构建系统发育树.

2 结果与分析

2.1 乳酸菌筛选结果

2.1.1 菌落形态和菌体形态结果

从云南酸笋、云南酸菜膏及江苏泡椒样品中各分离出 1 株疑似乳酸菌,分别命名为 LAB1、LAB2、LAB3. 如图 1 所示,菌落为圆形乳白色,边缘整齐,表面湿润,不透明且有光泽;菌株均为革兰氏阳性杆菌形态.

2.1.2 菌落生理生化试验结果

如表 1 所示,接触酶、产硫化氢、明胶液化、硝酸盐还原和吲哚试验均为阴性,七叶灵水解试验为阳性,能利用葡萄糖产酸但不产气. 综合菌落形态和生理生化试验结果并参考《常见细菌系统鉴定手册》,初步判断 3 株菌可能属于乳酸菌.

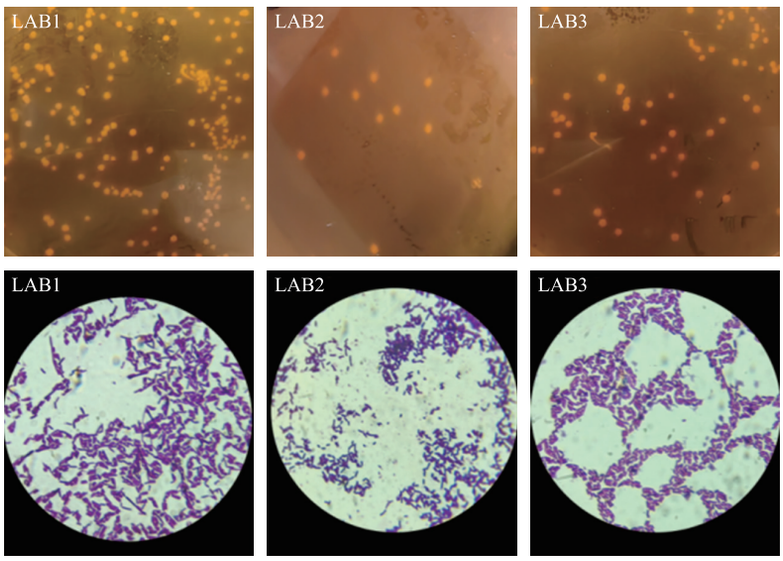


图 1　菌落形态及镜检形态

Fig. 1　Colony morphology and microscopic examination morphology

表 1　菌株生理生化试验结果

Table 1　Physiological and biochemical test results of strains

特征	菌株			特征	菌株		
	LAB1	LAB2	LAB3		LAB1	LAB2	LAB3
接触酶	—	—	—	吲哚试验	—	—	—
硝酸盐还原	—	—	—	七叶灵水解	+	+	+
产硫化氢	—	—	—	葡萄糖产酸/产气	+/—	+/—	+/—
明胶液化	—	—	—				

注:“+”表示反应呈阳性或生长;“—”表示反应呈阴性或不生长.

2.1.3　菌株分子生物学鉴定结果

16S rDNA 序列分析和 NCBI-BLAST 比对结果如表 2 和图 2 所示. 菌株 LAB1、LAB3 与植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)同源性最高,LAB2 与哈尔滨乳杆菌(*Lactobacillus harbinensis*)同源性最高. 从图 2 可以看出,菌株 LAB1、LAB3 亲缘关系更近聚于 1 支,而菌株 LAB2 的亲缘关系与其相距较远. 以上结果表明,LAB1 和 LAB3 为植物乳植杆菌,LAB2 为哈尔滨乳杆菌.

表 2　16S rDNA 序列同源性比对结果

Table 2　Homology alignment results of 16S rDNA sequences

编号	BLAST 结果	序列大小/bp	覆盖百分率/%	同源性/%	菌株登录号
LAB1	植物乳植杆菌	1463	100	100	MH916634.1
LAB2	哈尔滨乳杆菌	1351	99	99.85	LC519855.1
LAB3	植物乳植杆菌	1449	100	99.86	KM497500.1

注:以上菌株 *E* 值均为 0.

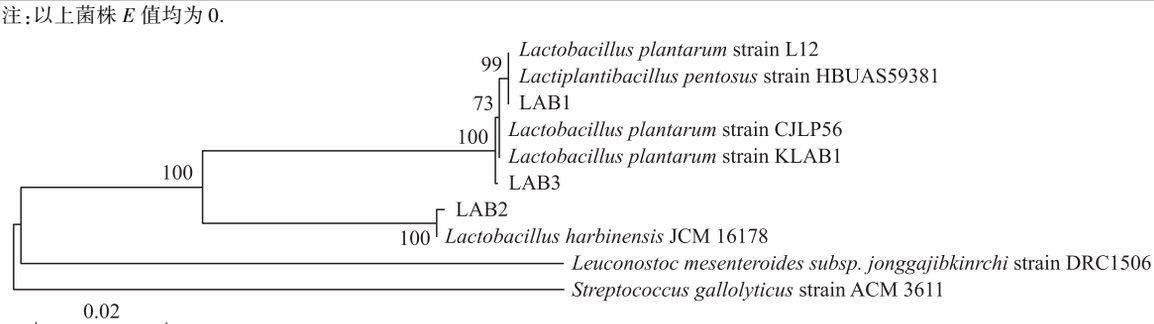


图 2　基于 16S rDNA 的系统发育树

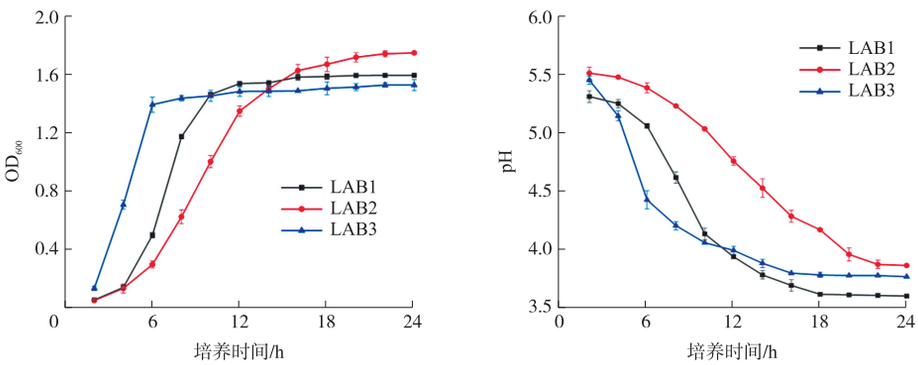
Fig. 2　The phylogenetic tress based on 16S rDNA

2.2　菌株发酵特性

2.2.1　生长曲线和产酸能力测定

图 3(a)反映了乳酸菌的生长曲线. 在 2~8 h 范围内,菌株 LAB3 的 OD_{600}值更高,表明其前期生长速度更快;8 h 时,菌株 LAB3 的 OD_{600}值达到 1.43,而菌株 LAB1、LAB2 的 OD_{600}值则为 1.17 和 0.62;10 h 后菌株 LAB3 的 OD_{600}值缓慢增加,渐趋平稳,表明其已进入稳定期. 菌株 LAB1 与 LAB3 的长势类似,对数生长期较短,在 12 h 后增长趋于平缓,OD_{600}值稳定在 1.55 左右. 菌株 LAB2 前期生长缓慢,对数生长期较长,18 h 后进入稳定期,且培养 24 h 的终期 OD_{600}值最高,为 1.75.

图 3(b)反映了乳酸菌的产酸能力. 菌株 LAB1 和 LAB3 培养液 pH 值在 2~12 h 迅速降低,表明其前期生长较快,同时有大量酸类物质产生,12 h 时菌株 LAB1、LAB3 的 pH 为 3.93 和 3.99;18 h 后 pH 值趋于平缓,表明菌株不再大量产酸,这与生长曲线的趋势基本一致. 菌株 LAB2 培养液 pH 值在 2~22 h 期间持续缓慢下降,22 h 后进入稳定期. 以上结果表明,3 株菌均有较强的产酸能力,培养 24 h 后 pH 值在 3.6~3.9 之间;其中菌株 LAB1 的 pH 值最低,24 h 时 pH 值为 3.60,说明其产酸能力最强.



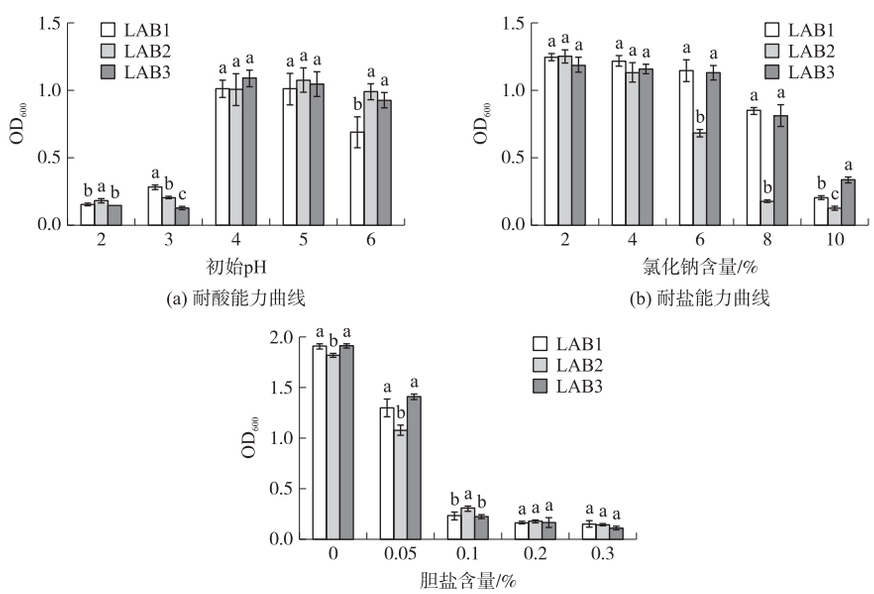
(a) 生长曲线　　(b) 产酸能力曲线

图 3　乳酸菌生长曲线和产酸能力曲线

Fig. 3　Growth curve and acid production capacity curve of lactic acid bacteria

2.2.2　菌株耐受能力

图 4(a)反映了菌株对不同 pH 的适应性. pH 为 2.0 时,菌株的增殖均受到明显抑制,OD_{600}值均低于 0.19;pH 为 3.0 时,菌株 LAB1 的 OD_{600}值为 0.28,显著高于其他菌株,表明其耐酸能力更强;pH 为 4.0、5.0



(a) 耐酸能力曲线　　(b) 耐盐能力曲线

(c) 耐胆盐能力曲线

注:不同字母表示同一 pH、盐浓度和胆盐浓度不同菌株差异显著(P<0.05).

图 4　乳酸菌耐酸能力曲线、耐盐能力曲线和耐胆盐能力曲线

Fig. 4　Acid tolerance curve, salt tolerance curve and bile salt tolerance curve of lactic acid bacteria

时,3 株菌均能正常生长,未观察到明显的抑制现象;pH 为 6.0 时,菌株 LAB1 生长反而受到抑制,表明其更适宜在偏酸性的环境中生长.

图 4(b)反映了菌株对不同盐浓度的适应性. 当盐浓度为 2%~4%时,3 菌株均能维持正常生长状态,OD_{600}值为 1.13~1.26;盐浓度为 6%~8%时,菌株 LAB1、LAB3 的生长受到轻微限制,而菌株 LAB2 的生物量显著降低($P<0.05$);盐浓度为 10%时,3 菌株均表现出明显的生长抑制,其中菌株 LAB3 的 OD_{600}值为 0.33,显著高于其他菌株,表现出更强的耐盐性,说明该菌株能更好地适应环境渗透压的升高.

图 4(c)反映了菌株对不同胆盐浓度的适应性. 随着胆盐含量的增加,乳酸菌菌体浓度均呈下降趋势. 胆盐含量为 0.05%时,菌株 LAB1 和 LAB3 表现出显著优于菌株 LAB2 的生长能力,表明前两者对胆盐具有更强的耐受性;当胆盐含量为 0.1%~0.3%时,3 菌株增殖都受到极大限制,OD_{600}值均低于 0.31.

2.2.3　菌株降解亚硝酸盐能力测定

表 3 所示为不同培养时间菌株对亚硝酸盐的降解率. 菌株 LAB3 在培养 6 h 时对亚硝酸盐的降解率为 30.57%,显著低于其他菌株($P<0.05$). 当培养时间延长至 12 h,所有菌株对亚硝酸盐的降解率均达到 90%以上,其中菌株 LAB1 的降解率达到 97.58%. 培养 24 h 后,各菌株对亚硝酸盐的降解效率趋于一致,均超过 99%,表明其具有优异的降解亚硝酸盐能力. 虽然菌株 LAB3 在初期表现出相对较低的降解活性,但其最终降解能力与其他菌株无显著差异.

表 3　乳酸菌降解亚硝酸盐能力分析

Table 3　Analysis of the ability of lactic acid bacteria to degrade nitrite

培养时间/h	亚硝酸盐降解率/%			培养时间/h	亚硝酸盐降解率/%		
	LAB1	LAB2	LAB3		LAB1	LAB2	LAB3
6	43.87±2.38^{a}	37.98±2.62^{a}	30.57±1.67^{b}	36	99.72±0.21^{a}	99.84±0.10^{a}	99.66±0.31^{a}
12	97.58±2.14^{a}	96.90±1.19^{ab}	91.68±1.90^{b}	48	99.89±0.12^{a}	99.93±0.07^{a}	99.82±0.17^{a}
24	99.61±0.14^{a}	99.43±0.48^{a}	99.37±0.24^{a}				

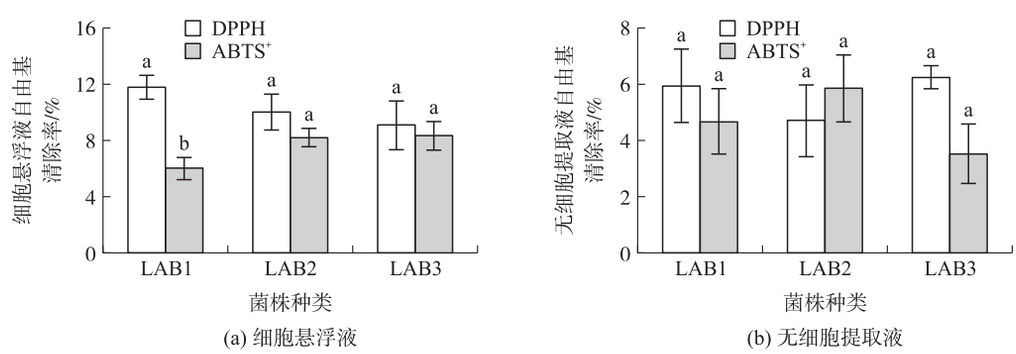
注:同一行中不同小写字母表示存在显著差异($P<0.05$).

2.3　菌株功能特性

2.3.1　菌株抗氧化能力

图 5(a)反映了菌株细胞悬浮液清除自由基的能力. 3 菌株对 DPPH 自由基的清除率为 9.13%~11.83%,各菌株间无显著性差异. 其中,菌株 LAB1 清除 $ABTS^{+}$ 自由基能力最弱,为 6.02%,显著低于其他菌株($P<0.05$);清除能力最强的是菌株 LAB3,清除率为 8.37%.

图 5(b)反映了菌株无细胞提取物清除自由基的能力. 各菌株对 DPPH 自由基的清除率为 4.72%~6.26%,对 $ABTS^{+}$ 自由基的清除率为 3.52%~5.87%,但 3 菌株之间未表现出显著差异. 无细胞提取物的抗氧化能力均弱于细胞悬浮液,表明这 3 株菌的抗氧化能力主要源于菌体本身,并非其代谢产物.



注:不同字母表示同一自由基不同菌株清除率差异显著($P<0.05$).

图 5　乳酸菌细胞悬浮液和无细胞提取液抗氧化能力比较

Fig. 5　Comparison of antioxidant capacity between lactobacillus cell suspension and cell-free extract

2.3.2　菌株抗菌能力

乳酸菌抑制 *E. coli* 和 *S. aureus* 的能力是衡量其益生特性的指标之一[15]. 以本实验室保藏的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌为指示菌,对 3 株菌的抑菌能力进行评估. 菌株 LAB1 对大肠杆菌抑制效果最好,抑菌

圈直径达到 16.77 mm,但菌株间未达到显著性差异水平. 菌株 LAB2 对金黄色葡萄球菌的抑制效果最好,抑菌圈直径达到 18.00 mm,其抗菌能力显著高于菌株 LAB1.

表 4　乳酸菌对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制作用

Table 4　The inhibitory effect of lactic acid bacteria on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

菌株编号	抑菌圈直径/mm	
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌
LAB1	16.77±0.61^{a}	15.77±0.59^{b}
LAB2	16.30±0.46^{a}	18.00±1.01^{a}
LAB3	16.67±0.42^{a}	16.03±1.33^{ab}

注:同一列中不同小写字母表示存在显著差异(P<0.05).

3　讨论

酸笋中细菌的微生物菌群结构具有多样性. 在属水平上,主要为乳杆菌属(*Lactobacillus*)、乳球菌属(*Lactococcus*)、魏斯氏菌属(*Weissella*)、沙雷氏菌属(*Serratia*)、鞘脂单胞菌属(*Sphingobium*)、异常球菌属(*Deinococcus*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)等[16-17]. 其中,乳杆菌属、乳球菌属、魏斯氏菌属和蓝藻细菌属构成了酸笋发酵体系的优势菌群[18]. 陈正培等[19]对柳州三处采样点的酸笋样品分析表明,乳酸菌属相对丰度均超过 90%,这一发现能够证实乳酸菌属在发酵体系中起优势主导作用. Zhang 等[20]发现,乳杆菌属的解淀粉乳杆菌和耐酸乳杆菌是酸笋发酵过程中的主要优势菌属. Singhal 等[4]以印度东北部传统发酵竹笋为实验材料,自 13 株分离菌株中鉴定出 8 株属于乳杆菌属,乳酸菌的发酵主导地位得到进一步验证.

发酵体系中氧气浓度的持续降低,形成了适宜乳酸菌进行厌氧代谢的环境. 这种厌氧环境有利于乳酸菌增殖代谢,促使乳酸浓度不断上升,酸笋成熟度随之提升[21]. 因此,乳酸菌的产酸能力成为评估其作为发酵剂适用性的关键特性之一. 发酵过程中菌株迅速产酸,能有效抑制杂菌生长,提高产品的质量和风味. 本实验筛选获得的 3 株菌株均表现出优异的生长特性,其延滞期较短,能够快速进入指数增殖期,从而迅速积累乳酸;菌株 LAB1、LAB3 在培养 12 h 后,其培养液 pH 值均小于 4.0,表明其具备较强的产酸能力[22];菌株 LAB2 在培养 20 h 后 pH 值也小于 4.0. 通常在发酵过程中,发酵蔬菜制品的 pH 值会低于 4.0[23]. 因此,作为潜在发酵剂需具备耐受低 pH 环境的能力. 本实验筛选获得的 3 株菌均在 pH4.0 的环境中生长,未受显著抑制,表现出良好的耐酸性. 窦芳娇等[24]从长杆白菜泡菜中筛出植物乳植杆菌 RPC21 在 pH2.5 环境下培养 18 h 的 OD_{600}值仅为 0.08. 本实验筛选得到的乳酸菌在 pH2.0 环境下培养 24 h,其 OD_{600}值约为 0.16,说明其耐酸能力较强,能够适应酸笋发酵过程中的酸性环境.

云南酸笋目前以无盐发酵为主,但为后续研究调味型酸笋,仍需进行耐盐性研究,以满足多元化需求. 当盐浓度小于 4%,菌株均未受明显抑制;盐浓度提升到 8%时,菌株 LAB1、LAB3 的生长情况较好,菌株 LAB2 无法适应该环境,其生物量显著降低. 在盐浓度 8%的条件下,从泡菜中分离的乳酸菌大多无法正常生长[23,25],而菌株 LAB1、LAB3 仍能维持生长,表明其在盐胁迫条件下有较强的生长代谢能力.

耐胆盐能力也是衡量优良菌株的重要指标[26],乳酸菌需具备一定的胆盐耐受性才能够在肠道定殖. 本实验中,当胆盐含量为 0.05%时,菌株 LAB1 和 LAB3 存活率约为 70%,其生长能力显著优于菌株 LAB2;当胆盐含量大于 0.1%,3 株菌的存活率均降至 10%左右,说明菌株有一定的胆盐耐受性[27],具有良好的益生特性,可用于制备发酵菌剂.

发酵蔬菜在腌制过程中会产生对人体有害的亚硝酸盐,可通过乳酸菌产生的亚硝酸还原酶来降解亚硝酸盐[28-29]. 通过接种有降解亚硝酸盐能力的乳酸菌进行发酵,能有效降低亚硝酸盐含量,提高发酵蔬菜的益生性[30-31]. 忻晓庭等[32]从传统泡菜中筛选出一株植物乳植杆菌,该菌对亚硝酸盐的降解率为 99.3%,接种该菌发酵泡菜的亚硝酸盐含量较自然发酵泡菜显著降低. 本实验中,菌株 LAB1、LAB2 在 12 h 内可实现 96%以上的亚硝酸盐降解率;培养 24 h 后,3 株菌对亚硝酸盐的降解效率都超过 99%,亚硝酸盐降解能力优异,在生产发酵酸笋方面有明显优势,可作为理想的发酵剂菌株.

乳酸菌的抗氧化特性是评估其益生功能的关键指标之一[33-34]. 本研究分离的 3 株菌株中,无细胞提取物的抗氧化能力都弱于细胞悬浮液,表明其抗氧化能力主要源于菌体自身,并非乳酸菌代谢所产生的产

物,这一发现与张香美等[35]、戴志伟等[36]的研究结果相符. 不同乳酸菌菌株清除自由基的能力存在显著差异,王佳佳等[37]测定了 13 种乳酸菌细胞悬浮液和无细胞提取物的抗氧化能力,结果表明菌株 AC9 细胞悬浮液、菌株 AC9 和 HX2 无细胞提取物清除 DPPH 自由基能力显著高于其他菌株. 本实验筛选的 3 株菌均表现出不同程度的 DPPH 和 $ABTS^+$自由基清除能力,菌株 LAB1 的细胞悬浮液清除 DPPH 自由基的能力较强,为 11.83%;菌株 LAB3 细胞悬浮液对 $ABTS^+$自由基的清除率较高,为 8.37%.

乳酸菌可以通过产酸降低环境 pH 值以及分泌抗菌活性物质来抑制杂菌生长[38-40]. 大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径分别为 16.30~16.77 mm 和 15.77~18.00 mm,说明这 3 株菌都有较强的抑菌能力. 将这些菌株应用于酸笋发酵,可有望提高产品的安全性和功能性,为开发新型发酵蔬菜制品提供理论依据和技术支持.

4　结论

本研究从农家自制的酸笋、酸菜膏、泡椒中分离出 3 株乳酸菌,菌株 LAB1、LAB3 为植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*),菌株 LAB2 为哈尔滨乳杆菌(*Lactobacillus harbinensis*).

菌株 LAB1 能适应 pH3.0 和 8%氯化钠浓度的环境,有较强的酸和盐耐受性;菌株 LAB2 适合在低盐条件下发酵,且具有较强的耐胆盐能力;菌株 LAB3 能够更好地适应环境渗透压的升高,在盐浓度 8%和胆盐浓度 0.05%的条件下,其菌体浓度均高于另两株菌. 3 株菌株均表现出优异的亚硝酸盐降解能力,培养 24 h 降解率均超过 99%. 3 株菌还具有一定的抗氧化能力. 在抗菌能力方面,3 株乳酸菌均有较强的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌抑制能力,其中 LAB1 对大肠杆菌的抑制能力略高于其他两株菌,LAB2 对金黄色葡萄球菌抑菌能力最强. 由于与其他两株菌相比,LAB3 在 pH3.0 时增殖情况更受到抑制,因此 LAB1、LAB2 更适合用于后续发酵.

以上结果表明,菌株 LAB1 和 LAB2 均具有优良的发酵特性,具有较强的产酸能力、耐酸耐胆盐特性、亚硝酸盐降解能力,对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌有抑制作用,可为酸笋纯种发酵剂的开发与制备提供支持.

[参考文献](References)

[1] 陈璟,赵子龙,林丽华. 酸笋的挥发性成分及其应用研究进展[J]. 中国调味品,2024,49(8):215-220.

[2] Qian Q,Chen Z P,Li K,et al. Guangxi sour bamboo shoots:a study on microbial diversity and flavor characteristics across regions[J]. Journal of Food Composition and Analysis,2024,135:106641.

[3] Li B,Zhang R,Du F. Electrochemical monitoring of the fermentation process of sour bamboo shoots[J]. International Journal of Electrochemical Science,2023,18(6):100124.

[4] Singhal P,Shukla L,Satya S,et al. Scientific validation and process mechanism of traditional bamboo shoot fermentation by isolation and characterization of lactic acid[J]. Current Nutrition & Food Science,2017,13(3):176-181.

[5] 钟源. 酸笋菌群多样性分析及乳酸菌的筛选、特性研究与应用[D]. 武汉:华中农业大学,2022.

[6] 任亭,刘玉凌,彭玉梅,等. 传统泡菜中乳酸菌的筛选鉴定及其在麻竹笋泡菜中的应用[J]. 食品科技,2021,46(8):33-37.

[7] 桑建,王鑫宇,陈大卫,等. 东北传统发酵酸菜中乳酸菌的筛选及发酵特性研究[J]. 食品研究与开发,2019,49(17):187-193.

[8] 李宏洋,张通化,罗丽蓉,等. 泡椒汁中耐受辣椒素乳酸菌的筛选及其耐受性研究[J]. 食品与发酵工业,2024,50(4):110-117.

[9] 李艺. 传统梅干菜中优势菌种筛选鉴定及其发酵特性研究[D]. 南京:南京师范大学,2023.

[10] 东秀珠,蔡妙音. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,2001:242-386.

[11] 熊玉帛,赵野,曾瑶英,等. 华容芥菜降亚硝酸盐乳酸菌的筛选鉴定及发酵特性研究[J]. 中国酿造,2024,43(8):122-127.

[12] GB 5009.33—2025 食品安全国家标准 食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定[S].

[13] Chen P,Zhang Q X,Dang H,et al. Screening for potential new probiotic based on probiotic properties and α-glucosidase inhibitory activity[J]. Food Control,2014,35(1):65-72.

[14] Wu S Y, Chen Y Q, Chen Z Q, et al. Antioxidant properties and molecular mechanisms of *Lactiplantibacillus plantarum* ZJ316: a potential probiotic resource[J]. LWT-Food Science and Technology, 2023, 187: 115269.
[15] 赵萍,陈飞,周家宏. 花生制品中金黄色葡萄球菌 SYBR Green qPCR 快检方法的评价研究[J]. 南京师范大学学报(工程技术版),2023,23(2):69-76.
[16] 关倩倩. 我国传统酸笋中微生物菌系结构及其对特征风味物质形成的影响[D]. 南昌:南昌大学,2021.
[17] 李笑怡. 酸笋自然发酵中微生物菌群及主要成分变化的研究[D]. 长沙:湖南农业大学,2020.
[18] 李彤,乌日娜,张其圣,等. 酱腌菜中微生物及与产品风味品质关系研究进展[J]. 食品工业科技,2022,43(14):475-483.
[19] 陈正培,曹倩,蒋熠琤,等. 柳州地区传统发酵酸笋细菌多样性研究[J]. 中国调味品,2021,46(8):33-36.
[20] Zhang X Y, Wang Q, Xie Y H, et al. Correlation between microorganisms and volatile compounds during spontaneous fermentation of sour bamboo shoots[J]. Fermentation-Basel, 2024, 10(7): 333.
[21] 冯浩森,李湘銮,冯爱军,等. 酸笋微生物与风味形成研究进展[J]. 食品安全质量检测学报,2023,14(22):91-99.
[22] 罗强,李幸洋,陈炼红,等. 传统发酵泡菜中乳酸菌种群组成及优良菌株产酸耐酸特性分析[J]. 食品科学,2021,42(2):158-163.
[23] Lee D Y, Park S E, Kim E J, et al. A comparative study of the physicochemical, microbial, and metabolic profiling of kimchi during long-term fermentation under varying salinity conditions[J]. LWT-Food Science and Technology, 2024, 196: 115838.
[24] 窦芳娇,苏昊,邓冬莲,等. 低温长杆白菜泡菜中乳酸菌的分离鉴定与应用[J]. 食品工业科技,2021,42(5):113-118.
[25] 张其圣,陈功,申文熹,等. 低盐泡菜乳酸菌群落演变及其优势菌群的探讨[J]. 中国食品学报,2018,18(9):109-119.
[26] Yu H J, Chen Y F, Yang H J, et al. Screening for *Lactobacillus plantarum* with potential inhibitory activity against enteric pathogens[J]. Annals of Microbiology, 2015, 65: 1257-1265.
[27] 李利,孔丽,张宁,等. 耐酸耐胆盐乳酸菌的鉴定及筛选[J]. 食品科学,2015,36(21):123-128.
[28] Zeng X Q, Pan Q, Guo Y X, et al. Potential mechanism of nitrite degradation by *Lactobacillus fermentum* RC4 based on proteomic analysis[J]. Journal of Proteomics, 2019, 194: 70-78.
[29] Kuypers M M M, Marchant H K, Kartal B. The microbial nitrogen-cycling network[J]. Nature Reviews Microbiology, 2018, 16: 263-276.
[30] Zheng Z M, Zhou Q, Li D, et al. Effects of enhanced fermentation with *Lactiplantibacillus plantarum* WWPC on physicochemical characteristics and flavor profiles of radish paocai and dried-fermented radish[J]. Food Bioscience, 2024, 59: 103941.
[31] 柳念,陈佩,高冰,等. 乳酸菌降解亚硝酸盐的研究进展[J]. 食品科学,2017,38(7):290-295.
[32] 忻晓庭,刘大群,张程程,等. 我国特色发酵蔬菜降解亚硝酸盐菌株的筛选鉴定及应用[J]. 浙江农业学报,2021,33(2):335-345.
[33] 赵佳,赵飞燕,沈馨,等. 乳酸菌抗氧化活性及其应用研究进展[J]. 生物技术通报,2023,39(11):182-190.
[34] 尹树磊,杜香,张小希,等. 乳酸菌抗氧化机制研究进展及在食品领域的应用[J]. 食品科学,2024,45(13):345-355.
[35] 张香美,赵玉星,闫晓晶,等. 1 株具抑菌和抗氧化活性乳酸菌的筛选及鉴定[J]. 食品科学,2018,39(2):93-98.
[36] 戴志伟,孔令明,刘伟,等. 西梅发酵乳酸菌的筛选、鉴定及其抗氧化特性研究[J]. 中国食品学报,2022,22(7):310-318.
[37] 王佳佳,吴晓光,刘学军. 发酵肉制品中抗氧化活性乳酸菌的筛选及鉴定[J]. 粮食与油脂,2023,36(11):149-153.
[38] 彭书东,李键,刘士健,等. 乳酸菌细菌素生物合成机制、抑菌机制及应用研究进展[J]. 食品与发酵工业,2019,45(6):236-242.
[39] 杨洋洋,徐云凤,郭卫平,等. 一株产细菌素乳酸菌的筛选鉴定及对金黄色葡萄球菌的抑菌作用[J]. 食品与机械,2024,40(11):35-40.
[40] Melian C, Ploper D, Chehín R, et al. Impairment of *Listeria monocytogenes* biofilm developed on industrial surfaces by *Latilactobacillus curvatus* CRL1579 bacteriocin[J]. Food Microbiology, 2024, 121: 104491.

[责任编辑:严海琳]