徐雪莹, 杨帅宇, 樊雨薇, 等. 魔芋葡甘聚糖降解菌的筛选、鉴定与益生特性分析 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(12): 192−201. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025050279

XU Xueying, YANG Shuaiyu, FAN Yuwei, et al. Screening Identification and Probiotic Characterization of Konjac Glucomannan-degrading Bacteria[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(12): 192−201. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025050279

·生物工程·

魔芋葡甘聚糖降解菌的筛选、鉴定与益生特性分析

徐雪莹[1], 杨帅宇[1], 樊雨薇[1], 邓长阳[1], 蒋远明[1], 申林波[1], 周玉岩[2], 郝光飞[1,*]

（1.河北工程大学生命科学与食品工程学院, 河北 邯郸 056038;
2.河北省药品医疗器械检验研究院, 河北 石家庄 050299）

摘　要: 为解决魔芋葡甘聚糖（konjac glucomannan，KGM）因高分子特性导致其生物活性受限问题，本研究从魔芋种植土壤、病态魔芋球茎及酿酒发酵体系中筛选出具有 KGM 降解能力的细菌，并通过测定耐酸耐胆盐、耐人工胃肠液能力及菌株安全性等考察 KGM 降解菌的益生应用潜力。结果表明，分离获得的 4 株菌均具有良好的 KGM 降解能力、耐酸耐胆盐能力、耐人工胃肠液能力、安全性、抗生素敏感性、抑菌活性及较强的人结肠癌细胞 Caco-2 黏附能力。结合形态学观察与 16S rDNA 序列分析，确定 JQ4 为嗜盐芽孢杆菌（*Bacillus halotolerans*），JZ6 和 JZ8 为副地衣芽孢杆菌（*Bacillus paralicheniforms*），RF8 为地衣芽孢杆菌（*Bacillus licheniforms*）。其中，地衣芽孢杆菌 RF8 的 *β*-甘露聚糖酶活力达 49.92±0.06 U/mL；在 pH 为 2 的人工胃液耐受 3 h 和 pH 为 8 的人工肠液耐受 6 h 后存活率为 96.57%±0.27% 和 82.22%±0.48%；对人结肠癌细胞 Caco-2 的黏附能力高达 362.76±4.31 CFU/cell。综上所述，本研究成功筛选出 4 株兼具 KGM 降解能力与优良益生特性的芽孢杆菌，为功能性低聚糖产品开发及新型益生菌制剂研制提供了菌种资源与理论依据。

关键词: 魔芋葡甘聚糖降解, 菌株筛选, 分子鉴定, 芽孢杆菌, 益生特性

中图分类号: TS201.3　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)12−0192−10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025050279

本文网刊:

Screening Identification and Probiotic Characterization of Konjac Glucomannan-degrading Bacteria

XU Xueying[1], YANG Shuaiyu[1], FAN Yuwei[1], DENG Changyang[1], JIANG Yuanming[1], SHEN Linbo[1], ZHOU Yuyan[2], HAO Guangfei[1,*]

（1.College of Life Science and Food Engineering, Hebei University of Engineering, Handan 056038, China;
2.Hebei Provincial Food, Drug and Medical Device Inspection and Research Center, Shijiazhuang 050299, China）

Abstract: To overcome the restricted bioactivity of konjac glucomannan (KGM) caused by its high molecular weight, KGM-degrading bacteria were isolated from konjac cultivation soil, diseased konjac tubers, and liquor fermentation systems. The probiotic potential of these strains was assessed based on acid and bile salt tolerance, resistance to simulated gastrointestinal fluids, and safety evaluations. It was found that all four isolated strains exhibited excellent KGM-degrading capability, along with high tolerance to acidic conditions, bile salts, and simulated digestive fluids, a safe profile, antibiotic sensitivity, antibacterial activity, and strong adhesion capability to human colon cancer Caco-2 cells. Through morphological and 16S rDNA analyses, strain JQ4 was identified as *Bacillus halotolerans*, whereas strains JZ6 and JZ8 were classified as *Bacillus paralicheniforms,* and RF8 was confirmed as *Bacillus licheniforms*. Notably, *Bacillus licheniformis* RF8 exhibited *β*-mannanase activity of 49.92±0.06 U/mL, demonstrated survival rates of 96.57%±0.27% and 82.22%±0.48% after 3 h in simulated gastric fluid (pH2.0) and 6 h in simulated intestinal fluid (pH8.0), respectively, and showed a high adhesion ca-

收稿日期: 2025−05−28

作者简介: 徐雪莹（2001−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: xxueying2023@163.com。

*** 通信作者:** 郝光飞（1982−）, 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品资源开发与综合利用, E-mail: wuyucool@126.com。

pability to human colon cancer Caco-2 cells of 362.76±4.31 CFU/cell. In conclusion, four *Bacillus* strains with both efficient KGM-degrading capacity and promising probiotic characteristics were successfully obtained. These findings provide valuable microbial resources and a theoretical foundation for the development of functional oligosaccharides and novel probiotic formulations.

Key words: konjac glucomannan degradation; strain screening; molecular identification; *Bacillus*; probiotic properties

魔芋葡甘聚糖(konjac glucomannan, KGM)是一种从魔芋块茎中提取的具有抗炎、抗氧化等多种生理功能的高分子量(200~2000 kDa)活性多糖[1−2]。然而, 较高的分子量增加了 KGM 的空间位阻效应, 极大地限制了其生物利用度和生理活性的有效发挥[3−4]。降低 KGM 分子量获得的低分子量魔芋葡甘低聚糖(konjac oligoglucomannan, KOGM)在调节肠道微生态、调控免疫系统以及干预代谢性疾病等方面展现了更为优异的生理活性[5−7]。在调节肠道微生态方面, KOGM 可通过调节益生菌细胞膜转运蛋白表达, 使菌株生长效率相较于 KGM 对照组提升 4~5 倍[8]。在抗氧化能力方面, KOGM 可通过靶向清除活性氧自由基, 显著提升肝脏和血浆中超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶的催化活性[9]。而且, KOGM 还可激活 β-半乳糖苷酶编码基因表达, 加速短链脂肪酸合成代谢, 进而改善乳糖不耐症症状[10]。

在现有 KOGM 制备技术中, 微生物降解法因其反应条件温和、底物特异性高且环境友好展现出显著优势[11]。目前报道的 KGM 降解菌大多集中于曲霉属、青霉属等真菌类群[12−13]。这些菌株虽具备较强的多糖降解能力, 但在特定培养条件下易触发次级代谢通路, 合成危害人体健康的真菌毒素。相较而言, 细菌类降解菌株因其代谢过程严格遵循中心碳代谢途径且无毒素合成风险, 在食品、医药等高安全性领域展现出独特的应用价值[14]。

在菌株筛选中, 科学选择分离基质是实现高效筛选的关键。KGM 作为一种复杂多糖, 其降解依赖于特定酶系与代谢通路, 传统随机筛选或单一环境采样难以满足高效和特异性筛选需求[15−16]。因此, 亟需从特定的生态环境中筛选高效降解 KGM 的菌株。魔芋种植土壤作为 KGM 天然富集生态位, 其独特碳源胁迫环境促使土壤固有微生物演化出针对 KGM 的特异性降解酶系, 而在患有软腐病的魔芋球茎的高浓度 KGM 胁迫下, 球茎表面附着的微生物可主动上调 β-甘露聚糖酶基因转录进而增强对 KGM 的代谢能力, 形成 KGM 高效降解通路[17−18]。此外, 在以小麦为原料的酿酒体系中, 淀粉、纤维素和半纤维素等多糖成分与 KGM 结构中均具有 β-1,4-糖苷键, 故其产生糖苷水解酶可高效裂解 KGM, 且小麦细胞壁多糖与 KGM 主链结构同源, 其降解过程也可能诱导广谱性糖苷水解酶产生, 赋予微生物降解 KGM 潜力[19−20]。

因此, 本研究从魔芋种植土壤、病态魔芋球茎及酿酒发酵体系中分离筛选 KGM 降解菌, 通过菌落形态观察、分子生物学鉴定及耐受性、安全性和益生性能评价, 系统探究其潜在益生特性。本研究不仅为 KGM 安全降解提供技术路径, 同时还挖掘兼具降解与益生功能的菌株资源, 为开发“降解—益生”双功能益生菌制剂提供菌种储备, 推动生物技术与大健康产业的交叉创新。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

魔芋种植土壤、患有软腐病的魔芋球茎　采集自河北省邯郸市复兴区魔芋种植基地; 酒曲、酒醅　采集自河北丛台酒业有限公司制曲车间; KGM　合肥博美生物有限责任公司; 大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、沙门氏菌(*Salmonella*)　保藏于河北工程大学微生物资源开发与保护实验室; 3,5-二硝基水杨酸试剂(分析纯 AR)　广州和为医药科技公司; 刚果红(分析纯 AR)　天津市致远化学试剂有限公司; 牛胆盐(分析纯 AR)　北京索莱宝科技有限公司; 抗生素药物敏感性测试纸片　常德比克曼生物科技有限公司。

YXQ-LS-50SII 立式压力蒸汽灭菌锅　天津市泰斯特仪器有限公司; B31606 高速离心机　上海市离心机械研究所有限公司; OPTEC 双目生物显微镜　重庆奥特光学仪器有限公司; PHSJ-4F 台式 pH 计　上海仪电科学仪器股份有限公司(雷磁)。

1.2　实验方法

1.2.1　培养基的配制　液体富集培养基(g/L): KGM 20.0 g, 酵母浸膏 6.0 g, 胰蛋白胨 5.0 g, NaCl 5.0 g, pH 自然, 121 ℃ 灭菌 20 min。

固体筛选培养基(g/L): KGM 15.0 g, $MgSO_4\cdot 7H_2O$ 1.0 g, NaCl 5.0 g, $FeSO_4\cdot 7H_2O$ 0.01 g, $NaNO_3$ 3.0 g, 胰蛋白胨 5.0 g, K_2HPO_4 1.0 g, 琼脂 18.0 g, pH 自然, 121 ℃ 灭菌 20 min。

液体发酵培养基(g/L): KGM 10.0 g, 酵母浸膏 5.0 g, $MgSO_4\cdot 7H_2O$ 1.0 g, NaCl 5.0 g, $FeSO_4\cdot 7H_2O$ 0.01 g, $NaNO_3$ 3.0 g, K_2HPO_4 1.0 g, pH 自然, 121 ℃ 灭菌 20 min。

LB 固体培养基(g/L): 胰蛋白胨 10.0 g, 酵母浸膏 5.0 g, NaCl 10.0 g, 琼脂 18.0 g, pH 自然, 121 ℃ 灭菌 20 min。

1.2.2　魔芋葡甘聚糖降解菌的分离筛选及形态学观察　取 10 g 魔芋种植土壤、患有软腐病的魔芋球茎、酒曲、酒醅样品溶解于 90 mL 无菌生理盐水中, 充分混匀制成样品悬液。取 2 mL 样品悬液接种于

90 mL 液体富集培养基中，37 ℃、180 r/min 培养 48 h。培养结束后将其 10 倍梯度稀释，分别吸取 10^{-3}~10^{-6} 稀释度的悬液 100 μL 涂布于固体筛选培养基，37 ℃ 培养 48 h。挑取固体筛选培养基中的单菌落接种于液体富集培养基中，37 ℃、180 r/min 培养 24 h，4 ℃、6000 r/min 离心 10 min，收集菌体沉淀并加入磷酸盐缓冲液进行洗涤重悬制成初筛菌悬液。取 15 μL 初筛菌悬液点接于固体筛选培养基中，37 ℃ 培养 48 h。参考陈欢等[21] 方法略作修改，通过透明圈直径与菌落直径比值（D/d）评价菌株降解 KGM 能力。将 D/d 较大的菌株接种于液体发酵培养基中，37 ℃、180 r/min 培养 24 h，4 ℃、6000 r/min 离心 10 min，上清液即为粗酶液。参考李传峥[22] 的方法，采用 DNS 法进行菌株酶活力的测定，其中酶活力单位定义为：在上述反应条件下，以 1% 魔芋葡甘聚糖为底物，每分钟释放 1 μmol 相当于 D-甘露糖的还原糖所需的酶量记为一个酶活单位（U），酶活力按式（1）计算：

$$\text{酶活力(U/mL)} = \frac{A \times N}{0.18 \times T \times V} \quad \text{式（1）}$$

式中：A 为甘露糖标准曲线中 $OD_{540\ nm}$ 值所对应的甘露糖含量（mg）；N 为粗酶液稀释倍数；0.18 为 D-甘露糖转换因子（mg/μmol）；T 为反应时间（min）；V 为粗酶液的反应量（mL）。

采用 LB 固体培养基对筛选获得的 KGM 降解菌株进行划线纯化，37 ℃ 培养 48 h。结合菌落形态与革兰氏染色结果，分析各菌株的基本细胞形态与特征。

1.2.3 菌悬液的制备 选取 1.2.2 中酶活力较高的菌株接种于 LB 肉汤培养基中，37 ℃、180 r/min 培养 24 h，连续传代 3 次，得到活化菌液。将活化菌液于 4 ℃、6000 r/min 离心 10 min 后收集菌体沉淀，用磷酸盐缓冲液充分洗涤菌体 2~3 次，调节菌体浓度至 1.0×10^8 CFU/mL（$OD_{600\ nm}$=1.0）。

1.2.4 菌株耐酸、耐胆盐能力测定 按体积分数 3% 取菌悬液接种于不同初始 pH（1.5、2.5、3.5、4.5、5.5）的 LB 肉汤培养基中，37 ℃、180 r/min 培养 24 h，分别测定各 pH 条件下菌液的 $OD_{600\ nm}$。空白对照为：按体积分数 3% 取菌悬液接种于自然 pH 的 LB 肉汤培养基中的菌液，按式（2）计算菌株在不同初始 pH 下的存活率：

$$\text{菌株存活率(\%)} = \frac{OD_S}{OD_K} \times 100 \quad \text{式（2）}$$

式中：OD_S 为不同处理后菌液 $OD_{600\ nm}$；OD_K 为未经处理的菌液 $OD_{600\ nm}$。

按体积分数 3% 取菌悬液接种于不同胆盐浓度（0.1%、0.3%、0.5%、0.7% w/v）的 LB 肉汤培养基，37 ℃、180 r/min 培养 24 h，分别测定各胆盐浓度条件下菌液的 $OD_{600\ nm}$。空白对照为：按体积分数 3% 取菌悬液接种于不含胆盐的 LB 液体培养基中的菌液，按式（2）计算菌株在不同胆盐浓度下的存活率。

1.2.5 菌株耐受人工胃肠液能力测定 人工胃肠液的配制及耐受性试验参照 HOU 等[23] 和 LIU 等[24] 方法并加以优化。取 1 mL 菌悬液与 9 mL 人工胃液于试管中充分混合均匀，37 ℃、180 r/min 培养 3 h，分别在 0 h 和 3 h 测定其 $OD_{600\ nm}$。空白对照为未经人工胃液处理的菌液，按式（2）计算菌株经人工胃液处理后的存活率。

取上述经人工胃液处理 3 h 后的菌液 1 mL 与 9 mL 人工肠液于试管中充分混合均匀，37 ℃、180 r/min 培养 6 h，分别在 0 h 和 6 h 测定其 $OD_{600\ nm}$，每个菌株设置 3 个平行试验，最终结果取平均值。空白对照为未经人工肠液处理的菌液，按式（2）计算菌株经人工肠液处理后的存活率。

1.2.6 菌株溶血性测定 将菌悬液接种于含有 5% 羊血的哥伦比亚血琼脂平板上，37 ℃ 培养 24 h，培养结束后观察菌落周围是否出现草绿色色带（α-溶血）或无色透明圈（β-溶血），若未出现则认为其不具有溶血性（也称 γ-溶血），以金黄色葡萄球菌作为对照菌株[25]。

1.2.7 16S rDNA 基因测序及系统发育树的构建 将活化后的优势菌株于 4 ℃、6000 r/min 离心 10 min 后收集菌体沉淀后送至赛恒生物科技有限公司（上海）进行 16S rDNA 基因序列测定，将测定结果提交至美国国家生物技术信息中心（national center of biotechnology information，NCBI）中进行同源性比对分析，利用 MEGA11 软件构建菌株系统发育树。

1.2.8 菌株抗生素敏感性测定 参考檀茜倩等[26] 方法加以修改，采用纸片扩散法评估菌株的抗生素敏感性。取 100 μL 菌悬液均匀涂布于 LB 固体培养基表面，分别将青霉素、四环素、庆大霉素等 12 种抗生素药敏纸片放置于培养基中心，37 ℃ 培养 24 h，观察抗生素药敏纸片周围有无抑菌圈并测定各自抑菌圈直径。

1.2.9 菌株抑菌能力测定 挑取经纯培养的指示菌（大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌）单菌落，接种于无菌生理盐水，调节指示菌菌悬液浓度至 1.0×10^8 CFU/mL（$OD_{600\ nm}$=1.0），利用纸片扩散法测定菌株的抑菌能力。取 100 μL 指示菌菌悬液均匀涂布于 LB 固体培养基上，待菌液吸收后，将空白药敏纸片放置于培养基表面。吸取 15 μL 菌悬液，缓慢滴入空白药敏纸片中央，37 ℃ 培养 24 h，培养结束后测定抑菌圈直径。空白对照为：吸取 15 μL 无菌水缓慢滴入空白药敏片中央，其余条件同上。

1.2.10 菌株粘附能力测定

1.2.10.1 自凝聚能力测定 参考陈童锦悦等[27] 方法加以修改，进行菌株自凝聚能力测定。将活化后的菌液于 4 ℃、6000 r/min 离心 10 min 后收集菌体沉淀，

用磷酸盐缓冲液充分洗涤 2~3 次，调节复溶后溶液 $OD_{600\ nm}$ 达到 0.4±0.05，测定此时菌液的 $OD_{600\ nm}$ 为初始吸光度值记为 A_0。将复溶后的溶液于 37 ℃ 下静置培养 2、4、6 和 24 h 后，分别测定其 $OD_{600\ nm}$。自凝聚率按式(3)计算：

$$自凝聚率(\%)=\left(1-\frac{A_1}{A_0}\right)\times 100 \qquad 式（3）$$

式中：A_1 为复溶后的溶液于 37 ℃ 下静置培养 2、4、6 和 24 h 后的 $OD_{600\ nm}$；A_0 为菌液初始的 $OD_{600\ nm}$。

1.2.10.2　表面疏水能力测定　参考邱桂萍[28] 方法加以修改，进行菌株表面疏水能力测定。将活化后的菌液于 4 ℃、6000 r/min 离心 10 min 后收集菌体沉淀，用磷酸盐缓冲液充分洗涤 2~3 次，调节复溶后溶液 $OD_{600\ nm}$ 达到 0.4±0.05，测定此时菌液的 $OD_{600\ nm}$ 为初始吸光度值记为 A_0。吸取 3 mL 菌液于无菌试管中后与 1 mL 二甲苯或乙酸乙酯涡旋混合 5 min 后，将其置于室温静置 30 min，待水相与有机相充分静置分层，形成稳定且界限清晰的界面后，吸取下层水相测定其 $OD_{600\ nm}$。疏水性按式(4)计算：

$$疏水性(\%)=\left(1-\frac{A_1}{A_0}\right)\times 100 \qquad 式（4）$$

式中：A_1 为水相与有机相充分静置分层，形成稳定且界限清晰的界面后下层水相的 $OD_{600\ nm}$；A_0 为菌液初始的 $OD_{600\ nm}$。

1.2.10.3　菌株对 Caco-2 细胞黏附能力测定　参照李奥运[29] 方法加以修改，测定优势菌株对 Caco-2 细胞黏附能力。将 100 μL 1.0×10^8 CFU/mL（$OD_{600\ nm}$=1.0）的菌液与细胞汇合度在 80% 左右的 Caco-2 细胞共同孵育 2 h 后，用磷酸盐缓冲溶液充分洗涤 2~3 次，进而去除未黏附的细菌。使用 0.25% 胰酶消化细胞，将细胞悬液进行梯度稀释并涂布于平板，记录细胞数，计算优势菌株的粘附能力。菌株黏附能力按式(5)计算：

$$黏附能力(CFU/cell)=\frac{C_1}{C_0} \qquad 式（5）$$

式中：C_1 为黏附细菌数；C_0 为 Caco-2 细胞数。

1.3　数据处理

每组试验重复 3 次，数据以平均值±标准差形式表达。采用 SPSS21 和 Origin2024 进行数据分析及绘图，组间差异采用 Duncan 多重比较检验，以 $P<0.05$ 作为统计学显著性判定阈值，利用 MEGA11 构建系统发育树。

2　结果与分析

2.1　魔芋葡甘聚糖降解菌的分离筛选及形态学观察

从魔芋种植土壤、软腐病的魔芋球茎及酿酒发酵体系中分离获得 38 株疑似 KGM 降解菌，经刚果红染色法初筛，其中 18 株能够产生透明水解圈。结果如表 1 所示，RF8、JQ4、JZ8 等 10 株菌株的 D/d 值高于均值，表明上述 10 株菌株对 KGM 的降解能力优于其他菌株，初步证明其具备较强的 KGM 降解能力。进一步对上述 10 株菌株进行划线纯化，基于甘露糖标准曲线（y=0.7988x+0.0388，R^2=0.9971），菌株酶活力结果如表 2 所示，RF8、JZ6、JZ8、JQ4 及 JZ1 的酶活力明显高于平均水平，表明上述 5 株菌株催化 KGM 水解生成还原糖的效率更强。综合水解圈表型（表 1）及酶活性（表 2），RF8、JZ6、JZ8、JQ4 和 JZ1 均兼具较强的 KGM 降解能力和较高的催化效率，其产 β-甘露聚糖酶能力优于其他菌株。现有研究表明，枯草芽孢杆菌 HKS018 具有较强的 β-甘露聚糖酶活性，其酶活力为 38.36 U/mL，约为黑曲霉 HKS016（2.67 U/mL）的 14.4 倍[30−31]。本研究筛选获得的 RF8 在 β-甘露聚糖酶活性更为突出，其余 4 株菌株的酶活力均值也明显高于枯草芽孢杆菌 HKS018，这说明本研究筛选获得的菌株在 KGM 降解能力上均具有显著优势。该优势可能与菌株的分离基质特性有关，从患软腐病魔芋球茎中分离的菌株因长期处于高浓度 KGM 环境而诱导 β-甘露聚糖酶基因高效表达；而源于酿酒发酵体系的菌株经长期环境适应性进化，形成了更完备的 KGM 降解酶系统。

表 1　各菌株透明圈大小

Table 1　Transparent zone sizes of various strains

菌株编号	D/d(cm)	菌株编号	D/d(cm)
JQ1	1.56±0.04	MT1	1.42±0.07
JQ3	1.41±0.08	MT2	1.24±0.06
JQ4	2.43±0.03	MT3	1.22±0.19
JQ9	1.84±0.03	MT5	1.47±0.03
JZ1	1.73±0.03	MT7	1.68±0.05
JZ4	1.44±0.02	RF2	1.85±0.07
JZ5	1.29±0.08	RF3	1.26±0.07
JZ6	1.85±0.03	RF5	1.66±0.02
JZ8	1.95±0.02	RF8	2.56±0.07

表 2　各菌株酶活力大小

Table 2　Enzyme activity of each strain

菌株编号	酶活力(U/mL)	菌株编号	酶活力(U/mL)
JQ4	36.19±0.05	JZ8	37.42±0.35
JQ9	18.31±0.04	MT7	17.64±0.15
JZ1	32.92±0.04	RF2	18.31±0.02
JZ3	22.43±0.04	RF5	18.23±0.04
JZ6	38.36±0.03	RF8	49.92±0.06

JZ1、JQ4、JZ6、JZ8 和 RF8 菌株菌落形态如图 1 所示，5 株菌株菌落呈现乳白色、不透明、形状近似圆形、表面干燥粗糙且边缘褶皱。经革兰氏染色后均为阳性菌株，结合《伯杰氏系统细菌学手册》中对芽孢杆菌属的描述，初步判定这 5 株菌株均属于芽孢杆菌属。

2.2　菌株耐酸耐胆盐特性

益生菌能否在人体内发挥益生功效，关键在于其是否具备耐受胃液酸性环境及肠道胆盐环境的能

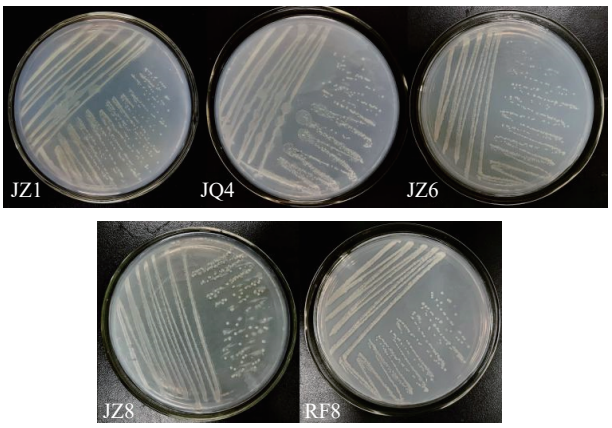


图 1 各菌株在 LB 固体培养基上的菌落形态

Fig.1 Colony morphology of each strain on LB solid medium

力。因此,本研究对 5 株菌株进行耐酸与耐胆盐能力测定,结果如图 2、图 3 所示。各菌株在酸性条件下均表现出一定存活率,但不同菌株间存在显著差异(P<0.05)。当 pH 为 1.5 时,所有菌株的存活率较低,而 RF8 具有较强的存活率 15.11%±0.56%,显著优于其他菌株(P<0.05),且存活率高于 KIM 等[32] 报道的鼠李糖乳杆菌;pH 为 2.5 时,JQ4、JZ8 和 RF8 的存活率均超 28%,优于 BU等[33] 筛选的植物乳杆菌;pH 为 3.5 时,除 JZ1 外,其他菌株存活率均≥46%;pH 为 4.5 时,JZ8 的存活率 96.40%±0.33%,显著优于其余菌株(P<0.05)。在胆盐耐受性测定中,随着胆盐浓度的逐步上升,绝大多数菌株存活率呈下降趋势。但当胆盐浓度为 0.3%时,RF8 的存活率高达 114.77%±0.21%。这种异常现象可能与菌株分泌的胞外多糖、胆盐水解酶介导的脱结合作用和外排泵蛋白的主动排盐机制有关[34]。现有研究已通过基因表达调控和功能验证,揭示芽孢杆菌属在 0.3% 胆盐胁迫下,可通过激活胆盐水解酶和 ATP 结合和转运蛋白等基因簇,实现抗性与代谢的协同优化[35]。

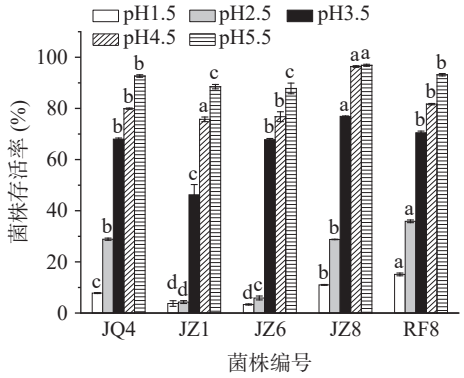


图 2 各菌株在不同 pH 下的存活率

Fig.2 Survival rates of each strain at different pH

注:相同 pH 条件下,不同字母表示不同菌株的存活率差异显著(P<0.05)。

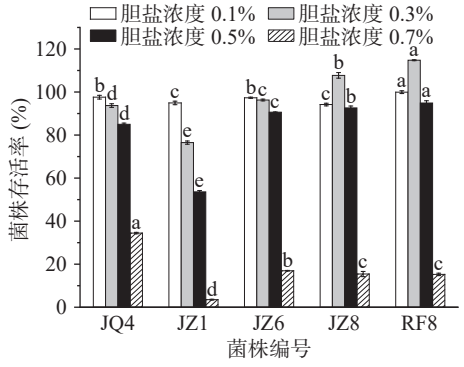


图 3 各菌株在不同胆盐浓度下的存活率

Fig.3 Survival rates of each strain at different bile salt concentrations

注:相同胆盐浓度条件下,不同字母表示不同菌株的存活率差异显著(P<0.05)。

基于人体胃液 pH 范围、消化道食物留存时间以及肠道内胆盐浓度范围(0.03%~0.3%),本研究筛选获得的 5 株菌株均展现出较强的耐酸、耐胆盐性,但不同菌株之间存在差异。这一耐受性差异可能与原始生态环境的筛选压力相关。分离于酿酒体系的 JZ8 和 JQ4,因长期处于酒曲发酵的酸性及化学压力环境下,促使其适应性进化并形成耐酸、耐胆盐代谢机制;JZ1 虽同源于酿酒体系,但可能因在群落竞争中未能充分接触到高强度的酸性和化学压力,其耐受性较弱;分离于病态魔芋球茎的 RF8,在植物病理状态下的复杂环境压力筛选中,进化出独特协同抗性调控网络,使其具备更为显著的耐酸、耐胆盐性能优势。

2.3 菌株耐受人工胃肠液特性

尽管耐酸耐胆盐实验通过模拟高酸和高胆盐条件对菌株耐受性进行评估,但实际人体胃肠环境更为复杂,胃蛋白酶与胰蛋白酶可通过分解微生物蛋白质结构,对菌株产生抑制甚至杀灭作用。因此,本研究对 5 株菌株进行耐受人工胃肠液能力测定,结果如图 4 所示。在 pH 为 2 的模拟胃液环境耐受 3 h,除 JZ1 外,其余菌株的存活率均在 80% 以上,其中 RF8 的存活率高达 96.57%±0.27%。在 pH8 的模拟肠液环境耐受 6 h,除 JZ1 外,其余菌株的存活率均≥75%,RF8 存活率达 82.22±0.48%。研究表明,天然来源的多糖降解菌在人工肠液中的存活率普遍为 60%[36]。因此,本试验筛选获得的 JQ4、JZ6、JZ8

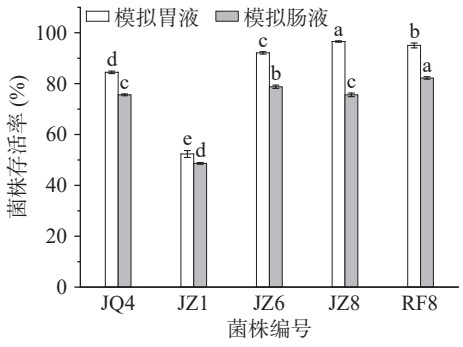


图 4 各菌株经人工胃肠液处理后的存活率

Fig.4 Survival rate of each strains treated with artificial gastrointestinal fluid

注:相同模拟胃液/模拟肠液条件下,不同字母表示不同菌株的存活率差异显著(P<0.05)。

和 RF8 对宿主体内的极端酸性环境、胆盐浓度以及消化酶具有良好的耐受能力，因此更易定植于宿主体内发挥益生性能。

从耐受性机制而言，益生菌在人工胃肠液中存活率低，主要原因是缺乏稳定细胞壁保护结构与高效酶解防御机制[37]。本研究中，4 株菌株耐受性优异可能归因于其特殊来源环境塑造的独特抗性通路。分离自病态魔芋球茎的 RF8，凭借植物防御系统产生的蛋白酶抑制剂等物质，为其提供了天然抗蛋白酶环境，使其在模拟肠液中能凭借细胞膜修饰等机制维持较高的存活率[38]。然而，人体胃肠道是动态复杂的微生态系统，尽管试验模拟了 pH、胆盐及消化酶环境，但未考虑共生微生物及其代谢产物与消化酶间的协同或拮抗作用。后续可通过体内试验进一步验证，增强结论的可靠性。

2.4　菌株溶血性

溶血性评价是菌株安全性评估的核心指标之一，各菌株溶血类型如图 5 所示。结果显示，除 JZ1 与 CK 呈现 *β*-溶血外，其余菌株均表现为 *γ*-溶血。现有研究表明，芽孢杆菌属的溶血类型可能因携带的毒力基因不同而呈现多样性，如蜡样芽孢杆菌中含有编码溶血型肠毒素 HBL 的 *hblA*、*hblC* 和 *hblD* 等基因[39]。此外，复合型溶血素 BL 及 *cytK* 基因编码的 CytK 也是部分芽孢杆菌具有溶血性的原因，但具体溶血机制尚不明确。在本研究中，为确保筛选的微生物可安全地应用于食品加工领域，最终选择 JQ4、JZ6、JZ8 和 RF8 等 4 株非溶血性菌株作为后续研究的优势菌株。

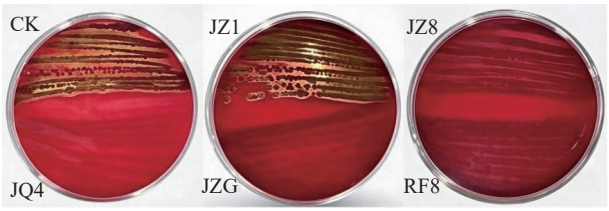


图 5　各菌株溶血类型

Fig.5　Hemolytic types of each strain

2.5　菌株分子生物学鉴定及菌株功能特性分析

2.5.1　16S rDNA 序列分析及系统发育树构建　成功从魔芋软腐病球茎及酿酒体系中筛选出 4 株 KGM降解菌，4 株 KGM 降解菌的系统发育树如图 6 所示。经比对及系统发育树分析显示，4 株菌株与从 GenBank 数据库筛选出的 7 株相关菌株聚类后形成两个主要分支。其中较大分支包含两个中等分支：RF8 与 *Bacillus licheniforms* NR074923.1 聚为一支，同源性达 100.00%；JZ6 和 JZ8 与 *Bacillus paralicheniforms* KY694465.1 聚为一支，同源性分别达 99.72% 和 99.86%；JQ4 则单独位于另一主要分支与 *Halotolerans* sp ON911948.1 聚为一支，同源性达 99.64%。结合菌落形态和《伯杰氏系统细菌学手册》，最终鉴定 JQ4（PX218450）为嗜盐芽孢杆菌，JZ6（PX218451）和 JZ8（PX218452）为副地衣芽孢杆菌，RF8（PX218453）为地衣芽孢杆菌。

2.5.2　基于种属关系的菌株功能特性分析　系统发育树中同分支菌株常具高度序列同源性与代谢途径保守性，而不同分支菌株在 KGM 降解中可能通过差异化酶系统或作用机制实现功能趋同。副地衣芽孢杆菌 JZ6、JZ8 与地衣芽孢杆菌 RF8 虽同属芽孢杆菌属，但由于系统发育聚类差异导致 *β*-甘露聚糖酶基因序列变异，加之分离生态位不同，可能使其在降解效率与产物特性上存在差异[40–41]。此外，嗜盐芽孢杆菌 JQ4 因属于另一分支，可能具备独特的降解酶系统或调控机制，其嗜盐特性亦可能使其在高盐环境中具备稳定降解 KGM 的能力。

2.6　菌株抗生素敏感性

尽管多数菌株不具致病性，但它们仍可能成为抗生素耐药基因的储存库。因此，测定微生物的抗生素敏感性是评估微生物安全性的重要部分。本研究以药敏片扩散法为基础，依据临床与实验室标准协会修订标准，对 4 株 KGM 降解菌的抗生素敏感性进行测定与评估，结果如表 3 所示。4 株 KGM 降解菌均对四环素、链霉素、氯霉素、新霉素、诺氟沙星、庆大

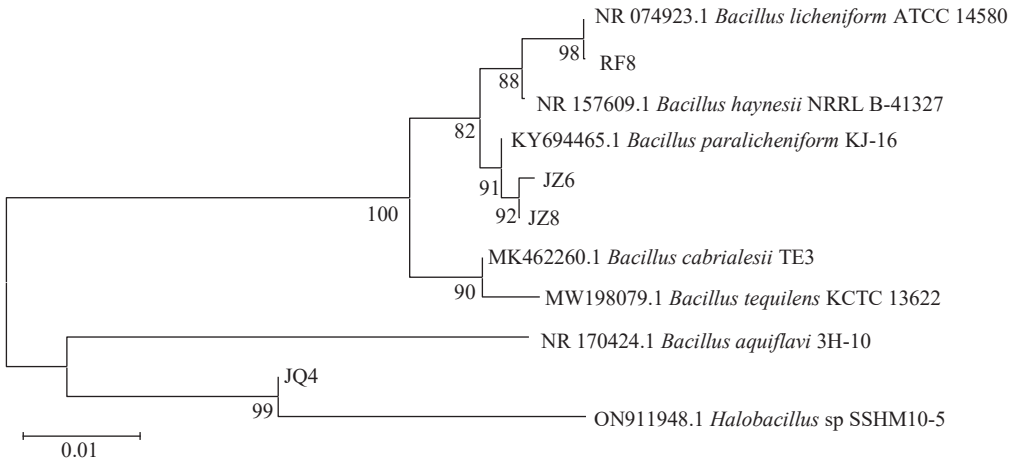


图 6　基于 16S rDNA 基因序列的菌株系统发育树

Fig.6　Phylogenetic tree of strains based on 16S rDNA gene sequences

霉素及环丙沙星表现出敏感性，表明 4 株 KGM 降解菌在耐药性方面具有较好的安全性，符合益生菌标准。值得注意的是，4 株菌株均对克林霉素不敏感，这可能是由于克林霉素自身抗生素抑菌谱相对较窄所导致的结果[42]。

表 3 各菌株抗生素敏感性

Table 3 Antibiotic sensitivity of each strain

药物名称	菌株编号			
	JQ4	JZ6	JZ8	RF8
四环素	S	S	S	S
链霉素	S	S	S	S
氨苄西林	I	I	I	I
万古霉素	R	I	I	R
氯霉素	S	S	S	S
红霉素	R	I	I	I
青霉素	I	I	I	I
克林霉素	R	R	R	R
新霉素	S	S	S	S
诺氟沙星	S	S	S	S
庆大霉素	S	S	S	S
环丙沙星	S	S	S	S

注：S表示敏感；I表示中介；R表示耐药。

2.7 菌株抑菌活性

4 株 KGM 降解菌对 3 种指示菌的抑菌能力如表 4 所示。结果表明，4 株菌株对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和沙门氏菌均具有一定的抑菌能力。其中，RF8 的抑菌圈直径显著大于其他菌株（P<0.05），展现出最强的抑菌能力。从抑菌物质分泌角度分析，不同微生物对病原菌拮抗能力的差异，可能与有机酸、多糖及多肽等代谢产物有关[43]，故推测 RF8 可能通过分泌类似活性物质发挥抑菌作用。此外，菌株的分离环境也可能影响其抑菌能力，RF8 长期处于复杂病原菌环境，这种生存压力或促使其进化出更强的抑菌机制。

表 4 各菌株抑菌能力

Table 4 Antibacterial capabilities of each strain

指示菌	JQ4抑菌圈（mm）	JZ6抑菌圈（mm）	JZ8抑菌圈（mm）	RF8抑菌圈（mm）
大肠杆菌	19.05±0.14^{b}	14.42±0.03^{d}	15.83±0.05^{c}	21.03±0.05^{a}
金黄色葡萄球菌	19.12±0.03^{b}	15.04±0.05^{c}	19.15±0.04^{b}	23.05±0.04^{a}
沙门氏菌	18.15±0.04^{b}	16.16±0.03^{d}	17.19±0.02^{c}	23.34±0.03^{a}

注：不同字母表示同一指示菌内，不同菌株间差异显著（P<0.05）。

2.8 菌株黏附能力

2.8.1 自凝聚能力 自聚集性作为评估微生物黏附特性的核心指标，其数值与微生物在胃肠道的定植及黏附效能呈正相关[36]。如图 7 所示，2~6 h 内 4 株 KGM 降解菌的自凝聚性呈快速上升趋势，其中 RF8 自凝聚能力最强，达 85.60%±0.19%。随着静置时间延长，各菌株自凝聚性增速放缓并趋于平稳增长，且各菌株间差异逐渐减小，但 RF8 的自聚集性在 24 h 后仍处于较高水平。RF8 的高自凝聚性可能与其携带的黏附素基因及逆境适应基因有关，这些基因介导细菌自凝聚并与肠道上皮细胞受体结合，通过增加黏附位点和滞留时间强化肠道黏附能力[44]。鉴于食物在人体肠道内的滞留时长约为 6~8 h[26]，4 株 KGM 降解菌均可黏附于宿主胃肠道，其中 RF8 在前 6 h 能更快、更好地黏附于肠道上皮细胞表面，更有利于发挥其益生功效。

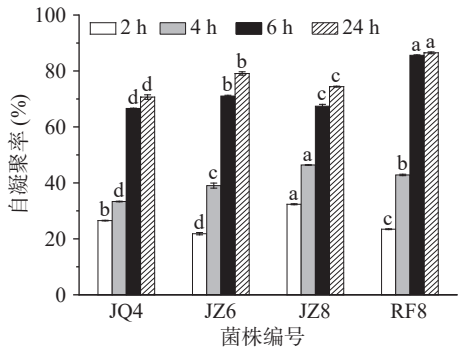


图 7 各菌株在不同时间点的自凝聚率

Fig.7 Self-coagulation rate of each strain at different time points

注：相同时间点下，不同字母表示不同菌株自凝聚率差异显著（P<0.05）。

2.8.2 表面疏水能力 测定菌株表面疏水性对于评估其在肠道环境中的生存与定植能力、构建有效益生菌群至关重要。根据疏水性分级标准，4 株 KGM 降解菌表面疏水能力如图 8 所示[38]。4 株 KGM 降解菌均表现出不同程度的疏水性，其中 RF8 对正己烷和乙酸乙酯、JZ6 对乙酸乙酯和二氯甲烷呈现高度疏水性，JQ4 对二氯甲烷、JZ8 对正己烷则表现为中度疏水性。4 株 KGM 降解菌的表面疏水性均优于文献 [45] 筛选获得的枯草芽孢杆菌 ZG029。这种差异可能与菌株来源、表面特性及遗传适应性密切相关。枯草芽孢杆菌 ZG029 的黏附特性可能更适应昆虫肠道的理化环境，而本研究菌株来源于复杂多糖基质中，可能诱导其表面蛋白或胞外多糖的高效表达，

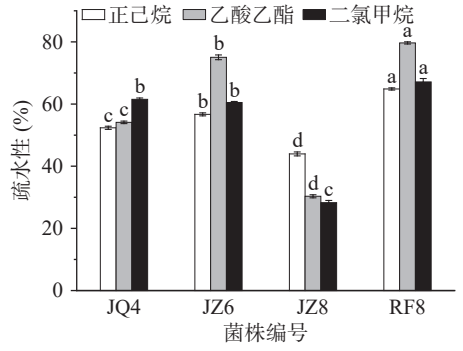


图 8 各菌株对不同溶剂的疏水性

Fig.8 Hydrophobicity of each strain to different solvents

注：相同溶剂条件下，不同字母表示不同菌株疏水性差异显著（P<0.05）。

从而增强了对哺乳动物肠道黏液层的适应性。因此，4 株 KGM 降解菌均具有黏附肠道上皮细胞的能力，其中 JZ6 和 RF8 更容易在宿主体内定植黏附。

2.8.3　菌株对 Caco-2 细胞黏附能力　Caco-2 细胞在体外培养时可分化为具有小肠上皮特征的极性单层，是研究细菌-上皮细胞互作的理想模型。4 株 KGM 降解菌对 Caco-2 细胞黏附能力如图 9 所示。4 株 KGM 降解菌均展现出显著的 Caco-2 细胞黏附能力，RF8 黏附能力最强（362.76±4.31 CFU/cell），显著高于其他菌株（P<0.05）；JZ6（329.40±1.76 CFU/cell）和 JZ8（318.72±2.58 CFU/cell）次之；JQ4（292.49±5.61 CFU/cell）黏附能力相对较弱但仍具有黏附能力。其中 RF8 对 Caco-2 细胞的黏附能力均优于金正雨[46]分离的地衣芽孢杆菌 Y2 和 HSU[47] 报道的地衣芽孢杆菌 CK1，这可能与不同菌株中 S 层蛋白的高表达量有关[48]。在本研究中，病态环境可能通过筛选压力或信号诱导增强 RF8 的 S 层蛋白表达量及结构优化，而作为细菌表面功能性结构蛋白的 S 层蛋白可通过拓扑结构与宿主肠道上皮细胞特异性受体互作，其表达量差异会直接影响黏附效率[49]。因此，4 株 KGM 降解菌均对 Caco-2 细胞具有良好的黏附能力，其中 RF8 对 Caco-2 细胞具有更强的黏附能力，可在肠道内形成稳定的微生物群落，构建肠道免疫屏障。

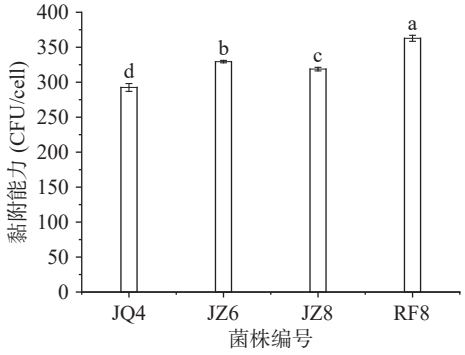


图 9　各菌株对 Caco-2 细胞黏附能力

Fig.9　Adhesion ability of each strain to Caco-2 cells

注：不同菌株柱上的不同字母表示菌株对 Caco-2 细胞黏附能力差异显著（P<0.05）。

3　结论

本研究从魔芋种植土壤、软腐病球茎及酿酒发酵体系中筛选出 5 株具 KGM 降解能力的芽孢杆菌，经耐酸耐胆盐、耐人工胃肠液及溶血性试验，最后获得 4 株性能优良菌株。通过 16S rDNA 序列分析及系统发育树构建，鉴定 JQ4 为嗜盐芽孢杆菌，JZ6 和 JZ8 为副地衣芽孢杆菌，RF8 为地衣芽孢杆菌。4 株菌均具良好抑菌特性与抗生素敏感性，可初步判定为符合益生菌标准的安全菌株。其定植肠道潜力研究显示，4 株菌黏附能力较强，其中 RF8 自凝聚能力 6 h 达 85.60%±0.19%；对正己烷和乙酸乙酯、JZ6 对乙酸乙酯和二氯甲烷呈高度疏水性；对 Caco-2 细胞黏附能力达 362.76±4.31 CFU/cell，显著优于其他菌株（P<0.05）。因此，本研究筛选的 4 株 KGM 降解菌均具有益生菌应用潜力，其中 RF8 具有更强的益生菌潜力。后续可通过动物模型实验和临床验证，系统探究这些菌株在宿主体内的定植效率、益生功能及生物安全性。此外，本研究聚焦 KGM 降解菌的潜在益生特性，并未进一步研究这 4 株 KGM 降解菌对 KGM 降解效率的影响，后续可通过 TLC 与 HPLC-MS 技术，针对 KGM 降解菌的降解效率及产物进行系统分析，深入探究降解机制，为其功能性食品产业化应用提供更坚实的科学依据。

© 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] 朱丽, 代雪凤, 张盛林, 等. 魔芋种质资源遗传多样性研究进展[J]. 分子植物育种, 2024, 22(13): 4392−4399. [ZHU L, DAI X F, ZHANG S L, et al. Research progress on genetic diversity of konjac germplasm resources[J]. Molecular Plant Breeding, 2024, 22(13): 4392−4399.]

[2] KAPOOR D U, SHARMA H, MAHESHWARI R, et al. Konjac glucomannan: a comprehensive review of its extraction, health benefits, and pharmaceutical applications[J]. Carbohydrate Polymers, 2024, 339(000): 15.

[3] 李煜. 魔芋葡甘聚糖的微波和酶法降解制备及其益生元活性[D]. 南昌: 南昌大学, 2021. [LI Y. Preparation of konjac glucomannan by microwave and enzymatic degradation and its prebiotic activity[D]. Nanchang: Nanchang University, 2021.]

[4] SHENG J, SUN Y. Antioxidant properties of different molecular weight polysaccharides from athyrium multidentatum (Doll.) ching[J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 108: 41−45.

[5] 陈曦, 赵丹. 魔芋葡甘聚糖制备低聚糖及抗氧化研究进展[J]. 生物技术, 2023, 33(1): 129−134. [CHEN X, ZHAO D. Research progress on preparation of oligosaccharides from konjac glucomannan and its antioxidant activity[J]. Biotechnology, 2023, 33(1): 129−134.]

[6] 陈晶晶, 钟文艳, 沈文卓, 等. 魔芋甘露低聚糖增强肠道屏障功能改善酒精性中枢神经损伤的实验研究[J]. 中国药理学通报, 2024, 40(3): 447−454. [CHEN J J, ZHONG W Y, SHEN W Z, et al. Experimental study on konjac mannooligosaccharides enhancing intestinal barrier function and improving alcoholic central nervous injury[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2024, 40(3): 447−454.]

[7] WAN X, WEI L, ZHANG W, et al. Production, characterization, and prebiotic activity of oligosaccharides from konjac glucomannan by *Bacillus amyloliquefaciens* WX-1[J]. Journal of Functional Foods, 2022, 88: 104872.

[8] LEBLANC J G, CHAIN F, REBECA MARTIN, et al. Beneficial effects on host energy metabolism of short-chain fatty acids and vitamins produced by commensal and probiotic bacteria[J]. Microbial Cell Factories, 2017, 16(1): 79.

[9] 刘鸣. 多糖辐照降解产物库的构建及其生物活性初探[D]. 武汉: 华中农业大学, 2024. [LIU M. Construction of a polysaccharide irradiation degradation product library and preliminary exploration of its biological activity[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2024.]

[10] 张东霞. 魔芋葡甘聚糖及其低聚糖的肠道益生性和改善乳糖不耐受症作用的初步研究[D]. 重庆:西南大学, 2020. [ZHANG D X. Preliminary study on the intestinal probiotic properties of konjac glucomannan and its oligosaccharides and their role in improving lactose intolerance[D]. Chongqing: Southwest University, 2020.]
[11] OLIVER A, PODELL S, KELLY L W, et al. Enrichable consortia of microbial symbionts degrade macroalgal polysaccharides in kyphosus fish[J]. mBio, 2024, 15(5): 201−207.
[12] 谷新晰. 嗜热烟曲霉 HBHF5 魔芋葡甘聚糖降解酶系解析及协同机制研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2021. [GU X X. Analysis of konjac glucomannan degrading enzyme system and synergistic mechanism of aspergillus fumigatus HBHF5[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2021.]
[13] MEI Jinfei, SHEN Xiaobao, GANG Liping, et al. A novel lignin degradation *Bacteria-Bacillus* amyloliquefaciens SL-7 used to degrade-straw lignin efficiently-ScienceDirect[J]. Bioresource Technology, 2020, 310(2): 77.
[14] ZHENG Z, TANG W, LU W, et al. Metabolism and biodegradation of *β*-Glucan *in vivo*[J]. Frontiers in Veterinary Science, 2022, 9: 889586.
[15] ZHU T X, LIU S L, GAO Y, et al. Functional characterization of a highly efficient endoglucanase from *Bacillus licheniformis* bj2022 and its application in the preparation of low-molecular-weight konjac glucomannan[J]. Agric Food Chem, 2025, 73(14): 8367−8380.
[16] 荣楠, 李备, 唐昊冶, 等. 微生物菌种筛选技术方法研究进展[J]. 土壤, 2021, 53(2): 236−242. [RONG N, LI B, TANG H Y, et al. Research progress on screening technology methods of microbial strains[J]. Soils, 2021, 53(2): 236−242.]
[17] WU J P, JIAO Z B, GUO F L, et al. Effects of cultivation duration and mode on the microbial diversity of the amorphophallus konjac rhizosphere[J]. African Journal of Agricultural Research, 2017, 12(23): 1970−1979.
[18] CHEN S S, HU M, HU A, et al. The integration host factor regulates multiple virulence pathways in bacterial pathogen dickeya zeae MS2[J]. Mol Plant Pathol, 2022, 23(10): 1487−1507.
[19] 薄涛, 吕娜, 杨凯环, 等. 白酒大曲发酵过程中微生物群落及功能研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(19): 385−393. [BO T, LÜ N, YANG K H, et al. Research progress on microbial community and function during fermentation of Baijiu Daqu[J]. Food Science, 2023, 44(19): 385−393.]
[20] YOUNGJI R, ROB P, IRIS J, et al. Fiber degrading enzymes increased monosaccharides release and fermentation in corn distillers dried grains with solubles and wheat middlings steeped without or with protease[J]. Translational Animal Science, 2020, 24(2): 331−339.
[21] 陈欢, 史子浩, 吴春会, 等. 不同来源纤维素降解菌的筛选、鉴定及产酶能力的比较[J]. 草地学报, 2024, 32(4): 1252−1258. [CHEN H, SHI Z H, WU C H, et al. Screening, identification, and comparison of enzyme production ability of cellulolytic bacteria from different sources[J]. Acta Agrestia Sinica, 2024, 32(4): 1252−1258.]
[22] 李传峥. 解淀粉芽孢杆菌 T-12 产 *β*-甘露聚糖酶的发酵优化、酶学性质及催化机制探究[D]. 哈尔滨:东北林业大学, 2024. [LI C Z. Fermentation optimization, enzymatic properties, and catalytic mechanism of *β*-mannanase produced by *Bacillus amyloliquefaciens* T-12[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2024.]
[23] HOU F, HU K, GONG Y, et al. Effects of *in vitro* simulated digestion on the flavonoid content and antioxidant activity of aged and fresh dried tangerine peel[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2018, 42(4): 72−87.
[24] LIU W, CHEN M, DUO L, et al. Characterization of potentially probiotic lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from human colostrum[J]. Journal of Dairy Science, 2020, 103(5): 4013−4025.
[25] GUNATHUNG C J, UNDUGODA L J S, MANAGE P M, et al. Determining probiotic properties and fermented milk production potential of lactobacillus strains inhabiting traditional buffalo curd[J]. Food Bioscience, 2024, 57(000): 9.
[26] 檀茜倩, 程笑笑, 崔方超, 等. 泡菜中产 *β*-葡萄糖苷酶植物乳杆菌的益生和酶学特性[J]. 中国食品学报, 2024, 24(9): 69−79. [TAN X Q, CHENG X X, CUI F C, et al. Probiotic and enzymatic characteristics of lactobacillus plantarum producing *β*-glucosidase in Pickles[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(9): 69−79.]
[27] 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 cellulase-producing *Bacillus subtilis* from bamboo rats[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2024, 60(3): 201−206.]
[28] 邱桂萍. 地衣芽孢杆菌 HN318 及其发酵液对杉虎斑的益生作用的比较研究[D]. 海口:海南大学, 2021. [QIU G P. Comparative study on the probiotic effects of *Bacillus licheniformis* HN318 and its fermentation broth on epinephelus lanceolatus[D]. Haikou: Hainan University, 2021.]
[29] 李奥运. 牦牛源枯草芽孢杆菌的筛选及对犊牦牛肠道菌群和代谢的影响[D]. 武汉:华中农业大学, 2023. [LI A Y, WANG M, ZHANG Y, et al. Complete genome analysis of *Bacillus subtilis* derived from yaks and its probiotic characteristics[J]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2023.]
[30] 王佰涛, 刘德海, 陈晓飞, 等. 高产 *β*-甘露聚糖酶黑曲霉菌株的分离与鉴定[J]. 中国酿造, 2022, 41(5): 101−105. [WANG B T, LIU D H, CHEN X F, et al. Isolation and identification of a high-yield *β*-mannanase-producing *Aspergillus niger* strain[J]. China Brewing, 2022, 41(5): 101−105.]
[31] 雷高, 李珊珊, 王佰涛, 等. 产 *β*-甘露聚糖酶菌株的筛选鉴定及产酶条件优化[J]. 中国酿造, 2022, 41(4): 99−104. [LEI G, LI S S, WANG B T, et al. Screening, identification, and optimization of enzyme production conditions of *β*-mannanase producing strains[J]. China Brewing, 2022, 41(4): 99−104.]
[32] KIM H, SHIN M, RYU S, et al. Evaluation of probiotic characteristics of newly isolated lactic acid bacteria from dry-aged hanwoo beef[J]. Food Sci Anim Resour, 2021, 41(3): 468−480.
[33] BU Y S, LIU Y S, LIU Y X, et al. Screening and probiotic potential evaluation of *Bacteriocin-producing lactiplantibacillus* plantarum *in vitro*[J]. Foods, 2022, 11(11): 1575.
[34] MA X, SHIN Y J, YUN S W, et al. Probiotic LB101 alleviates dry eye in mice by suppressing matrix metalloproteinase-9 expression through the regulation of gut microbiota-involved NF-*κ*B signaling[J]. PLoS One, 2024, 19(6).
[35] 唐洪玉, 宋馨, 夏永军, 等. 益生菌中胆盐水解酶作用机制研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(13): 286−292. [TANG H Y, SONG X, XIA Y J, et al. Research advances on the mechanism of bile salt hydrolase in probiotics[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(13): 286−292.]
[36] 沈飞, 王庭雨, 孙辉, 等. 新会陈皮中 4 株糖苷酶高产菌的分

离鉴定、益生特性及发酵效果分析[J]. 食品工业科技，2025，46(1)：171−180. [SHEN F, WANG T Y, SUN H, et al. Isolation, identification, probiotic characteristics, and fermentation effect analysis of 4 high-yield glycosidase-producing bacteria from Xinhui tangerine peel[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(1): 171−180.]

[37] CASTRO-LÓPEZ C, ROMERO-LUNA H E, GARCÍA H S, et al. Key stress response mechanisms of probiotics during their journey through the digestive system: A review[J]. Probiotics Antimicrob Proteins, 2023, 15(5): 1250−1270.

[38] TUIPULOTU D E, MATHUR A, NGO C, et al. *Bacillus cereus*: Epidemiology, virulence factors, and host-pathogen interactions[J]. Trends in Microbiology, 2020, 18(3): 201−216.

[39] 王晓景, 王东澍, 吕宇飞, 等. 蜡样芽胞杆菌 *plcR* 基因功能及其无义突变株特征分析[J]. 军事医学，2020，44(2)：116−121. [WANG X J, WANG D S, LÜ Y F, et al. Functional analysis of *plcR* gene in *Bacillus cereus* and characteristics of its nonsense mutant strain[J]. Military Medical Sciences, 2020, 44(2): 116−121.]

[40] JEONG D W, LEE B, LEE H, et al. Urease characteristics and phylogenetic status of *Bacillus paralicheniformis*[J]. J Microbiol Biotechnol, 2018, 28(12): 1992−1998.

[41] 高媛, 黄芳芳, 王家旺, 等. 益生菌降胆固醇的机制及其评价策略研究进展[J]. 食品科学，2023，44(21)：322−329. [GAO Y, HUANG F F, WANG J W, et al. Research progress on the mechanism and evaluation strategy of cholesterol-lowering by probiotics[J]. Food Science, 2023, 44(21): 322−329.]

[42] AH-RANG C, KUMAR P J, JUNE K W, et al. Antagonistic activities and probiotic potential of *Lactic acid bacteria* derived from a plant-based fermented food[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 1963.

[43] 张晓云, 王雪美, 丛蓉, 等. 防治葡萄灰霉病的贝莱斯芽胞杆菌 HMB28023 筛选及其抑菌物质[J]. 中国生物防治学报，2025，41(1)：122−131. [ZHANG X Y, WANG X M, CONG R, et al. Screening of *Bacillus velezensis* HMB28023 against botrytis cinerea and its antimicrobial substances[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2025, 41(1): 122−131.]

[44] 张玉鹏. 地衣芽孢杆菌 CcpA 蛋白结构与调控功能的研究[D]. 无锡：江南大学，2024. [ZHANG Y P. Study on the structure and regulatory function of CcpA protein in *Bacillus licheniformis*[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2024.]

[45] TOUTIAEE S, MOJGANI N, HARZANDI N, et al. *In-vitro* probiotic and safety attributes of *Bacillus spp* isolated from beebread, honey samples and digestive tract of honeybees *Apis mellifera*[J]. Letters in Applied Microbiology, 2022, 74(5): 656−665.

[46] 金正雨. 贵州林下生态鸡源益生菌的筛选及初步应用[D]. 贵阳：贵州大学，2022. [JIN Z Y. Screening and preliminary application of probiotics from Guizhou underforest ecological chickens[D]. Guiyang: Guizhou University, 2022.]

[47] HSU T C, YI PJ, LEE T Y, et al. Probiotic characteristics and zearalenone-removal ability of a *Bacillus licheniformis* strain[J]. PLoS One, 2018, 13(4): 18−23.

[48] 刘好静. 卷曲乳杆菌 S 层蛋白的分离鉴定及其在枯草芽孢杆菌芽孢表面的展示[D]. 杨凌：西北农林科技大学，2021. [LIU H J. Isolation and characterization of S-layer protein from *Lactobacillus crispatus* and its display on *Bacillus subtilis* spore surface[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2021.]

[49] KLOTZ C, GOH Y J, O'FLAHERTY S, et al. S-layer associated proteins contribute to the adhesive and immunomodulatory properties of *Lactobacillus acidophilus* NCFM[J]. BMC Microbiology, 2020, 20(1): 248.