DOI:10.12441/spyswjs.20250515001 [文章编号] 1673-1689(2026)06-0092-09

儿童肠道来源动物双歧杆菌乳亚种的筛选及其潜在益生特性研究

赵晓慧 武 荣 毛跃建*

(内蒙古蒙牛乳业(集团)股份有限公司全球研发创新中心,内蒙古 呼和浩特 011500)

摘要:【目的】筛选出具有独特优势和益生特性的儿童肠道来源的动物双歧杆菌乳亚种(*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*,*B. lactis*)。**【方法】**以分离自河南省南阳市儿童肠道中的56株*B. lactis*为研究对象,评价菌株的耐酸、耐胆盐、耐胃肠液能力及生长特性,并探究其表面自凝聚性、表面疏水性和抗氧化能力。**【结果】***B. lactis* MN16631对酸和胆盐有较强的抵抗力;在人工胃液中培养2 h和人工肠液中培养4 h的存活率分别为87.15%和43.64%;其表面疏水率为(56.69±1.96)%,24 h后的表面自凝聚率达(84.28±2.41)%;*B. lactis* MN16631具有较强的抗氧化能力,其DPPH自由基清除能力优于商业菌株,而羟自由基清除能力、超氧阴离子自由基清除能力及铁离子还原能力与商业菌株相比无显著差异。**【结论】***B. lactis* MN16631是一株具有优良益生特性的菌株,可作为菌种资源用于儿童等其他人群的功能性食品应用研究。

关键词:动物双歧杆菌乳亚种;筛选;抗氧化;益生特性

Screening of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* from the Intestinal Tract of Children and Characterization of Its Potential Probiotic Properties

*ZHAO Xiaohui WU Rong MAO Yuejian**

(Global R&D Innovation Center, Inner Mongolia Mengniu Dairy (Group) Co., Ltd., Hohhot 011500, China)

Abstract: [**Objective**] This study aimed to screen the *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (*B. lactis*) strains with unique advantages and probiotic properties from the intestinal tract of children. [**Method**] Fifty-six strains of *B. lactis* isolated from the intestinal tract of children in Nanyang City, Henan Province were used for the study. The strains were evaluated for their acid tolerance, bile salt tolerance, gastrointestinal fluid tolerance, growth characteristics, surface auto-aggregation ability, surface hydrophobicity, and antioxidant capacity. [**Result**] *B. lactis* MN16631 had strong acid and bile salt tolerance. It achieved the survival rates of 87.15% and 43.64% after being incubated in the simulated gastric fluid for 2 h and the simulated intestinal fluid for 4 h, respectively. *B. lactis* MN16631 showed the surface hydrophobicity of (56.69±1.96)% and the surface auto-aggregation rate of (84.28±2.41)% after 24 h. Furthermore, *B. lactis* MN16631 exhibited strong antioxidant activity. Its DPPH radical scavenging capacity was superior to that of commercial strains, while its hydroxyl radical scavenging capacity and superoxide anion radical scavenging capacities, as well as its ferric reducing capacity, were comparable to those of commercial strains. [**Conclusion**] *B. lactis* MN16631 is a strain with excellent probiotic properties and thus can be used as a strain resource for the research and development of functional foods for children and other populations.

Keywords: *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*; screening; antioxidant; probiotic property

---

基金项目:内蒙古自治区呼和浩特市和林格尔县科技计划项目(2024-重-2)。

通信作者:毛跃建(1981—),男,博士,高级工程师,主要从事益生菌及发酵菌种研究。E-mail:maoyuejian@mengniu.cn

收稿日期:2025-05-15 **修回日期:**2025-07-05

益生菌是指当摄入足够数量时，能够为宿主带来健康益处的活性微生物[1]。其中*B. lactis*是商业应用最广泛的益生菌之一，如*B. lactis* BB12、*B. lactis* HN019和*B. lactis* M8等。许多研究表明*B. lactis*有诸多益生功能，如调节肠道菌群、缓解营养不耐受（如乳糖不耐受等）、增强免疫力以及减轻易过敏个体的过敏反应等[2-3]。杨夕缘等[4]研究表明，*B. lactis* CCFM1278在肠道中具有活性并能发挥益生作用。应聪萍等[5]研究表明，益生菌需通过消化道进入人体，并在肠道中达到一定数量后黏附于肠道上皮细胞，才可发挥益生作用。因此，筛选具有潜在益生特性的*B. lactis*，并测定其对胃肠液的耐受性和黏附能力至关重要[6-7]。

目前大部分商业双歧杆菌来自婴儿肠道和母乳，儿童肠道来源的商业益生菌较少，而儿童肠道来源的双歧杆菌可能会缓解儿童及其他人群的肠道和免疫等问题。如Song等[8]研究表明，健康儿童的肠道内通常富含双歧杆菌等有益菌，这些有益菌能够提高肠黏膜屏障功能及营养吸收和代谢速率。*B. lactis*除了具有上述益生功能外，还兼具较高的安全性，且更适用于发酵乳、调制乳粉等制品的产业化应用。因此，本研究以分离自河南省南阳市儿童肠道的*B. lactis*为研究对象，筛选耐酸、耐胆盐且具有较强肠道黏附性和抗氧化能力的益生菌菌株，为开发功能性乳制品和益生菌制剂提供参考，同时也利于丰富我国儿童肠道来源候选益生菌菌种库。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源

分离自河南省南阳市儿童（6~12岁）肠道的56株*B. lactis*，以及用于对照试验的商业菌株，均由内蒙古蒙牛乳业（集团）股份有限公司全球研发创新中心营养科学研究院的微生态菌株资源库提供。

1.1.2 材料与试剂

改良MRS和TPY液体培养基：北京陆桥技术股份有限公司；氯化钾、碳酸氢钠、碳酸铵：分析纯，天津鑫铂特化工有限公司；磷酸二氢钾：分析纯，福晨（天津）化学试剂有限公司；氯化钠：分析纯，天津市汇杭化工科技有限公司；牛胆盐、六水氯化镁、二水氯化钙：分析纯，大连美仑生物技术有限公司；胃蛋白酶、胰蛋白酶、蔗糖：分析纯，西格玛奥德里奇（上海）贸易有限公司；脱脂乳粉：内蒙古蒙牛乳业（集团）股份有限公司；二甲苯、$FeSO_4$：分析纯，国药集团化学试剂有限公司；DPPH：分析纯，德国Sigma公司；Tris-HCl：分析纯，上海联试化工试剂有限公司；邻苯三酚、邻菲罗啉、H_2O_2：分析纯，生工生物工程（上海）股份有限公司；DTPA：分析纯，合肥博美生物科技有限责任公司。

1.1.3 仪器与设备

荧光多模式酶标仪：Infinite M Nano+型，帝肯（上海）实验器材有限公司；电热恒温培养箱：DH6000BII型，天津市泰斯特仪器有限公司；冷冻离心机：HC-3018R型，安徽中科中佳科学仪器有限公司；立式自动压力蒸汽灭菌器：GR85DA型，致微（厦门）仪器有限公司；超声仪：PS-60AL型，深圳市雷德邦电子有限公司。

1.1.4 菌株供试液的制备

分别将分离出的*B. lactis*接种于改良MRS培养基，于37 ℃培养至对数生长期（12 h），再以体积分数1%接种于新鲜改良MRS液体培养基，置于37 ℃培养箱中培养12 h至对数生长期，将菌悬液离心洗涤3次，并加入40 mL生理盐水制成菌株供试液。

1.2 体外耐受性评价

1.2.1 耐酸能力测定

将56株*B. lactis*菌株和商业菌株分别以体积分数2%接种于pH 2.5的TPY培养基，置于37 ℃培养箱培养72 h，使用分光光度计在620 nm处测定菌株的OD_{620}，平行测定3次，按照式（1）计算OD_{620}变化值（ΔOD_{620}）。

$$O=O_1-O_0 \quad (1)$$

式中：

O—ΔOD_{620}；

O_0—菌株的初始OD_{620}；

O_1—菌株在pH 2.5的TPY培养基中培养72 h的OD_{620}。

1.2.2 胆盐耐受能力测定

在改良MRS液体培养基中加入质量浓度分别为0.05、0.10 g/dL的胆盐，121 ℃灭菌15 min，于室

温保存。将菌株供试液以体积分数2%转接到含不同质量浓度胆盐的改良MRS液体培养基中，于37 ℃培养箱中静置培养24 h，以未添加胆盐的改良MRS液体培养基作为对照，测定其OD_{620}，平行测定3次。

1.2.3 胃液耐受能力测定

胃液电解质组分为：氯化钾0.514 g/L、磷酸二氢钾0.122 g/L、碳酸氢钠2.100 g/L、氯化钠2.761 g/L、六水氯化镁0.024 g/L、碳酸铵0.048 g/L、二水氯化钙0.022 g/L。在胃液电解质中加入3.0 g/L胃蛋白酶（pepsin，PEP），将pH调至2.5，用0.22 μm的无菌滤膜过滤除菌，制成人工胃液。各吸取5 mL的菌株供试液和人工胃液，充分混匀，于37 ℃恒温培养，按照GB 4789.34—2016中的方法测定0、3 h的活菌数，计算存活率，每个菌株供试液均进行3次重复试验。

1.2.4 肠液耐受能力测定

肠液电解质组成为：氯化钾0.503 g/L、磷酸二氢钾0.108 g/L、碳酸氢钠7.140 g/L、氯化钠2.246 g/L、六水氯化镁0.067 g/L、二水氯化钙0.088 g/L。在肠液电解质中加入3 g/L牛胆盐和0.07 g/L胰蛋白酶（trypsin，Try），将pH调至7.0，用0.22 μm的无菌滤膜过滤除菌，制成人工肠液。各吸取5 mL的菌株供试液和人工肠液，充分混匀，于37 ℃恒温培养，按照GB 4789.34—2016中的方法测定0、2、4 h的活菌数，计算存活率，每个菌株供试液均进行3次重复试验。

1.2.5 表面疏水率的测定

参照Soleimani等[9]的方法并稍加修改，测定表面疏水性。菌株培养24 h，于5 000 r/min离心5 min，在600 nm处测定初始OD_{600}，将菌株供试液与二甲苯等体积混合均匀，静置分层后，取下层水相测定混合液的OD_{600}，按照式（2）计算表面疏水率。

$$H=\frac{A_1-A_2}{A_1}\times 100\% \quad (2)$$

式中：

H——表面疏水率，%；

A_1——初始OD_{600}；

A_2——混合液的OD_{600}。

1.2.6 表面自凝聚率的测定

参照Soleimani等[9]的方法并稍加修改，测定表面自凝聚率。按1.2.5的方法离心洗涤菌株，培养0、3、6、24 h时收集上层菌悬液，在600 nm处测定OD_{600}，按照式（3）计算表面自凝聚率。

$$C=\frac{A_0-A_3}{A_0}\times 100\% \quad (3)$$

式中：

C——表面自凝聚率，%；

A_0——0 h时菌悬液的OD_{600}；

A_3——不同培养时间的上层菌悬液的OD_{600}。

1.3 益生菌的体外抗氧化能力测定

1.3.1 细胞上清液、细胞悬液和细胞裂解液的制备

1）细胞上清液：将菌悬液置于37 ℃培养24 h，完成3代活化后，在4 ℃下以8 000 r/min离心10 min，收集上清液。

2）细胞悬液：将菌悬液置于37 ℃培养24 h，完成3代活化后，在4 ℃下以8 000 r/min离心10 min，PBS缓冲液洗涤3次，稀释至相同浓度，制得细胞悬液。

3）细胞裂解液：超声波冰浴处理细胞悬液5 min，之后在4 ℃下以8 000 r/min离心10 min。通过显微镜观察确认无完整细胞后，将上清液收集至无菌离心管中，即为细胞裂解液。

1.3.2 DPPH自由基清除能力的测定

将发酵上清液（细胞悬液、细胞裂解液）与0.05 mmol的DPPH溶液等体积混合，于室温下避光放置30 min，测定其在517 nm处的吸光度，按照式（4）计算DPPH自由基清除率。

$$D=(1-\frac{A_i-A_j}{A})\times 100\% \quad (4)$$

式中：

D——DPPH自由基清除率，%；

A——等体积蒸馏水的吸光度；

A_i——样品的吸光度；

A_j——等体积无水乙醇的吸光度。

1.3.3 羟自由基清除能力的测定

在1 mL发酵上清液（细胞悬液、细胞裂解液）中加入1 mL的2.5 mmol/L邻菲罗啉、PBS缓冲液、2.5 mmol/L $FeSO_4$溶液和20 mmol/L H_2O_2，充分混匀，37 ℃反应90 min，在536 nm处测定吸光度，按照式（5）计算羟自由基清除率。

$$I=\frac{A_k-A_e}{A_f-A_e}\times 100\% \quad (5)$$

式中：

I——羟自由基清除率，%；

A_k——样品的吸光度；

A_f——蒸馏水替代样品和H_2O_2时的吸光度；

A_e——蒸馏水替代样品时的吸光度。

1.3.4 超氧阴离子自由基清除能力的测定

将0.5 mL待测液分别与1 mL Tris-HCl（150 mmol/L）、1 mL邻苯三酚（1.2 mmol/L）和1 mL DTPA（3 mmol/L）混合摇匀，并调整pH到8.2，25 ℃水浴10 min，测定325 nm处吸光度，按照式（6）计算超氧阴离子自由基清除率。

$$N=(1-\frac{A_{bb}-A_{ba}}{A_{ab}-A_{aa}})\times 100\% \quad (6)$$

式中：

N——超氧阴离子自由基清除率，%；

A_{aa}——无样品和邻苯三酚的吸光度；

A_{ab}——无样品但含邻苯三酚的吸光度；

A_{ba}——有样品但不含邻苯三酚的吸光度；

A_{bb}——添加样品和邻苯三酚的吸光度。

1.3.5 铁离子还原能力的测定

分别取0.5 mL待测液、质量分数1%的铁氰化钾溶液和PBS缓冲液，将其混合均匀，50 ℃水浴20 min后急速冷却，再加入0.5 mL质量分数10%的三氯乙酸，离心后取上清液，在上清液中加入1 mL质量分数0.1%的三氯化铁溶液和1 mL蒸馏水，静置10 min后在700 nm处测定吸光度并记录，按照式（7）计算铁离子还原能力。

$$R=\frac{A_S-A_b}{A_b}\times 100\% \quad (7)$$

式中：

R——铁离子还原能力，%；

A_S——样品的吸光度；

A_b——等体积PBS缓冲液的吸光度。

1.4 数据处理

采用Origin 2021进行图表制作。采用IBM SPSS 26.0进行单因素方差分析（ANOVA），$P<0.05$表示差异显著。

2 结果与讨论

2.1 益生菌耐受性测定结果

2.1.1 益生菌耐酸性初筛结果

对分离自河南省南阳市儿童肠道的56株*B. lactis*进行酸耐受能力评价，在pH 2.5的培养基中培养72 h，检测培养物的ΔOD_{620}。如图1所示，以商业菌株为对照，以ΔOD_{620}=0.03作为阳性对照阈值，筛选出5株具有显著耐酸性的候选菌株，分别为MN16581、MN16617、MN16620、MN16624及MN16631。具有胃酸耐受能力是益生菌在动物体内发挥益生作用的重要前提，因为胃液的pH为2.0~3.0，该pH能够杀灭大部分的微生物[10]。结果表明，5株*B. lactis*具有较强的耐酸能力，这一特性使其能够抵抗胃酸，顺利进入肠道从而发挥潜在益生功能。

2.1.2 益生菌胆盐耐受性测定结果

如图2所示，所有初筛菌株在无胆盐培养基中的OD_{620}均为1.4~1.6，且无显著差异（$P>0.05$）。所有菌株对0.05 g/dL胆盐的耐受能力明显强于0.10 g/dL胆盐。在含0.05 g/dL胆盐的培养基中，MN16617、MN16620、MN16624及MN16631的OD_{620}与商业菌株相比无显著差异（$P>0.05$），只有MN16581的OD_{620}显著低于商业菌株（$P<0.05$），多数菌株在0.05 g/dL胆盐水平下具有良好的耐受性，可能与其通过调节渗透压等途径维持细胞完整性有关。在0.10 g/dL胆盐水平下，6株菌株虽有生长，但其OD_{620}均较小，说明随着胆盐质量浓度进一步升高，菌株生长均受到了较大程度的抑制。胆盐是参与消化和吸收的主要成分，对活细胞有毒，因此抗胆盐能力是益生菌在小肠中生存所必需的关键特性之一[11]。人体小肠中胆盐的质量浓度为0.03~0.30 g/dL，益生菌要在小肠中定植，必须耐受胆盐的抑制作用[12]。结果表明，MN16617、MN16620、MN16624及MN16631具备较好的胆盐耐受性及小肠定植能力。

2.1.3 益生菌对胃肠液耐受性测定结果

益生菌在体外模拟人体胃肠液中的耐受能力是发挥其益生作用的重要前提[13]。如表1所示，在人工胃液中培养3 h后，商业菌株的存活率维持在较高水平，达到92.68%。MN16581的存活率明显高于商业菌株，MN16624的存活率与商业菌株相近，MN16617、MN16620和MN16631的存活率略低，但同样展现出较好的耐胃液能力。说明这些菌株在人工胃液环境中的适应能力相对较强。在人工肠液中，不同菌株的存活率存在较大差异。商业菌株在短时间内的存活能力较强，但其长期

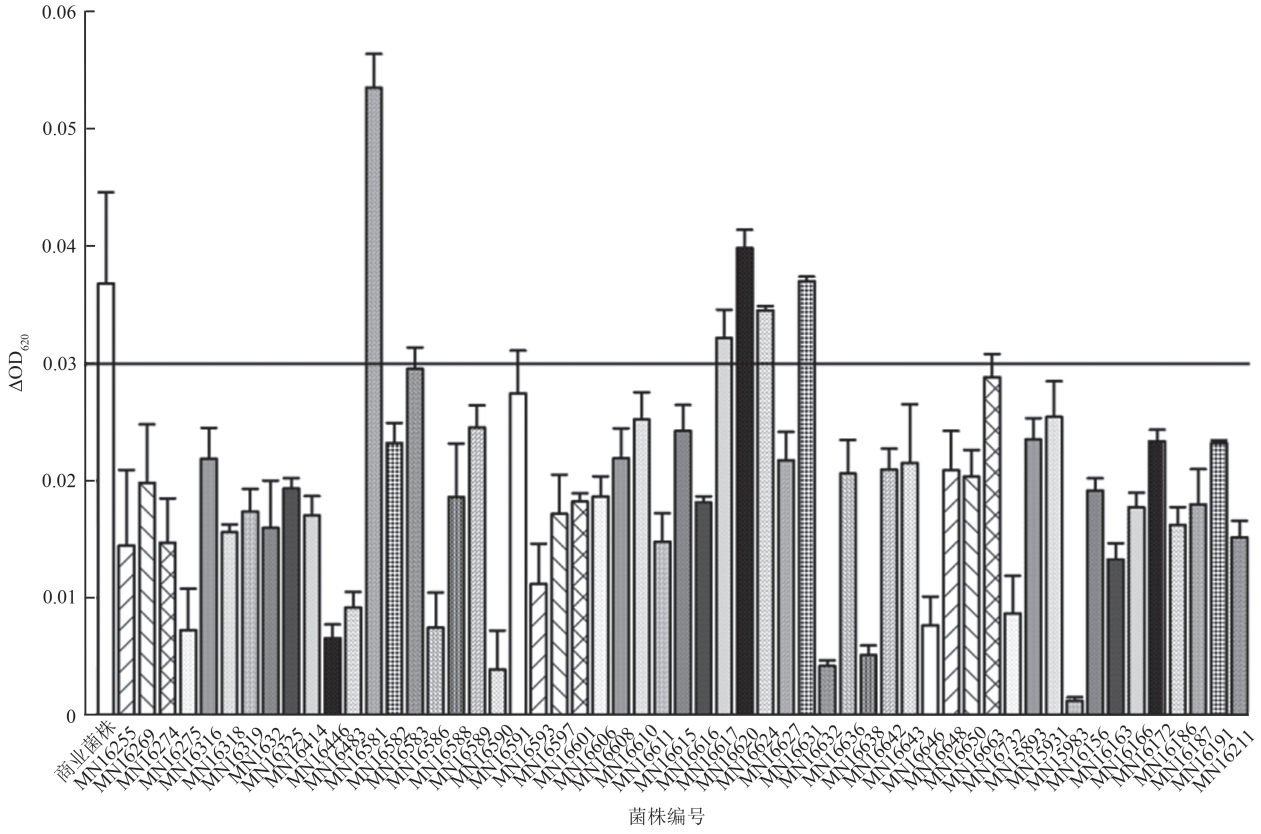
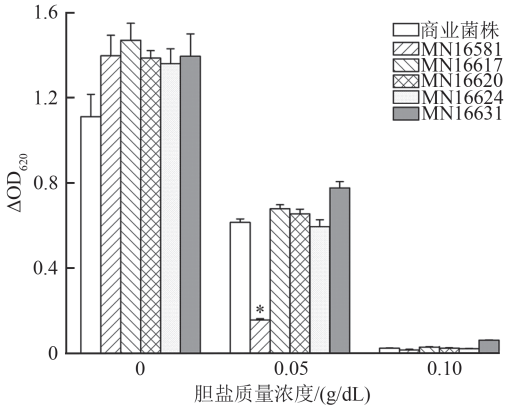


图 1　56 株 *B. lactis* 在 pH 2.5 的培养基中的生长情况

Fig. 1　Growth situations of 56 strains of *B. lactis* in the culture media with pH 2.5



*—差异显著（P<0.05）。

图 2　6 株 *B. lactis* 对胆盐的耐受性

Fig. 2　Tolerance of 6 strains of *B. lactis* to bile salts

耐肠液能力欠佳。MN16581 耐肠液能力较差，MN16617 和 MN16620 具备一定的耐肠液能力，MN16624 菌株在人工肠液中的存活率随时间延长有所减弱，MN16631 显示出较好的肠液适应能力，这与其他相关研究结果较为一致。Güler 等[14]从新生儿的肠道中分离出 40 株双歧杆菌，其中有 15 株分离菌株能耐受胆盐，并对人工胃肠液表现出高抗性；Zhao 等[15]发现，人源长双歧杆菌长亚种 K5 与 *B. lactis* BB12 相比，对胃肠道环境具有高耐受性；Liu 等[16]从母乳中分离出 1 株动物双歧杆菌乳亚种 Probio-M8，该菌株具有胆盐、胃肠液耐受性以及长时间培养的存活能力。

表 1　菌株对人工胃肠液的耐受性

Table 1　Tolerance of strains to simulated gastric and intestinal fluids

菌株编号	菌株存活率/%		
	人工胃液（3 h）	人工肠液（2 h）	人工肠液（4 h）
商业菌株	92.68	66.99	1.12
MN16581	104.48	1.29	0.29
MN16617	74.48	29.41	15.67
MN16620	88.93	44.37	44.37
MN16624	92.17	43.78	7.87
MN16631	87.13	78.04	43.64

2.2　益生菌表面特征的测定结果

2.2.1　表面疏水性的测定结果

益生菌在肠道中的定植能力取决于细菌黏附

于宿主细胞表面的能力，细胞表面疏水性是影响益生菌黏附特性的因素之一[17]。表面疏水率一般通过微生物对碳氢化合物的黏附作用来测定，表面疏水率不低于40%是判定潜在益生菌的关键指标之一[18]。以二甲苯为溶剂，测定了菌株的表面疏水率。如图3所示，商业菌株、MN16581、MN16617、MN16620、MN16624和MN16631的表面疏水率分别为(46.98±2.51)%、(82.34±3.34)%、(81.98±3.79)%、(73.06±1.40)%、(72.90±1.23)%和(56.69±1.96)%。6株*B. lactis*表现出较高的表面疏水率，均超过40%。

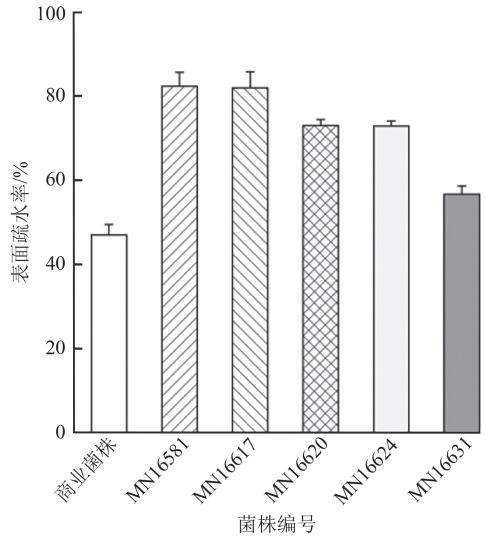


图3　6株*B. lactis*的表面疏水性

Fig. 3　Surface hydrophobicity of 6 strains of *B. lactis*

2.2.2　表面自凝聚性的测定结果

益生菌的凝聚对其在人体肠道上皮细胞中发挥益生作用至关重要[19]。自凝聚能力是益生菌黏附于人体胃肠道的重要决定因素，也是生物膜形成的必要条件。如表2所示，商业菌株、MN16581、MN16617、MN16620、MN16624和MN16631的表面自凝聚率随时间的延长逐渐增加。在24 h时，MN16631的表面自凝聚率与商业菌株相比无明显差异；MN16581、MN16617、MN16620、MN16624的表面自凝聚率明显低于商业菌株。Vlková等[20]的研究显示，*B. lactis*的表面自聚集率为16.3%~96.4%，表面疏水率为0~82.8%。Lee等[21]研究发现，双歧杆菌NK175表现出良好的表面自凝聚能力(48.9%)和表面疏水性(85.6%)。Krausova等[22]分离出的人源双歧杆菌的表面疏水率为6.1%~87.4%，差异较大，而表面自凝聚率为21.7%~69.7%。

表2　6株*B. lactis*的表面自凝聚率

Table 2　Surface auto-aggregation rates of 6 strains of *B. lactis*

菌株编号	表面自凝聚率/%		
	3 h	6 h	24 h
商业菌株	24.22±4.73	41.06±4.76	86.02±0.33
MN16581	18.01±0.35	28.91±3.36	77.62±1.16
MN16617	16.70±2.97	30.35±2.34	77.16±2.70
MN16620	20.07±2.85	36.76±2.36	80.84±0.71
MN16624	13.47±2.15	28.31±6.86	81.78±0.32
MN16631	19.98±0.99	32.51±2.12	84.28±2.41

2.3　益生菌体外抗氧化能力的测定

2.3.1　DPPH自由基清除能力的测定结果

如图4(a)所示，6株*B. lactis*细胞上清液和细胞悬液的DPPH自由基清除率均高于细胞裂解液。其中，MN16617和MN16631细胞上清液与细胞悬液的DPPH自由基清除率均高于商业菌株。商业菌株细胞裂解液的DPPH自由基清除率为25.43%，MN16624和MN16631细胞裂解液的DPPH自由基清除率均高于商业菌株，而MN16620细胞裂解液的DPPH自由基清除率显著低于商业菌株($P<0.05$)。此外，MN16631细胞上清液、细胞悬液和细胞裂解液的DPPH自由基清除率均高于商业菌株。Amaretti等[23]研究发现，*B. lactis*菌株是抗氧化活性较高的菌株，其抗氧化活性可能与胞外代谢产物及细胞结构完整性有关，而不同菌株在各体系中的差异可能与代谢通路、酶活性等因素有关。

2.3.2　羟自由基清除能力的测定结果

由图4(b)可知，商业菌株细胞上清液的羟自由基清除率为81.77%，略低于MN16631(82.68%)($P>0.05$)，而MN16581、MN16617、MN16620和MN16624细胞上清液的羟自由基清除率均显著低于商业菌株($P<0.05$)。MN16631细胞悬液的羟自由基清除率为86.50%，与商业菌株(85.26%)相比无显著差异($P>0.05$)，其余菌株细胞悬液的羟自由基清除率均低于商业菌株。MN16631细胞裂解液的羟自由基清除率最高。Gagnon等[24]发现，长双歧杆菌长亚种ATCC15708的胞内提取物也具有较强的抗氧化作用。结果表明MN16631细

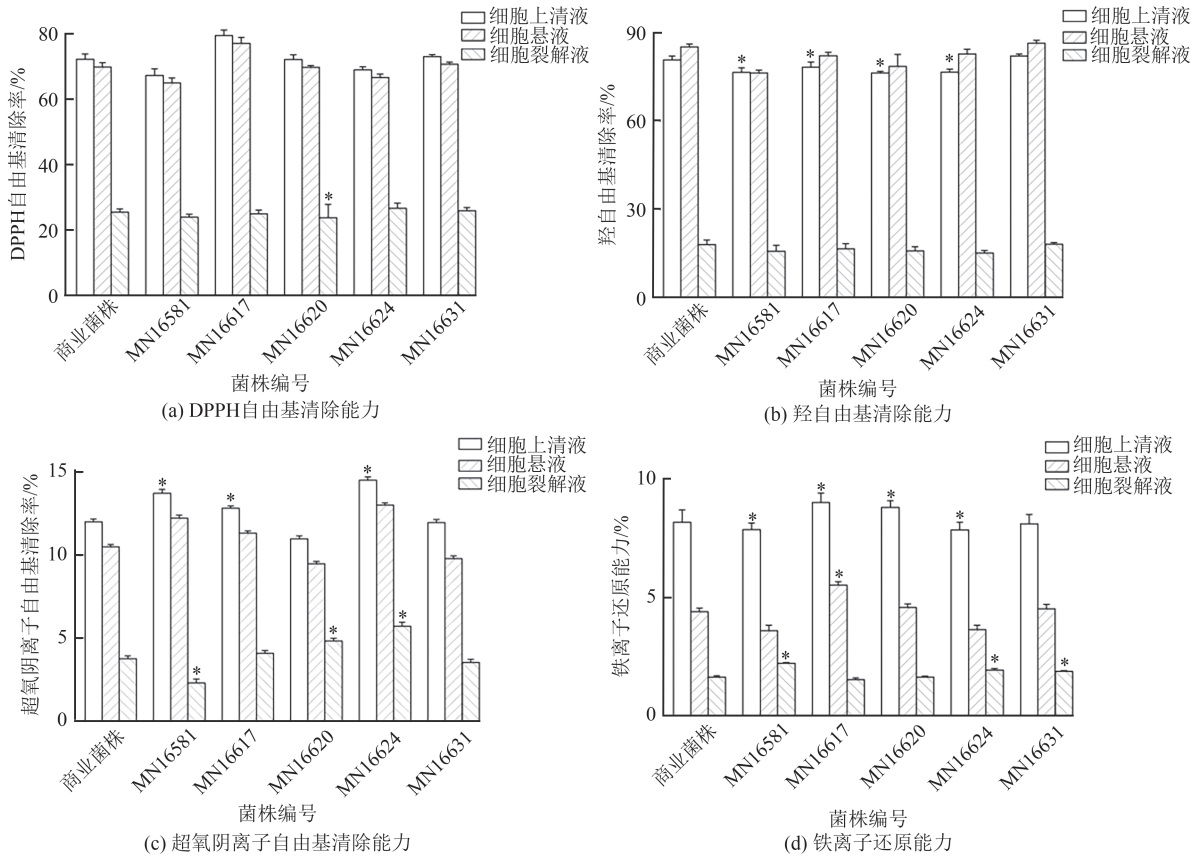
胞裂解液在羟自由基清除能力上优势显著，这可能是因为其胞内抗氧化物质在细胞破碎后得以充分释放。

2.3.3 超氧阴离子自由基清除能力的测定结果

如图4（c）所示，MN16624、MN16617和MN16581细胞上清液的超氧阴离子自由基清除率显著高于商业菌株（12.05%）（P<0.05），MN16631细胞上清液的超氧阴离子自由基清除率为12.10%，与商业菌株相比无显著差异（P>0.05）。商业菌株细胞悬液的超氧阴离子自由基清除率为10.51%，MN16631细胞悬液的超氧阴离子自由基清除率（9.91%）略低于商业菌株（P>0.05）。MN16631细胞裂解液的超氧阴离子自由基清除率为3.56%，与商业菌株（3.80%）相比无显著差异（P>0.05），而MN16581细胞裂解液的超氧阴离子自由基清除率显著低于商业菌株（P<0.05）。整体而言，虽然MN16617和MN16624的超氧阴离子自由基清除能力较好，但是MN16631在不同体系中的抗氧化能力更均衡，无明显功能短板，表现出对复杂氧化环境的良好适应性。

2.3.4 铁离子还原能力的测定结果

由图4（d）可知，MN16617和MN16620细胞上清液的铁离子还原能力均显著高于商业菌株（P<0.05），而MN16581和MN16624细胞上清液的铁离子还原能力均显著低于商业菌株（P<0.05），MN16631细胞上清液的铁离子还原能力与商业菌株相比无显著差异（P>0.05）。MN16617细胞悬液的铁离子还原能力显著高于商业菌株（P<0.05），其余菌株细胞悬液的铁离子还原能力与商业菌株相比无显著差异。MN16581、MN16624和MN16631细胞裂解液的铁离子还原能力均显著高于商业菌株（P<0.05）。Averina等[25]也评估并证实了*B. lactis*细胞上清液、完整细胞和细胞内提取物具有铁离子还原能力。因此MN16631的抗氧化机制可能与胞外及胞内还原物质有关，这种双重抗氧化机制使其在不同微环境中均能稳定发挥铁离子还原能力。



(a) DPPH自由基清除能力　(b) 羟自由基清除能力

(c) 超氧阴离子自由基清除能力　(d) 铁离子还原能力

*—与商业菌株相比差异显著（P<0.05）。

图4 6株*B. lactis*的体外抗氧化能力

Fig. 4 *In vitro* antioxidant capacity of 6 strains of *B. lactis*

3 结论

从河南省南阳市健康儿童肠道中分离的56株*B. lactis*中，筛选出6株具有潜在益生特性的菌株。与商业菌株相比，*B. lactis* MN16631菌株表现出显著优势：*B. lactis* MN16631在pH 2.5的酸性环境中耐受能力较强，人工胃肠液耐受性与商业菌株相近，尤其在人工肠液中的适应性较好；*B. lactis* MN16631的表面疏水性高于商业菌株，表面自凝聚能力在24 h时与商业菌株相比无明显差异，显示出良好的肠道定植潜力；*B. lactis* MN16631的DPPH自由基清除能力优于商业菌株，羟自由基和超氧阴离子自由基清除能力及铁离子还原能力与商业菌株相比无显著差异，可作为核心功能菌株应用于益生菌制剂、发酵乳、功能性饮料等产品的开发。目前大部分商业乳双歧杆菌来源于婴儿肠道和母乳，从儿童肠道来源的商业益生菌较少。来源于儿童肠道的*B. lactis* MN16631益生菌的开发，将使乳双歧杆菌来源更多元化，有助于解决儿童肠道健康问题。但本研究中仅评价了*B. lactis* MN16631的体外功能特性，后续需通过动物模型或人体试验进一步验证其益生功能。此外，儿童肠道来源的*B. lactis* MN16581的耐酸能力远强于商业菌株及其他试验菌株，但在人工肠液中的适应能力最差，强耐酸但不耐肠液的特征突出，可能较适合应用于特殊功能食品，后续可通过功能性研究及实际生产验证进一步挖掘该菌株在酸性食品体系中的应用潜力，以充分发挥其独特的耐酸优势。

参考文献

[1] Munir A，Javed G A，Javed S，et al. *Levilactobacillus brevis* from carnivores can ameliorate hypercholesterolemia：*in vitro* and *in vivo* mechanistic evidence[J]. Journal of Applied Microbiology，2022，133(3)：1725-1742.

[2] 赵丽霞，刘文俊. 母乳中乳酸菌多样性及益生菌开发利用研究进展[J]. 食品与生物技术学报，2024，43(4)：25-34.
Zhao L X，Liu W J. Research progress on diversity of lactic acid bacteria and probiotics exploitation in breast milk[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2024，43(4)：25-34.(in Chinese)

[3] Roobab U，Batool Z，Manzoor M F，et al. Sources，formulations，advanced delivery and health benefits of probiotics[J]. Current Opinion in Food Science，2020，32：17-28.

[4] 杨夕缘，杨波，赵建新，等. 动物双歧杆菌乳亚种对便秘的改善研究[J]. 食品与生物技术学报，2024，43(7)：22-34.
Yang X Y，Yang B，Zhao J X，et al. Exploration of the effect of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* on improving constipation[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2024，43(7)：22-34.(in Chinese)

[5] 应聪萍，陈卫，张灏，等. 一株*Bifidobacterium longum* CCFM760的生理特性、安全性评价和基因分析[J]. 食品与生物技术学报，2020，39(2)：81-88.
Ying C P，Chen W，Zhang H，et al. Physiological characteristics，safety evaluation and genetic analysis of *Bifidobacterium longum* CCFM760[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2020，39(2)：81-88.(in Chinese)

[6] 刘凯龙，姚国强，张和平. 基于电流体加工技术对益生菌包封作用研究进展[J]. 食品与生物技术学报，2022，41(7)：24-31.
Liu K L，Yao G Q，Zhang H P. Research progress in encapsulation of probiotics based on electrofluid processing technology[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2022，41(7)：24-31.(in Chinese)

[7] Lee Y K，Salminen S. The coming of age of probiotics[J]. Trends in Food Science & Technology，1995，6(7)：241-245.

[8] Song W N，Zhang S Y，Wang Z R，et al. Intestinal microecology in children with pneumonia：the relationship between digestive health and disease recovery[J]. Journal of Clinical and Nursing Research，2024，8(6)：15-20.

[9] Soleimani H，Shokri R，Nami Y，et al. Potential probiotic characterization of lactic acid bacteria isolated from Duimaj，an Iranian traditional snack food，using biochemical，molecular and computational approaches[J]. LWT-Food Science and Technology，2023，184：115091.

[10] Singh T P，Kaur G，Malik R K，et al. Characterization of intestinal *Lactobacillus reuteri* strains as potential probiotics[J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins，2012，4(1)：47-58.

[11] 柳雅茹，于雷雷，张程程，等. 长双歧杆菌CCFM1077缓解小鼠肝内胆汁淤积症的作用机制[J]. 食品与生物技术学报，2024，43(4)：62-71.
Liu Y R，Yu L L，Zhang C C，et al. Mechanism of action of *Bifidobacterium longum* CCFM1077 in alleviating

intrahepatic cholestasis in mice[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2024, 43(4): 62-71. (in Chinese)

[12] Ma J G, Xu C, Yu H L, et al. Electro-encapsulation of probiotics in gum Arabic-pullulan blend nanofibres using electrospinning technology[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 111: 106381.

[13] Saxelin M. *Lactobacillus* GG: a human probiotic strain with thorough clinical documentation[J]. Food Reviews International, 1997, 13(2): 293-313.

[14] Güler M A, Çetin B, Albayrak B, et al. Isolation, identification, and *in vitro* probiotic characterization of forty novel *Bifidobacterium* strains from neonatal feces in Erzurum Province, Türkiye[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2024, 104(7): 4165-4175.

[15] Zhao L, Wang S, Dong J H, et al. Identification, characterization, and antioxidant potential of *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* strains isolated from feces of healthy infants[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 756519.

[16] Liu W J, Chen M X, Duo L N, 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.

[17] Del Re B, Sgorbati B, Miglioli M, et al. Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum*[J]. Letters in Applied Microbiology, 2000, 31(6): 438-442.

[18] Divya J B, Varsha K K, Nampoothiri K M. Newly isolated lactic acid bacteria with probiotic features for potential application in food industry[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2012, 167(5): 1314-1324.

[19] Zuo F L, Yu R, Feng X J, et al. Characterization and *in vitro* properties of potential probiotic *Bifidobacterium* strains isolated from breast-fed infant feces[J]. Annals of Microbiology, 2016, 66(3): 1027-1037.

[20] Vlková E, Rada V, Šmehilová M, et al. Auto-aggregation and co-aggregation ability in bifidobacteria and clostridia[J]. Folia Microbiologica, 2008, 53(3): 263-269.

[21] Lee J, Jo J, Wan J, et al. *In vitro* evaluation of probiotic properties and anti-pathogenic effects of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains as potential probiotics[J]. Foods, 2024, 13(14): 2301.

[22] Krausova G, Hyrslova I, Hynstova I. *In vitro* evaluation of adhesion capacity, hydrophobicity, and auto-aggregation of newly isolated potential probiotic strains[J]. Fermentation, 2019, 5(4): 100.

[23] Amaretti A, di Nunzio M, Pompei A, et al. Antioxidant properties of potentially probiotic bacteria: *in vitro* and *in vivo* activities[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97(2): 809-817.

[24] Gagnon M, Savard P, Rivière A, et al. Bioaccessible antioxidants in milk fermented by *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* strains[J]. BioMed Research International, 2015, 2015: 169381.

[25] Averina O V, Poluektova E U, Marsova M V, et al. Biomarkers and utility of the antioxidant potential of probiotic lactobacilli and bifidobacteria as representatives of the human gut microbiota[J]. Biomedicines, 2021, 9(10): 1340.