DOI:10.12441/spyswjs.20251022002 [文章编号] 1673-1689(2026)04-0085-09

贵阳酸粉乳酸菌的群落结构、分离鉴定与功能评价

何家鱼[1] 李 昊[1] 黄中秋[2] 罗婧文[3] 陈晓芳[4,5] 刘 嘉[3] 王 辉[3*]

(1. 贵州大学酿酒与食品工程学院,贵州 贵阳 550025; 2. 遵义医科大学公共卫生学院,贵州 遵义 563000; 3. 贵州省农科院食品加工研究所,贵州 贵阳 550025; 4. 毕节医学高等专科学校,贵州 毕节 551700; 5. 毕节市健康产业重点实验室,贵州 毕节 551700)

摘要:【目的】以贵阳传统发酵食品“酸粉”为研究对象,分析其自然发酵过程中微生物群落结构的变化,并筛选分离具有优良产酸性能和良好安全性的乳酸菌菌株,为酸粉标准化生产提供支撑。**【方法】**采用高通量测序技术分析微生物群落结构;通过分离纯化、形态学观察、生理生化试验及16S rRNA基因测序鉴定菌株,并对菌株进行产酸能力、溶血试验及抗生素敏感性测试以评估其性能与安全性。**【结果】**高通量测序结果表明,浸泡阶段微生物多样性最高,且形成了以粘液乳杆菌属为优势菌属的稳定群落;从样品中成功鉴定出2株乳酸菌:发酵粘液乳杆菌(*Limosilactobacillus fermentum*, *L. fermentum*)与罗伊氏粘液乳杆菌(*Limosilactobacillus reuteri*,*L. reuteri*);这2株菌具备较强产酸能力,在大米基质中48 h可将pH降至3.80;在安全性方面,2株菌溶血性试验结果均为γ溶血,抗生素敏感性试验表明发酵粘液乳杆菌相对安全,罗伊氏粘液乳杆菌还需进行更全面的安全性评估。**【结论】**筛选所得的发酵粘液乳杆菌具有良好的发酵及安全性能,可应用于贵阳酸粉的标准化、工业化生产。

关键词:贵阳酸粉;乳酸菌;群落结构;发酵粘液乳杆菌;罗伊氏粘液乳杆菌

Community Structure, Isolation, Identification, and Functional Evaluation of Lactic Acid Bacteria in Guiyang Sour Rice Noodles

HE Jiayu[1] *LI Hao*[1] *HUANG Zhongqiu*[2] *LUO Jingwen*[3] *CHEN Xiaofang*[4,5] *LIU Jia*[3] *WANG Hui*[3*]

(1. School of Liquor and Food Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. School of Public Health, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China; 3. Institute of Food Processing, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550025, China; 4. Bijie Medical College, Bijie 551700, China; 5. Bijie Key Laboratory of the Health Industry, Bijie 551700, China)

Abstract: [**Objective**] This study investigated the microbial community structure changes during the natural fermentation process of sour rice noodles, a traditional fermented food from Guiyang City, Guizhou Province and screened and isolated lactic acid bacterial strains with excellent acid-producing capacity and safety profiles, aiming to support the standardized production of sour rice noodles. [**Method**] The microbial community structure was analyzed through high-throughput sequencing technology. Strains were isolated, purified, and identified through morphological observation, physiological and biochemical assays, and 16S rRNA gene sequencing. The identified strains underwent acid production capacity measurement, hemolysis tests, and antibiotic susceptibility

基金项目:贵阳市花溪区科技项目([2023]花科技合同字第8号);毕节市健康产业重点实验室开发课题项目(毕健重字BJZDSYS[2024]8号);贵州生态特色农产品加工新兴人才团队项目(黔农科院新兴团队[2026]05号)。

通信作者:王辉(1989—),男,博士,副研究员,硕士研究生导师,主要从事刺梨、薯类加工及产品开发研究。E-mail:wanghui880101@163.com

收稿日期:2025-10-22 **修回日期:**2025-11-03

testing, on the basis of which the performance and safety of the strains were evaluated. [**Result**] High-throughput sequencing revealed that microbial diversity peaked during the soaking stage, with a stable community dominated by the genus g_*Limosilactobacillus*. Two lactic acid bacterial strains—*Limosilactobacillus fermentum* (*L. fermentum*) and *Limosilactobacillus reuteri* (*L. reuteri*)—were successfully identified from the samples. The two strains exhibited strong acid-producing capabilities, reducing the pH to 3.80 within 48 h in a rice substrate. Regarding safety, both strains demonstrated γ hemolysis in hemolysis tests, while antibiotic susceptibility testing indicated *L. fermentum* was relatively safe, and *L. reuteri* required a more comprehensive safety assessment. [**Conclusion**] In summary, *L. fermentum* selected in this study exhibits excellent fermentation and safety properties, being suitable for the standardized and industrial production of Guiyang sour rice noodles.

Keywords: Guiyang sour rice noodle; lactic acid bacterium; community structure; *Limosilactobacillus fermentum*; *Limosilactobacillus reuteri*

稻米制品是我国南方地区的主食，米粉是稻米经浸泡、磨浆、蒸煮和挤压等工序制成的条状或丝状米制品[1]。发酵米粉在我国有悠久的历史，是大米经浸泡、发酵、磨浆、蒸煮和挤压等工序制成的米制品，与普通米粉在口感和营养上都有显著差异[2-3]。大米经多种微生物代谢产生有机酸和酶等产物，主要成分如直、支链淀粉发生变化，使米粉的蒸煮特性、质构特性、食味品质等得以改善[4-5]。此外，微生物发酵可以调节大米淀粉消化率，对预防慢性病的发病率有重要作用[6]。

江西罗城扎粉、广西南宁生榨米粉及贵州贵阳酸粉均为我国颇具特色的发酵米粉。罗城扎粉是国家地理标志产品，也是省级非物质文化遗产[7]。南宁生榨米粉经过洗米、泡米、发酵、磨浆、蒸煮、压榨等11道严谨工序，工艺体系成熟[8]。贵阳酸粉为贵州传统特色名小吃，但多采用自然发酵的方式进行生产，导致发酵过程易受环境影响，产品品质差异较大，且只能通过经验判断优劣[9]，使贵阳酸粉难以实现安全、标准化生产。贵阳酸粉标准化生产的首要条件是自然发酵酸粉中优势菌种的筛选及应用。高通量测序技术（high-throughput sequencing，HTS）已被广泛应用于基因组测序、转录组定量分析以及微生物组多维解析等研究中，具有引物覆盖度高、成本低廉及生物信息学分析流程成熟等优点，广泛应用于发酵食品菌群组成分析及鉴定[10]。

作者对不同生产阶段的酸粉微生物多样性进行分析，采用高通量测序与传统筛选分离菌种相结合的方式对优势菌进行筛选，并对筛选菌种的安全及功能特性进行评价，以期得到发酵酸粉的优势安全菌种，为酸粉规范化、标准化的生产提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

贵阳酸粉：2025年5月取样于贵州省贵阳市乌当区酸粉厂同一批次酸粉，选取浸泡发酵、压榨脱水这2个阶段的固、液态加工产物；桂朝米：益阳市新强米业有限公司；MRS肉汤培养基、MRS琼脂培养基：广东中山百微生物技术有限公司；结晶紫、碘化钾、碘：分析纯，上海麦克林生化科技股份有限公司；番红O：福州飞净生物科技有限公司；无水乙醇（质量分数99%）：天津市富宇精细化工有限公司；过氧化氢（质量分数3%）：福州文莱生物科技有限公司；溴甲酚绿：分析纯，西安天茂宝鼎生物科技有限公司；硫化氢微量生化反应管：杭州微生物试剂有限公司；牛肉膏蛋白胨培养基、明胶：上海博微生物科技有限公司；靛基质试剂、乙酰甲基甲醇（V-P）试剂、硝酸盐还原试剂：广东环凯微生物科技有限公司；哥伦比亚血琼脂平板：海博生物技术有限公司；抗菌药物药敏纸片：湖南比克曼控股有限责任公司。

1.2 仪器与设备

电热式压力蒸汽灭菌器：XFH-50CA型，浙江新丰医疗器械有限公司；超净工作台：SW-CJ-1C型，上海尚道仪器制造有限公司；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；生化培养箱：SPX-160H型，宁波扬辉仪器有限公司；pH计：PHS-2F型，上海仪电科学仪器股份有限公司。

1.3 方法

1.3.1 微生物群落结构分析

贵阳酸粉的制作工艺见图1。使用无菌巴氏吸管与灭菌不锈钢采样勺，采集浸泡和压榨

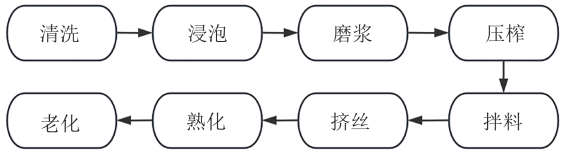


图1　贵阳酸粉制作工艺流程

Fig. 1　Production process of Guiyang sour rice noodles

阶段的样品，分装到无菌采样瓶和无菌采样袋中，立即低温保存，之后在无菌条件下进行分样处理，样品符合送检标准后，统一送至上海派森诺生物科技股份有限公司进行生物群落结构分析。

1.3.2　乳酸菌的分离纯化

1）分离：将固体样品置于无菌生理盐水均质，完成后与液体样品同步进行十进制梯度稀释（从10^{-10}~10^{-1}），以降低微生物浓度。取不同梯度的稀释液100 μL，均匀涂布在MRS琼脂培养基上，在37 ℃条件下厌氧培养，48 h后观察菌落形态特征（颜色、形状、透明度等），选取不同形态特征的单菌落进行后续试验。

2）纯化：在无菌条件下，将分离出的单菌落以平板划线法接种到MRS琼脂培养基上，确保分离出的单菌落为一种菌，重复该过程3~5次，至长出形态单一的菌落为止。随后将已纯化菌种接种到MRS肉汤培养基中，37 ℃厌氧培养，传代3次后确保菌种生长稳定，用于后续研究。

1.3.3　菌株初步筛选

1）革兰氏染色：将待测菌株制备为细菌涂片，进行革兰氏染色，在显微镜下观察革兰氏染色结果与细胞形态[11]。

2）过氧化氢酶试验：将待测菌株接种至MRS琼脂培养基上，37 ℃厌氧培养24 h，将质量分数3%过氧化氢溶液直接滴加在菌落上，观察30 s内是否有气泡产生，产生气泡为阳性，反之为阴性[12]。

3）葡萄糖产酸试验：参考GB 7300.502—2023《饲料添加剂 第5部分：微生物 植物乳杆菌》的方法并稍加修改。向装有MRS肉汤培养基的锥形瓶中加入质量浓度为1 g/L的溴甲酚绿作为指示剂，添加量为5 mL/L，按每管10 mL培养基的添加量分装到试管中，接入菌种，37 ℃厌氧培养48 h，观察颜色变化，初始颜色为蓝色，若变化为黄色或黄绿色为阳性，不变为阴性。

1.3.4　生理生化试验

1）H_2S试验：参考李艳洁等[13]的方法，接种待测菌株到硫化氢微量生化反应管中，37 ℃厌氧培养48 h，观察到有黑色沉淀为阳性，反之为阴性。

2）明胶液化试验：按120 g/L的添加量在牛肉膏蛋白胨培养基中添加明胶，制成明胶培养基，经121 ℃灭菌后转入试管中快速冷却，再以无菌接种针挑取待测菌株穿刺接种到明胶培养基中，37 ℃厌氧培养48 h，定时观察是否有液化现象，若出现液化现象立即取出。将试管置于4 ℃环境中冷却30 min，若依旧呈现液化为阳性，凝固则为阴性[14]。

3）吲哚试验：参考刘制杰等[15]的方法，将待测菌株接种于10 mL MRS肉汤培养基试管中，37 ℃恒温厌氧培养72 h，滴加靛基质试剂8~10滴，两层液体交界处若出现红色圆圈为阳性，不变色为阴性，同时设置对照组。

4）硝酸盐还原试验：参考郗恩光[16]的方法，将供试菌株接种到装有硝酸盐培养基的试管中，每株供试菌设3组平行，以空白试管作空白对照，将试管置于37 ℃恒温厌氧培养48 h，将硝酸盐还原试剂甲、乙液等量混合，向各试管中滴加3~5滴混合液，立即观察培养基的颜色。如果培养基出现红色，为阳性；若无颜色变化，则为阴性。

5）V-P试验：将待测菌株接种于葡萄糖蛋白胨水培养基中，30 ℃恒温厌氧培养72 h，然后向培养液中加入少量乙醚，振荡摇匀，待乙醚浮于培养基表面时缓慢滴加V-P试剂中的甲液10滴、乙液4滴，充分振荡摇匀，静置15 min后观察液体，出现红色或粉红色为阳性，反之为阴性[13]。

1.3.5　分子生物学鉴定

将生理生化试验中符合要求的菌株传代3次至稳定，交由北京擎科生物科技股份有限公司进行菌株DNA提取、PCR扩增及16S rRNA测序。将测序结果通过NCBI上的BLAST检索系统进行序列同源性比对，下载同源性较高的菌株序列并通过MEGA11软件构建系统发育树，进一步判断乳酸菌种类。

1.3.6　功能与安全性验证

1）产酸能力检测：参照吴鹏宇等[17]的方法并稍加修改，将菌种按质量分数2%接种到装有10 mL MRS肉汤培养基的离心管内，同时按质量分数2%将菌种接种于料液比为1 g∶1.2 mL的大

米发酵体系离心管中，37 ℃恒温厌氧培养 48 h，期间每 4 h 测定一次 pH，每组平行测定 3 次，最终结果取 3 次平均值。

2）溶血性试验：将新鲜细菌培养物一式三份划线接种在含体积分数 5% 脱纤维羊血的哥伦比亚琼脂平板上，37 ℃厌氧培养 48 h，检查血琼脂平板是否有 β 溶血（菌落周围有透明区域）、α 溶血（菌落周围有绿色区域）或 γ 溶血（菌落周围无区域）的迹象[18]。

3）抗生素耐药性：参考姚有莉等[19]的方法，采用药敏纸片扩散法检测待测菌株对不同抗生素的敏感程度。将 200 μL 菌液均匀涂布于 MRS 固体平板上，将药敏纸片分别放入平板中，37 ℃培养 48 h，测量并记录各个药敏纸片的抑菌圈直径，并根据药敏性标准对乳酸菌的耐药性进行判定。选用 10 种欧洲食品安全局（European Food Safety Authority，EFSA）安全评估指南重点关注的与可转移耐药基因相关的抗生素，涵盖 *β*-内酰胺类、大环内酯类、四环素类等主要抗生素类别，分别为：青霉素、氨苄西林、头孢曲松、四环素、红霉素、林可霉素、氯霉素、庆大霉素、复方新诺明和环丙沙星，系统评估菌株耐药谱。

1.4 数据分析

所有试验均进行 3 次平行。数据处理和分析采用 WPS Office 和 SPSS 16，结果表示为平均值±标准差，用 GraphPad Prism 10.4.1 软件进行绘图。

2 结果与讨论

2.1 微生物多样性分析

2.1.1 贵阳酸粉不同加工阶段细菌的 α 多样性分析

发酵、压榨 2 个阶段末端半成品送样结果更丰富且更具代表性，所以本研究结果均来自上述 2 个阶段的末端样品。如表 1 所示，所有样品的测序覆盖率均高于 99.93%，表明测序深度充分，能够真实反映各样品中细菌群落的组成情况。从物种丰富度来看，Chao1 指数和观测物种数的变化趋势一致，浸泡液和压榨滤液中细菌丰富度大幅增加，Chao1 指数分别达到 851.32 和 867.35，最终产品压榨块的丰富度最高（Chao1 指数为 1 027.00，观测物种数为 1 023），表明压榨成型阶段汇集并保留了较多的细菌物种数量。从物种多样性和均匀度来看，Shannon 指数和 Simpson 指数的变化表明细菌群落的多样性在整个加工过程中显著提高。浸泡液具有较高的 Shannon 指数（6.29）和最高的 Simpson 指数（0.98），说明该环境中的物种分布非常均匀，且多样性极高，原因可能是大米在浸泡过程中淀粉、蛋白质等大分子物质在水分和适宜温度下开始水解，溶出大量营养物质，这为种类繁多、生长需求各异的微生物提供了一个丰富的“培养基”，使多种好氧、兼性厌氧和厌氧细菌都能找到合适的生态位并快速生长繁殖。最终的压榨块保持了很高的 Shannon 指数（6.33），但其 Simpson 指数（0.94）略低于浸泡液，可能是因为压榨成型过程会将米浆中的固体颗粒与附着在上面的大量微生物紧密挤压在一起，将整个加工流程中出现的绝大多数细菌都截留并固定在了压榨块这一最终基质中，才使其观测物种数达到峰值。

综上所述，在贵阳酸粉的加工过程中，浸泡和压榨阶段显著增加了细菌群落丰富度和多样性。浸泡液作为一个富集环境，承载了最高且最均匀的微生物多样性，而最终的压榨块则整合了整个过程中的微生物资源，形成了丰富且多样的细菌群落结构。

表 1 贵阳酸粉不同制作阶段的细菌多样性

Table 1 Changes in α diversity of bacteria at different stages in the production of Guiyang sour rice noodles

样品	Chao1 指数	Shannon 指数	Simpson 指数	观测物种数	古德覆盖率/%
浸泡大米	436.37	5.28	0.89	427	99.97
浸泡液	851.32	6.29	0.98	849	99.95
压榨滤液	867.35	5.17	0.90	867	99.99
压榨干块	1 027.00	6.33	0.94	1 023	99.95

2.1.2 贵阳酸粉不同加工阶段的细菌群落结构组成变化

2 个不同阶段（浸泡、压榨）酸粉中细菌的群落结构见图 2。在浸泡环节，粘液乳杆菌属（g_*Limosilactobacillus*）是绝对优势菌属。在压榨环节，固体部分与液体部分的群落结构组成有极大差别：固体部分中粘液乳杆菌属占比为 51.39%，其次是在浸泡环节，粘液乳杆菌属依然有较高的占比（30.38%）；压榨滤液中醋杆菌属（g_*Acetobacter*）占据了绝对优势，占比为 54.34%。粘液乳杆菌属是兼性厌氧菌，能够高效发酵大米溶出的糖类，快速产生大量乳酸，降低环境 pH，有效抑制了不耐酸细菌的生长，压榨滤液暴露于空气中，提供了充足的氧气，与此同时，滤液中含有由乳酸菌代谢产生的乳酸和可能存在的残余乙醇。醋杆菌属是一种严格好氧的细菌，能够利用氧气将乳酸氧化为乙酸，或将乙醇氧化为乙酸，醋杆菌属获得了生长优势，

而厌氧和兼性厌氧的乳酸菌的生长则因氧气胁迫受到抑制，导致醋杆菌属占据绝对优势。浸泡阶段的贵阳酸粉中粘液乳杆菌属占据了主要地位，在江西罗城扎粉和广西南宁生榨米粉中均未检测到，其他菌属也只有少量检出[7-8]。群落结构组成的变化与工艺有着较大的关系，不同阶段的优势菌群对贵阳酸粉的品质起着决定性的作用。

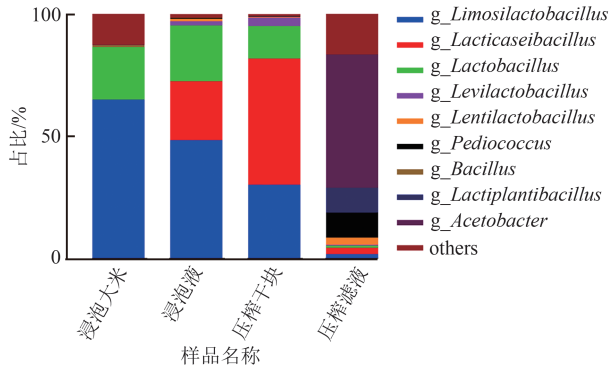


图2　群落结构图

Fig. 2　Community structure diagram

2.2　分离与纯化结果

从酸粉浸泡、压榨2个阶段的样品中分离乳酸菌。乳酸菌菌落通常为乳白色、淡黄色或白色，菌体形态为圆形、表面光滑、边缘整齐、微凸起、质地湿润且具有一定黏性的中小型菌落。依据乳酸菌的典型菌落形态特征进行初筛，从平板上挑取疑似菌落进行反复划线纯化，以确保获得单一菌株。图3为部分筛选菌种的菌落形态，经过纯化成功分离出20株菌落形态典型、纯化良好的单菌落，编号依次为SF1~SF20。

2.3　菌种初筛结果

经分离、纯化后共获得20株细菌分离株（SF1~SF20），以革兰氏染色阳性、过氧化氢酶试验阴性以及是否能够利用葡萄糖产酸作为鉴定标准进行筛选，测定结果见表2。有5株菌（SF4、SF8、SF13、SF15、SF20）因至少一项指标不符合标准而被排除，另外15株菌同时满足以上3个条件，初步鉴定为乳酸菌，分别为SF1、SF2、SF3、SF5、SF6、SF7、SF9、SF10、SF11、SF12、SF14、SF16、SF17、SF18、SF19。革兰氏染色结果表明，阳性菌株中既有杆状菌（如SF1、SF3、SF4等），也有球状菌（如SF2、SF6、SF11等），表明样品中乳酸菌存在多样性。

2.4　菌种复筛结果

对初筛所得的15株菌进行生理生化检验，结

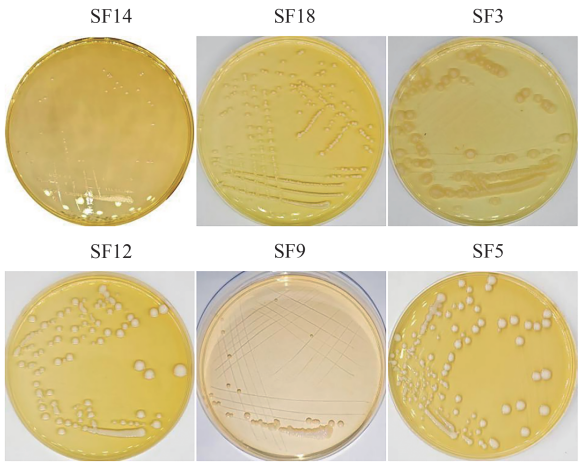


图3　部分筛选菌种的菌落形态

Fig. 3　Morphology of selected bacterial strain colonies

表2　菌种初筛结果

Table 2　Preliminary screening results for microbial strains

菌种	革兰氏染色	菌种形态	过氧化氢酶	葡萄糖产酸
SF1	+	杆状	−	+
SF2	+	球状	−	+
SF3	+	杆状	−	+
SF4	+	杆状	+	+
SF5	+	杆状	−	+
SF6	+	球状	−	+
SF7	+	杆状	−	+
SF8	−	杆状	+	−
SF9	+	杆状	−	+
SF10	+	杆状	−	+
SF11	+	球状	−	+
SF12	+	杆状	−	+
SF13	−	杆状	+	−
SF14	+	杆状	−	+
SF15	−	杆状	+	+
SF16	+	杆状	−	+
SF17	+	球状	−	+
SF18	+	杆状	−	+
SF19	+	杆状	−	+
SF20	+	球状	−	−

注：“+”表示结果为阳性；“−”表示结果为阴性。

果见表3。H_2S试验中，测试菌株均呈阴性，表明菌株无腐败性硫代谢活性，可排除假单胞菌、变形杆菌等常见腐败菌及某些肠道致病菌的污染风险[20]。明胶液化试验中仅SF3、SF9、SF11、SF19为阳性，提示这4株菌可能分泌胞外蛋白酶；由于乳酸菌本身极少具备强明胶水解能力[21]，推测该表现为芽孢杆菌、沙雷菌等杂菌混入。吲哚试验结果全部为阴性，表明色氨酸脱氨酶活性缺失，可排除大肠杆菌、克雷伯菌等吲哚阳性肠杆菌的干扰，与乳酸菌的常规代谢特征一致[20]。硝酸盐还原试验仅SF10、SF18呈阳性；乳酸菌对硝酸盐一般无还原能力，而

表3 生理生化试验结果

Table 3 Results of physiological and biochemical tests

菌种	H_2S试验	明胶液化试验	吲哚试验	硝酸盐还原试验	V-P试验
SF1	−	−	+	−	−
SF2	−	−	+	−	−
SF3	−	+	−	−	+
SF5	−	−	−	−	−
SF6	−	−	−	−	−
SF7	−	−	−	−	−
SF9	−	+	−	−	+
SF10	−	−	−	+	−
SF11	−	+	−	−	−
SF12	−	−	−	−	−
SF14	−	−	−	−	−
SF16	−	−	−	−	−
SF17	−	−	−	−	−
SF18	−	−	−	+	−
SF19	−	+	−	−	+

注：“+”表示结果为阳性；“−”表示结果为阴性。

肠杆菌科、芽孢杆菌属等多为强阳性，因此这2株菌存在非乳酸菌污染或携带 *nar*/*nap* 基因簇的可能[20]。V-P试验用于判别乳酸发酵类型，SF3、SF9、SF19呈阳性，提示其可通过2,3-丁二醇途径生成乙酰甲基甲醇，属于异型发酵代谢模式，其余菌株呈阴性，符合同型发酵乳酸菌特征[22]。

2.5 16S rRNA 分子鉴定与系统发育分析

将筛选得到的7株乳酸菌纯化后传代3次进行16S rRNA全长测序。PCR扩增引物为27F/1492R，扩增片段长度约1 500 bp，测序结果经NCBI BLAST比对，下载同源性≥99%的模式菌株序列，利用MEGA 11软件采用Neighbor-Joining法（bootstrap 1 000次）构建系统发育树，结果见图4。分离株主要归属于发酵粘液乳杆菌，分离株SF5、SF6、SF7、SF12、SF16和SF17与多个已验证的发酵粘液乳杆菌参考菌株共同构成一个紧密聚集的演化支，显示出高度的序列同源性。此外，分离株SF14与参考菌株罗伊氏粘液乳杆菌紧密聚类，鉴定为罗伊氏粘液乳杆菌。

依据上述结果，贵阳酸粉天然发酵体系中优势乳酸菌主要为粘液乳杆菌属，与属水平群落分析中的结果相互印证，说明本研究分离策略有效捕捉到了发酵过程中的核心优势菌群。

2.6 功能与安全性验证结果

2.6.1 菌株产酸能力分析

如图5所示，在MRS培养基中，发酵粘液乳杆菌表现出更快的初始产酸速率，但其pH下降过程提前减缓，最终pH仅达到4.25。相反，罗伊氏粘液乳杆菌虽启动稍慢，但产酸持续稳定，最终实现了更低的pH，为4.05。然而，在大米基质中这一趋势完全逆转，罗伊氏粘液乳杆菌展现出更优的初始产酸速率，而发酵粘液乳杆菌相对较慢，但两者在发酵末期均达到了相近且较低的最终pH，与采回样品中的发酵液pH近似，均为3.80左右。

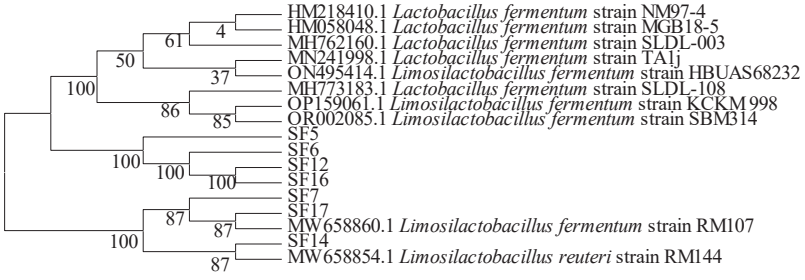
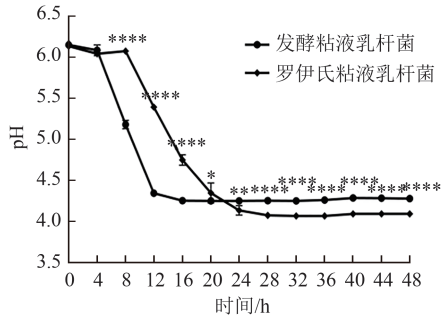


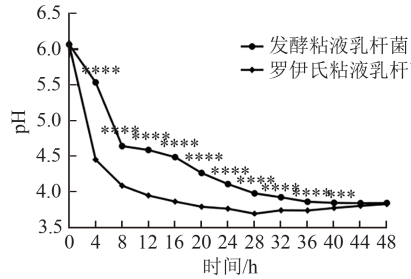
图4 系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree

上述结果可能与菌株代谢调控和基质组成有关。在MRS培养基中，发酵粘液乳杆菌的快速启动可能过早消耗了关键营养物质或积累了抑制性代谢物，导致其生长和产酸提前进入稳定期。而罗伊氏粘液乳杆菌可能具有更优的酸耐受性或在MRS中的持续代谢能力，表现出较强的产酸能力。转换到营养复杂的大米基质后，罗伊氏粘液乳杆菌可能因其更强的淀粉降解酶系或能更快利用大米中微量营养物质的能力而快速产酸。最终两者pH趋同则表明，大米基质所能支持的最大产酸潜力是相似的，但实现这一潜力的动力学路径则因菌株的初始适应能力不同



(a) MRS培养基中pH变化



(b) 大米基质中pH变化

*—0.01<P≤0.05，差异显著；**—0.001<P≤0.01，差异非常显著；***—0.000 1<P≤0.001，差异极其显著；****—P≤0.000 1，差异极度显著。

图 5　pH 变化

Fig. 5　Changes in pH

而存在显著差异。综上，本研究筛选所得菌株均展现出良好的产酸速率，具备进一步工艺优化与应用潜力。

2.6.2　溶血性试验结果

为评估乳酸菌是否会对红细胞造成破坏，排除可能存在的潜在致病风险，对其进行溶血性试验，结果见图 6。发酵粘液乳杆菌组独立重复平板均未出现α溶血或β溶血，仅表现为无溶血环的菌落生长，判定为γ溶血表型。罗伊氏粘液乳杆菌同样表现为γ溶血表型。表明这 2 种菌株不具备溶血素编码与表达潜力，可初步排除对宿主红细胞造成直接损伤的风险。



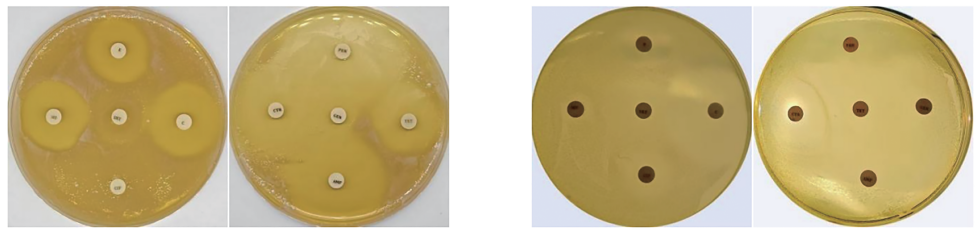
(a) 发酵粘液乳杆菌　　(b) 罗伊氏粘液乳杆菌

图 6　溶血性试验结果

Fig. 6　Hemolysis test results

2.6.3　抗生素耐药性

为评估 2 株菌对抗生素的敏感性，防止其成为抗生素耐药基因的传播载体，对其进行 10 种临床常用抗生素的敏感性测试，结果见图 7 和表 4。发酵粘液乳杆菌对大多数测试抗生素表现出敏感性，其对青霉素、氨苄西林、四环素、红霉素及氯霉素均表现为敏感；对庆大霉素、头孢曲松、环丙沙星和复方新诺明表现为耐药。罗伊氏粘液乳杆菌的耐药谱与发酵粘液乳杆菌存在明显差异，该菌株对青霉素、氯霉素和氨苄西林表现为敏感；对四环素和头孢曲松表现为中度敏感；对其余抗生素均表现为耐药。



(a) 发酵粘液乳杆菌对10种抗生素耐药性结果　　(b) 罗伊氏粘液乳杆菌对10种抗生素耐药性结果

图 7　菌种的抗生素耐药性对比

Fig. 7　Comparison of antibiotic resistance among strains

试验结果显示，2 株菌均对β-内酰胺类（青霉素、氨苄西林）、四环素及氯霉素高度敏感，对氨基糖苷类抗生素（庆大霉素）均不敏感，这一发现与多数文献报道的乳酸菌典型敏感谱相符[23]。β-内酰胺类抗生素作用于细胞壁合成，而乳酸菌作为革兰氏阳性菌，其细胞壁结构使该类抗生素通常能发挥有效作用。此外，乳酸菌多为厌氧或兼性厌氧菌，缺乏依赖于氧气的主动转运系统，难以将庆大霉素这类药物摄入细胞内，从而表现出固有的耐药性[24]。耐药性差异主要源于固有耐药性与潜在获得性耐药机制的共同作用。罗伊氏粘液乳杆菌对红霉素与林可霉素同时耐药，提示其可能存在可转移的红霉素核糖体

表4 不同抗生素下菌种的抑菌圈直径

Table 4 Diameters of inhibition zones of different antibiotics against strains 单位：mm

抗生素	菌株抑菌圈直径	
	发酵粘液乳杆菌	罗伊氏粘液乳杆菌
青霉素	33.07±1.36^{S}	24.03±2.74^{S}
红霉素	22.83±1.20^{S}	13.17±0.32^{R}
氯霉素	25.43±1.62^{S}	30.47±0.70^{S}
四环素	22.57±2.04^{S}	18.83±2.32^{I}
庆大霉素	10.10±0.20^{R}	0^{R}
林可霉素	18.27±1.38^{I}	6.43±0.70^{R}
氨苄西林	32.53±1.43^{S}	25.13±1.29^{S}
头孢曲松	15.13±1.12^{R}	14.87±0.40^{I}
环丙沙星	0^{R}	12.93±0.32^{R}
复方新诺明	12.73±0.76^{R}	0^{R}

注：“S”表示敏感；“I”表示中度敏感；“R”表示耐药。

甲基化酶基因，介导对大环内酯类、林可酰胺类和链阳菌素B类药物的交叉耐药。

综上可知，2株菌均携带部分抗生素抗性基因，具有一定的抗生素耐药性扩散风险，但发酵粘液乳杆菌在抗生素药敏性方面相对安全，而罗伊氏粘液乳杆菌被开发为益生菌制剂前，还需通过基因组学方法验证其耐药基因的可转移性，以进行全面的食品安全评估。

3 结论

作者系统揭示了粘液乳杆菌属在贵阳酸粉发酵过程中的关键地位，并成功分离出相应的纯菌株，弥补了以往研究多局限于群落描述而缺乏功能菌株分离验证的不足，从“群落解析”到“菌株应用”提供了完整证据链。微生物群落结构分析显示，酸粉发酵过程中，浸泡阶段微生物多样性最高，挤压成型阶段形成以粘液乳杆菌属为优势菌属的稳定群落结构，为该菌群的定向分离提供了生态学依据。乳酸菌分离与鉴定方面，通过形态初筛、革兰氏染色、过氧化氢酶及葡萄糖产酸试验，从20株分离株中初步筛选出14株乳酸菌；进一步结合生理生化试验与16S rRNA基因测序，明确其分类地位为发酵粘液乳杆菌和罗伊氏粘液乳杆菌，与群落结构分析结果一致。筛选菌株在大米基质中48 h内能显著降低培养体系pH至3.80左右，具备良好的产酸能力；溶血试验结果均为γ溶血，无致病风险；抗生素敏感性测试结果表明，发酵粘液乳杆菌相对符合食品安全及潜在益生菌应用的基本要求。此外，菌株间的互作机制及其对风味形成的具体贡献尚未明确；菌株的益生特性及更全面的安全性评估仍需深入。综上，本研究中分离纯化所得的发酵粘液乳杆菌和罗伊氏粘液乳杆菌具备良好的产酸性能，且前者有着较高的食用安全性，为贵阳酸粉发酵剂的开发及标准化生产提供了可靠的菌种资源。

参考文献

[1] 梁钦梅，程子良，王福，等. 不同磨粉工艺对大米粉及鲜湿米粉品质的影响[J]. 食品工业，2024，45(3)：30-34.
LIANG Q M，CHENG Z L，WANG F，et al. Effects of different milling processes on the quality of rice flour and fresh wet rice noodles[J]. Food Industry，2024，45(3)：30-34.(in Chinese)

[2] REN Y Y，LEI Y J，HE R，et al. Screening high-enzyme-producing strains from fermented rice slurry to enhance amylose content and remodel starch structure in rice noodles[J]. Food Chemistry：X，2025，30：102960.

[3] 任元元，李宇航，孟资宽，等. 协同发酵生产的鲜湿米粉及其品质特性和风味研究[J]. 食品与发酵工业，2022，48(11)：185-191.
REN Y Y，LI Y H，MENG Z K，et al. Quality and flavor characteristics of fresh rice noodles produced by co-fermentation[J]. Food and Fermentation Industries，2022，48(11)：185-191.(in Chinese)

[4] 傅亚平. 米粉加工过程中的发酵工艺研究进展[J]. 食品工业，2023，44(12)：201-203.
FU Y P. Advances on fermentation in rice noodle production[J]. The Food Industry，2023，44(12)：201-203.(in Chinese)

[5] MO W L，PENG Y J，GUAN C M，et al. Effects of different fermentation processes on cooking and eating quality of brown rice noodles[J]. LWT-Food Science and Technology，2024，208：116706.

[6] PAUTONG P A，AÑONUEVO J J，DE GUZMAN M K，et al. Evaluation of *in vitro* digestion methods and starch structure components as determinants for predicting the glycemic index of rice[J]. LWT-Food Science and Technology，2022，168：113929.

[7] 王龙飞. 江西罗城扎粉产风味菌的选育及直投式发酵工艺研究[D]. 南昌：南昌大学，2024.

[8] 黄惠琳，韦涛，王宏虹. 高通量测序技术分析生榨米粉生粉团中细菌多样性[J]. 食品安全质量检测学报，2024，15(6)：304-311.
HUANG H L，WEI T，WANG H H. Analysis of bacterial diversity in the raw dough of Chinese fermented rice-flour noodles by high-throughput sequencing[J]. Journal of Food Safety & Quality，2024，15(6)：304-311.(in Chinese)

[9] 熊香元，张立钊，陈力力，等. 发酵米粉中微生物及对米粉品质影响研究进展[J]. 中国粮油学报，2020，35(8)：170-176.

XIONG X Y，ZHANG L Z，CHEN L L，et al. Research progress on microorganisms in fermented rice noodles and the effect on the quality of rice noodles[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association，2020，35（8）：170-176.（in Chinese）

[10] 李玉环，李亚可，徐俏，等. 分子生物学技术在环境微生物检测中的应用与进展[J]. 实验技术与管理，2025，42（11）：26-37.
LI Y H，LI Y K，XU Q，et al. Applications and progress of molecular biology techniques in the environmental microorganism detection[J]. Experimental Technology and Management，2025，42（11）：26-37.（in Chinese）

[11] VESELÁ K，KUMHEROVÁ M，KLOJDOVÁ I，et al. Selective culture medium for the enumeration of *Lactobacillus plantarum* in the presence of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*[J]. LWT-Food Science and Technology，2019，114：108365.

[12] KHEDID K，FAID M，MOKHTARI A，et al. Characterization of lactic acid bacteria isolated from the one humped camel milk produced in Morocco[J]. Microbiological Research，2009，164（1）：81-91.

[13] 李艳洁，张红芳，吴酬飞，等. 鱼肠道和南太湖水样中乳酸菌分离、鉴定及抑菌分析[J]. 中国饲料，2022（13）：34-39.
LI Y J，ZHANG H F，WU C F，et al. Separation，identification and antibacterial analysis of lactic acid bacteria in fish intestines and South Taihu Lake water sample[J]. China Feed，2022（13）：34-39.（in Chinese）

[14] DA SILVA L A，LOPES N J H P，CARDARELLI H R. Safety and probiotic functionality of isolated goat milk lactic acid bacteria[J]. Annals of Microbiology，2019，69（13）：1497-1505.

[15] 刘制杰，周慧玲，张琴，等. 红酸汤中乳酸菌的分离鉴定及发酵应用研究[J]. 粮食与油脂，2025，38（8）：132-141.
LIU Z J，ZHOU H L，ZHANG Q，et al. Isolation，identification，and fermentation application of lactic acid bacteria in red sour soup[J]. Cereals & Oils，2025，38（8）：132-141.（in Chinese）

[16] 郗恩光. 香蕉植株上乳酸菌的分离鉴定、特性研究及应用[D]. 海口：海南大学，2018.

[17] 吴鹏宇，单乾铜，娄娅娟，等. 洛阳传统酸浆中乳酸菌分离鉴定及菌种性能测定[J]. 中国酿造，2025，44（6）：130-140.
WU P Y，SHAN Q T，LOU Y J，et al. Isolation，identification and fermentation of lactic acid bacteria in Luoyang traditional sour pulp and their performance determination[J]. China Brewing，2025，44（6）：130-140.（in Chinese）

[18] 赵忠情. 口腔益生乳酸菌的筛选及其对变异链球菌生物膜抑制作用研究[D]. 石家庄：河北科技大学，2022.

[19] 姚有莉，张朋，王永奔，等. 降解霉菌毒素乳酸菌的筛选及鉴定[J]. 动物营养学报，2024，36（4）：2674-2689.
YAO Y L，ZHANG P，WANG Y B，et al. Screening and identification of mycotoxin-degrading lactic acid bacteria[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition，2024，36（4）：2674-2689.（in Chinese）

[20] 王淳玉，徐宝才，杨柳，等. 传统发酵肉制品中乳酸菌的筛选及其在萨拉米中的初步应用[J]. 现代食品科技，2024，40（1）：67-75.
WANG C Y，XU B C，YANG L，et al. Screening of lactic acid bacteria in traditional fermented meat products and their application in salami fermentation[J]. Modern Food Science and Technology，2024，40（1）：67-75.（in Chinese）

[21] 张大为，张洁，田永航. 白贝自然发酵调味液中乳酸菌的分离鉴定及生物学特性的研究[J]. 现代食品科技，2019，35（11）：76-82，292.
ZHANG D W，ZHANG J，TIAN Y H. Isolation and identification of lactic acid bacteria from natural fermented sauce of *Monetaria moneta* and study of their biological characteristics[J]. Modern Food Science and Technology，2019，35（11）：76-82，292.（in Chinese）

[22] KHUSHBOO，KARNWAL A，MALIK T. Characterization and selection of probiotic lactic acid bacteria from different dietary sources for development of functional foods[J]. Frontiers in Microbiology，2023，14：1170725.

[23] 冯大伟，周家春. 益生乳酸菌的纸片扩散法药敏性试验评价[J]. 微生物学通报，2010，37（3）：454-464.
FENG D W，ZHOU J C. Evaluation of agar disc diffusion method for determining antibiotic susceptibility of lactic acid bacteria strains by a selected culture medium[J]. Microbiology China，2010，37（3）：454-464.（in Chinese）

[24] 李菊梅，于佳俊，文华英，等. 西藏牦牛酸奶中优良乳杆菌的分离筛选及益生性能研究[J]. 食品与发酵工业，2025，51（13）：101-109.
LI J M，YU J J，WEN H Y，et al. Isolation and screening of *Lactobacillus* from Xizang yak yogurt and its beneficial properties[J]. Food and Fermentation Industries，2025，51（13）：101-109.（in Chinese）