DOI:10.12441/spyswjs.20250416001 [文章编号] 1673-1689(2026)03-0045-10

高产*L*-组氨酸功能性乳酸菌的筛选、鉴定及益生特性

鄢楚洋 王配泽 管付瑶 徐 鑫 王浩举 吴 敏 孙 伟 陈启航 陈 敏 于 平*

（浙江工商大学食品与生物工程学院,浙江 杭州 310018）

摘要:【目的】从发酵食品中筛选具有高产*L*-组氨酸的功能性乳酸菌菌株,并对其益生特性进行评估。**【方法】**通过测定乳酸菌的生长曲线和产酸特性、最适生长温度与pH、抗逆特性、抗生素敏感性以及对病原菌的抑制能力,评估其益生特性。**【结果】**筛选出了一株发酵乳杆菌NC42,其*L*-组氨酸产量为939.77 mg/L。该菌株在0~6 h为生长迟缓期,6~18 h进入对数生长期,18 h后进入生长稳定期,其最适生长温度和pH分别为37 ℃和6.0。抗逆特性研究结果表明,该菌株在NaCl质量分数为4%以上的高渗透压下无法生存,能够耐受pH为2.5和3.0的强酸环境,在胆盐质量分数为0.10%时保持良好的活菌数,且在−20 ℃下贮存5 d能维持有益生作用的活菌数。表面特性测定结果表明,该菌株的表面疏水率为43.27%,属于中度疏水菌株,其自凝集率达52.13%。此外,该菌对不同抗生素的敏感性具有显著差异,其对青霉素、红霉素和头孢唑林等抗生素敏感。该菌株的发酵上清液对多种病原指示菌具有显著的抑制作用,其中对单增李斯特菌的抑制作用最明显,抑菌圈直径为17.10 mm。**【结论】**该高产菌株具有一定的益生特性与抗逆能力,为功能性益生菌菌种开发提供了理论基础。

关键词:*L*-组氨酸;乳酸菌;功能性益生菌;益生特性

Screening, Identification, and Probiotic Characterization of High *L*-Histidine-producing Functional Lactic Acid Bacteria

*YAN Chuyang WANG Peize GUAN Fuyao XU Xin WANG Haoju WU Min SUN Wei CHEN Qihang CHEN Min YU Ping**

(School of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: [**Objective**] This study aimed to screen functional lactic acid bacterial strains with high *L*-histidine production from fermented foods and evaluate their probiotic characteristics. [**Method**] The probiotic characteristics of the isolates were assessed by determining their growth curves, acid-producing profiles, optimal growth temperature and pH, stress resistance characterization, antibiotic susceptibility, and inhibitory activity against pathogens. [**Result**] *Limosilactobacillus fermentum* NC42 with a *L*-histidine yield of 939.77 mg/L was successfully screened out. This strain had a lag growth phase from 0 h to 6 h, a logarithmic growth phase from 6 h to 18 h, and a stable growth phase after 18 h. The optimal growth temperature and pH were 37 ℃ and 6.0, respectively. The results of the stress resistance characterization showed that this strain could not survive when the NaCl mass fraction was above 4%, and it could tolerate strong acidic environments with pH 2.5 and 3.0 and maintain a good viable count at a bile salt mass fraction of 0.10%. This strain could maintain a viable count sufficient for probiotic effects for 5 d at −20 ℃. The results of surface property determination showed that its

基金项目:国家自然科学基金面上项目(31171658);浙江省自然科学基金面上项目(LY21C200006)。

通信作者:于平(1974—),男,博士,教授,博士研究生导师,主要从事食品生物技术研究。E-mail:yup9202@hotmail.com

收稿日期:2025-04-16 **修回日期:**2025-05-19

hydrophobicity was determined to be 43.27%, which indicated moderate hydrophobicity. The self-agglomeration rate of this strain was 52.13%. The strain showed significant differences in sensitivity to different antibiotics, with sensitivity to penicillin, erythromycin, and cefazolin. The fermentation supernatant of this strain had significant inhibitory effects on various indicator pathogens, with the most obvious inhibitory effect on *Listeria monocytogenes*, as evidenced by the inhibition zone diameter of 17.10 mm. [**Conclusion**] The screened strain had certain probiotic characteristics and stress resistance, which provides a basis for the functional probiotic development.

Keywords: *L*-histidine; lactic acid bacteria; functional probiotic; probiotic characteristic

乳酸菌（lactic acid bacteria，LAB）是一大类具有非病原性的革兰氏阳性菌的统称，它可以利用碳水化合物进行发酵产生大量乳酸，是十分重要的益生菌菌群之一[1]。乳酸菌在自然界中分布广泛，从湖泊、土壤、人和动物的器官[2]、动物饲料以及一些传统的发酵食物中均能找到乳酸菌[3]。乳酸菌及其代谢产物具有降低胆固醇水平、缓解炎症、抗菌以及抗肿瘤等功能。Lv等[4]通过测定乳酸菌的胆固醇降解率，筛选出3株能降低总胆固醇水平的乳酸菌。厉亚辉[5]利用植物乳植杆菌等益生菌发酵番茄汁，发现该发酵番茄汁能够显著改善心功能和心肌受损小鼠的心脏状况，其作用机制可能是该发酵液能够抑制NLRP3炎症小体。此外，作为肠道共生微生物的重要成员，乳酸菌也可以通过激活宿主免疫应答、抑制致病菌定植以及维持肠道微生态动态平衡等多重机制发挥益生特性[6]。乳酸菌自身产生的细菌素与乳酸能抑制肠道内病原菌的生长和繁殖，保护肠道菌群，降低肠道微环境的pH，保证菌群在肠道内的代谢和稳态平衡。Meng等[7]从阴道中分离筛选出了2株乳杆菌，其代谢产物能完全抑制指示菌的生长，能够降低指示菌细胞膜脂肪酸含量，改变指示菌细胞膜蛋白质的结构，从而破坏指示菌的细胞膜和细胞壁，达到抗菌效果。此外，乳酸菌作为肠道内的一种重要菌群，主要通过诱导黏膜免疫反应来增强宿主的免疫应答防御系统[8]，并抑制肿瘤细胞的生长。Xu等[9]对患有结肠癌的小鼠进行预先给药（喂服乳酸菌JY300-8和JMR-01），给药组的肿瘤形成率比对照组的肿瘤形成率降低了86.21%，肿瘤体积缩小了65.2%。

L-组氨酸是组成蛋白质的基础氨基酸之一[10]。机体自身合成的*L*-组氨酸无法满足自身生长需求，需要额外从食物中补充。*L*-组氨酸侧链含有咪唑基，在弱碱性环境中能与重氮苯磺酸盐反应生成棕红色偶氮化合物，即Pauly反应[11]，该反应可用于测定*L*-组氨酸水平。*L*-组氨酸需求量较大，在生物医药、食品和饲料等行业都有广泛应用。*L*-组氨酸对生长和组织修复也具有重要作用[12]，它可制备成氨基酸输液和综合氨基酸制剂用于治疗溃疡、风湿性关节炎等多种疾病[13]。目前*L*-组氨酸的生产方法主要分为3种：化学合成法、蛋白质水解法以及微生物发酵法。*L*-组氨酸的化学合成是通过甲醛、二羟基丙酮和氨的缩合反应制备羟甲基咪唑，羟甲基咪唑再与二乙基乙酰丙二酸发生缩合反应生成*L*-组氨酸[14]。由于化学合成法的生产步骤复杂、周期较长，同时得到的产品大多为*DL*-消旋体，且成本较高，因此极少使用。蛋白质水解法是以动物源性蛋白质基质（如血粉、角蹄粉）与植物基原料（如大豆粉、玉米麸皮）的水解产物为前体，通过水解获得目标产物[15]。微生物发酵法是借助微生物的生长代谢活动，将较为廉价易得的工业原料转换成目标产品的发酵方法。相较于前2种生产方法，微生物发酵法的过程容易控制，且发酵材料易得，所需的条件温和以及对环境污染小，因此该方法是未来工业化生产*L*-组氨酸的主流方法。乳酸菌作为一般公认安全（generally recognized as safe，GRAS）的食品微生物，在功能性食品开发领域具有优先应用价值。

作者考察了分离自酸奶和泡菜中的50株乳酸菌的产*L*-组氨酸能力，筛选出一株高产*L*-组氨酸的乳酸菌菌株，并对其进行鉴定，并考察了该菌株的益生特性，从而为高产*L*-组氨酸的益生菌种开发提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

样品菌株：从永辉超市购入的泡菜及酸奶中筛选所得；大肠杆菌（*Escherichia coli*）、单增李斯

特菌（*Listeria monocytogenes*）、鼠伤寒沙门菌（*Salmonella typhimurium*）、金黄色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*）：均为作者所在实验室保藏菌种。

组氨酸（分析纯）、牛胆盐：上海麦克林生化科技股份有限公司；HBIG鉴定条、MRS琼脂培养基：青岛海博生物技术有限公司；药敏纸片：杭州微生物试剂有限公司；过氧化氢、盐酸：国药集团化学试剂有限公司；磷酸盐缓冲液（PBS）：生工生物工程（上海）股份有限公司。

1.2 仪器与设备

高压灭菌锅：YXQ-LB-75-SII型，上海博迅实业有限公司；培养箱：SPX-250B-Z型，上海博迅实业有限公司；紫外-可见分光光度计：UV-2600型，岛津（中国）公司；高速冷冻离心机：TGL-16M型，湖南湘仪实验室仪器开发有限公司；pH计：PE-20型，瑞士梅特勒-托利多仪器公司。

1.3 乳酸菌的分离与鉴定

1.3.1 菌株的分离筛选

取10 g酸奶或泡菜样品，加到含有90 mL生理盐水的锥形瓶中，振荡混匀，计为一次梯度稀释。经过若干次梯度稀释后，取适宜质量浓度的梯度稀释液100 μL，将其均匀地涂布至$CaCO_3$-MRS固体培养基平板上，倒置培养2 d。对生长较好且溶钙圈较大的单菌落进行划线分离并保藏。对保藏于-20 ℃的菌株活化2次，以体积分数2%接种至MRS肉汤培养基中，37 ℃培养24 h。取发酵液转移至10 mL离心管中，4 ℃、8 000 r/min离心5 min。取上清液50 μL，并依次加入200 μL的质量分数1%对氨基苯磺酸和质量分数5%亚硝酸钠，混合均匀，静置反应15 min，快速加入600 μL质量分数10%的碳酸钠溶液，振荡混匀，迅速加入2 mL体积分数20%的乙醇溶液稳定颜色，显色5 min，补足蒸馏水至10 mL，采用Pauly比色法测定*L*-组氨酸产量，选择*L*-组氨酸产量最高的菌株进行后续试验。

1.3.2 菌株的分子生物学鉴定

菌种活化2次后，将样本送往北京擎科生物科技股份有限公司进行16S rDNA序列测定。将测序结果与NCBI数据库中的乳酸菌16S rDNA序列进行BLAST比对，获得序列的同源性分析。下载同源性较高的基因序列，利用MEGA 11软件构建同源性分支，获得菌株的系统发育树。

1.4 乳酸菌益生特性

1.4.1 菌株的生长曲线及产酸特性测定

将100 μL种子液接种至10 mL新鲜MRS液体培养基中，于37 ℃生化箱中静置培养，每隔2 h取样，测定发酵液的pH。将样液稀释10倍，测定OD_{600}值，以空白培养基作为对照。

1.4.2 菌株的最适生长温度与pH测定

吸取100 μL菌液，接种至10 mL MRS液体培养基中。将接种好的试管分别放入25、30、37、42、55 ℃中静置培育24 h，将样液稀释10倍，测定OD_{600}值。配制pH为3.0~10.0的MRS液体培养基，分别接种100 μL种子液，37 ℃静置培养24 h，将样液稀释10倍，测定其在不同pH下的OD_{600}值。

1.4.3 菌株过氧化氢耐受能力测定

分别制备含0~1.00 mmol/L过氧化氢的MRS液体培养基，吸取100 μL种子液，将其接种至该培养基中，37 ℃培养箱中培育8 h，吸取样品，测定菌悬液的OD_{600}值。

1.4.4 菌株渗透压耐受能力测定

配制NaCl质量分数分别为2%、4%、6%、8%、10%的MRS液体培养基，接种100 μL种子液，37 ℃静置培育24 h，测定菌悬液的OD_{600}值。

1.4.5 菌株低温耐受能力测定

将100 μL种子液接入50 mL MRS液体培养基中，于37 ℃培养箱中静置培育至菌悬液的OD_{600}值为1.0。将菌悬液均匀分装至10 mL无菌离心管中，置于-20 ℃冰箱中分别冷冻存放1、3、5、7、9 d，取出相应冻存时间的菌株，解冻摇匀后稀释涂布至MRS固体培养基上，测定活菌数。

1.4.6 菌株对酸和胆盐的耐受能力测定

制备3组pH分别为2.0、3.0和3.5的MRS培养基，接种100 μL种子液，37 ℃孵育至OD_{600}值为1.0，之后转移至离心管中，4 ℃、8 000 r/min离心5 min，弃去上清液，用PBS溶液轻柔冲洗沉淀菌株，再接种至上述培养基中，37 ℃静置培养，分别于0.5、1.0、2.0、3.0 h摇匀取样，测定活菌数[16]。

分别配制胆盐质量分数为0.03%、0.10%、0.30%的MRS液体培养基，接种100 μL种子液，37 ℃孵育至OD_{600}值为1.0，转移至离心管中，4 ℃、8 000 r/min离心5 min，弃去上清液，用PBS溶液轻柔冲洗沉淀菌株，再接种至上述培养基，37 ℃静置培养，分别于

0.5、1.0、2.0、3.0 h摇匀取样，测定活菌数。

1.4.7 菌株表面特性测定

取对数生长期的菌悬液转移至离心管中，4 ℃、8 000 r/min离心5 min，用PBS轻柔洗涤，并将沉淀菌株重悬至OD_{600}值为1.0，随后取2 mL菌悬液，加入500 μL二甲苯，振荡混匀30 s，静置15 s，再次振荡30 s，静置10 min待其分层，吸取下层溶液，测定其吸光度。按照式(1)计算菌株的表面疏水率。

$$H=\left(1-\frac{A_x}{A_0}\right)\times 100\% \quad (1)$$

式中：

H——菌株的表面疏水率，%；

A_0——未经处理前菌悬液的吸光度；

A_x——经过二甲苯处理后菌悬液的吸光度。

取对数生长期的菌悬液转移至离心管中，4 ℃、8 000 r/min离心5 min，用PBS轻柔洗涤并重悬至OD_{600}值为1.0，测定不同时间段上层菌悬液的吸光度。按照式(2)计算菌株的自凝集率。

$$R=\left(1-\frac{C_x}{C_0}\right)\times 100\% \quad (2)$$

式中：

R——菌株的自凝集率，%；

C_x——菌悬液静置x h时的吸光度；

C_0——初始吸光度。

1.4.8 菌株的抗生素敏感性与抑菌能力测定

将100 μL种子液接种至10 mL的MRS液体培养基中，于37 ℃培育至菌悬液的OD_{600}值为1.0。取100 μL菌悬液涂布至含药敏片的MRS固体培养基上，37 ℃培育24 h，测量抑菌圈直径，根据相关标准，判断受试菌株对抗生素的敏感性。

将实验室保藏的指示菌(大肠杆菌、单增李斯特菌、鼠伤寒沙门菌和金黄色葡萄球菌)活化培养后制成指示菌菌悬液，将菌悬液与半固体LB培养基混合后倒入已凝固的MRS培养基上层，然后在平板中放置已灭菌的牛津杯[17]，向牛津杯中加入离心的无菌发酵上清液，双层平板凝固后于37 ℃培养24 h，测量抑菌圈直径[18]。

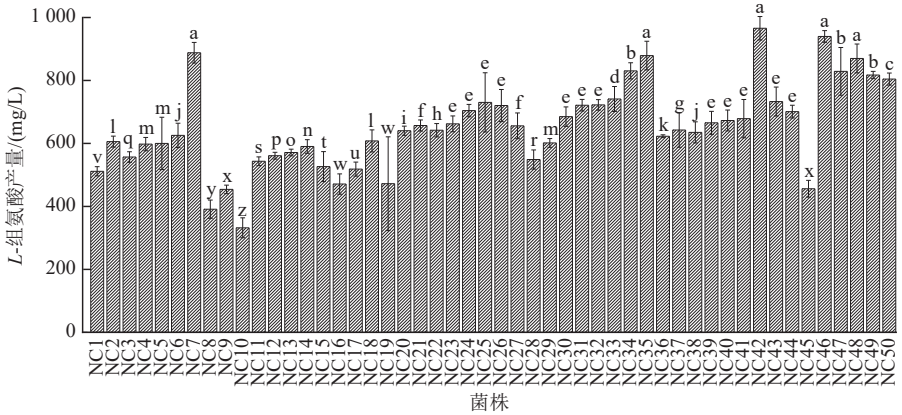
1.4.9 数据处理

所有试验均设置3组平行，使用SPSS 27进行数据处理与分析，使用Origin 2021进行绘图。

2 结果与讨论

2.1 菌株的筛选与鉴定

从酸奶和泡菜中共分离筛选了50株具有溶钙圈且生长较好、菌落形态清晰的菌株，利用Pauly比色法测定各个菌株的*L*-组氨酸产量，结果见图1。*L*-组氨酸产量最高的菌株是NC42，达939.77 mg/L。



不同小写字母表示菌株间*L*-组氨酸产量差异显著($P<0.05$)。

图1 菌株筛选结果

Fig. 1 Screening results of strains

将菌株NC42送至北京擎科生物科技股份有限公司进行16S rDNA序列测定，根据测序结果构建系统发育树。如图2所示，菌株NC42与发酵乳杆菌属中的*Limosilactobacillus fermentum* NBRC 15885位于同一分支上，可确定筛选得到的菌株是发酵乳杆菌。

2.2 菌株的生化特性与益生特性

2.2.1 生长曲线及产酸特性

乳酸菌生长过程中产生的代谢产物会对其菌

株生长产生影响[19]。由图3可知，菌株NC42在0~6 h时处于生长迟缓期，菌株生长速率较慢，OD_{600}值增加比较迟缓，同时发酵液pH下降速率较小。在6~18 h时，菌株NC42的生长速率较高，OD_{600}值上升极快，且发酵液pH也随之急剧下降。菌株NC42的OD_{600}值在18 h后波动较小，处于生长稳定期，18 h时的OD_{600}值为0.501。与此同时，培养液的pH也逐渐平缓，菌株的代谢活动维持在一定限度。结果表明，菌株NC42的OD_{600}值与其产酸特性呈正相关，与其他菌株的普遍生长规律相符合。

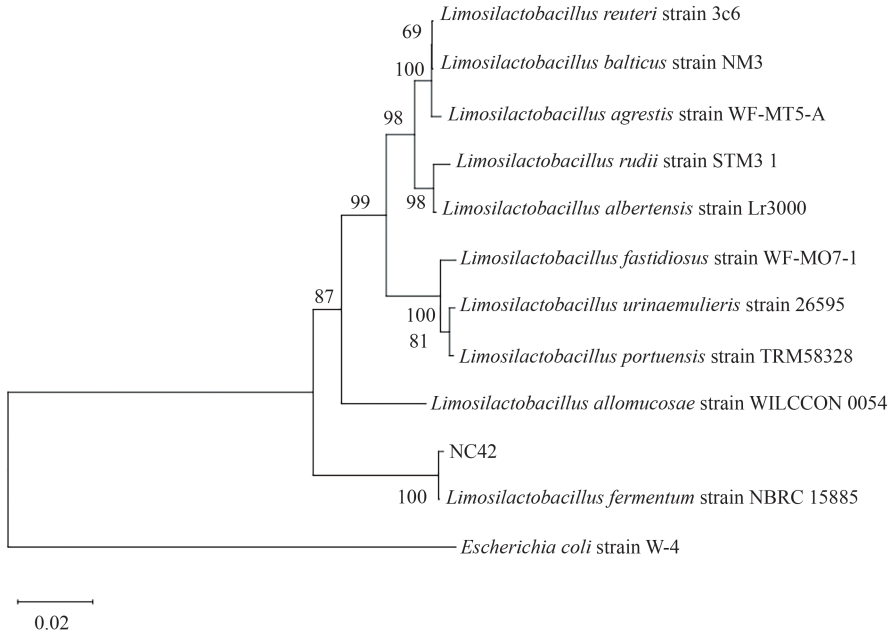
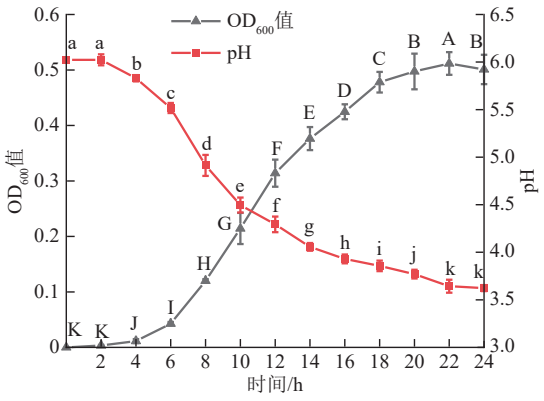


图2　菌株NC42的系统发育树

Fig. 2　Phylogenetic tree of strain NC42



不同大写字母表示随时间变化OD_{600}值差异显著（P<0.05）；不同小写字母表示随时间变化pH差异显著（P<0.05）。

图3　菌株NC42的生长曲线与产酸曲线

Fig. 3　Growth and acid production curves of strain NC42

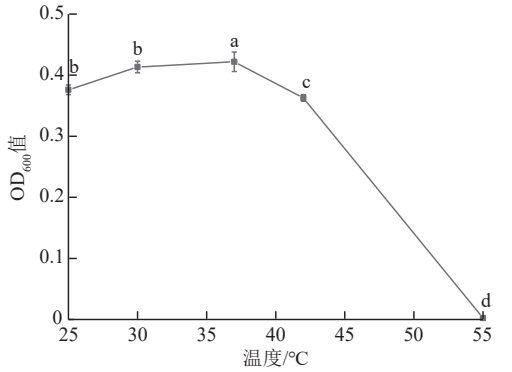
2.2.2　菌株的最适温度与pH

不同的温度与pH会对乳酸菌的生长与代谢产物产生一定影响[20]。如图4（a）所示，菌株NC42在25~42 ℃的环境中能较好生长，但在环境温度达到55 ℃时失去活性。在温度为37 ℃时，OD_{600}值最大，此时菌株生长状态最好，代谢活跃。该菌株的最适生长温度与人体体温较为一致，表明其进入人体胃肠道后能够有效发挥其生理活性，可作为益生菌株进一步开展研究。菌株的代谢活动和生长繁殖与培养基的初始pH相关，适宜的pH可以让菌株处于活跃状态。由图4（b）可知，在初始pH为6.0的MRS培养基中，菌株的OD_{600}值最高，表明此时菌株最活跃。此外，菌株NC42在pH为3.0和10.0时也具有一定的OD_{600}值，表明该菌株能够适应较宽的pH范围。

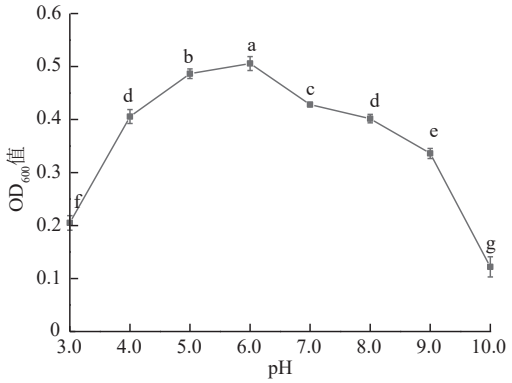
2.2.3　菌株的过氧化氢耐受能力

从图5可知，随着过氧化氢浓度的增加，菌株所承受的氧化性损伤愈发严重。菌株NC42在过氧化氢浓度为0.50 mmol/L的MRS培养基中的生长情况较好，说明菌株所受过氧化氢影响较小，能保持一定的活菌数。随着过氧化氢浓度的升高，菌株NC42所受的影响越来越大，自身代谢与生长均受到较大程度抑制。菌株NC42的抗过氧化氢

曲线表明，该菌株能够耐受的最高过氧化氢浓度为 0.75 mmol/L，在此浓度下菌株还能保持一定的活性，具有较好的过氧化氢耐受能力。与王帅等[21]筛选出的能耐受 1.00 mmol/L 过氧化氢的乳酸菌相比，本研究筛选得到的乳酸菌的过氧化氢耐受能力相对较弱。



(a) 温度对菌株生长的影响

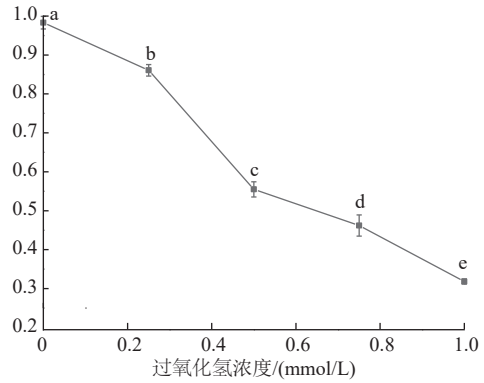


(b) pH对菌株生长的影响

不同小写字母表示 OD_{600} 值差异显著（$P<0.05$）。

图 4　不同温度与 pH 对菌株 NC42 生长的影响

Fig. 4　Influences of different temperatures and pH on the growth of strain NC42



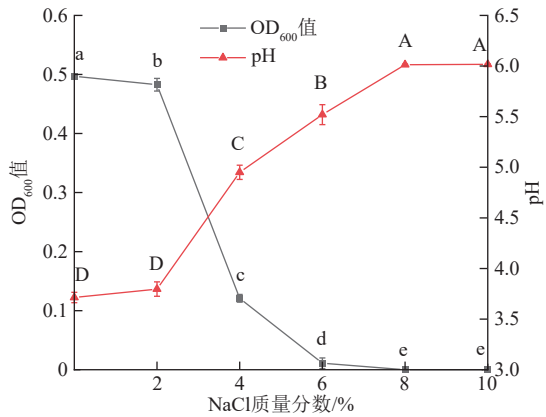
不同小写字母表示 OD_{600} 值差异显著（$P<0.05$）。

图 5　菌株 NC42 过氧化氢耐受能力

Fig. 5　Hydrogen peroxide tolerance of strain NC42

2.2.4　菌株的渗透压耐受能力

菌株的渗透压耐受能力决定其能否在环境渗透压较大时进行正常生长代谢并保持活性[22]。由图 6 可知，菌株 NC42 能够在 NaCl 质量分数<2% 时正常生长，OD_{600} 值几乎不受渗透压的影响。当培养基中 NaCl 质量分数≥4% 时，渗透压对菌株 NC42 的生长代谢造成了极大影响，OD_{600} 值下降较快，产酸能力锐减，培养基的 pH 快速升高。当 NaCl 质量分数为 8%~10% 时，菌体几乎无法生长，培养基的 OD_{600} 值下降，代谢活动全都停止。当菌株所处培养基中 NaCl 水平过高时，细胞内外渗透压相差极大，导致细胞失水，细胞内水分被迫流到培养基中，导致菌株内部失衡，无法正常生长代谢。同时，菌株的其他代谢产物也对细胞有不同程度的损伤，经过一段时间累积最终迫使菌株全部衰减灭亡。这与李佳莲等[23]筛选出的应用于酱油发酵的菌株渗透压耐受能力较为接近，但与阿丽亚•阿达力等[24]筛选出的一株能耐受 NaCl 质量分数为 10% 的植物乳植杆菌相比，差距较大。



不同小写字母表示 OD_{600} 值差异显著（$P<0.05$）；
不同大写字母表示 pH 差异显著（$P<0.05$）。

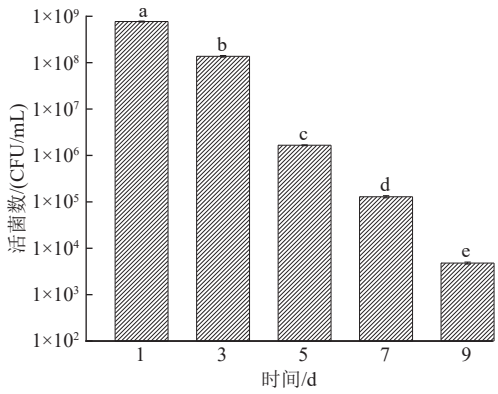
图 6　菌株 NC42 渗透压耐受能力

Fig. 6　Osmotic pressure tolerance of strain NC42

2.2.5　菌株的低温耐受能力

当菌株处于低温冷冻等极端环境中，会出现生长停滞和菌株代谢受损等情况，导致其受损死亡。当菌株处于 4 ℃的低温环境中，菌株内的酶活性会大幅度下降，导致代谢活动变缓。在−20 ℃的低温环境中，菌株细胞中生成的冰晶会对细胞膜造成损伤，从而导致整个菌株细胞内部代谢失衡[25]。由图 7 可知，在冻存保藏 1~3 d 内，菌株的活菌数变化较

小，但在后续的冷冻保藏中，其活菌数下降趋势明显，到第 9 天时，其活菌数比初始活菌数下降了 5 个数量级。菌株 NC42 在−20 ℃中放置 5 d，其活菌数仍达 1×10^6 CFU/mL 以上。益生菌株的活菌数为 10^6~10^7 CFU/mL 时，能够发挥出较好的益生效应，表明菌株 NC42 具有良好的低温耐受能力，但与杜文静等[26]筛选出的耐低温植物乳植杆菌相比，该菌株的低温耐受性相对较弱。



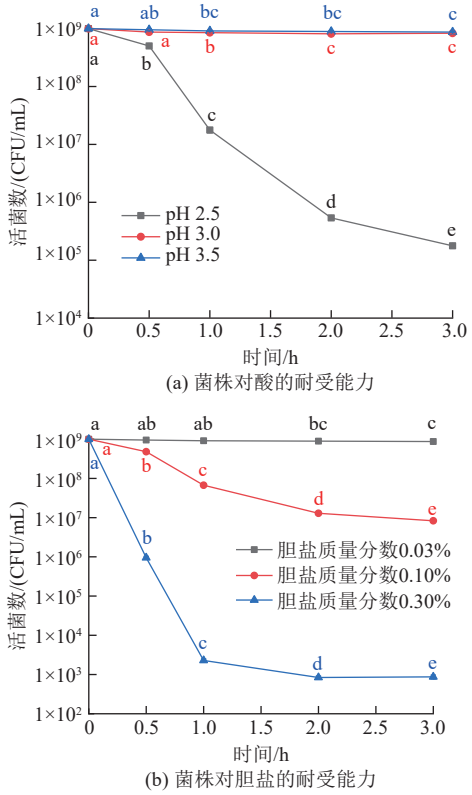
不同小写字母表示活菌数差异显著（$P<0.05$）。

图 7　菌株 NC42 低温耐受能力

Fig. 7　Low temperature tolerance of strain NC42

2.2.6　菌株对酸和胆盐的耐受能力

人体胃液的 pH 一般为 2.0~3.5，较低的 pH 能防止病原菌定植繁衍，从而保护消化道，这是人体自身抗菌的一道内源屏障。由图 8(a)可知，菌株 NC42 在 pH 为 3.0 和 3.5 的培养基中生长几乎不受影响。pH 为 2.5 时，随着培养时间的延长，活菌数逐渐下降，证明该菌株具有一定的耐强酸能力。该结果与蒙月月等[27]筛选出的可耐受 pH 2.5 的菌株一致，可作为工业化生产的参考菌株。乳酸菌进入人体之后需要定植在肠道内发挥作用，因此菌株在相应胆盐浓度下的存活情况是判断其能否适应肠道内微环境的依据。由图 8(b)可知，菌株 NC42 在胆盐质量分数为 0.03% 时，活菌数无较大波动，菌株浓度变化也较小；随着胆盐质量分数提升至 0.10% 时，活菌数随着培养时间的延长逐渐下降，当培养时间为 2 h 时，下降速度变缓，仍保持较高的活菌数；当胆盐质量分数为 0.30% 时，活菌数明显下降，菌株发生破损甚至死亡。该结果与杜秋等[28]筛选出的乳酸菌相似。强酸和胆盐浓度的抗逆能力测定结果表明，菌株 NC42 能够适应胃



不同小写字母分别表示同一条件下的活菌数差异显著（$P<0.05$）。

图 8　菌株 NC42 对酸和胆盐的耐受能力

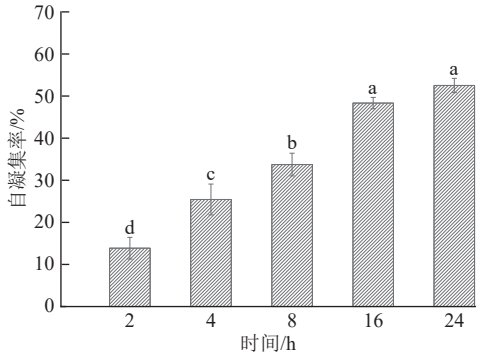
Fig. 8　Acid and bile salt tolerance of strain NC42

肠道的微环境，并具有能在其中发挥益生特性的能力，具有较好的开发前景。

2.2.7　菌株表面特性

表面疏水性是细菌表面特征的重要指标之一。不同菌种之间的表面疏水性可能存在显著差异，且疏水能力与自凝集能力是菌株细胞黏附到生物及非生物表面的重要作用力[29]。乳酸菌对人类肠道内细胞的黏附机制与其表面疏水性有关，反映了乳酸菌与宿主细胞之间的非特异性相互作用，更高的表面疏水性通常表明乳酸菌能够更有效地与肠道黏膜表面结合，从而提高其在肠道中的定植能力。根据 1.4.7 的方法，得到菌株 NC42 的表面疏水率为 43.27%，参照 CSH 标准，判断其属于中度疏水菌株，未达到高疏水标准，这可能是由于该菌株与其他高疏水菌株表面的某些结构成分的细微差异引起的。肠道中自凝集性越高的菌株，越容易黏附肠道并形成自身的生物膜，且菌株吸附肠道的能力与自凝集能力呈正相关。自凝集能力的强弱与菌株的表面结构和表面小分子基团有关。由图 9 可知，随着时间的延长，菌株 NC42

的自凝集率逐渐增大，并在 24 h 时达到最大值（52.13%）。该结果与李文等[30]分离出的乳酸菌的自凝集能力接近。综合表面疏水性与自凝集能力测定结果，菌株 NC42 具备较好的表面特性，表明该菌株能较快在体内肠胃道微环境中定植，该特性有利于发挥其益生特性。



不同小写字母表示自凝集率差异显著（P<0.05）。

图 9　菌株 NC42 自凝集能力

Fig. 9　Self-agglomeration ability of strain NC42

2.2.8　菌株的抗生素敏感性与抑菌能力

乳酸菌发挥益生作用需要定植于肠道中，测定菌株对抗生素的敏感性可以了解其抗药性，评估其安全性。益生菌的抗生素耐药基因会与质粒和转座子结合，使其在乳酸菌与致病菌之间相互转移，对人体健康产生潜在威胁[31]。菌株 NC42 的抗生素敏感性的测定结果见表 1。

表 1　菌株 NC42 的抗生素敏感性

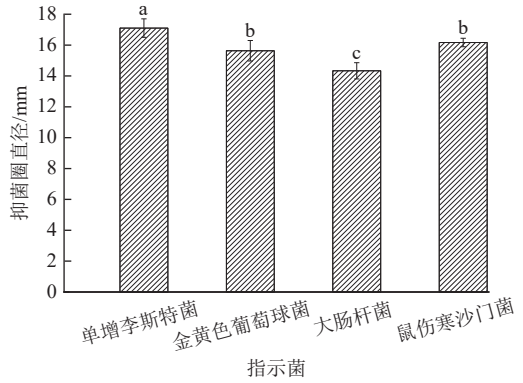
Table 1　Antibiotic sensitivity of strain NC42

类别	抗生素名称	抑菌圈直径/mm	敏感性
青霉素类	青霉素	34.63±2.20	S
	氨苄西林	34.77±0.74	S
头孢菌素类	头孢唑林	39.37±0.95	S
碘胺类	复方新诺明	9.10±0.71	R
氨基糖苷类	庆大霉素	11.30±0.75	R
	丁胺卡那	13.73±1.82	I
氟喹诺酮类	环丙沙星	15.20±3.03	R
	诺氟沙星	8.90±1.04	R
大环内酯类	红霉素	29.37±0.38	S
酰胺醇类	氯霉素	12.93±0.38	I

注：“R”表示耐药；“I”表示中度敏感；“S”表示敏感。

菌株 NC42 对青霉素、红霉素、氨苄西林和头孢唑林敏感，对诺氟沙星、复方新诺明等抗生素具有一定耐药性。该结果与一般乳酸菌对抗生素的敏感性相符[32]。

处于生长代谢过程中的乳酸菌在产生风味物质的同时，会产生有机酸和细菌素等代谢产物，这些物质可抑制病原菌的生长。乳酸菌也可以通过破坏病原菌细胞膜的通透性和降低酶活性来达到抑菌目的[33]。乳酸菌进入人体内并定植于肠道，可以清除有害物质，破坏有害菌生存的微环境，从而使胃肠道处于健康状态。由图 10 可知，菌株 NC42 的发酵上清液对 4 种病原菌均有显著抑菌作用，其中对单增李斯特菌的抑制作用最明显，抑菌圈直径达到 17.10 mm，对鼠伤寒沙门菌、大肠杆菌和金黄色葡萄球菌也具有较好抑制效果，其抑菌圈直径均在 14.33 mm 以上，该结果证明菌株 NC42 具有较好的抑菌特性。



不同小写字母表示抑菌圈直径差异显著（P<0.05）。

图 10　菌株 NC42 的抑菌能力

Fig. 10　Antibacterial activity of strain NC42

3　结论

食品来源的乳酸菌是益生菌的重要组成部分，其益生特性和发酵特性的研究对找寻可应用于食品发酵的功能性菌株具有重要意义。作者筛选了一株高产 *L*-组氨酸的发酵乳杆菌 NC42，其最适生长温度为 37 ℃，最适 pH 为 6.0，在 6 h 时进入对数生长期。该菌株在−20 ℃环境中低温保藏 5 d，其活菌数仍达 1×10^6 CFU/mL 以上，但在 NaCl 质量分数为 4% 以上的环境中无法存活。此外，该菌株能耐受 pH 为 2.5 和 3.0 以及胆盐质量分数为 0.10% 的环境，证明该菌株进入人体后能较好地发挥自身益生作用。发酵乳杆菌 NC42 的表面特性较好，拥有较强的定植能力，其表面疏水率为 43.27%，自凝集率为 52.13%，且对青霉素、氨苄西林等抗生素敏感，同时其发酵上清液对多种病原指示菌具有较好的抑制作用。综上所述，该菌株可为富含

L-组氨酸的食品用功能性益生菌的开发奠定基础，具有较高的应用价值。

参考文献

[1] TANG H，HUANG W Q，YAO Y F. The metabolites of lactic acid bacteria：classification，biosynthesis and modulation of gut microbiota[J]. Microbial Cell，2023，10(3)：49-62.

[2] COPPEDGE N，GARZA J，GANDHI K，et al. *Lactobacillus* microbiota of the female genital tract in vaginal lactobacillosis[J]. Archives of Gynecology and Obstetrics，2023，307(5)：1319-1322.

[3] GRUJOVIĆ M Ž，MARKOVIĆ K G，MORAIS S，et al. Unveiling the potential of lactic acid bacteria from Serbian goat cheese[J]. Foods，2024，13(13)：2065.

[4] LV C L，PANG X Y，SUN J，et al. Screening of bile salt hydrolase-producing lactic acid bacteria and evaluation of cholesterol-lowering activity *in vitro*[J]. Food Bioscience，2024，62：105338.

[5] 厉亚辉. 益生菌发酵番茄汁联合高强度间歇训练对糖尿病心肌病小鼠的改善作用[J]. 食品与机械，2024，40(11)：166-171.
LI Y H. The improving effects of probiotic fermented tomato juice combined with high-intensity interval training on diabetic cardiomyopathy in mice [J]. Food and Machinery，2024，40(11)：166-171.(in Chinese)

[6] KOMMINENI S，BRETL D J，LAM V，et al. Bacteriocin production augments niche competition by enterococci in the mammalian gastrointestinal tract[J]. Nature，2015，526(7575)：719-722.

[7] MENG J，DONG P P，XIN X G，et al. Antibacterial capacity and mechanism of the metabolites from two vaginal *Lactobacillus* strains[J]. Food Bioscience，2025，63：105838.

[8] SAITO S，OKUNO A，PENG Z Z，et al. Probiotic lactic acid bacteria promote anti-tumor immunity through enhanced major histocompatibility complex class I-restricted antigen presentation machinery in dendritic cells [J]. Frontiers in Immunology，2024，15：1335975.

[9] XU F Q，LI Q Q，WANG S Y，et al. The efficacy of prevention for colon cancer based on the microbiota therapy and the antitumor mechanisms with intervention of dietary *Lactobacillus*[J]. Microbiology Spectrum，2023，11(5)：e0018923.

[10] FENG R N，NIU Y C，SUN X W，et al. Histidine supplementation improves insulin resistance through suppressed inflammation in obese women with the metabolic syndrome：a randomised controlled trial[J]. Diabetologia，2013，56(5)：985-994.

[11] GENG W X，ZHANG R，DANG J G，et al. A histidine-rich elastin-like polypeptide functions as a quickly detectable and easily purifiable protein fusion tag[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications，2018，507(1/2/3/4)：343-347.

[12] THALACKER-MERCER A E，GHELLER M E. Benefits and adverse effects of histidine supplementation [J]. The Journal of Nutrition，2020，150：2588S-2592S.

[13] HOLEČEK M. Histidine in health and disease：metabolism，physiological importance，and use as a supplement[J]. Nutrients，2020，12(3)：848.

[14] HUANG K J，HUANG Y C，LIN Y A. Synthesis of histidine-containing oligopeptides *via* histidine-promoted peptide ligation[J]. Chemistry，2018，13(4)：400-403.

[15] KULIS-HORN R K，PERSICKE M，KALINOWSKI J. *Corynebacterium glutamicum* ATP-phosphoribosyl transferases suitable for l-histidine production：strategies for the elimination of feedback inhibition[J]. Journal of Biotechnology，2015，206：26-37.

[16] 刘璐，吴江丽，杨金桃，等. 发酵鱼酱酸产GABA乳酸菌的分离筛选及发酵特性[J]. 食品科学，2021，42(18)：73-79.
LIU L，WU J L，YANG J T，et al. Isolation and fermentation characteristics of *γ*-aminobutyric acid-producing lactic acid bacteria from Yujiangsuan，a traditional Miao ethnic fermented condiment[J]. Food Science，2021，42(18)：73-79.(in Chinese)

[17] 陆春波，毛银，李国辉，等. 植物乳杆菌DY6主要抑菌代谢物的分析和鉴定[J]. 微生物学通报，2019，46(9)：2258-2271.
LU C B，MAO Y，LI G H，et al. Analysis and identification of main antibacterial metabolites secreted by *Lactobacillus plantarum* DY6[J]. Microbiology China，2019，46(9)：2258-2271.(in Chinese)

[18] 何杉杉，王晓蕊，彭禹熙，等. 雪莲菌中乳酸菌的益生特性[J]. 食品科学，2022，43(2)：210-216.
HE S S，WANG X R，PENG Y X，et al. Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Tibetan kefir grain[J]. Food Science，2022，43(2)：210-216.(in Chinese)

[19] 李奕莛，刘璐，赵军英，等. 具有胆固醇降解能力的人源乳酸菌筛选及其特性研究[J]. 中国乳品工业，2022，50(3)：4-7，36.
LI Y T，LIU L，ZHAO J Y，et al. Screening of human lactic acid bacteria with cholesterol-degrading ability and research of their characteristics [J]. China Dairy Industry，2022，50(3)：4-7，36.(in Chinese)

[20] SOUZA E C，DE SOUZA DE AZEVEDO P O，DOMÍNGUEZ J M，et al. Influence of temperature and pH on the production of biosurfactant，bacteriocin and lactic acid by *Lactococcus lactis* CECT-4434[J]. CyTA-Journal of Food，2017，15(4)：525-530.

[21] 王帅，贺羽，贺斌. 自然发酵泡菜中高体外抗氧化活性乳酸菌的筛选及其对模拟胃肠道环境的耐受性[J]. 食品工业科技，2019，40(22)：93-97，103.

WANG S, HE Y, HE B. Screening of high antioxidant activity lactic acid bacteria in traditional fermented pickles and its tolerance to simulated gastrointestinal environments[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(22): 93-97, 103. (in Chinese)

[22] 王婧莹, 张国芳, 杜鹏, 等. NaCl对保加利亚乳杆菌抗氧化活性的影响[J]. 中国食品学报, 2019, 19(6): 61-67.
WANG J Y, ZHANG G F, DU P, et al. Effects of NaCl on antioxidant activity of *Lactobacillus bulgaricus*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(6): 61-67. (in Chinese)

[23] 李佳莲, 王涛, 方芳. 耐盐乳酸菌的益生特性及其在酱油发酵中的应用[J]. 食品与生物技术学报, 2024, 43(5): 9-18.
LI J L, WANG T, FANG F. Probiotic properties of salt-tolerant lactic acid bacteria and their applications in soy sauce fermentation[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2024, 43(5): 9-18. (in Chinese)

[24] 阿丽亚•阿达力, 梅时勇, 张冀芳, 等. 优势乳酸发酵菌株筛选、鉴定及对发酵萝卜风味品质的影响[J]. 食品与机械, 2024, 40(6): 53-61.
ADALI A, MEI S Y, ZHANG J F, et al. Screening of dominant lactic acid fermentation strains, identification and effect on flavor quality of fermented radish[J]. Food and Machinery, 2024, 40(6): 53-61. (in Chinese)

[25] 王学良, 韩雪, 王海娟, 等. 乳酸菌在各种胁迫下的应激反应研究进展[J]. 食品工业科技, 2015, 36(6): 365-369.
WANG X L, HAN X, WANG H J, et al. Studying progress of *Lactobacillus*' s responses in a variety of stress[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(6): 365-369. (in Chinese)

[26] 杜文静, 王强, 陈倩, 等. 具有生物保护潜力的耐低温乳酸菌筛选及其抑菌特性[J]. 食品科学, 2025, 46(9): 121-129.
DU W J, WANG Q, CHEN Q, et al. Selection and bacteriostatic properties of cryotolerant lactic acid bacteria with bioprotective potential[J]. Food Science, 2025, 46(9): 121-129. (in Chinese)

[27] 蒙月月, 陆婧婧, 占萌, 等. 植物乳杆菌KLDS 1.0318产酸、耐酸、耐胆盐能力及其免疫特性研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(15): 70-76.
MENG Y Y, LU J J, ZHAN M, et al. Study on the acid producing ability, acid and bile salt tolerance of *Lactobacillus plantarum* KLDS 1.0318 and its immunologic properties[J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(15): 70-76. (in Chinese)

[28] 杜秋, 周晓, 覃业优, 等. 发酵蔬菜源食品用益生乳酸菌的筛选及降胆固醇能力评价[J]. 食品与生物技术学报, 2023, 42(11): 63-73.
DU Q, ZHOU X, QIN Y Y, et al. Screening and evaluating with cholesterol-lowering ability of probiotic lactic acid bacteria for food from fermented vegetable[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2023, 42(11): 63-73. (in Chinese)

[29] 黄燕燕, 郭均, 黎恒希, 等. 降胆固醇乳酸菌的体外筛选及其降胆固醇机理探讨[J]. 食品科学, 2018, 39(6): 88-94.
HUANG Y Y, GUO J, LI H X, et al. *In vitro* screening of lactic acid bacteria for cholesterol-lowering activity and the underlying mechanism[J]. Food Science, 2018, 39(6): 88-94. (in Chinese)

[30] 李文, 王陶, 董玉玮, 等. 高产γ-氨基丁酸植物乳杆菌的益生特性[J]. 食品科学, 2019, 40(24): 173-178.
LI W, WANG T, DONG Y W, et al. Probiotic characteristics of *Lactobacillus plantarum* UL-4, able to produce γ-aminobutyric acid at high yield in chickpea milk[J]. Food Science, 2019, 40(24): 173-178. (in Chinese)

[31] 杨晴, 王荣春, 孙玥, 等. 降胆固醇乳酸菌的筛选鉴定及其性能研究[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(3): 46-52.
YANG Q, WANG R C, SUN Y, et al. Screening, identification and properties of cholesterol lowering lactic acid bacteria[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(3): 46-52. (in Chinese)

[32] LEE J, KIM S, KANG C H. Screening and probiotic properties of lactic acid bacteria with potential immunostimulatory activity isolated from kimchi[J]. Fermentation, 2023, 9(1): 4.

[33] 高芳, 包亚莉, 华晓青, 等. 乳酸菌对发酵肉制品抑菌作用及风味特征的影响研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(9): 194-201.
GAO F, BAO Y L, HUA X Q, et al. Lactic acid bacteria: a review of their inhibitory effect on harmful microbes and effect on flavor characteristics of fermented meat products[J]. Food Science, 2023, 44(9): 194-201. (in Chinese)