DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260123003
引用格式: 刘威, 范洪臣, 王松, 等. 五大连池矿泉水源发酵酸菜中乳酸菌的筛选及其益生性能研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(15): 39–46.
Liu Wei, Fan Hongchen, Wang Song, et al. Screening of lactic acid bacteria from sauerkraut fermented with Wudalianchi mineral spring water and study on their probiotic properties [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(15): 39–46. (in Chinese with English abstract).

五大连池矿泉水源发酵酸菜中乳酸菌的筛选及其益生性能研究

刘 威[1], 范洪臣[2], 王 松[1], 郭新明[1], 孙义敏[1], 李月兴[1], 王菁华[1*]
(1. 黑龙江省科学院自然与生态研究所, 哈尔滨 150040; 2. 哈尔滨商业大学食品工程学院, 哈尔滨 150028)

摘 要: 目的 筛选五大连池天然矿泉水发酵酸菜中的乳酸菌, 并研究其益生性能。**方法** 利用 MRS-$CaCO_3$ 琼脂培养基对样品进行乳酸菌初筛, 对所筛菌株绘制生长曲线, 进行生理生化及分子生物学鉴定, 分析产酸、耐酸、耐胆盐和抑菌等益生特性。**结果** 经筛选获得乳酸菌 6 株, 分别为肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*)、乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*)、乳脂乳球菌(*Lactococcus cremoris*)、戊糖乳植物杆菌(*Lactiplantibacillus pentosus*)、赫伦魏斯氏菌(*Weissella hellenica*)和融合魏斯氏菌(*Weissella confusa*)。生长曲线分析发现, 3 株乳酸菌均在 4 h 内达到对数生长期, 18~21 h 进入稳定期。对菌株的益生特性评价结果表明: 菌株 14-1、KQ15-1(乳酸乳球菌)产酸速率最快; 菌株 KQ19-1(戊糖乳植物杆菌)产酸能力最强(pH 为 3.3)。菌株 KQ19-1 耐酸能力最强, pH 3.5、3.0 和 2.5 的环境中, 存活率分别为 99%、90%和 81%。菌株 KQ19-1 在 0.3%胆盐浓度下耐胆盐能力最高, 存活率为 97%; KQ10-1(肠膜明串珠菌)耐胆盐能力最弱, 存活率仅为 7%。6 株乳酸菌对青霉素类、头孢类、大环内酯类抗生素均敏感无耐药性; 菌株 KQ19-1 对 3 种致病菌均具有强抑菌性。**结论** 本研究筛选出的菌株 KQ19-1 益生特性最佳, 可为矿泉水源发酵酸菜益生菌资源挖掘和传统发酵酸菜品质的改良提供基础数据。

关键词: 矿泉水水源地; 酸菜; 乳酸菌; 筛选; 益生特性
中图分类号: TS202.1 **文献识别码:** A **文章编号:** 2095–0381(2026)15–0039–08

Screening of lactic acid bacteria from sauerkraut fermented with Wudalianchi mineral spring water and study on their probiotic properties

LIU Wei[1], FAN Hong-Chen[2], WANG Song[1], GUO Xin-Ming[1], SUN Yi-Min[1], LI Yue-Xing[1], WANG Jing-Hua[1*]
(1. *Institute of Nature and Ecology*, *Heilongjiang Academy of Sciences*, *Harbin* 150040, *China*; 2. *College of Food Engineering*, *Harbin University of Commerce*, *Harbin* 150028, *China*)

收稿日期: 2026-01-23
基金项目: 黑龙江省省属科研院所科研业务费项目(CZBZ202507003)
第一作者: 刘威(1988—), 女, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为食品微生物检测。E-mail: lw654894168@163.com
***通信作者:** 王菁华(1982—), 女, 硕士, 副研究员, 主要研究方向为矿泉食品开发。E-mail: wangjinghua2001@163.com

ABSTRACT: Objective To screen lactic acid bacteria from sauerkraut fermented with Wudalianchi natural mineral spring water, and to investigate their probiotic properties. **Methods** MRS-$CaCO_3$ agar medium was used for the primary screening of lactic acid bacteria from the samples. The growth curves of the isolated strains were plotted, and physiological, biochemical and molecular biological identifications were performed. Moreover, the probiotic properties including acid production, acid tolerance, bile salt tolerance and bacteriostatic activity were analyzed. **Results** A total of 6 lactic acid bacteria strains were isolated and identified as *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Lactiplantibacillus pentosus*, *Weissella hellenica* and *Weissella confusa*, respectively. Growth curve analysis showed that 3 of the strains entered the logarithmic growth phase within 4 h and reached the stationary phase at 18–21 h. The evaluation results of probiotic properties indicated that strain 14-1, KQ15-1 (*Lactococcus lactis*) had the fastest acid production rate, while strain KQ19-1 (*Lactiplantibacillus pentosus*) exhibited the strongest acid production capacity with the final pH of 3.3. Strain KQ19-1 also showed the highest acid tolerance, with survival rates of 99%, 90% and 81% at pH 3.5, 3.0 and 2.5, respectively. In addition, strain KQ19-1 presented the highest bile salt tolerance with a survival rate of 97% under 0.3% bile salt concentration, whereas strain KQ10-1 (*Leuconostoc mesenteroides*) had the weakest bile salt tolerance with a survival rate of only 7%. All the 6 strains were sensitive to penicillins, cephalosporins and macrolides without drug resistance. Notably, strain KQ19-1 exerted bacteriostatic activity against 3 kinds of pathogenic bacteria. **Conclusion** Strain KQ19-1 screened in this study has the best probiotic characteristics. It can provide basic data for the exploration of probiotic resources from sauerkraut fermented with natural mineral spring water and the quality improvement of sauerkraut fermented with traditional method.

KEY WORDS: mineral spring water source; sauerkraut; lactic acid bacteria; screening; probiotic properties

0 引 言

乳酸菌在自然界中广泛分布，具备抗菌、防腐及提升风味等特点，是高安全性的食品级微生物[1–2]。乳酸菌作为酸菜发酵体系中的主要微生物[3–4]，可提高有机酸、醇类和维生素等化合物的含量，不仅能够增加酸度、提升风味，还有助于抑制腐败菌来保障酸菜的安全性[5–6]。此外，多数乳酸菌还具有耐酸、耐胆盐、抑菌等益生特性，可提高对肠道酸环境的耐受性[7–8]。李欣等[9]对自然发酵酸菜中的乳酸菌进行分离，通过形态学、分子生物学和益生特性研究对菌株进行初步鉴定，筛选出耐酸能力强的乳酸菌。生书晶等[10]利用广州酸菜中筛选的乳酸菌改良发酵条件，缩短了发酵周期，但发酵风味有待于提高。邹旖旎等[11]筛选黑龙江省酸菜来源乳酸菌，评价其对抗生素的耐药性。

五大连池天然矿泉水起源于存在深断裂活动的火山口附近，生态环境优异，拥有独特的水文地质特征。矿泉水中含人体所需的矿物质微量元素、CO_2 以及一些常量元素，且无热量，经过多年的饮用、泡浴及临床观察实验，被公认为是珍贵的理想型保健用水[12]。优质的矿泉水资源，赋予矿泉食品独特的风味和营养价值，当地传统酸菜使用天然矿泉水作为发酵用水，口味酸脆，易于保存，受到大家的喜爱。但对五大连池传统酸菜中的乳酸菌筛选及益生特性的研究基本鲜见报道。

本研究旨在对五大连池传统发酵酸菜中的乳酸菌进行分离筛选，绘制生长曲线，并结合形态学、生理生化及 16S rRNA 分子鉴定确定乳酸菌种属信息，对所筛乳酸菌产酸、耐酸、耐胆盐和抑菌等益生特性进行试验分析，以期为矿泉水源发酵酸菜乳酸菌资源的挖掘及其开发利用提供理论数据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

待分离样品：黑龙江省五大连池地区多户农家传统发酵酸菜及酸菜汤，酸菜发酵条件为：白菜与盐以质量比 50:1 逐层加入腌制容器中，倒入五大连池矿泉水浸没白菜，将石头放置于容器顶部防止白菜浮于水面以上，室温(10~18 ℃)发酵 3 个月。

MRS 肉汤培养基、MRS 琼脂培养基、革兰氏染色液(青岛海博生物技术有限公司)；盐酸、碳酸钙($CaCO_3$)(分析纯，天津市致远化学试剂有限公司)；猪胆盐(北京鸿润宝顺科技有限公司)；药敏纸片(常德比克曼生物科技有限公司)；E.Z.N.A.® Bacterial DNA Kit (D3350-01)试剂盒(欧米茄生物技术股份有限公司)；琼脂糖(西班牙 Biowest 公司)；乳酸菌成套生化鉴定管(广州环凯微生物科技有限公司)；大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)、沙门氏菌(*Salmonella* spp.)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)(中国典型培养物保藏中心)。

1.2　仪器与设备

Nanodrop 2000 超微量核酸检测仪、Multiskan Go 酶标仪(美国赛默飞世尔科技公司); FA2204B 电子天平(感量 0.1 mg, 上海精密科学仪器有限公司); LRH-150B 恒温培养箱(韶关市泰宏医疗器械有限公司); SPX-150B-II 生化培养箱(上海银泽仪器设备有限公司); LDZM-60L-II 立式高压蒸气灭菌器(上海申安仪器设备有限公司); PHS-3C 酸度计(上海雷磁设备厂); TGL-16M 台式离心机(东莞艾伯特仪器设备有限公司); T100 型 PCR 仪、PowerPac Basic 电泳电源及水平琼脂糖电泳槽(美国 Bio-Rad 公司); GBOX F3 凝胶图像分析系统(英国 Syngene 公司); 5424R 型台式高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司); DKT200-2D 恒温金属浴(上海一恒科学仪器有限公司); Vortex-Genie 2 涡旋振荡器(美国 Scientific Industries 公司); SW-CJ-1F 超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司); SHA-C 双功能水浴恒温振荡器(金坛市精达仪器厂)。

1.3　实验方法

1.3.1　乳酸菌的分离、纯化

将采集的酸菜样品混合后, 用无菌生理盐水梯度稀释, 取各样品 10^{-4}、10^{-5}、10^{-6}、10^{-7} 稀释梯度 0.1 mL 涂布在 MRS-$CaCO_3$(含有 2% $CaCO_3$ 的 MRS 培养基)中, 37 ℃培养 24 h。挑取出现溶钙圈的白色、圆形疑似菌落进行划线培养, 重复 2~3 次直至得到纯菌落[13]。

1.3.2　筛选菌株鉴定

用接种针取纯化后的疑似乳酸菌涂片、干燥、固定, 进行革兰氏染色、显微镜观察菌体形态。通过蔗糖、棉子糖、菊糖、乳糖、麦芽糖、液化明胶、甘露醇、V-P 试验、过氧化氢酶活性等试验对疑似乳酸菌进行生理生化测定。对疑似乳酸菌进行 16S rRNA 测序鉴定菌株: 使用 DNA 提取试剂盒提取基因组 DNA, 聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增产物交由苏州金唯智生物科技有限公司进行测序。把测序后结果提交到美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)数据库进行 BLAST 同源性分析并鉴定到种[14]。

1.3.3　乳酸菌的生长曲线测定

将活化后的乳酸菌按 2%的接种量接种于 MRS 肉汤培养基中, 37 ℃恒温培养, 每隔 2 h 测定 $OD_{600\ nm}$ 处吸光值。待吸光值稳定后测定结束, 绘制乳酸菌生长曲线, 其中横坐标为测定时间, 纵坐标为对应 $OD_{600\ nm}$ 处吸光值[15], 每组 3 次重复实验。

1.3.4　乳酸菌益生特性测定

(1)乳酸菌产酸特性测定

乳酸菌的产酸能力测定参照范洪臣等[13]的实验方法稍作修改, 将活化后的乳酸菌接种于 MRS 肉汤培养基中(接种量 1%), 37 ℃静置培养, 每次取样间隔 2 h, 测定样品 pH, 绘制各个乳酸菌产酸 pH 动态变化曲线。

(2)乳酸菌耐酸特性测定

利用 18% (*V*:*V*) HCl 调制 MRS 肉汤培养基 pH 为 2.5、3.0、3.5, 将活化后的乳酸菌以 2%的接种量分别接种于上述不同 pH 的 MRS 肉汤培养基中作为实验组, 以未经过酸化的 MRS 肉汤培养基培养的菌株作为对照组, 37 ℃培养 3 h, 按梯度稀释法进行平板计数, 每组 3 次重复, 计算其菌株存活率如公式(1)[13]。

$$\text{菌株存活率}/\% = \frac{\text{酸处理后活菌株数}}{\text{酸处理前活菌株数}} \times 100\% \quad (1)$$

(3)乳酸菌耐胆盐特性测定

参照王祎然等[16]研究, 将活化后菌液以 2%的接种量接种于含猪胆盐的 MRS 肉汤培养基(质量浓度为 0.3 g/100 mL)中, 37 ℃培养 4 h, 按梯度稀释法平板计数, 以无胆盐 MRS 肉汤培养基为对照组, 每组 3 次重复, 计算其菌株存活率[公式如 1.3.4(2)所示]。

(4)乳酸菌的抗生素敏感性测定

采用药敏纸片法[17]对筛选得到的乳酸菌进行抗生素敏感性测定, 吸取乳酸菌发酵液(浓度约为 1×10^8 CFU/mL) 0.1 mL 涂布于 MRS 琼脂培养基上, 将 3 个相同的药敏纸片均匀贴于同一平皿上, 37 ℃培养 48 h, 测量表面抑菌圈直径。参照标准评估菌株抗生素敏感性[18], 即耐药(抑菌圈直径≤15 mm), 中度敏感(抑菌圈直径为 15~21 mm)和敏感(抑菌圈直径≥21 mm)。

(5)乳酸菌的抑菌性测定

采用李冲等[19]的实验方法, 将致病菌(大肠杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌)接种于 LB 液体培养基中, 37 ℃恒温培养, 调整菌液浓度约为 10^6 CFU/mL, 吸取 0.1 mL 涂布于 LB 固体培养基, 每个平皿打 3 个孔。将活化后的乳酸菌悬浮液 4 ℃ 10000 *g* 离心 10 min, 上清液用 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌, 取 100 μL 加入致病菌培养皿孔中作为实验组, 对照组在孔中加入等量的 LB 液体培养基, 每组 3 个重复, 37 ℃培养 48 h, 测量抑菌圈直径。

1.4　数据处理

采用 SPSSS 19.0 软件对数据进行分析, 使用 Origin 2024b 软件绘图, 结果以平均值±标准偏差表示, 试验均进行 3 次重复。

2　结果与分析

2.1　乳酸菌的分离筛选

在分离的单菌落中挑选乳白色、圆形、表面光滑且出现溶钙圈的乳酸菌疑似菌株共 56 株, 经过革兰氏染色后镜检(目镜 10×; 物镜 100×)观察, 其中杆菌 16 株, 球菌 40 株, 主要形态如图 1 所示。形态学观察及生理生化特性结果由表 1 可知, 根据革兰氏染色及形态观察结果将所筛菌株进行归类, 其中 a 为菌株 KQ10-1、KQ10-2、KQ18-1、KQ18-2、KQ23-4、KQ32-1、KQ32-2、KQ34-2; b 为菌株

KQ14-1、KQ14-2、KQ21-2; c 为菌株 KQ15-1、KQ15-3; d 为菌株 KQ19-1; e 为菌株 KQ30-2; f 为菌株 KQ34-1。由表 1 可知所有菌株过氧化氢实验均为阴性，其他生理生化结果也符合乳酸菌的特征，初步判定初筛菌株为乳酸菌，但分属不同的种属。

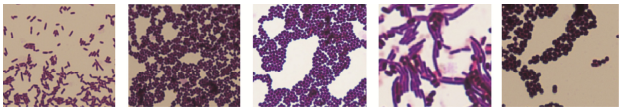


图 1 筛选乳酸菌革兰氏染色结果

Fig. 1 Gram-staining results of lactic acid bacteria screening

表 1 筛选乳酸菌生理生化鉴定结果

Table 1 Physiological and biochemical identification results of lactic acid bacteria screening

指标	a	b	c	d	e	f
形状	球或短杆	球状	球状	杆状	球状	球状
革兰氏染色	+	+	+	+	+	+
七叶苷	+	+	+	+	+	+
纤维二糖	+	–	+	+	+	+
麦芽糖	+	+	+	+	+	+
甘露醇	–	–	–	–	–	–
水杨苷	+	+	+	+	+	+
山梨醇	–	–	+	–	–	–
蔗糖	+	+	+	+	+	+
棉子糖	–	–	+	–	–	–
菊糖	–	–	+	–	–	–
乳糖	–	+	+	–	+	+
液化明胶	–	–	–	–	–	–
过氧化氢	–	–	–	–	–	–
V-P 试验	+	–	–	+	+	–

注: + 表示阳性; –表示阴性。

2.2 乳酸菌的分子生物学鉴定

将初步分离出的乳酸菌，经 16S rRNA 序列分析法及 NCBI 数据库同源性分析，并鉴定到种，结果如表 2 所示: 经分子生物学鉴定，有 3 株乳酸菌同源性达 100%，其余菌株同源性达 99%。上述乳酸菌分别为 KQ10-1 肠膜明串珠菌, KQ14-1 乳酸乳球菌, KQ15-1 乳脂乳球菌, KQ19-1 戊糖乳植物杆菌，KQ21-1 赫伦魏斯氏菌和 KQ34-1 融合魏斯氏菌。其中，菌株 KQ14-1 和 KQ15-1 同属乳球菌属, KQ21-1 和 KQ34-1 同属魏斯氏菌属。邹旖旎等[11]从黑龙江省酸菜样品中分离菌株鉴定为植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)、食窦魏斯氏菌(*Weissella cibaria*)、短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*)和融合魏斯氏菌(*Weissella confusa*)。生书晶等[10]在广州酸菜中筛选的乳酸菌为植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)、短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*)，发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*)和布氏乳杆菌(*Lactobacillus buchneri*)。本研究所筛乳酸菌菌株类型较多，可能与本研究酸菜样品以五大连池天然矿泉水为发酵用水有关，说明发酵酸菜乳酸菌种类随培养条件变化的多样性[13]。

表 2 乳酸菌同源的比对结果

Table 2 Homology alignment results of lactic acid bacteria

菌种	鉴定结果	同源性/%	序列号
KQ10-1	*Leuconostoc mesenteroides* 肠膜明串珠菌	99	NR113251.1
KQ14-1	*Lactococcus lactis* 乳酸乳球菌	99	NR040955.1
KQ15-1	*Lactococcus cremoris* 乳脂乳球菌	100	NR113925.1
KQ19-1	*Lactiplantibacillus pentosus* 戊糖乳植物杆菌	99	NR029133.1
KQ21-1	*Weissella hellenica* 赫伦魏斯氏菌	100	NR113775.1
KQ34-1	*Weissella confuse* 融合魏斯氏菌	100	NR036924.1

2.3 乳酸菌生长曲线

由图 2 可知，6 株乳酸菌在接种后生长曲线变化趋势略有不同，有 3 株菌延滞期较长为 0~10 h，生长缓慢，在 10 h 后进入对数生长期, 18 h 进入稳定生长期, OD_{600} 偏低。2 株菌延滞期为 0~4 h，在 4~18 h 为对数生长期, 18 h 后进入稳定生长期, OD_{600} 偏高。KQ19-1 在 3 h 进入对数生长期，延滞期最短，21 h 左右进入稳定生长期, OD_{600} 中等。由此可见，不同属水平的乳酸菌以及同属不同种乳酸菌的生长速率均有不同。

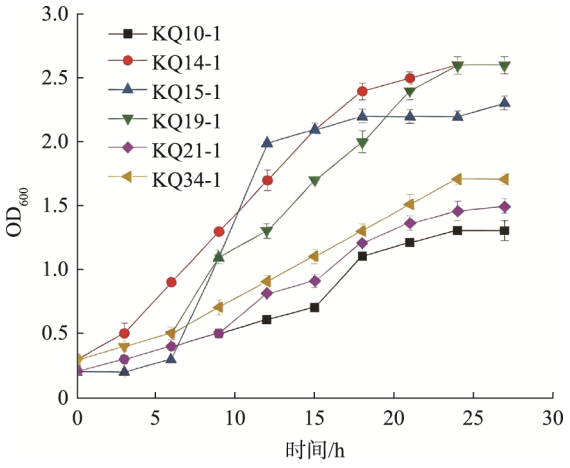


图 2 乳酸菌生长曲线

Fig.2 Growth curves of lactic acid bacteria

2.4　乳酸菌益生特性分析

2.4.1　乳酸菌产酸能力分析

乳酸菌发酵过程中可产生大量乳酸、乙酸，使发酵液 pH 快速下降。此酸性环境能抑制绝大多数腐败菌的生长繁殖，延长食品保质期[20]。乳酸菌产酸能力结果如图 3 所示，筛选的 6 株乳酸菌发酵液随时间变化的 pH 均呈现先降低后趋于稳定，乳球菌属菌株(KQ14-1、KQ15-1)产酸速率快，KQ19-1、KQ21-1 和 KQ34-1 产酸速率中等，KQ10-1 菌株产酸速率最慢，与图 2 乳酸菌的生长曲线对比分析发现 6 株乳酸均呈现进入对数生长期后 pH 下降明显，进入生长稳定期后，pH 逐步趋于稳定。菌株 KQ10-1、KQ34-1 稳定期后 pH 均在 4.1~4.3 之间；KQ14-1、KQ15-1 和 KQ21-1 稳定期后 pH 均在 3.6~3.9 之间；KQ19-1 产酸最多，稳定期后 pH 在 3.3 左右。

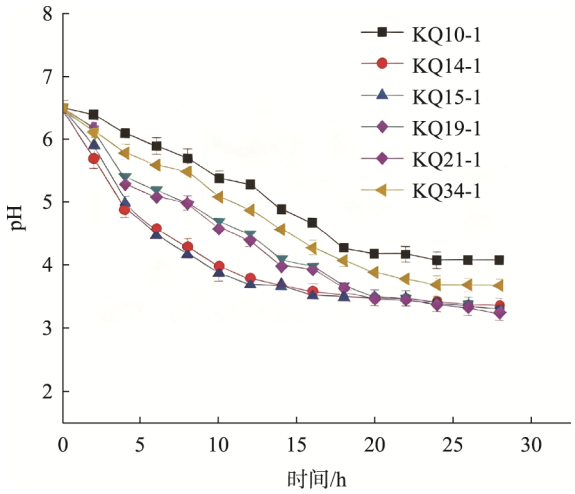


图 3　乳酸菌产酸能力

Fig.3　Acid-producing capacity of lactic acid bacteria

2.4.2　乳酸菌耐酸耐胆盐能力分析

测定乳酸菌的耐酸和耐胆盐能力是为评估菌株在低pH环境下的存活与生长能力，以及耐受肠道胆盐环境的能力[21–23]。

如表 3 所示，6 株乳酸菌在 pH 为 2.5、3.0、3.5 的酸性环境下仍具有不同程度的存活率，说明所筛乳酸菌均具有耐酸性。但不同乳酸菌存活率不同，其中发酵液 pH 为 2.5、3.0 和 3.5 时，菌株 KQ19-1 的存活率均最高，分别为 81%、90%和 99%，KQ10-1 在各 pH 环境下存活率均较低。其他乳酸菌随pH的升高，存活率也有所提升，但存活率在各菌株间也存在显著差异。

耐胆盐试验结果如表 4 所示，菌株 KQ19-1 在 0.3%胆盐浓度条件下培养 3 h后存活率最高，为97%，人体小肠的胆盐浓度一般在 0.03%~0.30%，说明 KQ19-1 耐胆盐能力较强，有利于其在宿主肠道中的定殖。6 株菌株中，KQ10-1、KQ15-1 的耐胆盐存活率偏低，仅为 7%、17%；其余乳酸菌耐胆盐能力适中。

表 3　乳酸菌耐酸能力

Table 3　Acid tolerance capacity of lactic acid bacteria

菌株名称	菌株存活率/%		
	pH 2.5	pH 3.0	pH 3.5
KQ10-1	15±4^{e}	33±1^{d}	43±2^{e}
KQ14-1	33±3^{c}	46±1^{c}	63±1^{c}
KQ15-1	21±2^{d}	45±5^{c}	52±4^{d}
KQ19-1	81±4^{a}	90±3^{a}	99±3^{a}
KQ21-1	63±1^{b}	77±3^{b}	82±3^{b}
KQ34-1	73±5^{a}	84±1^{a}	87±4^{b}

注：不同小写字母表示同列数据存在显著性差异(P<0.05)。

表 4　乳酸菌耐胆盐能力

Table 4　Bile salt tolerance capacity of lactic acid bacteria

指标	KQ 10-1	KQ 14-1	KQ 15-1	KQ 19-1	KQ 21-1	KQ 34-1
存活率/%	7±5^{f}	46±1^{d}	17±2^{e}	97±3^{a}	64±2^{c}	79±1^{b}

注：不同小写字母表示同行数据存在显著性差异(P<0.05)。

2.4.3　乳酸菌抗生素敏感性分析

益生菌对抗生素的耐受程度，直接关系到人体用药安全以及发酵食品生产中对杂菌污染防控，分析乳酸菌对抗生素的耐药性可为乳酸菌发酵蔬菜的安全性评价提供基础[23–24]。由表 5 可知，乳酸菌 KQ10-1 对青霉素类(PEN 和 AMP)和大环内酯类(ERY 和 AZM)敏感，对 6 种抗生素中度敏感，对 4 种抗生素表现耐药。菌株 KQ14-1 和 KQ15-1 对青霉素类(PEN 和 AMP)、四环素类(TET 和 DOX)和大环内酯类(ERY 和 AZM)敏感，对 4 种抗生素中度敏感，对 4 种抗生素表现耐药。菌株 KQ19-1 对青霉素类(PEN 和 AMP)敏感，对 4 种抗生素中度敏感，对 8 种抗生素表现耐药。菌株 KQ21-1 和 KQ35-1 对青霉素类(PEN 和 AMP)敏感，对 8 种抗生素中度敏感，对 4 种抗生素表现耐药。李凤娟等[24]研究表明乳酸菌需对青霉素类、头孢类、大环内酯类抗生素无耐药性，本研究筛选的乳酸菌对此类抗生素均无耐药性，故不存在威胁人类健康的风险。

2.4.4　乳酸菌抑菌性分析

益生菌可通过产细菌素、有机酸等物质抑制致病菌生长，调节肠道菌群平衡；其对腐败菌的抑制能力也影响发酵食品的货架期和安全性[25]。大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和沙门氏菌是常见的肠道致病菌[26]。

由表 6 可知，6 株乳酸菌对 3 种指示菌均表现出一定的抑制作用，KQ19-1 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌抑制作用最强，KQ19-1、KQ14-1 和 KQ15-1 对沙门氏菌抑制作用最强。综合分析可知，抑菌能力最强的为菌株 KQ19-1，KQ10-1 和 KQ35-1 抑菌能力相对较弱，其他乳酸菌也具有较强的抑菌作用。

表 5 乳酸菌抗生素敏感性
Table 5 Antibiotic susceptibility of lactic acid bacteria

菌株名称	抗生素													
	PEN	AMP	CEF	CTX	TET	DOX	ERY	AZM	CIP	LEV	SD	SMZ	GEN	KAN
KQ10-1	S	S	I	I	I	I	S	S	I	I	R	R	R	R
KQ14-1	S	S	I	I	S	S	S	S	I	I	R	R	R	R
KQ15-1	S	S	I	I	S	S	S	S	I	I	R	R	R	R
KQ19-1	S	S	I	I	R	R	R	R	I	I	R	R	R	R
KQ21-1	S	S	I	I	I	I	I	I	I	I	R	R	R	R
KQ34-1	S	S	I	I	I	I	I	I	I	I	R	R	R	R

注: PEN: 青霉素 G (penicillin); AMP: 氨苄西林(ampicillin); CEF: 头孢氨苄(cephalexin); CTX: 头孢噻肟(cefotaxime); TET: 四环素(tetracycline); DOX: 多西环素(doxycycline); ERY: 红霉素(erythromycin); AZM: 阿奇霉素(azithromycin); CIP: 环丙沙星(ciprofloxacin); LEV: 左氧氟沙星(levofloxacin); SD: 磺胺嘧啶(sulfadiazine); SMZ: 磺胺甲恶唑(sulfamethoxazole); GEN: 庆大霉素(gentamicin); KAN: 卡那霉素(kanamycin)。S: 敏感; I: 中度敏感; R: 耐药。

表 6 乳酸菌抑菌性
Table 6 Antibacterial activity of lactic acid bacteria

菌株名称	大肠杆菌	沙门氏菌	金黄色葡萄球菌
KQ10-1	+	++	+
KQ14-1	++	+++	++
KQ15-1	+	+++	+
KQ19-1	+++	+++	+++
KQ21-1	++	++	++
KQ34-1	+	++	+

注: +为抑菌圈直径 7~10 mm; ++为抑菌圈直径 11~13 mm; +++为抑菌圈直径 14~16 mm。

3 讨论与结论

本研究从黑龙江省五大连池地区传统发酵酸菜中初步分离筛选出 56 株疑似乳酸菌菌株, 经形态学、生理生化特性鉴定分析并结合分子生物学鉴定为 6 株乳酸菌, 分别为肠膜明串珠菌, 乳酸乳球菌, 乳脂乳球菌, 戊糖乳植物杆菌, 赫伦魏斯氏菌和融合魏斯氏菌。通过对所筛乳酸菌产酸、耐酸、耐胆盐、抗生素敏感性和抑菌特性的分析, 戊糖乳植物杆菌综合益生性能最佳, 赫伦魏斯氏菌和融合魏斯氏菌耐酸和耐胆盐能力相对较强, 乳酸乳球菌和乳脂乳球菌产酸能力较强。本研究所筛乳酸菌中除乳脂乳球菌外, 其他乳酸菌与已有研究报道的其他地区酸菜中筛选得出的乳酸菌种类相同, 且乳杆菌为常见发酵酸菜乳酸菌[27]。与文献[16,28]报道的乳杆菌(OD_{600} 值 1.36~1.65, pH 3.7)相比, 本试验戊糖乳植物杆菌生长量和产酸能力均偏高。Li 等[29]研究发现, 在酸菜发酵中菌株的强产酸能力可使发酵环境快速酸化, 降低亚硝酸盐的积累。另外, 生长及产酸能力强的乳酸菌适应发酵环境的能力更快, 在缩短发酵周期和保证酸菜品质方面具有重要作用, 故高产酸菌株为优质发酵用菌的重要选择指标[10]。本研究中戊糖乳植物杆菌的耐酸性和耐胆盐能力优于富源酸菜所筛乳杆菌(文献中 pH 为 3.0、2.5 的存活率为 11%~17%, 0.3%胆盐条件下存活率为 10%左右), 在酸菜发酵过程中乳酸菌的耐酸性能有效抑制杂菌的生长并使发酵充分[7]。本研究与以往研究所筛乳杆菌益生特性的差异性可能与使用五大连池天然矿泉水作为发酵用水有关。

五大连池天然矿泉水中含有丰富的矿物离子, 如 K^+、Na^+、Mg^{2+}、Ca^{2+}、Zn^{2+}、Se^{6+}等, 可满足人体生命活动所需。孔洁等[30]研究得出矿物粉可促进乳酸乳球菌、保加利亚乳杆菌和嗜酸乳杆菌的生长, 提高其耐酸和抑菌等益生特性。石月等[31]研究表明乳杆菌具有产酸和富集钙的能力, Ca^{2+}是糖酵解关键酶的激活剂, 可提升 H^+-ATPase 活性, 增强乳杆菌耐酸能力, 进而提高酸菜发酵过程中乳杆菌生长活性; 同时酸性环境可促进无机钙转换成易吸收的钙。张青松[32]研究表明乳酸菌具有富集锌的能力; 同时 Zn^{2+}参与乳杆菌的糖酵解及短链脂肪酸合成酶的催化等代谢过程, 提升产酸速率, 抑制致病菌生长, Zn^{2+}还能够稳定细胞膜结构、激活胆盐耐受相关蛋白, 提高耐胆盐能力, 进而对小鼠的结肠炎起到缓解作用。K^+作为乳酸菌细胞内的主要阳离子, 可维持细胞内渗透压平衡, 调节 K^+/Na^+比例; 还能提高乳酸菌在酸性环境中的耐酸能力和抑菌防腐作用。Ca^{2+}和 Mg^{2+}是乳酸菌多种代谢酶的必需辅因子, 直接调控糖代谢和氨基酸代谢。磷酸果糖激酶和丙酮酸激酶需与 Mg^{2+}结合来促进丙酮酸的转化, 并进一步转化为乳酸, 促进有机酸的合成, 进而提高乳酸菌的产酸能力和酸菜风味[33]。乳酸菌还能够吸附 Cd、Pb 和 As 等重金属, 减少发酵食品中重金属污染对人体健康的危害[34]。综上, 矿物离子可提高乳杆菌的生长代谢、产酸、耐酸和抑菌等益生特性, 乳杆菌也可促进矿物离子的吸收, 因此赋予五大连池传统发酵酸菜独特的营养价值和风味, 但多种矿物离子对所筛乳杆菌的益生特性的影响, 有待于进一步研究。

五大连池区域因其独特的火山地质地貌, 给予当地

传统发酵食品独特的风味和益生菌多样性。本研究筛选的矿泉水源发酵酸菜乳酸菌益生特性优良, 增加了发酵酸菜的乳酸菌资源, 可进一步挖掘其优势益生特性, 并研究其与多种离子元素的相互作用, 为五大连池传统发酵酸菜的品质改良和优质发酵菌剂的开发提供参考依据。

参考文献

[1] 乌日罕. 食品中乳酸菌种类及其应用前景探究[J]. 中国食品, 2024(20): 147–149.
Wu Rihan. Investigation on the species and application prospects of *Lactobacillus* in food [J]. China Food, 2024(20): 147–149.

[2] Abdelshafya M, Neetoo H, Al-Asmari F. Antimicrobial activity of hydrogen peroxide for application in food safety and COVID-19 mitigation: an updated review [J]. Journal of food protection, 2024, 87(7): 100306.

[3] Plengvidhya V, Breidt F J, Lu Z J, et al. DNA fingerprint-ing of lactic acid bacteria in sauerkraut fermentations [J]. Appliedand Environmental Microbiology, 2007, 73(23): 7697-7702.

[4] Yang Menglu, Lai Haimei, Wang Yali, et al. Characterizing the impactof species/strain- specific *Lactiplantibacillus plantarum* with com-munity assembly and metabolic regulation in pickled Suancai [J]. Food Research International, 2023, 174: 113650.

[5] Ge Song, Zhen He, Xinyi Wang et al. Improving the quality of Suancai by inoculating with *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcuspentosaceus* [J]. Food Research International, 2021, 148: 110581.

[6] Cao Xinying, Zhao Mingwei, Zou Sibo, et al. Effect of autochthonous lactic acid bacteria- enhanced fermentation on the quality of Suancai [J]. Foods, 2022, 11(21): 3310.

[7] 刘慧, 雷杰, 王秋萍, 等. 富源酸菜细菌多样性研究及优势乳酸菌的分离鉴定[J]. 食品研究与开发, 2025, 46(12): 197–203.
Liu Hui, Lei Jie, Wang Qiuping, et al. Bacterial diversity of Fuyuan pickled mustard and isolation and identification of dominant lactic acid bacteria [J]. Food Research and Development, 2025, 46(12): 197–203.

[8] Ashaolu T J, Reale A. A holistic review on euro-Asian lactic acid bacteria fermented cereals and vegetables [J]. Microorganisms, 2020, 8(8): 1176.

[9] 李欣, 武俊瑞, 田甜, 等. 大庆自然发酵酸菜中乳酸菌的分离鉴定及耐酸菌株初步筛选[J]. 食品科学, 2014, 35(1): 150–154.
Li Xin, Wu Junrui, Tian Tian, et al. Isolation, identification and preliminary screening of acid-tolerant lactic acid bacteria from naturally fermented pickled mustard in Daqing [J]. Food Science, 2014, 35(1): 150–154.

[10] 生书晶, 佘婷婷, 孙婷琪, 等. 广州酸菜中乳酸菌的分离鉴定及发酵特性分析[J]. 中国调味品, 2025, 50(3): 192–197.
Sheng Shujing, She Tingting, Sun Tingqi, et al. Isolation and identification of lactic acid bacteria from Guangzhou sauerkraut and analysis of fermentation characteristics [J]. China Condiment, 2025, 50(3): 192–197.

[11] 邹旖旎, 刘珊娜, 李坤玉, 等. 黑龙江酸菜来源乳酸菌遗传多样性及耐药性分析[J]. 食品科技, 2025, 50(2): 11–18.
Zou Yini, Liu Shanna, Li Kunyu, et al. Genetic diversity and drug resistance analysis of lactic acid bacteria isolated from Heilongjiang pickled mustard [J]. Food Science and Technology, 2025, 50(2): 11–18.

[12] 高思萌, 温玉娟, 张文卿, 等. 五大连池矿泉水的微生物特征和生态健康效应[J]. 应用生态学报, 2019, 30(8): 2865–2874.
Gao Simeng, Wen Yujuan, Zhang Wenqing, et al. Microbial characteristics and ecological health effects of Wudalianchi mineral water [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30(8): 2865–2874.

[13] 范洪臣, 茜琳, 韩雪, 等. 黏豆包发酵液中乳酸菌分离鉴定及其益生性能[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(23): 161–167.
Fan Hongchen, Xi Lin, Han Xue, et al. Isolation, identification and probiotic properties of *Lactobacillus* from the fermentation broth of sticky rice buns [J]. Food Research and Development, 2023, 44(23): 161–167.

[14] 李祎, 吴晓敏, 杜航, 等. 一株肠膜明串珠菌的分离鉴定及其抑菌特性[J]. 微生物学通报, 2021, 48(12): 4776−4788.
Li Yi, Wu Xiaomin, Du Hang, et al. Isolation, identification and antibacterial characteristics of a *Leuconostoc mesenteroides* strain [J]. Microbiology Bulletin, 2021, 48(12): 4776–4788.

[15] 汤怡慧, 陈映羲, 林心萍, 等. 降单宁酸乳酸菌的筛选、生物学特性及降解效果分析[J/OL]. 食品工业科技, 1-19. [2026-08-11]. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025090024.
Tang Yihui, Chen Yingxi, Lin Xinping, et al. Screening, biological characteristics and degradation effect analysis of tannic acid-degrading Lactobacillus strains [J/OL]. Science and Technology of Food Industry, 1-19. [2026-08-11]. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025090024.

[16] 王祎然, 韦明明, 张涵, 等. 酸汤中乳酸菌的鉴定及其耐酸、耐胆盐和抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2020, 41(16): 121–126, 139.
Wang Yiran, Wei Mingming, Zhang Han, et al. Identification of lactic acid bacteria in sour soup and their acid tolerance, bile salt tolerance, and antioxidant activity [J]. Food Industry Science and Technology, 2020, 41(16): 121–126, 139.

[17] 杨秋萍. 乳酸菌药敏性及其对环丙沙星和头孢菌素耐药性研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2022: 12–14.
Yang Qiuping. Antibiotic sensitivity of lactic acid bacteria and their resistance to ciprofloxacin and cephalosporins [D]. Xianyang: Northwest A & F University, 2022: 12–14.

[18] Schuetz A N, Burnham C A, Davis T E, et al. Overview of changes in the clinical and laboratory standards institute performance standards for antimicrobial susceptibility testing: M100 32nd and 33rd editions [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2025, 63(9): e01623–23.

[19] 李冲, 陈少先, 李颖, 等. 新型乳酸菌复合菌系发酵荔枝-番茄果蔬汁的研究[J]. 中国食品添加剂, 2024, 35(12): 138–146.
Li Chong, Chen Shaoxian, Li Ying, et al. Fermentation of lychee-tomato fruit and vegetable juice by a novellactic acid bacteria complex [J]. China Food Additives, 2024, 35(12): 138–146.

[20] Eor J Y, Lee J, Mun D, et al. Perspectives of probiotics based cheese research and its industrial development [J]. Journal of Dairy Science and Biotechnology, 2023, 41(4): 163–178.

[21] Alsuwaylihi A S, Mccullough F. The safety and efficacy of probiotic supplementation for critically ill adult patients: a systematic review and meta-analysis [J]. Nutrition Reviews, 2023, 81(3): 322–332.

[22] 孙佳琦, 李伟程, 钟智, 等. 干酪乳杆菌分类学地位及潜在益生相关基因分析[J]. 中国食品学报, 2023, 23(8): 14–23.
Sun Jiaqi, Li Weicheng, Zhong Zhi, et al. Taxonomic status and analysis of potential probiotic-related genes of *Lactobacillus casei* Zhang [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(8): 14–23.

[23] He Kuang, Cheng Hao, Mcclements D J, et al. Utilization of diverse probiotics to create human health promoting fatty acids: a review [J]. Food Chemistry, 2024, 458: 140180.

[24] 李凤娟, 张化朋, 张颜廷, 等. 植物乳植杆菌 LP0126 的分离鉴定与安全性研究[J]. 中国食品添加剂, 2024, 35(5): 46–56.
Li Fengjuan, Zhang Huapeng, Zhang Yanting, et al. Isolation, identification and safety evaluation of *Lactiplantibacillus plantarum* LP0126 [J]. China Food Additives, 2024, 35(5): 46–56.

[25] Lau L Y J, Quek S Y. Probiotics: health benefits, food application, and colonization in the human gastrointestinal tract [J]. Food Bioengineering, 2024, 3(1): 41–64.

[26] Gebre T S, Emire S A, Aloo S O, et al. Unveiling the potential of African fermented cereal-based beverages: probiotics, functional drinks, health benefits and bioactive components [J]. Food Research International, 2024, 191: 114656.

[27] 吕伟民, 李娜, 刘文丽, 等. 传统酸菜发酵乳酸菌多样性及其功能特性研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(15): 39–46.
Lv Weimin, Li Na, Liu Wenli, et al. Research progress on diversity and functional characteristics of lactic acid bacteria from traditional sauerkraut fermentation [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(15): 39–46.

[28] 徐碟, 汤鹏宇, 孟繁博, 等. 贵州传统酸菜中优势乳酸菌的分离鉴定及发酵特性分析[J/OL]. 现代食品科技, 1-10. [2026-08-11]. DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.9.0858.
Xu Die, Tang Pengyu, Meng Fanbo, et al. Isolation identification and fermentation characteristics of dominant lactic acid bacteria in traditional Guizhou sauerkraut [J/OL]. Modern Food Science and Technology, 1-10. [2026-08-11]. DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.9.0858.

[29] Li Linling, Liu Wanlin, Wang Xin, et al. Analysis of microbial diversity and differences in characteristic volatile components of sauerkraut in different regions of Guizhou Province [J]. Food Biophysics, 2025, 20(1): 1–16.

[30] 孔洁, 张涵, 李亭玉, 等. 矿物质复合微量元素对乳酸菌生长及生物学特征的影响[J]. 延边大学农学学报, 2018, 40(2): 76–81.
Kong Jie, Zhang Han, Li Tingyu, et al. Effects of mineral compound trace elements on the growth and biological characteristics of lactic acid bacteria [J]. Journal of Agricultural Science of Yanbian University, 2018, 40(2): 76–81.

[31] 石月, 王金厢, 李学鹏, 等. 富集钙乳酸菌的筛选及培养条件对富集效果的影响[J]. 食品工业科技, 2021, 42(8): 125−132.
Shi Yue, Wang Jinxiang, Li Xuepeng, et al. Screening of calcium-enriched lactic acid bacteria and the effect of culture conditions on calcium-enriched [J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(8): 125–132.

[32] 张青松. 乳酸菌对锌的富集特性及富锌乳酸菌对小鼠结肠炎的缓解作用[D]. 无锡: 江南大学, 2018: 19–26.
Zhang Qingsong. Zinc enrichment characteristics of lactic acid bacteria and alleviating effect of zinc-enriched lactic acid bacteria on colitis in mice [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2018: 19–26.

[33] Uyen Huynh, Melissa L, Zastrow. Metallobiology of Lactobacillaceae in the gut microbiome [J]. Journal of Inorganic Biochemistry, 2023, 238: 112023.

[34] 白英, 孙悦, 王纯玮. 乳酸菌对重金属离子吸附能力的研究进展[J]. 中国乳品工业, 2021, 49(1): 39–45.
Bai Ying, Sun Yue, Wang Chunwei. Research progress on heavy metal ion adsorption capacity of lactic acid bacteria [J]. China Dairy Industry, 2021, 49(1): 39–45.

(责任编辑: 韩晓红 曹岱琳)