doi:10.3969/j.issn.1672-1292.2026.02.010

传统发酵辣椒制品中乳酸菌分离鉴定及其发酵特性分析

史　楠[1],周　蕙[1],陈亚男[1],申　挥[2],于丽娟[2],罗海波[1],孔晓雪[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**] 为挖掘优质微生物资源,从农家自制发酵辣椒中筛选分离发酵性能优良的乳酸菌,以期开发可应用于发酵蔬菜制品的纯种发酵剂. 经平板分离培养得到 6 株乳酸菌,依次命名为 JX1-JX5、JS1,通过 16S rRNA 测序鉴定和菌株发酵特性、功能特性筛选评估,确定出候选发酵剂菌株. 结果表明:JX1、JX5 为植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*),JX2、JX3、JX4 为戊糖乳杆菌(*Lactobacillus pentosus*),JS1 为希腊魏斯氏菌(*Weissella hellenica*);JX1、JX3 产酸能力和耐酸能力最强,稳定期 pH≤3.80,耐受 pH 值为 3.0;菌株 JX3 耐盐性最强,10%盐浓度下 OD_{600}值显著高于其他菌株;菌株 JX1-JX5 对亚硝酸盐的降解能力强,24 h 降解率均达到 96%以上. 6 株菌都具有不同程度的体外抗氧化能力,其细胞悬浮液所具备的抗氧化能力均强于无细胞提取物;菌株 JX5 的细胞悬浮液清除 DPPH 能力最高,达到 14.67%;菌株 JS1 对羟自由基清除率最高,达到 55.74%;菌株 JX1 对超氧阴离子清除率最高,达到 51.17%;菌株 JX1、JX5 对大肠杆菌(*E. coli*)抑菌能力最强,菌株 JX3 对金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)抑菌能力最强. 本研究揭示出菌株 JX3 的优良发酵特性、很强的亚硝酸盐降解能力以及对 *S. aureus* 一定的抑制能力,有望应用于后续纯种发酵剂的制备和开发.

[**关键词**] 乳酸菌,产酸,亚硝酸盐,抗氧化,抗菌
[**中图分类号**]TS255.3　[**文献标志码**]A　[**文章编号**]1672-1292(2026)02-0083-09

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

Shi Nan[1], Zhou Hui[1], Chen Yanan[1], Shen Hui[2], Yu Lijuan[2],
Luo Haibo[1], Kong Xiaoxue[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 explore high-quality microbial resources, lactic acid bacteria with excellent fermentation performance are screened and isolated from homemade fermented chili peppers in order to develop purebred fermentation agents that can be applied to fermented vegetable products. Six strains of LAB are successfully isolated from the MRS solid culture medium through plate separation technique, designated as JX1-JX5 and JS1. These strains undergo identification via 16S rRNA sequencing, and comprehensive evaluation of their fermentation and functional characteristics. The sequencing results reveals that JX1 and JX5 are identified as *Lactiplantibacillus plantarum*, while JX2, JX3, and JX4 are classified as *Lactobacillus pentosus*. Additionally, JS1 is determined to be *Weissella hellenica*. Among these strains, both JX1 and JX3 exhibit the highest levels of acid production and during the stable period pH≤3.80, along with a pH tolerance of 3.0. Notably, strain JX3 demonstrate superior salt tolerance compared to other strains, displaying significantly higher OD_{600} values at a 10% salt concentration. The strains JX1-JX5 exhibit a high capacity for nitrite degradation, achieving a degradation rate of 96% within 24 h. The 6 strains exhibit varying degrees of in vitro antioxidant capacity, with the cell suspension demonstrating stronger antioxidant capacity compared to the cell-free extract. Strain JX5 display the highest DPPH clearance rate at 14.67%. Strain JS1 exhibit the highest hydroxyl free radical scavenging rate at 55.74%. The

收稿日期:2024-10-30.
基金项目:云南省科学技术厅重大科技专项计划项目(202202AE090023).
通讯作者:孔晓雪,高级实验师,研究方向:食品分析. E-mail:kongxiaoxue@163.com;苏火生,博士,副研究员,研究方向:农产品加工. E-mail:shs304@163.com

superoxide anion clearance rate is highest in strain JX1, reaching 51.17%. Both strains JX1 and JX5 demonstrate the strongest inhibitory capacity against *E. coli*, while strain JX3 show the strongest inhibitory capacity against *S. aureus*. In conclusion, strain JX3 display excellent fermentation characteristics, a strong ability to degrade nitrite, and certain inhibition capabilities against *S. aureus*, making it suitable for use in pure culture preparation.

Key words: lactobacillus, acid production, nitrite, antioxidant, antibacterial

辣椒营养丰富,维生素含量居蔬菜首位,还含有辣椒素、多酚及矿物质等[1]. 辣椒经去梗、清洗、预处理后放入发酵罐,加入食盐、白砂糖等辅料密封发酵,制成泡椒、剁辣椒等各具地方特色的发酵辣椒制品,风味独特、口感鲜辣脆爽、色泽鲜艳[2]. 在我国江苏、江西、湖南、四川、贵州、云南等地都有优质的农家自制发酵辣椒制品,极具地方特色、深受人们喜爱.

乳酸菌(lactic acid bacteria, LAB)可利用原料在发酵过程中产生多种代谢产物,这些代谢物会使原料酸化、抗菌物质增多[3],还可以防止有毒化合物(如生物胺)形成,将其用于发酵食品也被公认为是安全的[4]. 研究表明,在辣椒自然发酵过程中,乳酸菌属微生物作为优势菌群主导发酵进程[5-6]. 已有研究从自然发酵辣椒制品中分离出耐高盐[7]、耐辣椒素[8]、具有益生功能[9-10]等性能优良的乳酸菌. 贺晓洁等[7]在传统发酵辣椒制品中分离出 1 株耐盐植物乳植杆菌,可用于红酸汤工业化生产;罗丽蓉等[8]从四川农家自制泡椒的老卤水中分离出 3 株耐受辣椒素的植物乳植杆菌,具有良好的发酵性能和一定的益生活性;夏海燕等[9]从地方特色发酵食品酢辣椒中分离出 2 株发酵乳杆菌和 1 株短乳杆菌,具有胆盐水解酶活性和产 γ-氨基丁酸的能力,可以作为潜在的益生性菌株进行开发. 农家自制泡椒采用自然发酵的方式生产,是筛选优质乳酸菌的良好来源,从中可以挖掘到发酵性能优良的乳酸菌菌种,用于纯种发酵剂制备和发酵蔬菜制品生产.

本研究以优质农家自制发酵辣椒制品为对象,筛选发酵特性和功能特性优良的乳酸菌菌株,以期进一步开发可用于发酵辣椒生产的纯种发酵剂,为传统发酵辣椒制品的工业化和规模化生产提供关键支撑.

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

云南辣椒酱(云南省昭通市昭阳区农家自制);湖南辣椒酱、酢辣椒(湖南省常德市安乡县农家自制);湖南泡椒(湖南省怀化市沅陵县农家自制);贵州剁辣椒(贵州省遵义市习水县农家自制);江西泡椒(江西省赣州市定南县农家自制);江苏泡椒(江苏省徐州市睢宁县农家自制).

氯化钠、琼脂粉、亚硝酸钠(上海沪试实验室器材股份有限公司);乙酸锌、革兰氏染色试剂盒、无菌磷酸缓冲溶液(PBS)、Tris-HCl 缓冲液(北京索莱宝科技有限公司);DPPH、明胶、对氨基苯磺酸、盐酸萘乙二胺、α-萘胺、邻苯三酚、对二甲基氨基苯甲醛、邻菲罗啉(上海 Aladdin 股份有限公司)等.

AR5120 电子天平(美国 AHOMS 公司);FE28 型 pH 计(METTLER TOLEDO(上海)有限公司);LDZX-50L-I 立式高压蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂);HX-4 拍打式无菌均质器(上海沪析实业有限公司);CJ-1D 垂直单向流净化工作台(天津市 Taisite 仪器有限公司);HPX-9052MBE 电热恒温培养箱(上海博迅实业有限公司);UV-2800A 紫外可见分光光度计(尤尼柯(上海)仪器有限公司);LW100T 三目生物显微镜(上海泰坦科技股份有限公司);BIO-Rad S1000 PCR 扩增仪(赛默飞世尔科技公司)等.

1.2 实验方法

1.2.1 菌株分离纯化

在无菌条件下,准确称取 10 g 辣椒样品置于无菌均质袋中,加入预先配置浓度为 0.9%的无菌生理盐水 90 mL. 使用均质器以 8.0 次/s 速率对样品进行交替正反拍打处理 1 min,获得 1∶10 备用匀浆液. 采用 10 倍稀释法将匀浆从 10^{-1}稀释至 10^{-7}梯度,从 10^{-5}、10^{-6}、10^{-7}梯度中分别移取 100 μL,均匀涂布在 MRS 固体培养基上,于 37±1 ℃恒温箱中培养 24~36 h. 筛选优势生长的疑似乳酸菌菌落,通过多代平板划线法纯化菌株,最终获得的纯培养物编号后保存于含 70% MRS 肉汤与 30%灭菌甘油的混合冻存液中,长期保藏于-80 ℃超低温冰箱.

1.2.2 菌株形态学鉴定

观察培养平板中菌落的表型特征,如色泽、边缘形态等. 通过革兰氏染色法,显微观察菌体细胞形态

特征.

1.2.3　生理生化指标鉴定

参照《常见细菌系统鉴定手册》[11],对筛选出的菌株进行接触酶、耐 6.5%NaCl、运动性试验、硝酸盐还原、产硫化氢、明胶液化、吲哚试验、七叶灵水解等试验.

1.2.4　菌株的发酵特性测定

1.2.4.1　生长曲线测定

活化菌株,按 3%的比例接种活化菌株至新 MRS 液体培养基,在 37±1 ℃培养箱中培养,测定其 OD_{600} 值,基于此绘制测定的 OD 值得到生长曲线. 取样时间为每次间隔 2 h,培养 16 h 后暂停取样,至 24 h 时再次取样进行最终测定.

1.2.4.2　产酸能力测定

参照 1.2.4.1 步骤以同样方法取样测定 pH 值,分别以培养时间和 pH 值作为横坐标和纵坐标,绘制菌株的产酸曲线.

1.2.4.3　耐酸、耐盐性测定

活化菌株,向 MRS 液体培养基中接种菌株,液体培养基培养条件为初始 pH 为 2、3、4、5、6 以及 NaCl 浓度为 4%、6%、8%、10%、12%,在 37±1 ℃下培养 24 h,测定 OD_{600} 值,以未接种菌株的 MRS 液体空白培养基作为对照.

1.2.4.4　亚硝酸盐降解率测定

亚硝酸盐测定参考 GB 5009.33—2016《食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》[12],按照 3%的接种量接种活化后的菌液,置于 37±1 ℃恒温培养箱中静置培养,每隔 12 h 取样,直至 72 h.

1.2.5　菌株的功能性分析

1.2.5.1　抗氧化测定

细胞悬浮液制备:将培养 18 h 的乳酸菌液体培养基,在 4 ℃条件下以 6 000 r/min 的转速离心 15 min,弃掉上清液,将菌泥用无菌磷酸缓冲溶液(PBS,pH 7.2)洗涤 3 次,使其重新悬浮在 PBS 中,获得细胞悬浮液.

无细胞提取物制备:在冰浴环境中,使用超声破碎仪对细胞悬液进行破碎处理,持续 10 min. 将破碎完成的细胞悬液在 4 ℃条件下以 6 000 r/min 的转速离心 15 min,收集上清液过 0.22 μm 滤膜,获得无细胞提取物.

DPPH 自由基清除率测定参考文献[10]的方法;羟自由基清除率测定参考文献[13]改进的方法;超氧阴离子自由基清除率测定参考文献[14]的方法.

1.2.5.2　抗菌能力测定

以本实验室保存的大肠杆菌(*E. coli*)、金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)作为指示菌,通过琼脂平板打孔法评估乳酸菌抑菌能力,以 0.9%生理盐水作为对照,通过抑菌直径评价各菌株的抑菌活性.

1.2.6　菌株分子生物学鉴定

提取菌株的基因组 DNA 进行 16S rRNA 的 PCR 扩增,电泳分析确定纯度后,委托南京擎科生物科技有限公司进行测序和数据分析. 将测序结果提交 NCBI 数据库进行比对,绘制系统发育树,鉴定菌株的种属.

1.3　数据处理

所有实验均重复 3 次,数据结果以平均值±标准差来表示. 采用 SPSS 22.0、Excel 2016 软件分析整理数据,并使用 Origin2023 软件绘图.

2　结果与分析

2.1　乳酸菌筛选

通过稀释分离平板法和划线平板法挑选菌株进行接触酶实验,选取接触酶阴性的 6 株疑似乳酸菌菌株继续进行生理生化试验.

2.1.1　菌落形态和菌体形态结果

从自然辣椒制品中筛选分离 6 株菌株,依次编号为 JX1、JX2、JX3、JX4、JX5、JS1. 经纯化后,MRS 平板上 6 株菌菌落形态如图 1(A)所示,菌落均呈白色,表面光滑、圆形、边缘整齐且界限清晰. 革兰氏染色镜

检呈阳性,菌体呈杆状,单个、成对或成链排列,如图 1(B)所示.

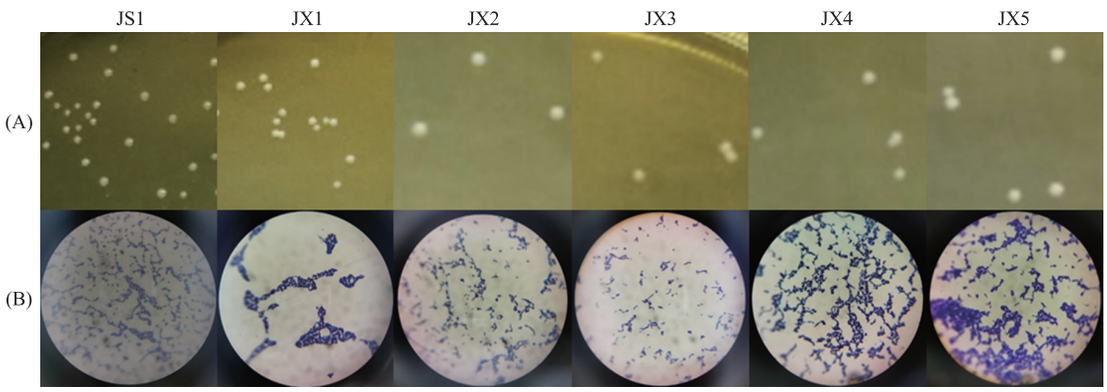


图 1　乳酸菌菌落图片(A)和镜检图片(B)

Fig. 1　Images of lactic acid bacteria colony(A) and microscopic examination(B)

2.1.2　菌落生理生化试验结果

菌落生理生化试验结果如表 1 所示. 由表 1 可知,分离的 6 株菌没有运动性、不还原硝酸盐、不产硫化氢、不液化明胶、不产吲哚,能水解七叶灵,能耐受 6.5% NaCl. 参考《常见细菌系统鉴定手册》并结合菌落形态和生理生化试验结果,初步判断 6 株菌可能为乳酸菌.

表 1　菌株生理生化试验结果

Table 1　Results of physiological and biochemical test of the strains

特征	菌株					
	JS1	JX1	JX2	JX3	JX4	JX5
接触酶	—	—	—	—	—	—
耐 6.5% NaCl	+	+	+	+	+	+
运动性试验	—	—	—	—	—	—
硝酸盐还原	—	—	—	—	—	—
产硫化氢	—	—	—	—	—	—
明胶液化	—	—	—	—	—	—
吲哚试验	—	—	—	—	—	—
七叶灵水解	+	+	+	+	+	+

注:“+”表示反应呈阳性或生长;“—”表示反应呈阴性或不生长.

2.2　菌株发酵特性

2.2.1　生长曲线和产酸能力测定

6 株菌的生长曲线和产酸能力测定结果如图 2 所示. 从图中可以看出,6 株菌延滞期较短,在 2 h 后已进入对数期,此期间乳酸菌快速繁殖,生长速度快,同时产酸能力不断增加,菌液 pH 值快速下降,其中菌株 JX1-JX5 生长速度较菌株 JS1 更快,产酸能力也更强;菌株培养进入稳定期后,OD 值、pH 值也逐渐趋于稳定,菌株 JX1-JX5 的 pH 范围在 3.77~3.79,菌株 JS1 pH 值在 4.34 左右.

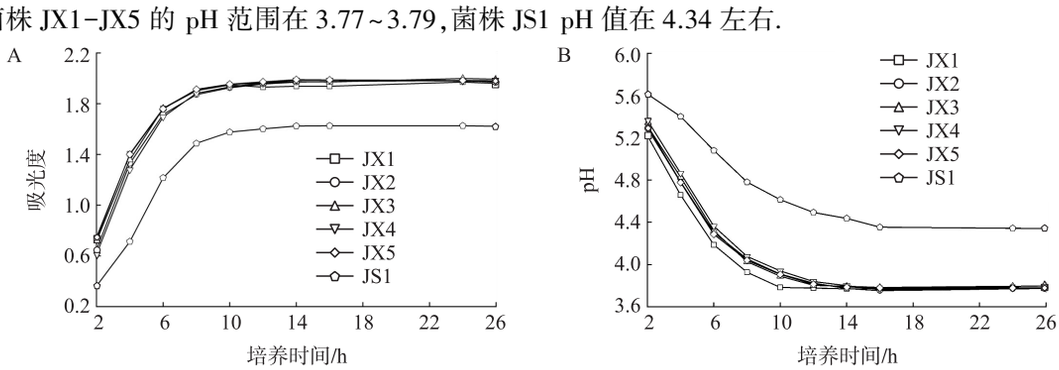


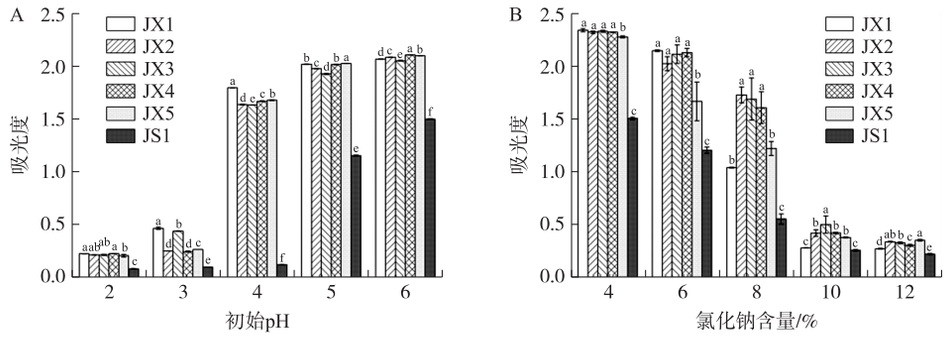
图 2　乳酸菌生长曲线(A)和产酸能力曲线(B)

Fig. 2　Growth curve(A) and acid production curve(B) of lactic acid bacteria

2.2.2　耐酸、耐盐能力测定

图 3(A)是 6 株菌株在初始 pH 不同的条件下表现出的生长情况:pH=2 时,菌株 JX1-JX5 的 OD 值均在 0.2 附近,虽然生长受到明显抑制,但 OD 值显著高于菌株 JS1;pH=3 时,菌株 JX1 的 OD 值最高,表现出比其他菌株更强的耐酸性,其次是菌株 JX3;pH=4 时,菌株 JX1-JX5 均能正常生长,几乎不受抑制,但菌株 JS1 生长仍然受到抑制;pH=5 时,菌株 JS1 能够正常生长.

图 3(B)是菌株在不同盐浓度下的生长情况:盐浓度超过 10%时,6 株菌的生长都受到明显抑制,但菌株 JX3 在 10%的 NaCl 中 OD 值显著高于其他菌株,表明其耐盐性更强;盐浓度为 8%时,菌株 JX2、JX3、JX4 的生长几乎不受抑制,而其他菌株的生长依然受到明显的抑制;盐浓度为 6%时,6 株菌都能正常生长,但菌株 JX5 和 JS1 的 OD 值显著低于其他菌株,表明这 2 株菌的生长更易受到 NaCl 的影响.



注:不同字母表示初始 pH 和盐浓度不同菌株差异显著($P<0.05$).

图 3　乳酸菌耐酸能力(A)和耐盐能力曲线(B)

Fig. 3　Acid tolerance(A) and salt tolerance curve(B) of lactic acid bacteria

2.2.3　亚硝酸盐降解能力测定

表 2 所示为 6 株菌不同培养时间对亚硝酸盐的降解率. 实验结果表明,6 株菌均有降解亚硝酸盐的能力,其中菌株 JX1-JX5 在 24 h 内对亚硝酸盐的降解率已达 96%以上,菌株 JX2、JX3 可达 99%以上. JS1 在培养 72 h 时对亚硝酸盐的降解率为 53.38%,降解能力显著低于其余菌株($P<0.05$),但在培养过程中其对亚硝酸盐的降解率不断升高,说明菌株 JS1 降解亚硝酸盐的速率较低,但降解能力会逐渐增强.

表 2　乳酸菌降解亚硝酸盐能力分析

Table 2　Analysis of nitrite degradation capacity of lactic acid bacteria

培养时间/h	亚硝酸盐降解率/%					
	JX1	JX2	JX3	JX4	JX5	JS1
24	97.86±0.42^{a}	99.32±2.95^{a}	99.81±0.56^{a}	99.44±0.21^{a}	96.88±2.59^{a}	7.68±1.12^{b}
48	98.59±0.21^{b}	99.93±0.63^{a}	99.2±0.37^{ab}	99.56±0.63^{ab}	99.56±0.97^{ab}	27.54±0.63^{c}
72	99.56±0.37^{a}	99.81±2.23^{a}	99.56±1.83^{a}	99.32±0.76^{a}	99.93±0.63^{a}	53.38±0.56^{b}

注:不同字母表示同一培养时间下菌株对亚硝酸盐的降解率差异显著($P<0.05$).

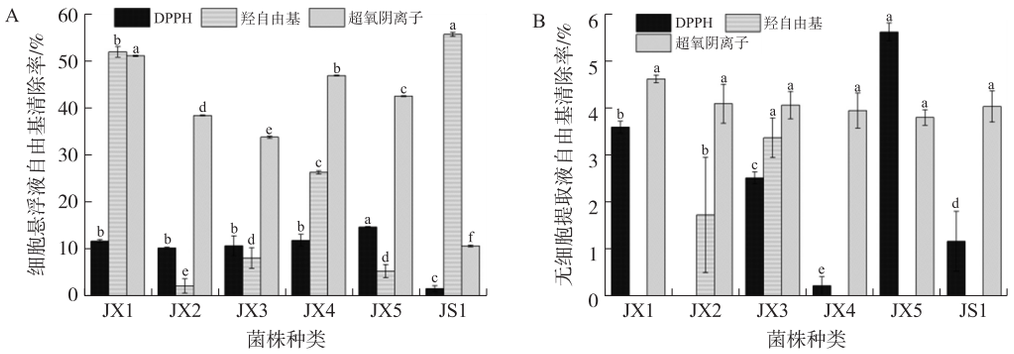
2.3　菌株功能特性评价

2.3.1　抗氧化能力测定

从图 4 可以看出,6 株菌的细胞悬浮液对 DPPH 都具有一定的清除能力,但均低于 15%,其中 JX5 的清除率最高,为 14.67%;而无细胞提取液对 DPPH 的清除能力都很低,菌株 JX2 的无细胞提取液未检出 DPPH 清除率. 6 株乳酸菌的细胞悬浮液都具备清除羟自由基的能力,其中清除能力最强的是 JS1,清除率为 55.74%;其次是 JX1,清除率为 52.01%;清除能力最弱的是 JX2,清除率仅为 2.13%;而在无细胞提取液中,只有 JX2、JX3 具有羟自由基清除能力,分别为 1.76%、3.44%. 6 株菌的细胞悬浮液和无细胞提取液都具有超氧阴离子清除能力,且细胞悬浮液的清除能力显著强于无细胞提取液,其中 JX1 的细胞悬浮液清除能力最强,JS1 的细胞悬浮液清除能力最弱;而在无细胞提取液中,6 株菌对超氧阴离子的清除能力无显著差异.

2.3.2　抗菌能力测定

乳酸菌对 *E. coli* 和 *S. aureus* 的抑制能力也是值得关注的问题[15]. 以实验室保藏的 *E. coli* 和 *S. aureus* 作为指示菌,测定 6 株菌的抑菌性能,结果如表 3 所示. JX1 对 *E. coli* 的抑菌效果较好;JX3 对 *S. aureus* 的抑菌效果较好;JS1 对两种菌的抑菌效果都较弱,对 *S. aureus* 的抑菌效果显著低于其他菌株($P<0.05$).



注:不同字母表示不同菌株对同一自由基的清除率差异显著(P<0.05).

图 4　乳酸菌细胞悬浮液和无细胞提取液抗氧化能力比较

Fig. 4　Comparison of antioxidant activity between lactobacillus cell suspension and cell-free extract

表 3　乳酸菌对 *E. coli* 和 *S. aureus* 的抑制效果分析

Table 3　Assessment of bacteriostatic effects exerted by LAB on *E. coli* and *S. aureus*

菌株编号	抑菌圈直径/mm		菌株编号	抑菌圈直径/mm	
	E. coli	*S. aureus*		*E. coli*	*S. aureus*
JX1	14.27±0.89^{a}	14.24±2.18^{a}	JX4	12.28±1.54^{ab}	13.32±2.03^{a}
JX2	12.73±1.91^{ab}	14.32±1.16^{a}	JX5	13.58±1.35^{a}	13.83±1.18^{a}
JX3	12.61±1.88^{ab}	15.09±0.85^{a}	JS1	10.34±0.18^{b}	10.52±0.46^{b}

注:不同字母表示在同一指示菌下菌株抑菌差异显著(P<0.05).

2.4　菌株分子生物学鉴定

6 株菌株测序结果经 NCBI 数据库比对后,其 16S rRNA 序列同源性分析结果如表 4 所示,构建的发育树如图 5 所示. JS1 与其余几株菌差异明显,单独成支;JX1-JX5 序列相似度高,属于同一分支. 经鉴定 JX1、JX5 为植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*),JX2、JX3、JX4 为戊糖乳杆菌(*Lactobacillus pentosus*),JS1 为希腊魏斯氏菌(*Weissella hellenica*).

表 4　菌株的 16S rRNA 序列同源性比对结果

Table 4　Homology alignment results of 16S rRNA sequences of strains

菌株编号	BLAST 结果	序列大小/bp	覆盖百分率/%	同源性/%	菌株登录号
JX1	植物乳植杆菌	1 456	100	100	PP077214.1
JX2	戊糖乳杆菌	1 478	100	100	OR74059.1
JX3	戊糖乳杆菌	1 492	100	100	PP475802.1
JX4	戊糖乳杆菌	1 488	100	100	OR002081.1
JX5	植物乳植杆菌	1 491	100	100	MK246005.1
JS1	希腊魏斯氏菌	1 489	100	100	LC096226.1

注:以上菌株 E 值均为 0.

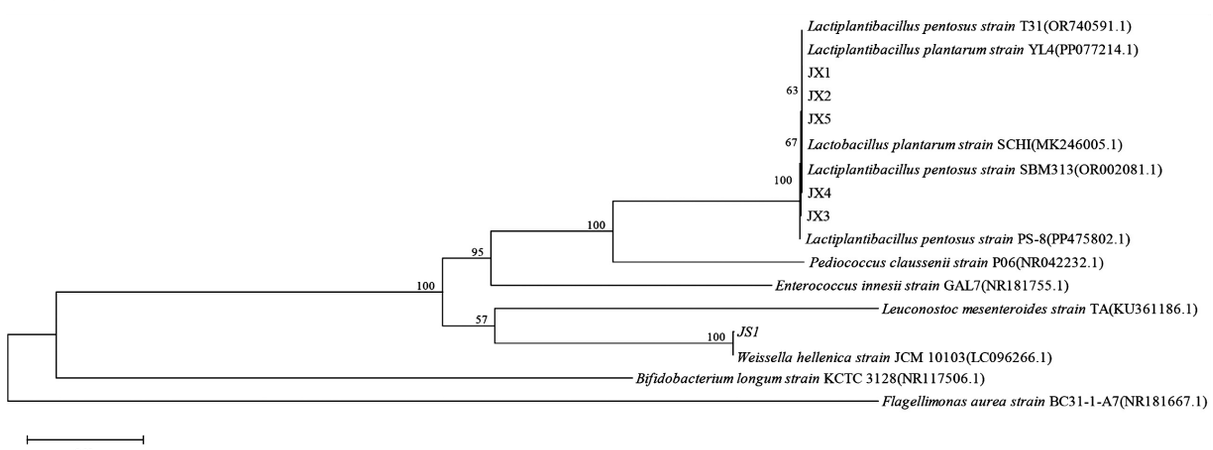


图 5　基于 16S rRNA 的系统发育树

Fig. 5　The phylogenetic tress based on 16S rRNA

3　讨论

自然发酵是在原料表面附着或环境中固有微生物的作用下完成的,发酵过程中微生物种类和数量不断演变,帮助产品形成独特的风味和口感[16-17],研究发现乳酸菌是泡椒、泡菜、酸菜等发酵蔬菜制品中的主要优势菌属[18]. Lee 等[19]通过对 88 种泡菜发酵过程中的微生物群落结构进行分析,显示占主导地位的菌属分别为乳杆菌属、明串珠菌属和魏斯氏菌属;Peng 等[20]通过高通量测序技术描述海南不同地区发酵蔬菜微生物多样性,认为发酵乳杆菌和戊糖乳杆菌是核心微生物群;Chen 等[21]研究表明不同种类的低盐度发酵辣椒样品中细菌的多样性和丰度差异很大,但所有样品中的优势菌均有乳杆菌. 本研究从不同地区农家自然发酵泡椒中分离出 6 株乳酸菌,经鉴定分别为植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)、戊糖乳杆菌(*Lactobacillus pentosus*)、希腊魏斯氏菌(*Weissella hellenica*),根据对 6 株菌发酵特性和功能特性的评估,推测乳杆菌属应在发酵过程中发挥了重要作用.

乳酸菌在发酵过程中产生乳酸、乙酸等有机酸使泡椒逐渐成熟,产酸能力是乳酸菌作为发酵剂最重要的发酵特性之一[22],其在发酵过程中能够快速产酸,从而降低发酵体系的 pH 值,有利于抑制杂菌的生长,降低产品的安全风险. 分离到的 6 株菌生长能力强,延滞期短,能迅速进入对数期,在培养 16 h 后菌株 JX1-JX5 培养液 pH 值均低于 4.0,产酸能力较强[18]. 一般发酵蔬菜制品在发酵过程中 pH 值会降至 4.0 以下[23],作为候选发酵剂要能够耐受 pH4.0 以下的发酵环境. 分离到的菌株 JX1、JX3 在 pH3.0 的环境下依然能够生长,菌株 JX1-JX5 在 pH4.0 的环境中生长几乎不受抑制. 与从奶酪、葡萄酒等原料中分离得到的耐酸乳酸菌相比,从泡椒中分离出的这 5 株菌耐酸能力明显更强. Ruiz-Moyano 等[24]从奶酪中分离出 18 株耐酸能力强的乳酸菌,姜蕾等[25]从葡萄酒中分离出耐酸菌株 axb79,但其在 pH 3.0 下的 OD 值远低于菌株 JX1 和 JX3,这可能与发酵蔬菜体系中更低的 pH 环境有关.

泡椒的含盐量一般在 5%~12%之间[21],耐盐性对候选发酵剂也很重要. 6%的盐浓度对 6 株菌的生长几乎都无抑制,8%的盐浓度对菌株 JX2-JX4 的生长几乎无抑制. 大部分分离自泡菜中的乳酸菌在盐浓度 8%的环境下生长会受到明显抑制[23,26],而菌株 JX2、JX3、JX4 在 10%的盐浓度下依然能够维持生长,其耐盐性明显优于常见报道的乳酸菌菌株.

亚硝酸盐是发酵食品中常见的有害物质,研究表明乳酸菌可以通过分泌硝酸还原酶(NiR)、提供酸性环境等方式降解亚硝酸盐,其中以酶促降解为主要形式[27-29],因此接种发酵的蔬菜制品亚硝酸盐含量往往显著低于自然发酵的蔬菜制品[30-32]. 分离得到的菌株 JX1-JX5 在 12 h 内对亚硝酸盐的降解率都超过 96%,属于对亚硝酸盐降解能力很强的菌株,尤其是菌株 JX2、JX3 对亚硝酸盐的降解率超过 99%,作为发酵蔬菜制品的候选发酵剂有十分明显的优势.

乳酸菌的抗氧化活性可以来自细菌的抗氧化酶等活性物质,也可以来自具有抗氧化活性的代谢物,如胞外多糖等,这使乳酸菌的细胞悬浮液和无细胞提取物都有可能表现出抗氧化活性[33-35]. 分离得到的 6 株菌的细胞悬浮液的抗氧化能力都显著强于无细胞提取物,推测这 6 株菌的抗氧化能力主要来自于乳酸菌而不是其产生的代谢产物. 不同乳酸菌的抗氧化能力差异很大,刘洋等[36]测定了 4 种不同乳酸菌的抗氧化能力,结果表明瑞士乳杆菌清除 DPPH、羟自由基对的能力较强,乳酸乳球菌和嗜酸乳杆菌则对超氧阴离子的清除能力较强. 本研究分离得到的 6 株菌对 DPPH 自由基清除能力都较弱,菌株 JX1、JX5 对羟基自由基的清除率大于 50%,菌株 JX1、JX3、JX5 对超氧阴离子的清除率大于 30%,说明不同菌株含有的清除自由基的活性物质不同,清除能力存在差异.

乳酸菌可以抑制发酵体系中杂菌的生长,一方面由于其产酸形成的酸性环境,另一方面很多乳酸菌都可以分泌细菌素等抗菌物质,这在很多研究中都已得到了证实[37-39]. 本研究以实验室保藏的大肠杆菌(*E. coli*)和金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)为指示菌,测定分离所得 6 株菌的抑菌性能,其中 JX1、JX5 对 *E. coli* 和 *S. aureus* 抑菌圈直径大于 13 mm,JX3 对 *S. aureus* 的抑菌直径大于 15 mm,说明 JX3 作为候选发酵剂对 *S. aureus* 具有明显的抑制作用.

4　结论

本研究从农家自制发酵辣椒中分离出 6 株乳酸菌,通过 16S rRNA 测序分析确认,6 株菌分属于乳杆

菌属和魏斯氏菌属,其中菌株 JX1、JX5 为植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*),菌株 JX2、JX3、JX4 为戊糖乳杆菌(*Lactobacillus pentosus*),菌株 JS1 为希腊魏斯氏菌(*Weissella hellenica*).

菌株 JX3 耐酸性和耐盐性最强,能耐受 pH 值 3.0 和盐浓度 10%的发酵环境. 菌株 JX1-JX5 对亚硝酸盐的降解能力很强,24 h 降解率均达到 96%以上,尤其是菌株 JX2、JX3 对亚硝酸盐的降解率超过 99%. 6 株菌都具有不同程度的体外抗氧化能力,其细胞悬浮液的抗氧化能力均强于无细胞提取物. 菌株 JX5 的细胞悬浮液清除 DPPH 的能力最高,清除率达到 14.67%;菌株 JS1 对羟自由基清除率最高,达到 55.74%;菌株 JX1 对超氧阴离子清除率最高,达到 51.17%. 此外,6 株菌都表现出一定的抑菌能力,在抑菌实验中菌株 JX1、JX5 对 *E. coli* 抑菌能力最强,菌株 JX3 对 *S. aureus* 抑菌能力最强.

综上,分离自江西省赣州市定南县农家自制泡椒中的戊糖乳杆菌 JX3 是一株发酵性能优良的乳酸菌,产酸能力强,耐酸耐盐,具备很强的亚硝酸盐降解能力,且能够有效抑制 *S. aureus*,其所具备的发酵潜能可用于后续发酵剂的制备和开发.

[参考文献](References)

[1] Aguilar-Melendez A, Morrell P L, Roose M L, et al. Genetic diversity and structure in semiwild and domesticated chiles (*Capsicum annuum*; Solanaceae) from Mexico[J]. American Journal of Botany, 2009, 96(6): 1190-1202.

[2] 张正海,曹亚从,于海龙,等. 辣椒果实主要品质性状遗传和代谢物组成研究进展[J]. 园艺学报,2019,46(9):1825-1841.

[3] 唐鑫,张艺馨,刘卫红,等. 外源接菌对发酵辣椒微生物群落和挥发性风味化合物的影响[J]. 食品科学,2023,44(10):132-141.

[4] Munekata P E S, Pateiro M, Zhang W G, et al. Autochthonous probiotics in meat products: selection, identification, and their use as starter culture[J]. Microorganisms, 2020, 8(11): 1833.

[5] Moyen R, Mokemiabeka N, Nguimbi E, et al. Study of biodiversity and physiological characters of lactic bacteria isolated in fermented pepper (*Capsicum fructescens*) [J]. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 2020, 9(11): 1221-1228.

[6] Watts E G, Janes M E, Prinyawiwatkul W, et al. Microbiological changes and their impact on quality characteristics of red hot chilli pepper mash during natural fermentation[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2018, 53(8): 1816-1823.

[7] 贺晓洁,赵良忠,李明,等. 耐盐乳酸菌的筛选及其诱变育种与耐受性研究[J]. 食品与发酵工业,2022,48(1):84-90.

[8] 罗丽蓉,李宏洋,吴拥军,等. 泡椒老卤水中乳酸菌筛选及益生性能分析[J]. 食品与发酵工业,2023,49(20):159-165.

[9] 夏海燕,周思多,张明喆,等. 酢辣椒中益生乳酸菌的筛选及其功能特性[J]. 食品科学,2019,40(6):93-99.

[10] 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.

[11] 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.

[12] GB 5009.33—2016　食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定[S].

[13] 翟齐啸. 乳酸菌减除镉危害的作用及机制研究[D]. 无锡:江南大学,2015.

[14] 吴均. 牦牛酸乳中优良乳酸菌的筛选鉴定及发酵酸乳抗氧化特性研究[D]. 成都:西南大学,2014.

[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] Wang Y Q, Wu J T, Lv M X, et al. Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2021, 9: 162285.

[17] 许弯,刘伟,胡小琴,等. 湖南剁辣椒中优良乳酸菌的筛选鉴定及其发酵辣椒汁风味研究[J]. 食品工业科技,2020,41(8):96-103.

[18] 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.

[19] Lee M, Song J H, Jung M Y, et al. Large-scale targeted metagenomics analysis of bacterial ecological changes in 88 kimchi samples during fermentation[J]. Food Microbiology, 2017, 66: 173-183.

[20] Peng Q N, Jiang S M, Chen J L, et al. Unique microbial diversity and metabolic pathway features of fermented vegetables from

Hainan,China[J]. Frontiers in Microbiology,2018,9(1):00399.
[21] Chen M J,Qin Y Y,Deng F M,et al. Illumina MiSeq sequencing reveals microbial community succession in salted peppers with different salinity during preservation[J]. Food Research International,2021,143:110234.
[22] Liu Z,Cai S,Zhang S,et al. A systematic review on fermented chili pepper products:sensorial quality,health benefits,fermentation microbiomes,and metabolic pathways[J]. Trends in Food Science & Technology,2023,141:104189.
[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 & Technology,2024,196:115838.
[24] Ruiz-Moyano S,Gonçalves Dos Santos M T P,Galván A I,et al. Screening of autochthonous lactic acid bacteria strains from artisanal soft cheese:probiotic characteristics and prebiotic metabolism[J]. LWT-Food Science & Technology,2019,114:108388.
[25] 姜蕾,周雪燕,王斌,等. 新疆酿酒葡萄表皮乳酸菌的分离鉴定及耐受性分析[J]. 中国酿造,2018,37(12):71-75.
[26] 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.
[27] 葛焱,郭双霜,陈安均. 泡菜中亚硝酸盐消长规律及调控技术研究进展[J]. 食品工业科技,2015,36(4):382-385.
[28] Hu X Y,Wei W,Zhang J Y,et al. Nitrite self-degradation process in radish paocai under the synergistic regulation of prokaryotic microorganisms[J]. Food Bioscience,2024,57:103612.
[29] 卿煜维,杨剑,赵玲艳,等. 湖南剁辣椒降解亚硝酸盐乳酸菌筛选鉴定及发酵特性研究[J]. 食品与发酵工业,2020,46(1):69-74.
[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] Yu S M,Zhang Y. Effects of lactic acid bacteria on nitrite degradation during pickle fermentation[J]. Adavanced Materials Research,2013,781/782/783/784:1656-1660.
[32] 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.
[33] 刘珊春,赵欣,李键,等. 高抗氧化乳酸菌的筛选鉴定[J]. 食品与发酵工业,2017,43(8):59-66.
[34] Argyri A A,Zoumpopoulou G,Karatzas K A G,et al. Selection of potential probiotic lactic acid bacteria from fermented olives by in vitro tests[J]. Food Microbiology,2013,33(2):282-291.
[35] 洪松虎,吴祖芳. 乳酸菌抗氧化作用研究进展[J]. 宁波大学学报(理工版),2010,23(2):17-22.
[36] 刘洋,郭宇星,潘道东. 4 种乳酸菌体外抗氧化能力的比较研究[J]. 食品科学,2012,33(11):25-29.
[37] 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.
[38] 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.
[39] Milani G,Tabanelli G,Barbieri F,et al. Technological traits and mitigation activity of autochthonous lactic acid bacteria from mediterranean fermented meat-products[J]. LWT-Food Science & Technology,2024,196:115861.

[责任编辑:严海琳]