刘方祥, 王风青, 郑佳, 等. 一株贝莱斯芽孢杆菌 SL 的体外益生特性 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(4): 204−214. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025010145

LIU Fangxiang, WANG Fengqing, ZHENG Jia, et al. Evaluation of Probiotic Properties of *Bacillus velezensis* SL *in Vitro*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(4): 204−214. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025010145

· 生物工程 ·

一株贝莱斯芽孢杆菌 SL 的体外益生特性

刘方祥[1,2], 王风青[1,*], 郑　佳[3], 陈　琦[4], 范　楷[1], 李　爽[1], 侯　瑞[1], 李　丽[1], 王　川[1], 刘　军[1], 吉莉莉[2], 温雪瓶[1]

(1.四川轻化工大学食品与酿酒工程学院, 四川 宜宾 640000;
2.成都大学肉类加工四川省重点实验室, 四川 成都 610106;
3.宜宾五粮液股份有限公司, 四川 宜宾 644000;
4.四川中烟工业有限责任公司长城雪茄烟厂, 四川 什邡 618499)

摘　要: 本文以一株贝莱斯芽孢杆菌 SL（*Bacillus velezensis* SL）为研究对象，系统评估了其体外益生特性，旨在为微生态制剂的开发提供理论依据。通过模拟胃肠道耐受性实验、抗生素敏感性测试、细胞表面特性分析、抗氧化活性测定、抑菌能力测试及代谢组学分析，系统评估了菌株 SL 的益生特性。结果表明：菌株 SL 在模拟肠液中存活率>80%，但胃酸耐受性较差（120 min 存活率 4.11%），对高浓度胆盐（0.6%）耐受性良好；菌株 SL 对 7 种抗生素敏感，不具备耐药基因；该菌疏水能力为 19.08%，12 h 自聚集率达 86%，具备较强肠道定植潜力；抗氧化实验中，菌株 SL 对羟基自由基（·OH）和超氧阴离子（O_2^{-}·）的清除率分别为 23.84% 和 34.18%，对 DPPH 和 $ABTS^{+}$自由基的清除率分别为 37.40% 和 36.52%，表明其具有中等的自由基清除能力；菌株 SL 对沙门氏菌、产气荚膜梭菌、金黄色葡萄球菌等病原菌表现一定抑菌作用，对革兰氏阳性菌的抑制作用更佳；代谢组学分析表明，菌株 SL 代谢产生的挥发性化合物（如异丁酸、2-甲基丁酸）可促进消化酶活性和肠道发育，而非挥发性代谢物（如 9-硝基油酸、丹叶大黄素、棕榈酰甘氨酸等）具有抗炎、抗菌和抗氧化功能。这些结果证明，菌株 SL 具有开发为微生态制剂的潜力，但需通过包埋或菌种改良提升胃酸稳定性以优化应用性能。

关键词: 贝莱斯芽孢杆菌, 益生特性, 胃肠道耐受性, 抗氧化, 代谢物分析, 微生态制剂
中图分类号: Q939.9　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)04−0204−11
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025010145　　本文网刊:

Evaluation of Probiotic Properties of *Bacillus velezensis* SL *in Vitro*

LIU Fangxiang[1,2], WANG Fengqing[1,*], ZHENG Jia[3], CHEN Qi[4], FAN Kai[1], LI Shuang[1], HOU Rui[1], LI Li[1], WANG Chuan[1], LIU Jun[1], JI Lili[2], WEN Xueping[1]

(1.College of Food and Brewing Engineering, Sichuan University of Science and Engineering, Yibin 640000, China;
2.Sichuan Provincial Key Laboratory of Meat Processing, Chengdu University, Chengdu 610106, China;
3.Wuliangye Yibin Co., Ltd., Yibin 644000, China;
4.Sichuan Tobacco Industrial Co., Ltd., Changcheng Cigar Factory, Shifang 618499, China)

Abstract: In this study, we systematically evaluated the *in vitro* characteristics of *Bacillus velezensis* SL to assess its potential as a probiotic. The probiotic properties of strain SL were systematically evaluated using a simulated gastrointestinal tolerance test, antibiotic sensitivity test, cell surface characteristic analysis, antioxidant activity determination, bacteriostatic ability test, and metabolomics technology. The results showed that the survival rate of strain

收稿日期: 2025−01−17
基金项目: 五粮液集团公司产学研合作项目（CXY2022ZR002）; 四川轻化工大学“652”科研创新团队计划资助（SUSE652B003）; 四川轻化工大学“大学生创新创业训练计划”项目（CX2023139）; 肉类加工四川省重点实验室开放基金（20-R-12）; 四川中烟工业有限责任公司长城雪茄烟厂校企合作项目（202406）。
作者简介: 刘方祥（2000−）, 男, 硕士研究生, 研究方向: 微生物代谢调控, E-mail: 941276988@qq.com。
*** 通信作者:** 王风青（1984−）, 女, 博士, 副教授, 研究方向: 工业微生物发酵, E-mail: 254238766@qq.com。

SL in the simulated intestinal fluid exceeded 80%. However, gastric acid tolerance was poor (120 min survival rate was 4.11%), and tolerance to high concentrations of bile salt (0.6%) was good. In addition, strain SL was sensitive to seven antibiotics and did not harbor any resistance genes. The hydrophobicity of the bacteria was 19.08%, and the self-aggregation rate at 12 h was 86%, indicating strong intestinal colonization potential. In the antioxidant experiment, the scavenging rates of strain SL on hydroxyl radicals (·OH) and superoxide anions (O_2^{-}·) were 23.84% and 34.18%, respectively, and the scavenging rates of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ($ABTS^{+}$) radical were 37.40% and 36.52%, respectively, indicating moderate free radical scavenging abilities. Strain SL showed a certain bacteriostatic effect on pathogenic bacteria such as *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, and *Staphylococcus aureus*, and exhibited a good inhibitory effect on Gram-positive bacteria. Metabolomic analysis identified both volatile (such as isobutyric acid and 2-methylbutyric acid) and nonvolatile (such as 9-nitrooleic acid, danye-emodin, and palmitoylglycine) metabolites with potential benefits for digestive enzyme activity and intestinal development, as well as anti-inflammatory, antimicrobial, and antioxidant properties. These results indicated that strain SL has the potential to be developed as a microecological agent. However, the stability of gastric acid should be enhanced by embedding or strain improvement to optimize its application performance.

Key words: *Bacillus velezensis*; probiotic properties; gastrointestinal tolerance; antioxidant; metabolite analysis; microecologics

贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)在自然界中分布广泛, 在土壤、动植物体内、池塘、海洋等均有发现[1]。贝莱斯芽孢杆菌易于分离和培养, 对人畜无害, 不污染环境, 其代谢物丰富, 抗菌谱广, 抗应激能力强, 具有生长快、稳定性好的特点[2]; 贝莱斯芽孢杆菌能够改善动物肠道微生物菌群、调节机体脂肪代谢、增强机体免疫力、促进消化吸收[3]。

贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)作为一种重要的益生菌, 近年来在畜牧业和农业中得到了广泛的关注。研究表明, 贝莱斯芽孢杆菌具有多种益生特性, 包括调节肠道菌群平衡、增强免疫反应、促进营养吸收以及抑制病原菌的生长[1]。因其产生的多种抗菌化合物可以有效抑制病原菌的生长, 从而维持肠道微生物的健康平衡而备受关注。有研究表明, 贝莱斯芽孢杆菌能够通过产生环脂肽类抗菌物质来抑制多种病原菌的生长, 这些物质在低温下仍具有较强的抗菌活性, 并且能够对抗如金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌等常见病原菌[4]。贝莱斯芽孢杆菌的抗菌活性不仅有助于减少动物疾病的发生, 还能提高动物的整体健康水平。这种益生菌通过调节宿主的免疫系统, 增强宿主对病原菌的抵抗力, 从而在动物健康管理中发挥重要作用[5]。因此, 贝莱斯芽孢杆菌作为一种天然的抗生素替代品, 具有广阔的应用前景。

贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)的益生功能主要依赖于其丰富的代谢产物。这些代谢产物包括多种抑菌物质, 如脂肽类、细菌素和聚酮化合物等。脂肽类物质在贝莱斯芽孢杆菌中被广泛研究, 具有显著的抗菌和抗真菌活性。有相关研究表明, 贝莱斯芽孢杆菌能够产生多种脂肽, 包括枯草菌素和表面活性素, 这些物质在抑制病原菌生长方面表现出强大的潜力[6−7]。贝莱斯芽孢杆菌还能够分泌多种消化酶, 如蛋白酶和脂肪酶, 这些酶在促进宿主的消化功能和营养吸收方面发挥重要作用。研究显示, 外源性消化酶的补充可以显著改善动物的肠道微生物群组成, 从而增强整体健康[8]。贝莱斯芽孢杆菌的代谢产物还包括抗氧化活性成分, 这些成分能够有效清除自由基, 减缓氧化应激对机体的损伤。研究发现, 贝莱斯芽孢杆菌产生的某些代谢物具有显著的抗氧化能力, 这为其在食品和药品中的应用提供了科学依据[9]。此外, 贝莱斯芽孢杆菌在植物保护中也展现出重要作用。其产生的次级代谢物能够有效抑制植物病原菌的生长, 增强植物的抗病能力。这种生物控制策略不仅环保, 而且可持续, 具有广阔的应用前景[10]。

总之, 贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)作为一种功能强大的益生菌, 其代谢产物在抗菌、促进消化、抗氧化以及植物保护等方面展现出多样化的功能, 为其在食品、农业和医药领域的应用提供了广泛的可能性[11−12]。本研究以一株菌株 SL 为研究对象, 通过体外实验系统评估其胃肠道耐受性、细胞表面特性(疏水性和自聚集能力)、抗氧化活性及抗生素敏感性, 并分析其抑菌能力及代谢产物组成。通过构建多维评价体系并深度解析其代谢机制, 明确了该菌株的产业化应用路径, 推动了基础研究成果向产业应用的转化。菌株 SL 的研究不仅验证了贝莱斯芽孢杆菌的共性益生功能, 更通过菌株特异性功能挖掘, 揭示了其独特的代谢产物组合及关键优化靶点(如胃酸稳定性增强), 为开发下一代高效、安全的微生态制剂提供了不可替代的菌种资源和理论依据。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

贝莱芽孢杆菌 SL(*Bacillus velezensis* SL)、产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*)　均由四川轻化工大学生物发酵技术及应用实验室筛选保藏; 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)ATCC6538、沙门氏菌(*Salmonella*)ATCC14028、大肠杆菌(*Escherichia coli*)ATCCK88　购自北京百欧博伟生物; 葡萄糖、蛋白胨、牛肉浸粉、氯化钠、TSC 培养基、

PBS 试剂等　购于成都市科隆化学品有限公司；胃蛋白酶(3000 nfu/g)、胰蛋白酶(250 nfu/g)、猪胆盐、DPPH、ABTS 等试剂　购自上海索莱宝生物科技有限公司；二甲苯、$FeSO_4$、邻苯三酚、抗坏血酸、青霉素、氨苄西林、复方新诺明、氯霉素、丁胺卡那、头孢唑林、红霉素　购自杭州滨和微生物试剂有限公司；NB 培养基组成：蛋白胨 10 g/L、牛肉浸粉 3 g/L、氯化钠 5 g/L，pH7.0±0.2；LB 培养基组成：酵母提取物 5.0 g/L，胰蛋白胨 10 g/L，氯化钠 10.0 g/L，pH7.0±0.2。

T-114 分析天平　北京赛多利斯仪器系统有限公司；LS-B53U 立式压力蒸汽灭菌器　上海医用核子仪器厂；T6 紫外-分光光度计　北京普析通用仪器有限公司；TG-20 台式高速离心机　四川蜀科仪器有限公司；MF80BSH 霉菌培养箱　上海新苗医疗器械制造有限公司；QYC-2102C 恒温培养摇床　上海福马实验设备有限公司；Thermo Scientific 7610 GC-MS　江苏天瑞仪器股份有限公司；Q-Exactive HF-X 质谱仪　赛默飞世尔科技；MS105DU 电子分析天平　梅特勒托利多集团。

1.2　实验方法

1.2.1　贝莱斯芽孢杆菌 SL 生长曲线的测定　从菌株 SL 斜面培养基中挑取菌落，接种于 NB 培养基，在 37 ℃，210 r/min 条件下培养，每隔 2 h 测定其 $OD_{600\ nm}$ 值以及芽孢率。以 OD 值和芽孢率为纵坐标，时间为横坐标制图。

芽孢计数方法：上述梯度稀释液，水浴 80 ℃，10 min，冷却后摇匀涂布。取 0.1 mL 涂布，3 个平行样。平板在 35 ℃ 恒温培养箱倒置培养 48 h 计数。

1.2.2　贝莱斯芽孢杆菌 SL 的胃肠道耐受性　将培养 24 h 的菌株 SL 菌液按照 1∶10 的比例加入模拟胃液、肠液及胆盐中，置于 37 ℃ 水浴锅中保温 2.5 h，每 0.5 h 进行稀释涂布活菌计数。

1.2.2.1　模拟胃部环境　用盐酸将无菌生理盐水的 pH 调至 2.5，每 100 mL 中加入 0.5 g 胃蛋白酶，混匀后过 0.22 μm 滤膜除菌，备用。将培养 24 h 的菌株 SL 菌液按照 1∶10 的比例加入上述模拟胃液中，置于 37 ℃ 水浴锅中保温 2.5 h，每 0.5 h 进行稀释涂布活菌计数。菌体的存活得率参照式(1)计算。

$$I(\%)=\frac{A_t}{A}\times 100 \qquad 式（1）$$

式中：I 为菌体存活率，%；A 为细胞总数；A_t 为模拟环境培养后的总数。

1.2.2.2　贝莱斯芽孢杆菌 SL 对模拟肠液耐受性测定　取 1.36 g 磷酸二氢钾加入 100 mL 水中溶解，回调 pH 为 6.8，加入 1 g 胰蛋白酶，混匀后用 0.2 μm 无菌过滤器过滤除菌后备用。将培养 24 h 的菌株 SL 菌液按照 1∶10 的比例加入上述模拟肠液中，置于 37 ℃ 水浴锅中保温 2.5 h，每隔 0.5 h 进行稀释涂布活菌计数。菌体的存活得率参照式(1)计算。

1.2.2.3　贝莱斯芽孢杆菌 SL 对模拟胆盐耐受性测定　配制 1000 mL NB 培养基，均匀分装至 14 个 50 mL 锥形瓶中，分成两组，每组 7 个，分别加入 0、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6% 的猪胆盐，灭菌冷却后按照 10% 的接种量接种菌株 SL 种子液，37 ℃ 培养 24 h 后测量 600 nm 吸光度。

1.2.3　贝莱斯芽孢杆菌 SL 抗生素敏感性　参照《抗微生物药物敏感性试验规范(第 2 版)》中纸片扩散法进行菌株 SL 的抗生素药敏试验。将菌株 SL 培养液(1×10^8 CFU/mL)均匀地涂布于装有营养肉汤琼脂培养基的培养皿上，将抗生素试片置于平板中，在 37 ℃ 下培养 24 h，测量抗生素对贝莱斯芽孢杆菌产生的抑菌圈直径，以此评估对不同抗生素的敏感性。

纸片扩散法药敏纸片的药物含量如表 1 所示，每组设置 3 个平行样品，对在反射光下肉眼可见无明显菌落生长的区域，以游标卡尺采用十字交叉法测量抑菌圈的直径(以整毫米数计)。

表 1　抗生素药物含量

Table 1　Drug content of drug sensitive paper

抗生素名称	每片药物含量(μg/片)	抗生素名称	每片药物含量(μg/片)
红霉素	15	头孢唑林	30
青霉素G	10	诺氟沙星	10
氨苄西林	10	复方新诺明	1.25
丁胺卡那	30		

1.2.4　贝莱斯芽孢杆菌 SL 的疏水性和自聚集性　参照孙群等[13]的方法评价贝莱斯芽孢杆菌的自聚集性与疏水性，600 nm 处调节 OD 值至 0.5(A_0)，将培养 24 h 的菌液分别取 2 mL 混匀菌悬液 2 份：一份菌悬液室温下静置 3 h 后，取 200 μL 上清液，600 nm 处测定 OD 值(A_1)；另一份菌悬液和等体积的二甲苯充分混合 2 min，静置 30 min 使两相分离，取水相在 600 nm 处测定吸光值(A_2)。以生理盐水作为空白。自聚集性与疏水性计算公式参照式(2)和式(3)。

$$自聚集性(\%)=\left(1-\frac{A_1}{A_0}\right)\times 100 \qquad 式（2）$$

$$疏水性(\%)=\frac{A_0-A_2}{A_0}\times 100 \qquad 式（3）$$

式中：A_0 为 600 nm 处初始菌液的 OD 值；A_1 为静置 3 h 后上清液在 600 nm 处的 OD 值；A_2 为与二甲苯混匀后水相在 600 nm 处的 OD 值。

1.2.5　贝莱斯芽孢杆菌 SL 的抗氧化活性

1.2.5.1　·OH 清除率的测定　实验参考潘丽军等[14]的方法，向试管内加入 1 mL 浓度为 0.75 mmol/L 的邻二氮菲无水乙醇溶液，然后依次添加 2 mL 浓度为 0.15 mmol/L、pH 为 7.40 的磷酸盐缓冲溶液(PBS)和 1 mL 蒸馏水，混合均匀。接着，加入 1 mL 浓度为 0.75 mmol/L 的 $FeSO_4\cdot7H_2O$ 溶液，并再次混匀。

随后，加入 1 mL 浓度为 0.01% 的过氧化氢（H_2O_2），将试管置于 37 ℃ 的水浴中反应 60 min。反应完成后，在 536 nm 波长下测定吸光度 A_1。对于空白组，用蒸馏水替代对照组中的 H_2O_2，其他操作相同，测定吸光度 A_2。对于样品组，加入相同体积的菌液以替代对照组中的蒸馏水，其他操作条件不变，测定吸光度 A_0。每个样品需进行三次平行实验，并计算平均值，清除率计算见式（4）。

$$\cdot OH清除率(\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_2 - A_1} \times 100 \qquad 式（4）$$

式中：A_2 为未损伤管在 536 nm 的吸光度；A_1 为损伤管在 536 nm 的吸光度。

1.2.5.2　$O_2^-\cdot$清除率的测定　参照姚钰蓉[15]方法，在试管里加入 4.5 mL 浓度为 0.05 mol/L、pH 为 8.2 的 Tris-HCl 缓冲液，然后向每个试管中分别加入 50 μL 的待测菌液样品，对于空白对照组，加入相同体积的蒸馏水，接着向每个试管中加入 25 μL 浓度为 0.045 mol/L 的邻苯三酚溶液，振荡试管并开始计时 3 min，然后加入 50 μL 的 10% 抗坏血酸溶液以终止反应，在 325 nm 波长处测量吸光度。$O_2^-\cdot$清除率计算见式（5）。

$$O_2^-\cdot 清除率(\%) = \frac{A_0 - A_S}{A_0} \times 100 \qquad 式（5）$$

式中：A_0 为空白样吸光度；A_S 为待测样品吸光度。

1.2.5.3　DPPH 自由基清除测定　参照 Datta 等[16]的方法进行。采用离心 15000 r/min（离心力 15640×g，时间 10 min）产生菌体沉淀，洗涤后重新加入 0.9% 氯化钠水溶液制成悬浮液。在试管中先加入 2 mL 菌体悬浮液，再加入 2 mL DPPH 溶液（0.2 mmol/L 乙醇溶液），充分振荡后置于室温下避光环境反应 30 min，将反应液以 15000 r/min 离心，10 min 得上清液，在比色皿中取 2 mL 上清液加入，测定在 517 nm 处吸光值。DPPH 自由基清除率计算公式见式（6）。

$$DPPH自由基清除率(\%) = \left(1 - \frac{A_0}{A_1}\right) \times 100 \qquad 式（6）$$

式中：A_0 为试样在 517 nm 处的吸光值；A_1 为对照组在 517 nm 处的吸光值。

1.2.5.4　$ABTS^+$自由基清除率测定　参照孟歌等[17]的方法。取 1 mL 培养 24 h 的菌株 SL 培养液，加入到 4.0 mL 的 ABTS 工作液中，充分混合后，避光反应 30 min，然后测量其在 734 nm 波长下的光密度值（A_1）。以加入 1 mL 50% 体积分数乙醇的溶液作为空白对照（A_0），每组实验设置 3 个平行样本。发酵液对 $ABTS^+$自由基的清除率用式（7）计算：

$$ABTS^+自由基清除率(\%) = (A_0 - A_1)/A_0 \times 100 \qquad 式（7）$$

式中：A_0 为空白对照组在 734 nm 处的吸光值；A_1 为实验组在 734 nm 处的吸光值。

1.2.6　贝莱斯芽孢杆菌 SL 的抑菌能力　抑菌试验采用牛津杯法[18]。取 1 mL 活化后的病原菌菌液（10^8 CFU/mL）加入到 100 mL LB 灭菌后的培养基中（产气荚膜梭菌采用 TSC 培养基培养），充分混合均匀，分别倒入培养皿中，待培养基冷凝后，放入牛津杯，将 100 μL 培养 24 h 后的贝莱斯芽孢杆菌菌液和生理盐水分别加入到牛津杯中，37 ℃ 静置培养 24 h，测量抑菌圈直径。

1.2.7　贝莱斯芽孢杆菌 SL 代谢产物分析

1.2.7.1　GC-MS 挥发性代谢物质分析　将菌株 SL 的种子液按 2% 的接种量，接种于 NB 培养基，在 37 ℃，210 r/min 条件下培养 24 h，培养结束后，发酵液经 8000 r/min 离心 10 min，收集上清液，进行 GC-MS 检测。GC-MS 色谱条件为 DB-WAX 色谱柱（60 mm×250 μm×0.25 μm）；程序升温：初温 50 ℃，保持 3 min，再以 5 ℃/min 到 120 ℃，保持 1 min，再以 10 ℃/min 到 230 ℃，保持 5 min；载气为氦气，不分流进样，体积流量为 1.0 mL/min。MS 条件：离子源为 EI 源；离子化能量 70 eV，采集模式为全扫描，离子源温度 230 ℃，MS 四极杆温度 150 ℃，溶剂延迟 3 min。

基于多物种、文献、部分标品以及保留指数，自主建立数据库，包含确定的 RT 以及定性定量离子进行选择离子检测模式进行精准扫描，每种化合物分别选择 1 个定量离子，2~3 个定性离子。每组所有需要检测的离子按照出峰顺序，分时段分别检测，如果检出的保留时间与标准参考相一致，并且在扣除背景后的样品质谱图中，所选择的离子均出现，判定为该物质；选择定量离子进行积分和校正工作，增强定量的准确性。

1.2.7.2　LC-MS 非靶向代谢组学分析　将菌株 SL 的种子液按 2% 的接种量，接种于 NB 培养基，在 37 ℃，210 r/min 条件下培养 24 h，收集发酵液并进行 GC-MS 检测。培养 24 h 的发酵液作为样品组，培养时间 0 h 液体作为对照组（CK），进行 LC-MS 检测（武汉迈维代谢生物科技股份有限公司）。

LC-MS UHPLC-Q-Exactive HF-X 系统（赛默飞公司）色谱条件为：色谱柱 Waters ACQUITY UPLC HSS T3（Column 1.8 μm，2.1 mm×100 mm）；流动相 A 组超纯水（含 0.1% 的甲酸），流动相 B 组为乙腈（含 0.1% 的甲酸）；仪器气温为 40 ℃；流速 0.4 L/min；进样量为 4 μL。质谱条件：样品质谱信号采集采用正负离子模式扫描模式，采集时间 10 min；离子化电压 5000 V/−4000 V；离子源温度 550 ℃；喷雾气 50 psi；辅助加热气 60 psi；气帘气 35 psi；去簇电压 60 V/−60 V；MS1 碰撞能量 10 V/−10 V、MS2 碰撞能量 30 V/−30 V、碰撞能量步长 15 V/−15 V；MS1 质量范围 50~1250 Da、MS2 质量范围 25~1250 Da。

数据分析使用武汉迈维代谢生物科技股份有限

公司提供的分析平台进行微生物代谢组学 QC、微生物代谢物鉴定与统计、差异代谢物分析。

1.3 数据处理

使用软件 SPSS 对数据进行分析，两个数据采用 *t* 检验分析，多个数据采用单因素方差分析进行差异显著性分析（$P<0.05$），实验结果使用平均值±标准差（mean±SD）表示，不同字母表示结果差异性，采用 Origin2016 软件作图。

通过结合单变量统计分析和多变量统计分析的方法，并根据数据特性从多角度分析，最终准确地挖掘差异代谢物。

2 结果与分析

2.1 生长曲线

菌株 SL 的生长曲线结果如图 1，该菌株大致呈现出典型的“S”形，0~6 h 内增长较为缓慢，此阶段为延滞期；6~18 h，增长速率最快，此阶段为生长对数期；18 h 后几乎不增长，即为稳定期。在芽孢杆菌的生长过程中，细胞会经历一个快速增长的指数期，随后进入一个稳定的停滞期[19]。芽孢的形成和成熟受到多种因素的影响，包括环境条件如温度、pH 和营养物质[20]，该菌株的芽孢形成始于对数期末期（约 12 h），24 h 时芽孢率可达 80%，这一时间节点与文献 [21] 报道的贝莱斯芽孢杆菌芽孢发育特征相符。

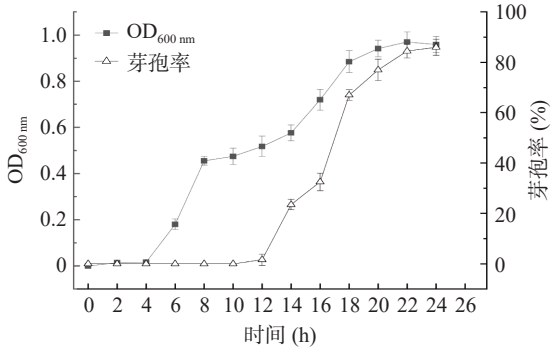


图 1 贝莱斯芽孢杆菌 SL 生长曲线及芽孢率

Fig.1 Growth curve and spore rate of *Bacillus velezensis* SL

2.2 贝莱斯芽孢杆菌 SL 体外模拟胃肠道耐受性

益生菌是指能够定植于宿主（如人类、动物）肠道或生殖系统，并通过其活性微生物、代谢产物及酶类物质发挥健康促进作用的微生物群体[22]。这就要求益生菌在机体内胃酸、胆盐和消化液环境下具有耐受性，因此测定菌株 SL 在模拟胃肠道及胆盐环境下的存活率评估其耐受能力。从表 2 得出菌株 SL 在模拟胃液中处理时间 60 min 时，菌株存活率达到了最大值 26.34%±0.12%（$P<0.05$），随着时间增加，菌株在胃液中菌数存活率下降，120 min 后菌数的存活率只有 4.11%±0.17%（$P<0.05$），而菌株 SL 在模拟肠道环境下有很好的存活率，平均值在 80% 以上，在 60 min 时菌株在肠液的存活率达到了最大值 90.34%±0.69%（$P<0.05$）；表明菌株在模拟肠道环境下的耐受性较好。模拟胆盐耐受性试验结果如图 2 所示，胆盐浓度在 0.1%~0.3% 时，$OD_{600\ nm}$ 升高速率最快，在 0.3% 达到峰值，胆盐浓度在 0.3%~0.5% 时，$OD_{600\ nm}$ 有下降趋势，胆盐浓度在 0.5%~0.6% 有缓慢回升，可能与菌株 SL 的胆盐水解酶活性增强或细胞膜成分适应性调整相关[23]，试验表明菌株 SL 在高浓度胆盐 0.3%~0.6% 具有良好的耐受性，高于吴诗卉等[24] 报道的柯乐猪源贝莱斯芽孢杆菌（胆盐耐受 0.3%）和周世伟等[25] 报道的枯草芽孢杆菌 YB1220（胆盐耐受 0.5%）。

表 2 贝莱斯芽孢杆菌 SL 在模拟胃液、肠液的耐受性

Table 2 Tolerance of *Bacillus velezensis* SL in simulated gastric fluid and intestinal fluid

指标	30 min	60 min	90 min	120 min
模拟胃液菌数存活率(%)	22.78±0.12^{b}	26.34±0.12^{a}	11.55±0.28^{c}	4.11±0.17^{d}
模拟肠液菌数存活率(%)	88.23±0.71^{c}	90.34±0.69^{a}	89.66±0.65^{b}	85.22±0.67^{d}

注：不同字母表示同一行差异显著（$P<0.05$）。

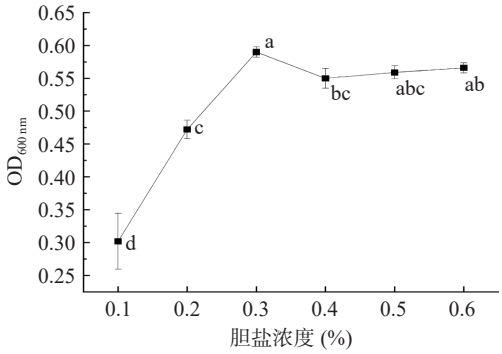


图 2 贝莱斯芽孢杆菌 SL 的胆盐耐受性

Fig.2 Tolerance of *Bacillus velezensis* SL in simulated bile salt experiment

注：不同字母表示不同胆盐浓度之间差异显著（$P<0.05$）。

2.3 贝莱斯芽孢杆菌 SL 抗生素敏感性

抗生素通过影响细胞壁合成、细胞膜的通透性、菌体蛋白质形成、基因表达来控制细菌增殖。作为饲用益生菌除了保证其食用安全外，还要保证生物安全，检测益生菌的抗药性是评估其生物安全性的一个重要指标[26]。抗生素的使用对微生物群落有明显的

表 3 抗生素敏感性

Table 3 Antibiotic susceptibility

编号	抗生素种类	药敏片含量（μg）	判定标准			抑菌圈直径（mm）	敏感度
			R	I	S		
1	头孢唑林	30	≤14	14~18	≥18	46±1	S
2	氨苄西林	10	≤13	13~15	≥15	18±2	S
3	红霉素	15	≤15	15~21	≥21	23±1	S
4	诺氟沙星	10	≤13	13~17	≥17	25±1	S
5	青霉素G	10	≤14	14~15	≥15	18±2	S
6	复方新诺明	1.25	≤10	10~16	≥16	17±1	S
7	丁胺卡那	30	≤14	14~17	≥17	25±1	S

注：S为敏感；I为中等；R为耐药。

影响, 尤其是在抑制有害细菌的同时, 也可能对有益细菌产生不利影响。因此, 益生菌产品与抗生素的错峰使用是一个重要的策略, 以确保益生菌的有效性和安全性[27]。研究表明, 抗生素会扰乱肠道微生物群的组成和功能, 而益生菌可以在一定程度上帮助恢复这种平衡, 减少抗生素相关的副作用[28]。本研究基于养殖行业中常见的 7 种抗生素种类进行药物敏感性试验, 菌株 SL 的敏感性结果如表 3, 该菌株对 7 种抗生素都表现出敏感性, 特别头孢唑林对贝莱斯芽孢杆菌的抑菌圈直径达到了 46 mm, 说明对头孢唑林最敏感, 菌株 SL 药物敏感性试验结果与吴诗卉等[24]报道的柯乐猪源贝莱斯芽孢杆菌相似, 均不具备耐药性基因。

2.4　贝莱斯芽孢杆菌 SL 的疏水性和自聚集性

益生菌粘附性是菌株与宿主肠道细胞作用的前提, 粘附性的高低决定了其定植的程度和数量[29]。自聚性有助于益生菌形成生物膜定植于宿主肠道、阻止病原菌的粘附, 疏水性是益生菌非特异性粘附到生物体表面的重要动力, 故自聚性和疏水性与益生菌的粘附性密切相关[30]。菌体的自聚集性在微生物生态系统中扮演着重要角色。研究表明, 细菌的自聚集性与其在肠道中的生存能力密切相关, 自聚集性强的菌体能够更好地在肠道中聚集, 形成更大的生物量, 从而提高其在竞争激烈的环境中的生存优势[31]。此外, 细菌的疏水性也是影响自聚集性的重要因素。疏水性越强, 细菌之间的相互吸引力越大, 从而促进自聚集的发生[32]。疏水性研究结果如表 4 所示, 该菌株的疏水能力为 19.08%±0.34%, 与表 4 内常见益生菌的疏水性相比处于偏下水平, 与刘纯[33] 试验用地衣芽孢杆菌的结果 16.42%±0.06% 相近。自聚性研究结果如图 3 所示, 在 2~4 h 时间内, 自聚性能力增长速率较快, 4~6 h 自聚性能力降低, 6~12 h 自聚性能力缓慢增长, 最终在 12 h 达到了最大值, 说明菌株进入机体内后在短时间内就迅速聚集形成一定规模后发挥作用。以上结果表明, 菌株 SL 的疏水性一般, 但是自聚性较强, 具有一定的粘附性和自聚能力。

表 4　常见益生菌的疏水率

Table 4　Hydrophobicity of common probiotics

菌株	编号	疏水性(%)	参考文献
贝莱斯芽孢杆菌	SL	19.08±0.34	本研究
地衣芽孢杆菌	L-2	16.42±0.06	[33]
枯草芽孢杆菌	N2-10	31.90±2.76	[34]
牛源乳酸菌	L29	55.2±0.031	[35]
副干酪乳杆菌	L1	9.70±0.80	[36]
卷曲乳杆菌	Y68	89.59±0.63	[37]
粪肠球菌	BN6	47.8	[38]
布拉迪酵母	BD-2	54.12	[39]

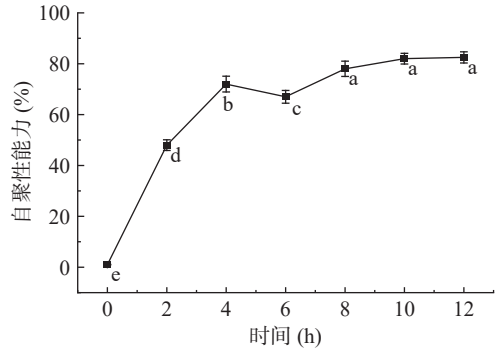


图 3　贝莱斯芽孢杆菌 SL 自聚集性能力

Fig.3　Autoaggregation ability of *Bacillus velezensis* SL

注: 不同字母表示不同处理时间差异显著(P<0.05)。

2.5　贝莱斯芽孢杆菌 SL 的抗氧化活性

抗氧化活性是指物质能够中和自由基的特性。自由基是人体代谢过程中产生的高活性分子, 会攻击细胞膜、蛋白质和 DNA 等生物大分子, 导致细胞损伤和组织功能障碍[40]。通过膳食或补充剂摄入具有抗氧化活性的物质, 能够有效清除体内过量自由基, 从而降低氧化应激对机体的损害[41]。抗氧化活性是评价益生菌指标的特征之一, 对菌株 SL 菌液的 ·OH、O_2^{-}·、DPPH 自由基和 $ABTS^{+}$自由基清除率研究结果如表 5。

表 5　抗氧化能力结果

Table 5　Results of antioxidant capacity

指标	0 h	24 h
O_2^{-}·清除率(%)	0.14±0.02^{a}	34.18±0.02^{c}
·OH清除率(%)	0.24±0.01^{a}	23.84±0.01^{d}
DPPH·清除率(%)	0.21±0.05^{a}	37.40±2.63^{a}
$ABTS^{+}$·清除率(%)	0.16±0.03^{a}	36.52±2.57^{b}

注: 同列不同小写字母表述数据差异显著, P<0.05。

实验结果显示, 培养 24 h 的菌株 SL 菌液对 DPPH 自由基和 $ABTS^{+}$自由基的清除有一定效果, 清除率分别达到了 37.40%±2.63% 和 36.52%±2.57%; 该菌株的 DPPH 自由基清除率低于解淀粉芽孢杆菌(81%)[42] 和布拉迪酵母(73.27%)[39], 但高于粪肠球菌 BN6[38](26.83%); 其超氧阴离子清除率优于解淀粉芽孢杆菌(31%)[42]。这些数据表明, 贝莱斯芽孢杆菌 SL 菌株具有一定的抗氧化能力。

2.6　贝莱斯芽孢杆菌 SL 的抑菌能力

本试验采用牛津杯法测定菌株的抑菌能力, 抑菌圈直径的大小代表了抑菌能力的强弱。选取常见的四种病原菌进行抑菌实验, 贝莱斯芽孢杆菌对病原菌金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、大肠杆菌、产气荚膜

表 6　抑菌能力

Table 6　Bacteriostatic effect

菌株	菌液抑菌圈直径(mm)
金黄色葡萄球菌	21.94±0.21^{a}
沙门氏菌	14.54±0.24^{b}
大肠杆菌	9.36±0.12^{d}
产气荚膜梭菌	12.36±0.21^{c}

注: 不同字母表示同一列差异显著(P<0.05)。

表 7 贝莱斯芽孢杆菌挥发性代谢物质分析结果

Table 7 Analysis of volatile metabolites from *Bacillus velezensis* fermentation broth

序号	英文名称	中文名称	占比(%)
1	2-Formylhistamine	2-甲基组胺	6.9
2	NiCKel tetracarbonyl	四羰基镍	0.92
3	N-Nitroso-2-methyl-oxazolidine	N-亚硝基-2-甲基恶唑烷	9.11
4	à-[4-Chlorophenyl]-à-ethyl-4-piperi dine methanol	à-[4-氯苯基]-à-乙基-4-哌啶甲醇	0.53
5	Benzenepropanoic acid, 4-[(2,4-dinitrophenyl)azo]-, methyl ester	苯丙酸,4-[(2,4-二硝基苯基)偶氮]-,1-甲基乙基酯	1.86
6	Acetic acid	醋酸	18.08
7	2-Pentanol, 3-bromo-, (2R,3S)-	2-戊醇,3-溴-,(2R,3S)-rel-	0.27
8	Propanoic acid, 2-methyl-	异丁酸	21.58
9	4,4'-Isopropylidene-bis(2-chloroph enol)	4,4'-异亚丙基双(2-氯烯醇)	0.69
10	Glyoxal dithiosemicarbazone	乙二醛二硫代氨基脲	0.25
11	Tetrahydropyrrole-3-ol-5-carboxylic acid, 1-acetyl-, methyl ester	四氢吡咯-3-醇-5-羧酸,1-乙酰基,甲酯	0.38
12	Butanoic acid	丁酸	0.58
13	2-(3,4-Dimethyl-*α*-thiosemicarbazide acid)	2-(3,4-二甲基-alpha-氨硫代氨基脲基)苯甲酸	0.31
14	Butanoic acid, 2-methyl-	2-甲基丁酸	12.12
15	Ethane	乙烷	0.2
16	1H,4H-Benzimidazol-4(5H)-one, 6,7-dihydro-1-hydroxy-2-methyl-3 -oxido-, oxime	1H,4H-苯并咪唑-4(5H)-酮,6,7-二氢-1-羟基-2-甲基-3-氧代,肟化型	0.98
17	Mannosamine	甘露糖胺	0.442
18	Guanidine, monothiocyanate	单硫氰酸胍	0.31
19	1-Benzyl-3-diethylamino-4-piperidinol	1-苄基-3-二乙氨基-4-哌啶醇	0.48
20	3-fluoroamphetamine	3-氟苯丙胺	0.91
21	Hexanoic acid	己酸	20.7
22	Butanal, propylhydrazone	丁醛丙腙	3.46

梭菌实验结果如表 6 所示。贝莱斯芽孢杆菌菌液对金黄色葡萄球菌的抑菌能力最大,其抑菌圈大小为 21.94±0.21 mm(P<0.05),对大肠杆菌的抑菌能力较弱。贝莱斯芽孢杆菌对革兰氏阳性菌的抑制作用更强,主要因为革兰氏阳性菌的厚层肽聚糖更容易被识别为脂肽类而被直接破坏,导致细胞壁崩解[43]。在本次实验中,菌株 SL 表现出了一定的抑菌能力,其抑菌圈直径相较于任廷亿等[44] 报道的太行鸡源贝莱斯芽孢杆菌更大。这一结果显示了菌株 SL 在抑制病原菌生长方面的优势。

2.7 贝莱斯芽孢杆菌 SL 的代谢产物分析

2.7.1 挥发性代谢产物分析 表 7 为菌株 SL 的代谢物质的分析结果,表明挥发性代谢产物总共出现了 22 种物质,包括酸类(6 种),酯类(3 种)、醇类(3 种)、和有机类物质(10 种),其中酸类物质占比最多为 60.94%,分别为醋酸、异丁酸、丁酸、2-(3,4-二甲基-alpha-氨硫代氨基脲基)苯甲酸、2-甲基丁酸和己酸。以往的研究发现贝莱斯芽孢杆菌在生长繁殖过程中产生的挥发性物质分为酸类、醇类、酯类,其余的贝莱斯芽孢杆菌还可产生酮类、烷类、苯类等挥发性物质[45−47]。本研究中挥发性物质占比最大的是异丁酸,占比 21.58%;其次为己酸,占比为 20.7%;第三为醋酸(18.08%)。有研究表明异丁酸与纤维素分解酶作为断奶前后犊牛日粮补充物,能够提高麦芽糖酶活性、淀粉酶活性、胰蛋白酶活性等酶活性,增强消化系统的发育,促进小肠发育[48−50]。2-甲基丁酸是一种支链脂肪酸,它是由反刍动物中的瘤胃微生物在发酵过程中,将支链氨基酸进行氧化脱氢和脱羧基后产生的,它能够促进瘤胃内的纤维分解菌生长,而且对甘薯长喙壳菌具有强烈的抑制作用[51]。由此可知,试验菌株发酵液的挥发性物质具有增强机体的消化

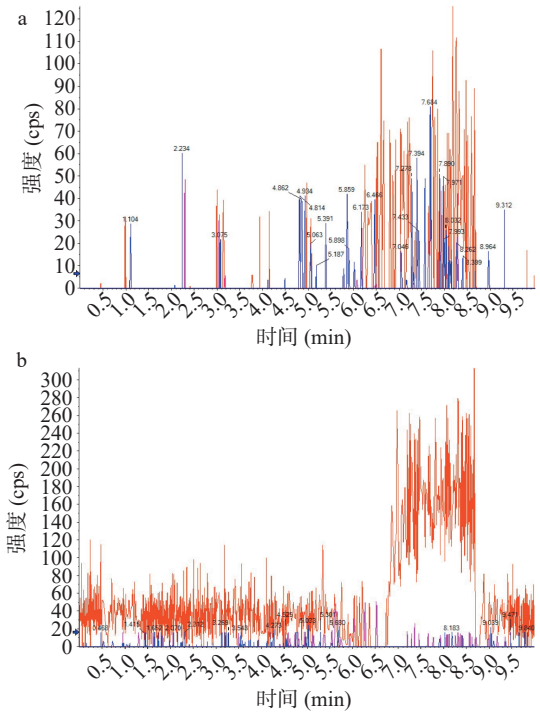


图 4 正(a)、负离子(b)QC 样本质谱检测 TIC 重叠图

Fig.4 TIC of QC samples of sample from in the positive (a) and negative (b) ion mode

器官发育、酶活性等功效。

2.7.2　非挥发性代谢产物分析

2.7.2.1　微生物代谢组学 QC　图 4 为 QC 样本质谱检测总离子流图（TIC 图）的叠加图。结果显示代谢物的检测总离子流的曲线重叠性较高，并且保留时间和峰强度均一致，表明质谱对同一样品不同时间检测时，信号稳定性较好。仪器的高稳定性为数据的重复性和可靠性提供了重要的保障。对 QC 样本进行相关性分析，相关系数越接近于 1（至少应大于 0.8），说明整个方法稳定性越好，数据质量也越高。由图 5 可知 QC 样本相关系数均较高（>0.9），说明实验数据质量高，整个实验数据有较好的可信度。

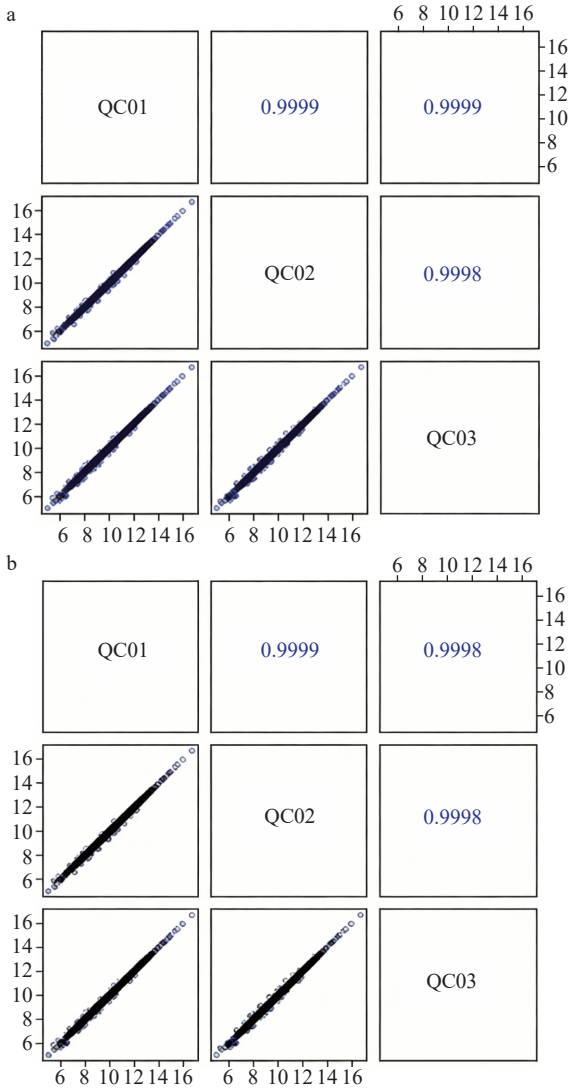


图 5　正（a）、负离子（b）QC 样本相关图

Fig.5　Correlational analysis of QC samples of samples in the positive (a) and negative (b) ion mode

注：对角线方格代表 QC 样本名称；对角线左下角方格为对应 QC 样本相关性散点图，横纵坐标分别为代谢物含量（进行 Log 处理），图中每个点代表一个代谢物；对角线右上角方格为对应 QC 样本的皮尔逊（Pearson）相关性系数。

2.7.2.2　微生物代谢物鉴定与统计　如图 6 所示，在所有离子模式下共鉴定到 3799 种代谢物；其中正离子模式（Positive）下鉴定到 2133 种代谢物；负离子模式（Negative）下鉴定到 1633 种代谢物。代谢物数目上正离子模式大于负离子模式，而代谢物种类上负离子模式多于正离子模式。正离子模式代谢物类别中氨基酸及其衍生物最多，占比达到了 46.95%，最小的为单宁（0.04%）；负离子模式代谢物类别中黄酮类占比最多（33.31%），色氨酸、胆碱、酮类衍生物占比较低，三种合计占比为 0.11%。其中负离子模式代谢物类别中相较于正离子模式多检测出色氨酸、胆碱、酮类衍生物三个种类。

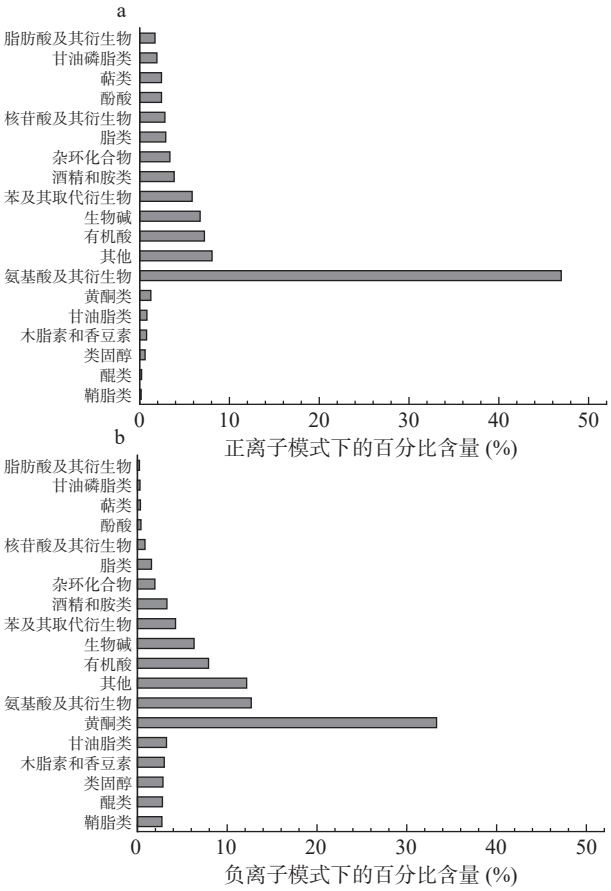


图 6　正、负离子模式代谢物类别组成

Fig.6　Category composition of metabolites in positive and negative ion modes

2.7.2.3　差异代谢物分析　菌株 SL 差异代谢物的筛选结果如图 7 所示，相比培养 0 h 对照组（CK），培养 24 h 的样品组（Culture-1 d）共筛选出差异代谢物 2179 种，其中上调有 1097 种、下调有 1082 种，其中上调物质前 20 个有脂肪酰类（1 种）、氨基酸及其衍生物（9 种）、脂质（2 种）、生物碱（2 种）、苯及其衍生物（1 种）和其他类（5 种）。比较明显的上调物质有以下几种：脂肪酰类肉碱，具有神经保护与神经促进功能、提高免疫等功能[52]；脂质 9-硝基油酸具有抗炎、抗肿瘤和抗血栓形成的活性，并且引导细胞内信号的传导，调节应激蛋白的表达[53]；脂肽类棕榈酰甘氨酸作为肠道微生物代谢物，是一种内源性脂质，具有一定的抑菌、抗炎和抗氧化能力[54]；丹叶大黄素是一种

二苯乙烯类糖苷化合物，具有抗癌活性、抗高血脂作用、抗过敏作用、抗氧化和抗菌等作用，并且作为潜在的人类细胞色素 P450 抑制剂，据报道能清除细胞内活性氧(ROS)、DPPH 自由基和过氧化氢(H_2O_2)[55]；硫代二丙酸二月桂酯作为一种食品添加剂，具有抗氧化作用，能有效地分解油脂自动氧化链反应中的氢过氧化物(ROOH)，达到中断链反应的目的[56]；组氨酸-异亮氨酸-赖氨酸、缬氨酸-甲硫氨酸-赖氨酸和 L-赖氨酸-L-缬氨酸-L-组氨酸等小短肽，在动物肠道中不仅具有较高的吸收利用效率，还具有多种生物活性，在动物的抗氧化、免疫、肌纤维和肠道发育等方面发挥积极调节作用[57]。

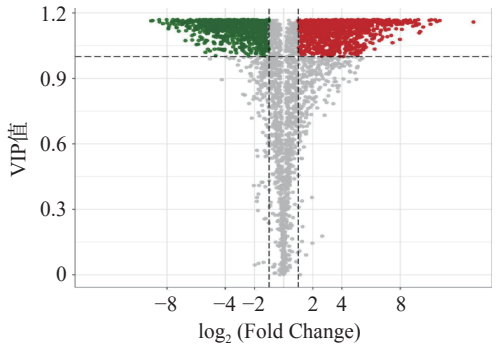


图 7 培养 0 h 与 24 h 发酵液差异代谢物火山图

Fig.7 Volcano plot of differential metabolites between 0 h and 24 h fermentation broth cultures

注：筛选标准：VIP>1，Fold Change>2。

由上述可知，菌株 SL 培养时间 24 h 后芽孢率为 80% 以上的菌液，能产生例如 9-硝基油酸、丹叶大黄素、棕榈酰甘氨酸、硫代二丙酸二月桂酯和小短肽等物质，这些物质在抗炎、抑菌、抗氧化、促进肠道发育等方面具有一定的功效，表明菌株形成芽孢后产生的代谢物质具有益生特性[58-59]。菌株 SL 产生的抑菌物质类型包括脂肽类和短肽，这与陈少先[60]贝莱斯芽孢杆菌产生脂肽类物质研究一致；同时，产生的其余活性物质如丹叶大黄素和 9-硝基油酸等体现了该菌株的抑菌活性物质多样性和独特性[58]。

3 讨论与结论

本研究系统评估了菌株 SL 的体外益生特性；然而，其在模拟胃液中的存活率较低(120 min 后仅为 4.11%)，因此该菌株在胃酸环境中的稳定性可能成为实际应用中的限制因素，未来可通过包埋技术或基因改良进一步提升其胃酸耐受性。

菌株 SL 的疏水性(19.08%)与刘纯[33]研究结果相近，但低于枯草芽孢杆菌 N2-10(31.90%)，而其自聚集能力在 12 h 达到 86%，高于部分乳酸菌(如副干酪乳杆菌 L1 为 9.70%)[36]，表明其具有快速定植潜力。这一特性为其在肠道中形成生物膜、抑制病原菌粘附提供了优势，但具体黏附机制仍需进一步研究。

在抗氧化活性方面，菌株 SL 对 DPPH 和 $ABTS^+$ 自由基的清除率均达 36% 以上，表现出中等抗氧化活性，虽逊于解淀粉芽孢杆菌(81%)[41]和布拉迪酵母(73.27%)[39]，但优于粪肠球菌 BN6(26.83%)[38]。其对超氧阴离子(清除率 34%)的抑制能力优于部分对照菌株，表明其抗氧化机制可能更偏向于直接清除活性氧自由基。这一特性为其作为抗氧化益生菌的应用提供了基础依据，但具体活性物质(如代谢产物中的酚酸或短肽)需进一步解析以明确作用靶点。

此外，代谢组学分析揭示了其丰富的代谢物组成，包括挥发性物质(如异丁酸和 2-甲基丁酸)和非挥发性物质(如 9-硝基油酸、丹叶大黄素)。这些物质在促进消化酶活性、抗炎和抗氧化方面的功能与毕小龙[48]的研究相符，但菌株 SL 独特的代谢谱(如高产棕榈酰甘氨酸和硫代二丙酸二月桂酯)为其在微生态制剂开发中提供了差异化优势。

尽管本研究证实了菌株 SL 有体外益生潜力，但仍存在以下局限：体内效果未验证，未来需通过动物实验评估其定植效率及对宿主健康的影响；代谢产物的具体作用机制(如抗炎通路)尚未明确，需结合转录组学或蛋白组学深入解析；规模化培养和制剂稳定性问题未涉及，需优化发酵工艺以保障产业化可行性。

综上所述，菌株 SL 在替代抗生素、改善肠道健康及抗氧化应用方面具有显著潜力，其独特的代谢特性为开发新型微生态制剂奠定了理论基础。后续研究应聚焦于体内功效验证、作用机制挖掘及工艺优化，以推动其在实际生产中的应用。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] KHALID F, KHALID A, FU Yuechi, et al. Potential of *Bacillus velezensis* as a probiotic in animal feed: A review[J]. Journal of Microbiology, 2021, 59(7): 627−633.

[2] 张德锋, 高艳侠, 王亚军, 等. 贝莱斯芽孢杆菌的分类、拮抗功能及其应用研究进展[J]. 微生物学通报, 2020, 47(11): 3634−3649. [ZHANG D F, GAO Y X, WANG Y J, et al. Classification, antagonistic functions and applications of *Bacillus velezensis*: A review[J]. Microbiology China, 2020, 47(11): 3634−3649.]

[3] NGALIMAT M S, YAHAYA R S R, BAHARUDIN M M A, et al. A review on the biotechnological applications of the operational group *Bacillus amyloliquefaciens*[J]. Microorganisms, 2021, 9(3): 614.

[4] REYBROECK W, DE VLEESCHOUWER M, MARCHAND S, et al. Cyclic lipodepsipeptides produced by *Pseudomonas* spp. naturally present in raw milk induce inhibitory effects on microbiological inhibitor assays for antibiotic residue screening[J]. PLoS One, 2014, 9(5): e98266.

[5] RAHEEM A, LIANG L, ZHANG G Z, et al. Modulatory effects of probiotics during pathogenic infections with emphasis on immune regulation[J]. Frontiers in Immunology, 2021, 12: 616713.

[6] WANG Ze, ZHANG Wenwen, WANG Ziyan, et al. Analysis of antimicrobial biological activity of a marine *Bacillus velezensis* NDB[J]. Archives of Microbiology, 2024, 206(3): 131.

[7] YI Yanjie, LUAN Pengyu, FAN Minghao, et al. Antifungal ef-

ficacy of *Bacillus amyloliquefaciens* ZK-9 against *Fusarium graminearum* and analysis of the potential mechanism of its lipopeptides [J]. International Journal of Food Microbiology, 2024, 422: 110821.
[8] YANG Y S, KUMRUNGSEE T, OKAZAKI Y, et al. Potential roles of exogenous proteases and lipases as prebiotics[J]. Nutrients, 2025, 17(5): 924.
[9] DAI Chunhua, SHU Zhenzhen, MA Chunfang, et al. Isolation of a surfactin-producing strain of *Bacillus subtilis* and evaluation of the probiotic potential and antioxidant activity of surfactin from fermented soybean meal[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2024, 104(14): 8469−8479.
[10] WEISBURGER J H, WEISBURGER E K, PART V. Pharmacodynamics of carcinogenic azo dyes, aromatic amines, and nitrosamines[J]. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 1963, 4(1): 110−129.
[11] LIU Shijie, ZHAO Lijun, LI Miaoyun, et al. Probiotic *Bacillus* as fermentation agents: Status, potential insights, and future perspectives[J]. Food Chemistry: X, 2024, 22: 101465.
[12] JOHNY L C, SURESH P V. Complete genome sequencing and strain characterization of a novel marine *Bacillus velezensis* FTL7 with a potential broad inhibitory spectrum against foodborne pathogens[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2022, 38(9): 164.
[13] 孙群, 易华西, 张冬, 等. 潜在益生菌的筛选及抑菌功能特性评价[J]. 食品科技, 2019, 44(12): 1−5. [SUN Q, YI H X, ZHANG D, et al. Screening of potential probiotics and evaluation of their antibacterial properties[J]. Food Science and Technology, 2019, 44(12): 1−5.]
[14] 潘丽军, 孙潇雅, 姜绍通. 紫薯复合饮料的质量指标、营养成分及抗氧化性分析[J]. 食品科学, 2013, 34(20): 165−169. [PAN L J, SUN X Y, JIANG S T. Quality indices, nutritional components and antioxidant activity of purple sweet potato compound beverage[J]. Food Science, 2013, 34(20): 165−169.]
[15] 姚钰蓉. 紫甘薯花青素的提取纯化、稳定性及抗氧化活性研究[D]. 石家庄: 河北农业大学, 2009. [YAO Y R. Extraction, purification, stability and antioxidant activity of anthocyanins from purple sweet potato[D]. Shijiazhuang: Hebei Agricultural University, 2009.]
[16] DATTA S, TIMSON D J, ANNAPURE U S. Antioxidant properties and global metabolite screening of the probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2017, 97(9): 3039−3049.
[17] 孟歌, 崔宝凯, 李春道, 等. 药用真菌灵芝液体培养过程中的抗氧化活性研究[J]. 菌物学报, 2018, 37(4): 486−501. [MENG G, CUI B K, LI C D, et al. Antioxidant activity during liquid culture of medicinal fungus *Ganoderma lucidum*[J]. Mycosystema, 2018, 37(4): 486−501.]
[18] 王冲, 李倩, 肖红英, 等. 贝莱斯芽孢杆菌 Vel-HNGD-F2 产抗菌物质发酵条件优化及抗菌特性研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2024, 45(1): 73−80. [WANG C, LI Q, XIAO H Y, et al. Optimization of fermentation conditions and antimicrobial characteristics of antibacterial substances produced by *Bacillus velezensis* Vel-HNGD-F2[J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2024, 45(1): 73−80.]
[19] ERRINGTON J, AART L T V D. Microbe profile: Bacillus subtilis: Model organism for cellular development, and industrial workhorse[J]. Microbiology, 2020, 166(5): 425-427.
[20] AZEEM M, BARBA-ALIAGA M, BORG-KARLSON A K, et al. *Heterobasidion*-growth inhibiting *Bacillus subtilis* A18 exhibits medium- and age-dependent production of lipopeptides[J]. Microbiological Research, 2019, 223−225: 129−136.
[21] LOSICK R M. *Bacillus subtilis*: A bacterium for all seasons [J]. Current Biology, 2020, 30(19): R1146−R1150.
[22] 阿热爱·巴合提, 武瑞赟, 肖梦圆, 等. 益生菌的生理功能及作用机理研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(22): 270−275. [AREAI B, WU R Y, XIAO M Y, et al. Research progress on physiological functions and mechanisms of probiotics[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(22): 270−275.]
[23] YOON J H, KIM D, JOUNG H, et al. The habituation to different concentrations of salt may variably influence the ability of *Cronobacter sakazakii, Salmonella enterica* serovar Enteritidis, *Bacillus cereus*, and *Staphylococcus aureus* to resist acid, bile salt, and heat stresses[J]. Food Microbiology, 2025, 128: 104723.
[24] 吴诗卉, 周桂仙, 王敏乐, 等. 1 株柯乐猪源贝莱斯芽孢杆菌的分离鉴定及生物学特性分析[J]. 中国畜牧兽医, 2025, 52(3): 1437−1446. [WU S H, ZHOU G X, WANG M L, et al. Isolation, identification and biological characteristics analysis of a *Bacillus velezensis* strain from Kele pigs[J]. China Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2025, 52(3): 1437−1446.]
[25] 周世伟, 周梅芳, 李倩, 等. 枯草芽孢杆菌 YB1220 的益生特性及安全性评价[J]. 中国畜牧杂志, 2025, 61(4): 323−331. [ZHOU S W, ZHOU M F, LI Q, et al. Probiotic characteristics and safety evaluation of *Bacillus subtilis* YB1220[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2025, 61(4): 323−331.]
[26] 陈童锦悦, 覃绍敏, 韦珏, 等. 竹鼠源产纤维素酶枯草芽孢杆菌的生物学特性研究及安全性初步评价[J]. 中国畜牧杂志, 2024, 60(3): 201−206. [CHEN T J Y, QIN S M, WEI J, et al. Biological characteristics and preliminary safety evaluation of cellulose-producing *Bacillus subtilis* from bamboo rats[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2024, 60(3): 201−206.]
[27] SZAJEWSKA H, SCOTT K P, de MEIJ T, et al. Antibiotic-perturbed microbiota and the role of probiotics[J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2025, 22(3): 155−172.
[28] GOLDENBERG J Z, LYTVYN L, STEURICH J, et al. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea [J]. Cochrane Database of Systematic Reviews, 2015, 12: CD004827.
[29] 陈跃. 海洋源益生芽孢杆菌的筛选、鉴定及应用研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2014. [CHEN Y. Screening, identification and application of marine-derived probiotic *Bacillus strains*[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014.]
[30] GRIGORYAN S, BAZUKYAN I, TRCHOUNIAN A. Aggregation and adhesion activity of lactobacilli isolated from fermented products *in vitro* and *in vivo*: A potential probiotic strain[J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2018, 10(2): 269−276.
[31] SECOR P R, MICHAELS L A, BUBLITZ D C, et al. The depletion mechanism actuates bacterial aggregation by exopolysaccharides and determines species distribution & composition in bacterial aggregates[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2022, 12: 869736.
[32] MLADENOVIĆ K G, GRUJOVIĆ M Ž, NIKODIJEVIĆ D D, et al. The hydrophobicity of enterobacteria and their co-aggregation with *Enterococcus faecalis* isolated from Serbian cheese[J]. Bioscience of Microbiota, Food and Health, 2020, 39(4): 227−233.
[33] 刘纯. 益生芽孢杆菌的评价及特异性萌发响应的研究[D]. 武汉: 中南民族大学, 2020. [LIU C. Evaluation of probiotic Bacillus and study on specific germination response[D]. Wuhan: South-Central Minzu University, 2020.]
[34] ZEIMARAN E, POURSHAHRESTANI S, PINGGUAN-MURPHY B, et al. Development of poly (1, 8-octanediol citrate) /chitosan blend films for tissue engineering applications[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 175: 618−627.
[35] 李元元, 李鑫, 何泽纯, 等. 牛源乳酸菌的分离鉴定及体外益生特性研究[J]. 动物营养学报, 2024, 36(1): 626−636. [LI Y Y, LI X, HE Z C, et al. Isolation, identification and in vitro probiotic characteristics of bovine-derived lactic acid bacteria[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2024, 36(1): 626−636.]
[36] 田原, 季子非, 郭浩南, 等. 副干酪乳杆菌 L1 的安全性及益

生性评价[J]. 食品工业科技, 2019, 40(12): 120−127. [TIAN Y, JI Z F, GUO H N, et al. Safety and probiotic evaluation of *Lactobacillus paracasei* L1[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(12): 120−127.]
[37] 张家宝, 马轲, 刘真真, 等. 鸡源卷曲乳杆菌 Y68 的分离鉴定及其体外益生特性评估[J]. 动物营养学报, 2022, 34(5): 3339−3347. [ZHANG J B, MA K, LIU Z Z, et al. Isolation, identification and *in vitro* probiotic characteristics of *Lactobacillus crispatus* Y68 from chickens[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2022, 34(5): 3339−3347.]
[38] 王佳慧, 姜仲文, 满永恒, 等. 粪肠球菌 BN6 株的体外益生特性评价[J]. 中国兽医科学, 2021, 51(3): 337−342. [WANG J H, JIANG Z W, MAN Y H, et al. *In vitro* probiotic properties of *Enterococcus faecalis* BN6[J]. Chinese Veterinary Science, 2021, 51(3): 337−342.]
[39] 尹亚格, 孙羊羊, 吴雨薏, 等. 一株布拉迪酵母的筛选及益生特性研究[J]. 食品科技, 2023, 48(9): 1−8. [YIN Y G, SUN Y Y, WU Y M, et al. Screening and probiotic characteristics of a *Saccharomyces boulardii* strain[J]. Food Science and Technology, 2023, 48(9): 1−8.]
[40] 李红蓉, 张世雄, 李雅文. 人参抗衰老研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30: 196−207. [LI H R, ZHANG S X, LI Y W. Research progress on anti-aging effects of ginseng[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2024, 30: 196−207.]
[41] WANG Yang, WU Yanping, WANG Yuanyuan, et al. Antioxidant properties of probiotic bacteria[J]. Nutrients, 2017, 9(5): 521.
[42] 宋倩倩, 李苏冉, 胡宇辰, 等. 一株解淀粉芽孢杆菌胞外多糖的分离纯化及其抗氧化性研究[J]. 天津理工大学学报, 2022, 38(5): 27−36. [SONG Q Q, LI S R, HU Y C, et al. Isolation, purification and antioxidant activity of exopolysaccharides from *Bacillus amyloliquefaciens*[J]. Journal of Tianjin University of Technology, 2022, 38(5): 27−36.]
[43] 马浩天, 李杨, 余梦博, 等. 产细菌素贝莱斯芽孢杆菌 CM7-4 全基因组测序及抑菌活性研究[J]. 中国畜牧兽医, 2024(12): 5117−5127. [MA H T, LI Y, YU M B, et al. Whole genome sequencing and antibacterial activity of bacteriocin-producing *Bacillus velezensis* CM7-4[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024(12): 5117−5127.]
[44] 任廷亿, 刘永相, 张永英, 等. 太行鸡源贝莱斯芽孢杆菌的益生特性及全基因组分析[J]. 微生物学通报, 2025, 52(4): 1697−1709. [REN T Y, LIU Y X, ZHANG Y Y, et al. Probiotic characteristics and genome-wide analysis of *Bacillus velezensis* from Taihang chicken[J]. Microbiological Bulletin, 2025, 52(4): 1697−1709.]
[45] 杨阳, 李子健, 张玲玲, 等. 贝莱斯芽孢杆菌对浓香型白酒酒醅微生物群落结构及挥发性风味物质的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(22): 175−182. [YANG Y, LI Z J, ZHANG L L, et al. Effects of *Bacillus velezensis* on microbial community and volatile flavor compounds in strong-flavor Baijiu fermentation[J]. Food Science, 2022, 43(22): 175−182.]
[46] 宗英, 赵月菊, 刘阳, 等. 一株贝莱斯芽孢杆菌抑制禾谷镰刀菌的研究[J]. 核农学报, 2018, 32(2): 310−317. [ZONG Y, ZHAO Y J, LIU Y, et al. Inhibitory effects of a *Bacillus velezensis* strain against *Fusarium graminearum*[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2018, 32(2): 310−317.]
[47] 李素平, 李微, 韩冷, 等. 贝莱斯芽孢杆菌 HY19 挥发物对采后柑橘的防腐效果[J]. 园艺学报, 2024, 51(1): 162−174. [LI S P, LI W, HAN L, et al. Antifungal effects of volatiles from *Bacillus velezensis* HY19 on postharvest citrus[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2024, 51(1): 162−174.]
[48] 毕小龙. 纤维分解酶、异丁酸及其混合物对犊牛小肠发育的影响[D]. 太原: 山西农业大学, 2014. [BI X L. Effects of fibrolytic enzymes, isobutyrate and their mixtures on small intestinal development in calves[D]. Taiyuan: Shanxi Agricultural University, 2014.]
[49] 侯明. 纤维分解酶、异丁酸及其混合物对犊牛瘤胃发育的影响[D]. 太原: 山西农业大学, 2014. [HOU M. Effects of fibrolytic enzymes, isobutyrate and their mixtures on rumen development in calves[D]. Taiyuan: Shanxi Agricultural University, 2014.]
[50] 张振威, 王聪, 刘强, 等. 异丁酸对西门塔尔牛增重、日粮养分消化和甲烷排放的影响[J]. 草业学报, 2014, 23(1): 346−352. [ZHANG Z W, WANG C, LIU Q, et al. Effects of isobutyrate on weight gain, nutrient digestibility and methane emission in Simmental cattle[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2014, 23(1): 346−352.]
[51] XU Mingjie, GUO Jianheng, LI Tengjie, et al. Antibiotic effects of volatiles produced by *Bacillus tequilensis* XK29 against the black spot disease caused by *Ceratocystis fimbriata* in postharvest sweet potato[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(44): 13045−13054.
[52] 黄新鑫. 基于脂质组学研究长链酰基肉碱对缺血性脑卒中的调控作用及机制[D]. 南京: 南京医科大学, 2023. [HUANG X X. Regulatory effects and mechanisms of long-chain acylcarnitines on ischemic stroke based on lipidomics[D]. Nanjing: Nanjing Medical University, 2023.]
[53] ZHENG R J, HECK D E, BLACK A T, et al. Regulation of keratinocyte expression of stress proteins and antioxidants by the electrophilic nitrofatty acids 9- and 10-nitrooleic acid[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2014, 67: 1−9.
[54] 张志明, 吴玉涛. 液相色谱质谱法测定棕榈酰甘氨酸及其盐(以酸计)等脂肪酰类甘氨酸及其盐的含量[J]. 广东化工, 2025, 52(4): 121−123,149. [ZHANG Z M, WU Y T. Determination of palmitoyl glycine and its salts (as acid) and other fatty acyl glycines by LC-MS[J]. Guangdong Chemical Industry, 2025, 52(4): 121−123,149.]
[55] CHEN Dan, LIU Jingru, CHENG Yanjin, et al. Metabolism of rhaponticin and activities of its metabolite, rhapontigenin: A review[J]. Current Medicinal Chemistry, 2020, 27(19): 3168−3186.
[56] 赖旭新, 郑轶武, 李炎. 硫代二丙酸二月桂酯应用特性的研究[J]. 食品与发酵工业, 1999(1): 30−33. [LAI X X, ZHENG Y W, LI Y. Application characteristics of dilauryl thiodipropionate[J]. Food and Fermentation Industries, 1999(1): 30−33.]
[57] 蔡雨阳, 刘臻, 何莉, 等. 小肽对动物生长性能、肠道健康和品质影响的研究进展[J]. 中国饲料, 2024(11): 15−20. [CAI Y Y, LIU Z, HE L, et al. Research progress on effects of small peptides on animal growth performance, intestinal health and quality[J]. China Feed, 2024(11): 15−20.]
[58] 徐桑尔. 多粘类芽孢杆菌芽孢形成调控机制研究及微生物农药制备[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2018. [XU S E. Regulatory mechanism of sporulation in *Paenibacillus polymyxa* and preparation of microbial pesticides[D]. Hangzhou: Zhejiang A&F University, 2018.]
[59] RAHMAN M S, ANO T, SHODA M. Second stage production of iturin A by induced germination of *Bacillus subtilis* RB14[J]. Journal of Biotechnology, 2006, 125(4): 513−515.
[60] 陈少先. 贝莱斯芽孢杆菌 zk1 脂肽类次级代谢产物的抑菌机理研究[D]. 广州: 仲恺农业工程学院, 2022. [CHEN S X. Antibacterial mechanism of lipopeptide secondary metabolites from *Bacillus velezensis* zk1[D]. Guangzhou: Zhongkai University of Agriculture and Engineering, 2022.]