贵州传统酸菜中优势乳酸菌的分离鉴定及发酵特性分析

徐碟[1]，汤鹏宇[2]，孟繁博[2]，林茂[2,3*]

（1.贵州大学酿酒与食品工程学院，贵州贵阳 550025）（2.贵州省农产品加工研究所，贵州贵阳 550006）

（3.贵州贵食丹城食品科技有限公司，贵州黔东南 557500）

摘要：为筛选适用于酸菜发酵的优良菌株，本研究从贵州传统酸菜中分离纯化出 19 株乳酸菌，首先根据产酸能力和生长状况进行初筛，随后基于亚硝酸盐降解能力、耐酸性、产粘性及产硫化氢性能进行复筛。结果表明，菌株 RS11 综合表现最优：其亚硝酸盐降解率高达 98.82%；对 pH 值 3.50 的环境耐受性最佳，且不产粘、不产硫化氢。安全性评价显示，RS11 无溶血活性；耐受链霉素与卡那霉素；对四环素、万古霉素和红霉素中度敏感；对氯霉素、氨苄青霉素及庆大霉素敏感。经 16S rDNA 鉴定为植物乳植杆菌（*Lactiplantibacillus plantarum*）。该菌株为同型乳酸发酵，且能够利用所有测试糖类，生长和产酸速度快：2 h 进入对数生长期，12 h 达到稳定期，并在 12 h 内将 pH 值降至 3.98。接种发酵结果表明，与传统自然发酵相比，使用 RS11 可将发酵周期从 7 d 缩短至 2 d，且发酵过程中亚硝酸盐峰值含量仅为 0.62 mg·kg^{-1}。综上，从传统酸菜发酵体系中筛选的本土植物乳植杆菌 RS11 兼具优异的发酵特性和安全调控功能，是适用于酸菜生产的优良菌株。

关键词：乳酸菌；亚硝酸盐降解；耐酸性；安全性评价；酸菜

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.9.0858

Isolation, Identification and Fermentation Characteristics Analysis of Dominant Lactic Acid Bacteria from Guizhou Traditional Sauerkraut

XU Die[1], TANG Pengyu[2], MENG Fanbo[2], LIN Mao[2,3*]

(1.School of Brewing and Food Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

(2.Guizhou Institute ofAgricultural Products Processing, Guiyang 550006, China)

(3.Guizhou Guishi Dancheng Food Technology Co., Ltd, Qiandongnan 557500, China)

Abstract: To screen for excellent strains suitable for sauerkraut fermentation, 19 lactic acid bacteria were isolated and purified from traditional sauerkraut in Guizhou. Firstly, a preliminary screening was carried out based on acid production capacity and growth conditions, and then a secondary screening was carried out based on the nitrite degradation ability, acid tolerance, viscosity production and hydrogen sulfide production properties. The results showed that the overall performance of the strain RS11 exhibited the best: its nitrite degradation rate was 98.8%, it exhibited optimal tolerance at pH 3.50, and produced neither viscosity nor hydrogen sulfide. Safety evaluation showed that RS11 had no hemolytic activity; showed tolerance to streptomycin and kanamycin, showed moderate sensitivity to tetracycline, vancomycin and erythromycin, and was sensitive to chloramphenicol, ampicillin and gentamicin. It was identified as *Lactiplantibacillus plantarum* through 16S rDNA sequencing. It underwent homolactic fermentation, utilized all tested carbohydrates, exhibited rapid growth and acid production: It entered the logarithmic growth phase within 2 h, reached the stationary phase by 12 h, and reduced the pH to 3.98 within 12 h. The inoculation and fermentation results showed that compared with traditional natural fermentation, the fermentation cycle can be shortened from 7 days to 2 days by using RS11, and the peak nitrite content during the fermentation process is only 0.62 mg·kg^{-1}. In summary, the local *Lactobacillus plantarum* RS11 screened from the traditional sauerkraut fermentation system has excellent fermentation characteristics and safe regulation functions, and is an excellent strain suitable for sauerkraut production.

Keywords: LAB; degradation of nitrite; acid resistance; safety evaluation; sauerkraut

收稿日期：2025-06-20；修回日期：2025-09-11；接受日期：2025-09-17

基金项目：黔现代所发展基金[2024]4 号

作者简介：徐碟（2000-），女，硕士研究生，研究方向：食品加工与安全，E-mail：2184508812@qq.com

通讯作者：林茂（1979-），女，博士，研究员，研究方向：农产品加工与品质调控，E-mail：linmao520132@163.com

贵州传统无盐酸菜主要选用十字花科芸薹属的芥菜（*Brassica juncea* (L.) *Czern.*）为原料。芥菜是我国重要的蔬菜品种，其栽培品种已形成四大类 14 个品种的体系规模，具有广泛的地理适应性[1]。芥菜中含有维生素 C（Vc）、矿物质、蛋白质及膳食纤维等营养成分[2]。蔬菜经发酵加工后，不仅能有效延长保质期，还能通过生物转化作用形成独特的酸脆口感和风味物质。与传统盐渍发酵工艺不同，贵州传统酸菜采用零盐添加方式，其低钠特性更符合现代健康饮食需求[3]。然而，依赖原料表面土著菌群的自发性发酵存在明显局限性，如微生物区系异质性、环境参数波动及发酵周期不可控等问题，导致产品品质稳定性不足[4]。这一技术瓶颈严重制约了产业的规模化发展，使得目前酸菜的生产仍以作坊式生产为主。与传统发酵相比，接种发酵通过外源引入功能菌株，可精准调控发酵进程，在保证产品均一性的同时显著缩短生产周期[5]。姚蒋庞[6]从酸菜中分分离筛选出一株植物乳植杆菌 BJ-1 和一株短乳杆菌 BJ-31，具有较好的亚硝酸盐耐受性，且能够耐受 pH 值 3 的发酵环境。Wang 等[7]从贵州 5 个县区农家酸菜中分离筛选出 5 株菌，均为发酵乳杆菌，其中从大方酸菜中分离筛选的菌株生长速度、耐酸性和产酸能力最突出，接种发酵时能够增加酸菜的总酸含量，降低还原糖及亚硝酸盐含量，并使酸菜的亚硝酸盐峰值提前。

乳酸菌（Lactic Acid Bacteria，LAB）是一类革兰氏阳性兼性厌氧菌，其核心代谢特征表现为通过糖酵解途径将可发酵碳水化合物转化为乳酸[8]。在蔬菜发酵过程中，LAB 发挥着双重关键作用：一方面作为风味物质形成的主要驱动者（促进有机酸、挥发性酯类及芳香化合物的合成），另一方面作为微生物群落的稳态调节者（通过竞争性抑制维持微群落平衡）。研究表明，尽管原料基质特性、生产工艺参数和环境条件的差异会导致发酵体系菌群结构与代谢产物的动态变化[9]，但乳杆菌属（*Lactobacillus*）凭借其卓越的耐酸特性（多数菌株可在 pH 值<4.0 的环境下生长），在发酵中后期始终占据优势生态位，宏基因组分析结果表明，发酵末期乳杆菌属的相对丰度可达总菌群的 90%以上[10]。

传统发酵过程存在可控性差、产品品质不稳定等问题，而接种发酵技术可显著改善产品感官特性、缩短发酵周期、降低生产成本，并提高产品质量与安全性[11]。本研究采用选择性培养结合形态学观察的方法，从自然发酵酸菜中分离筛选出具有高产酸能力、快速生长特性、高效降解亚硝酸盐及强耐酸性等优良特性的乳酸菌菌株。对菌株进行安全性评价，同时基于生理生化特性分析及 16S rDNA 序列鉴定，明确菌株的分类学地位。将筛选获得的菌株应用于酸菜发酵，结果表明其不仅能加速发酵进程，还能有效抑制亚硝酸盐的积累。本研究筛选获得的优良菌株可为开发酸菜专用发酵剂提供重要参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 样品

本研究选取贵阳市农贸市场销售的自然发酵酸菜作为实验样品，在市场采样于无菌采样袋中，2 h 内送到微生物实验室进行乳酸菌菌株的分离。

1.1.2 试剂

3%（wt.%）过氧化氢试剂，福州韦伯康生物；革兰氏染色试剂盒，北京索莱宝；0.1 mol·L^{-1} 氢氧化钠标准滴定液，上海阿拉丁生化；MRS 琼脂培养基、MRS 肉汤培养基，上海博微生物科技有限公司；多价蛋白胨-酵母膏（PY）培养基、细菌微量生化鉴定管、哥伦比亚 CAN 血琼脂平板，青岛海博生物；Ezup 柱式细菌基因组 DNA 抽提试剂盒，上海生工生物；药物敏感纸片，常德比克曼生物；本研究中使用的其他化学试剂均为国产分析级。

1.2 仪器与设备

HWS-250 型恒温恒湿箱，立思高公司；GI54DS 型立式自动压力蒸汽灭菌器，致徽公司；SW-CJ-2FD 型净化工作台，上海博讯公司；PHSJ-4F 型实验室 PH 计，上海仪电公司；MultiskanSKY 型多功能酶标仪，新加坡 Life Technologies Holdings Pte Ltd 公司；H1850R 型离心机，湖南湘仪公司。

1.3 方法

1.3.1 乳酸菌菌株的分离纯化

将采样得到的酸菜发酵液用无菌生理盐水进行 10 倍梯度稀释（10^{-1} 至 10^{-6}）。选取能够获取较多单菌落的稀释

度对应的稀释液 150 μL，通过均匀涂布将其接种于 MRS 琼脂培养基（pH 值 6.2±0.2）表面，置于 37 ℃恒温培养箱中培养 48 h。待菌落形成后，挑取典型乳酸菌菌落（圆形、边缘整齐、乳白色、表面光滑）进行平板划线纯化，重复纯化 3~4 次直至获得单一菌落，并经革兰氏染色镜检确认无杂菌污染，将 3%过氧化氢溶液滴到有单菌落的平板上，产生气泡则为过氧化氢酶阳性，反之为阴性。将同时具备革兰氏染色阳性、过氧化氢酶阴性且具有明显典型乳酸菌酸香味的菌株与 50%（*V*/*V*）甘油 1:1 混悬后，置于-86 ℃超低温冰箱保存备用[12]。

1.3.2 优良乳酸菌的初步筛选

基于产酸能力和生长特性对分离菌株进行初步筛选。参考黄丽娟等[13]的测定方法并加以改进：取活化后的待测菌株菌悬液，以 2%（*V*/*V*）的接种量接种于 MRS 肉汤培养基（初始 pH 值 6.2±0.2）中，置于 37 ℃恒温培养箱中静置培养 24 h。培养结束后，使用 pH 计测定发酵液终 pH 值，同时采用酶标仪于 600 nm 波长下测定培养液 OD_{600} 值，每个菌株设 3 个平行重复。

1.3.3 优良乳酸菌的复筛

1.3.3.1 亚硝酸盐降解能力

参考 Wen 等[14]的测定方法并进行适当修改：将活化后的乳酸菌菌悬液，以 2%（*V*/*V*）的量接种于经过灭菌且含有 150 mg kg^{-1} 亚硝酸钠的 MRS 肉汤培养基（pH 值 6.2±0.2）中，同时设置未接菌的培养基作为空白对照，所有处理置于 37 ℃恒温恒湿的培养箱中培养 24 h。培养结束后，采用盐酸萘乙二胺法测定亚硝酸盐剩余的含量[15]。所测得的亚硝酸盐含量标准曲线方程：y=0.393 6x+0.004 2，R^2=0.998 6。

亚硝酸盐降解率根据以下公式计算：

$$N=\frac{A0-A1}{A0}\times 100\% \quad (1)$$

式中:

N——为亚硝酸盐降解率（%）;

$A0$——为未接菌培养基中亚硝酸钠含量，mg kg^{-1};

$A1$——为接菌培养基中亚硝酸钠含量，mg kg^{-1}。

1.3.3.2 产粘性

将活化后的待测菌株分别接种于 MRS 琼脂平板和 MRS 肉汤培养基中，置于 37 ℃恒温恒湿培养箱中倒置培养。琼脂培养基培养 48 h 后，使用无菌接种环挑取长出的单菌落，观察并记录菌落的沾粘性；肉汤培养基静置培养 24 h 后，观察并记录培养液状态（包括浑浊度、沉淀情况、表面生长现象等）。

1.3.3.3 产硫化氢能力

将分离纯化的单菌落接种于硫化氢细菌微量生化鉴定管中，37 ℃恒温培养箱中培养 48 h，培养过程中观察培养基颜色变化，同时设置空白对照。

1.3.3.4 耐酸性试验

取活化后的待测菌株菌悬液，以 2%（*V*/*V*）的量接种于经 0.1 mol Ł$^{-1}$ 盐酸调节初始 pH 值为 3.50 的 MRS 肉汤培养基，放置于 37 ℃恒温培养箱中培养 24 h。培养结束后，采用酶标仪于 600 nm 波长下测定培养液 OD_{600} 值。

1.3.4 乳酸菌菌株的鉴定

1.3.4.1 生理生化鉴定

参照 Cherdyntseva 等[16]的方法对菌株进行系统生理生化特性分析。

1.3.4.2 分子生物学鉴定

采用 Ezup 柱式细菌基因组 DNA 抽提试剂盒进行菌株 DNA 的提取及纯化，送至生工生物（上海）进行 16S rDNA 基因测序。PCR 扩增采用引物分别为正向引物：27F(5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3')，反向引物：1492R(5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')。

1.3.4.3 序列分析与系统发育树的构建

将测序所得的双向 DNA 序列经拼接后，在 NCBI 数据库中进行 BLAST 比对，初步确认其为乳酸菌后，下载相关的已知乳酸菌模式菌株。采用 MEGA v.7.0 软件，以邻接法（neighbor-joining，NJ）构建系统发育树，Bootstrap 值设置为 1 000 次重复以评估系统树的可靠性。

1.3.5 RS11 生长曲线及产酸曲线

将活化后的 RS11 菌株菌液以 2%（*V*/*V*）的量接种于 MRS 液体培养基（初始 pH 值 6.2±0.2）中，置于 37 ℃恒温摇床中培养，培养条件：120 r·min^{-1} 振荡培养 24 h。培养期间每间隔 2 h 采用酶标仪测定 600 nm 处吸光度（OD_{600} 值），同时使用精密 pH 计测定培养液 pH 值。实验全程设置未接菌的 MRS 肉汤培养基作为空白对照，所有测定均设置 3 个生物学重复。通过绘制生长曲线（OD_{600} 值-时间）和产酸曲线（pH 值-时间）分析菌株的生长特性。

1.3.6 菌株安全性试验

（1）抗生素敏感性试验：采用标准 Kirby-Bauer 纸片扩散法进行抗生素敏感性评价[17]。

（2）溶血性试验：参照哥伦比亚血琼脂法进行溶血性评价[18]，将活化后的待测乳酸菌与金黄色葡萄球菌标准菌株（ATCC6538）分别划线接种于哥伦比亚血琼脂平板，37 ℃恒温恒湿培养 24 h 后观察培养基变化，其中金黄色葡萄球菌作阳性对照。

1.3.7 接种发酵特性分析

通过低温离心法收集乳酸菌菌体，经无菌生理盐水洗涤 3 次后，重悬制成菌悬液，按芥菜鲜重的 4%（wt.%）接种量接种于酸菜中，同时设置自然发酵组（不接菌）作为对照。芥菜处理：芥菜叶片清洗干净，晾干多余水分，于沸水中漂烫至变色，捞出过凉水，控干水分后置于 5 L 塑料泡菜盒中，倒入烧开并晾凉的面水（含 1%糯米面）没过芥菜。发酵过程中定期监测酸菜 pH 值、总酸含量、亚硝酸盐含量及还原糖含量等关键理化指标的动态变化。其中，总酸含量的测定参照 Ge 等[19]的方法即：取 25.0 mL 酸菜发酵液至 250 mL 容量瓶中，用无二氧化碳的水定容至刻度，摇匀。用快速滤纸过滤，收集滤液。取 50 mL 滤液于烧杯中，用 0.1 mol/L 氢氧化钠标准滴定液滴定至 pH 计 8.2±0.2，记录氢氧化钠消耗量。还原糖测定参照夏紫茜等[20]的方法：取 5 g 酸菜匀浆于 25 mL 试管中，加蒸馏水定容至 25 mL，80 ℃水浴 30 min，冷却后过滤提取液，用 40 mL 纯水洗涤残渣再次过滤，合并滤液于 100 mL 容量瓶中并用纯水定容。于 25 mL 试管中加入 2 mL 提取液和 3 mL DNS 试剂，摇匀后沸水浴 5 min，冷却至室温，纯水定容至 25 mL，混匀于波长 540 nm 处测吸光度。

1.3.8 数据分析

所有实验数据均通过三次独立重复实验获得，结果以均值±标准差（$\bar{x}$±SD）表示。采用 2019 软件进行数据预处理，使用 IBM SPSS Statistics 26 软件进行单因素方差分析（One-way ANOVA），显著性水平设定为 P<0.05；使用 Origin 2018 进行数据可视化分析；微生物系统发育树构建采用 MEGA11.InK 软件完成；公式使用 AxMath.Ink 进行编辑。

2 结果与分析

2.1 优良乳酸菌的分离纯化及初步筛选

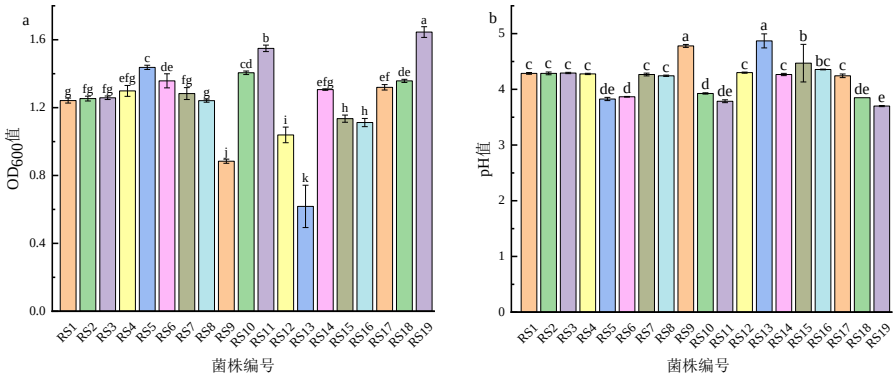

图 1 乳酸菌生长能力（a）及产酸能力（b）

Fig.1 Growth capacity(a) and acid production capacity(b) of lactic acid bacteria

注：图中不同字母表示差异显著，（P<0.05）。

本研究采用 MRS 选择性培养基结合形态学观察，从自然发酵酸菜中成功分离纯化出 19 株过氧化氢酶阴性、革兰氏阳性的疑似乳酸菌菌株。通过产酸能力（终 pH 值）和生长能力（OD_{600} 值）初筛结果如图 1 所示，显示菌株 RS5、RS6、RS11、RS18 和 RS19 表现出显著优势（pH 值 3.70~3.87，OD_{600} 值 1.36~1.65），5 株菌株菌落形态及革兰氏染色结果如图 2 所示。与文献[21]报道的植物乳植杆菌 SL8（pH 值 3.79）和 SL20（pH 值 3.73）相比，本

研究菌株产酸能力相当但生长量较低（文献报道 OD_{600} 值 2.50~2.55）。研究表明，强产酸能力菌株在酸菜发酵中具有重要作用：一方面可通过快速酸化抑制产亚硝酸盐异养菌生长，如 Li 等[22]发现 pH 值较高会导致亚硝酸盐积累；另一方面产酸及生长能力强的菌株能够更快适应发酵环境，从而缩短发酵周期，同时保证酸菜发酵过程中的品质[23]。这些特性使高产酸菌株成为优质发酵剂的重要候选菌株。

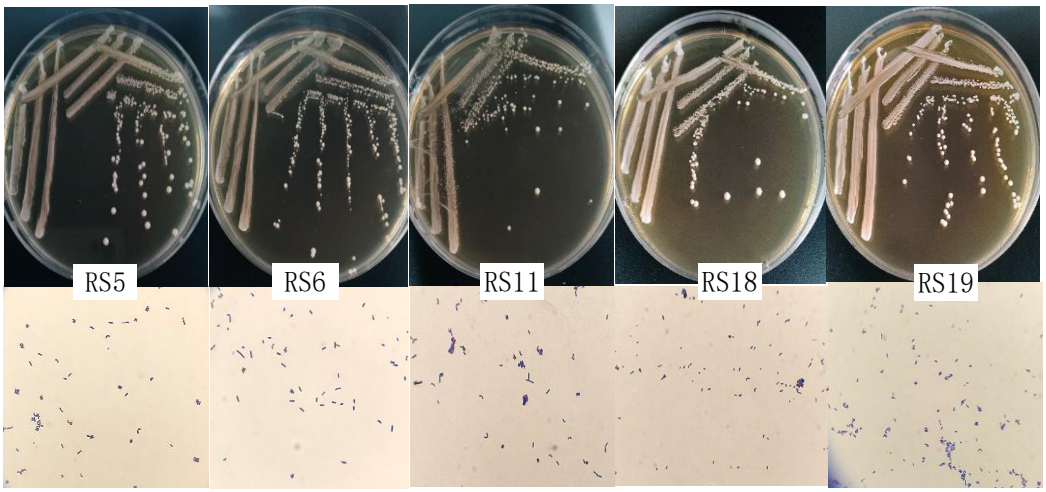

图 2 5 株菌株菌落形态及革兰氏染色结果

Fig.2 Colony morphology and Gram staining result of 5 strains

注：革兰氏染色后油镜放大 100 倍进行观察。

2.2 优良乳酸菌的复筛

在酸菜发酵过程中，酸菜中的硝酸盐会被微生物还原为亚硝酸盐，这一过程不可避免地导致亚硝酸盐的产生和积累[24]。因此，乳酸菌降解亚硝酸盐的能力成为筛选微生物发酵剂的重要标准。如图 3a 所示，本研究所筛选的五株乳酸菌均表现出优异的亚硝酸盐降解能力，实际降解率均达到 95%以上。其中，RS5、RS6 和 RS11 的降解效果尤为显著，降解率分别高达 99.07%、98.61%和 98.82%，显著优于 RS18 和 RS19 的降解效果。这一结果与赵玉娟等[25]的研究发现相似，其从东北酸菜中分离的 YJ132、CCA8-6 等菌株同样表现出 95.78%以上的亚硝酸盐降解率。在耐酸性测试中，五株乳酸菌在 pH 值 3.50 的条件下均能正常生长，显示出良好的耐酸特性（如图 3b）。其中，RS11 的耐酸性显著优于其他菌株。考虑到酸菜发酵环境的 pH 值通常维持在 3.0~4.0 之间[26]，这些菌株完全适合作为发酵剂使用。此外，优异的耐酸性能不仅使乳酸菌成为发酵过程中的优势菌群，还能有效抑制杂菌生长[27]。

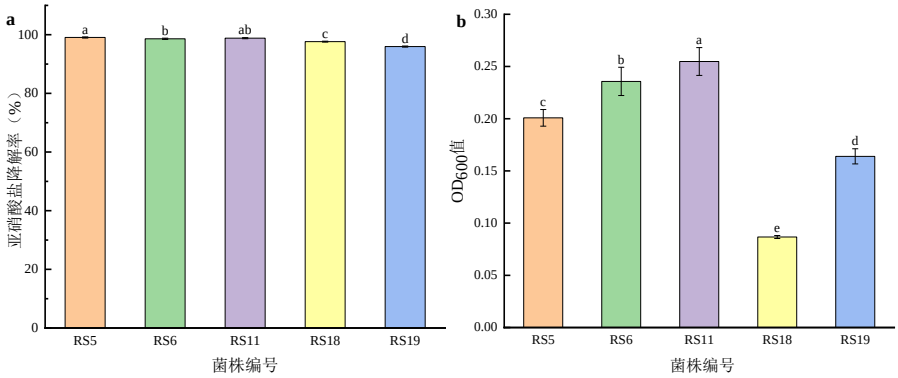

图 3 乳酸菌亚硝酸盐降解率(a)及耐酸性(b)

Fig.3 Nitrite degradation rate (a) and acid resistance (b) of lactic acid bacteria

注：图中不同字母表示差异显著，（P<0.05）。

2.3 产粘性及产硫化氢试验

乳酸菌在代谢过程中能够合成并分泌胞外多糖，从而表现出一定的粘性[28]，这种特性可能导致酸菜质地变黏、

感官品质下降。Wang 等[7]的研究表明，通过优化乳酸菌的培养条件，可以有效改善无盐酸菜发酵过程中出现的菌液浑浊、悬浮物过多及口感不稳定等问题。本研究的产粘性试验结果如表 1 所示，除 RS19 外，其余菌株均不产粘。此外，RS18 和 RS19 会导致发酵液浑浊，而其他菌株则无此现象，表明它们更适用于酸菜发酵。硫化氢是发酵过程中可能产生的刺激性有毒气体，其积累会导致酸菜风味劣变甚至腐败。硫化氢试验结果表明，所有筛选菌株均不产生硫化氢，进一步证实了它们在酸菜发酵中的适用性。

表 1 产粘性及产硫化氢试验

Table 1 Viscosity and hydrogen sulfide test

实验项目	结果				
	RS5	RS6	RS11	RS18	RS19
产粘性	-	-	-	-	+
菌液浑浊	-	-	-	+	+
产硫化氢	-	-	-	-	-

注：“+”代表结果呈阳性；“-”代表结果呈阴性，下同。

2.4 RS11 菌株安全性评价

表 2 乳酸菌抗生素敏感性试验

Table 2 Lactic acid bacteria antibiotic susceptibility test

实验项目	抑菌圈直径/mm	敏感性
四环素	16.70±0.38	I
万古毒素	19.65±0.35	I
氯霉素	26.51±0.22	S
氨苄青霉素	31.17±0.04	S
庆大霉素	19.48±0.22	S
链霉素	/	R
卡那霉素	/	R
青霉素	24.33±0.12	S
红霉素	20.20±0.24	I

注：S 表示敏感；I 表示中间值；R 表示耐受。

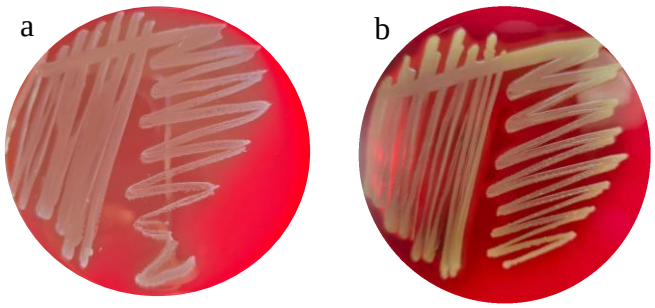

图 4 溶血性实验结果

Fig.4 The result of hemolytic test

注：a-RS11；b-阳性对照。

RS11 表现出优异的发酵特性，包括较强的产酸能力、良好的生长性能以及高效的亚硝酸盐降解能力，同时具备最优的耐酸性，且发酵过程中不产生粘性物质，可视为一株理想的发酵菌株。抗生素敏感性是评估乳酸菌安全性的重要指标之一。药敏试验结果（表 2）显示，RS11 对链霉素和卡那霉素具有耐受性；对四环素、万古霉素和红霉素呈中度敏感；而对氯霉素、氨苄青霉素和庆大霉素则表现敏感。大多数研究显示，乳酸菌对链霉素和卡那霉素的耐药性较为普遍。例如，Zhang 等[29]报道四川泡菜来源的 34 株乳酸菌均对链霉素耐受，而 Desalegn 等[30]的研究也显示，从发酵食品和饮料中分离的 11 株乳酸菌均对卡那霉素耐受。然而，乳酸菌携带的耐药基因可能存

在水平转移风险，进而影响病原菌的耐药性，对人类健康构成潜在威胁。

溶血活性是评估微生物安全性的重要指标之一，具有溶血活性的菌株可产生溶血素破坏宿主细胞，从而对机体造成潜在危害[31]。如图 4 所示，RS11 在血琼脂平板上培养后未观察到透明溶血圈的形成，而作为阳性对照金黄色葡萄球菌使得血琼脂出现明显的透明溶血圈。这一结果表明，RS11 菌株不具有溶血活性，为其作为发酵菌株的安全性提供了重要依据。

2.5 乳酸菌的鉴定

2.5.1 糖发酵试验

生理生化特性分析结果表明（表 3），RS11 菌株对所测试的所有糖类均具有良好的发酵能力。并且该菌株在葡萄糖发酵过程中未产生气体，这一特征表明其代谢类型为同型乳酸发酵。同型乳酸发酵菌株在发酵过程中主要产生乳酸，这一特性使其在食品发酵工业中具有重要应用价值，能够有效提高产物得率并保持发酵过程的稳定性。

表 3 糖发酵实验结果

Table 3 Experimental results of sugar fermentation

试验项目	纤维二糖	麦芽糖	甘露醇	蔗糖	海藻糖	果糖	葡萄糖	乳糖	半乳糖	葡萄糖产气
结果	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

注：“+”代表结果呈阳性；“-”代表结果呈阴性。

2.5.2 分子生物学鉴定

基于 16S rDNA 序列的系统发育学分析结果表明，经过 DNA 测序的 RS11 菌株与植物乳植杆菌标准菌株 *Lactiplantibacillus plantarum* JCM1149 表现出 100%的序列同源性（图 5）。结合该菌株的生理生化特征，特别是其对多种糖类的发酵谱分析结果，最终鉴定 RS11 为植物乳植杆菌（*Lactiplantibacillus plantarum*）。这一鉴定结果与系统发育树分析高度一致，进一步验证了菌株分类的准确性。RS1116S rDNA 序列：

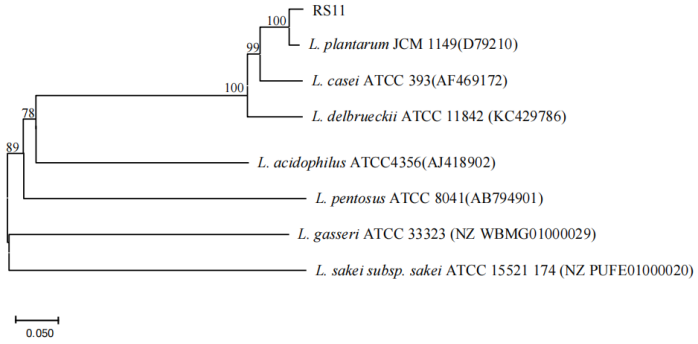

图 5 基于乳酸菌 16S rDNA 基因序列的系统发育树

Fig.5 Phylogenetic tree based on 16S rDNA gene sequence of lactic acid bacteria

2.6 RS11 菌株生长曲线及产酸曲线

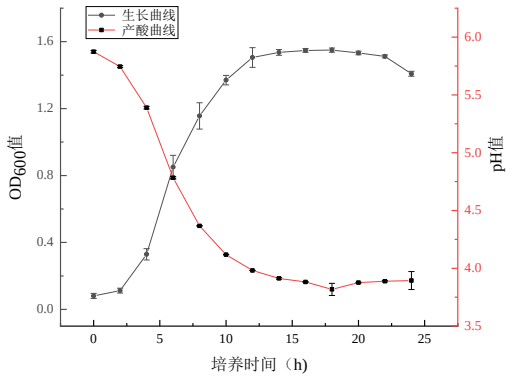

图 6 RS11 生长曲线及产酸曲线

Fig.6 RS11 growth curve and acid production curve

通过动态监测菌株 RS11 生长曲线和产酸曲线，可以系统解析其生长特性和产酸规律。如图 6 所示，该菌株的生长周期呈现典型的微生物生长曲线特征：在 0~2 h 为迟缓期，表现出良好的环境适应能力；2~12 h 进入对数生长期，菌体密度显著增加，OD_{600} 值最高达到 1.55；12 h 后生长速率逐渐降低，进入稳定期。菌株的产酸特性与其生长阶段密切相关：在对数生长期（2~12 h），培养液 pH 值快速下降，表现出强劲的产酸能力，进入稳定期后 pH 值下降速率减缓；22 h 后菌株进入衰亡期，伴随着菌体数量的减少，pH 值保持相对稳定。

2.7 发酵特性

发酵结果如图 7 所示，接种发酵组在发酵初期即表现出显著的发酵优势：发酵第 2 d pH 值迅速降至 3.54，总酸质量浓度达到 4.77 g Ł$^{-1}$，根据 Li 等[22]研究指出，酸菜 pH 值在 4.0 左右，总酸含量≤15 mg·g^{-1}，已达到酸菜成熟标准；而自然发酵组由于仅依赖原料表面附着的少量微生物，发酵进程明显滞后，直至第 5 d 才达到成熟标准（pH 值 3.69，总酸 4.98 g Ł$^{-1}$）。在亚硝酸盐代谢方面，接种发酵组表现出显著优势：整个发酵过程中亚硝酸盐含量始终维持在极低水平（0.16~0.62 mg ƙg^{-1}），且未出现明显的亚硝酸盐峰值；相比之下，自然发酵组在第 4 d 出现显著的亚硝酸盐积累峰（195.31 mg ƙg^{-1}），直至第 7 d 才降至国家食品安全标准限值（20 mg ƙg^{-1}）以下。这一结果与 Fan 等[32]的研究趋势相似，其报道接种乳酸菌可使萝卜泡菜产酸速率显著加快，发酵周期缩短约 2 d。本研究中接种发酵使发酵周期较自然发酵缩短 5 d，这种差异可能与不同发酵基质对菌株代谢活性的影响有关。此外，Xin 等[33]的研究也证实，接种发酵酸菜的 pH 值（3.15~3.52）、总酸含量（>3.50 g Ł$^{-1}$）和亚硝酸盐水平（<0.50 mg Ł$^{-1}$）等指标与本研究结果高度吻合，进一步验证了接种发酵的优越性。

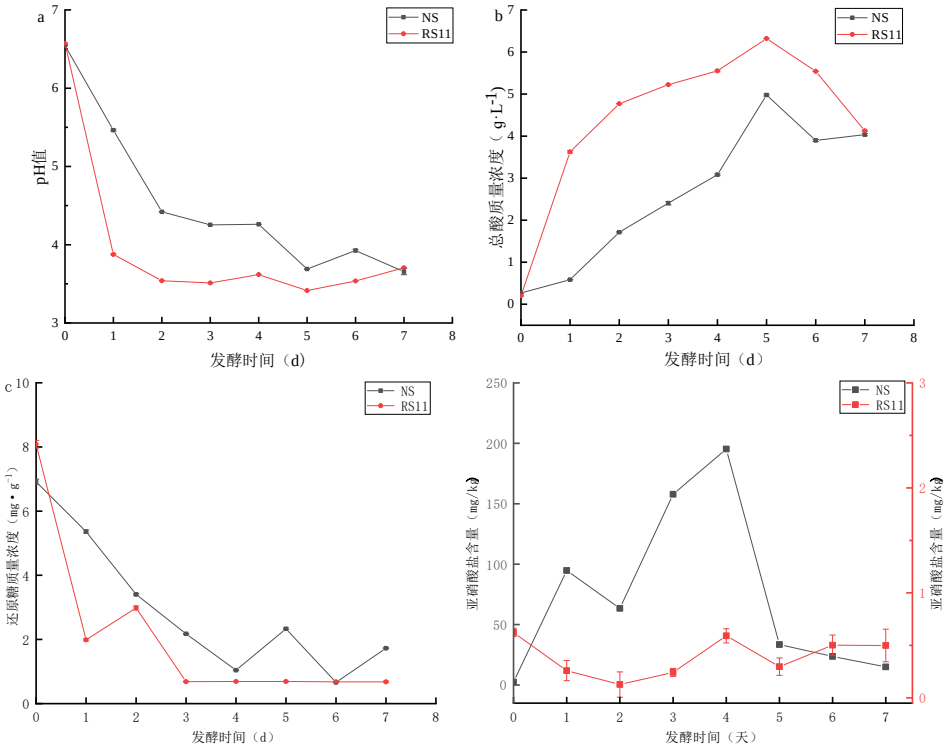

图 7 酸菜理化指标变化

Fig.7 Changes in physical and chemical indexes of sauerkraut

注：NS：自然发酵酸菜；RS11：接种菌株 RS11 发酵酸菜。

3 结论

本研究从贵州传统酸菜中成功分离纯化出 19 株乳酸菌，通过产酸能力和生长性能的初筛，获得 5 株优良菌株（培养 24 h 后，OD_{600}≥1.36 且 pH 值≤3.87）。其中，菌株 RS11 表现出优异的综合性能：不仅具有突出的产酸和生长能力（培养 24 h 后，OD_{600} 达 1.55，pH 值降至 3.82），还展现出高效的亚硝酸盐降解能力（降解率 98.82%）、良好的耐酸性（pH 值 3.50 条件下生长能力较其他菌株好）以及不产粘性物质和硫化氢的特性。经过生理生化试验结合 16S rDNA 分子鉴定，将 RS11 分类为植物乳植杆菌（*Lactiplantibacillus plantarum*）。安全性评估表明，RS11

对链霉素和卡那霉素具有耐受性，对四环素、万古霉素和红霉素呈中度敏感，对氯霉素、氨苄青霉素和庆大霉素敏感，且无溶血活性。生长特性研究发现，该菌株 2 h 即可进入对数生长期，12 h 内能将培养液 pH 值快速降至 3.98，表现出强劲的产酸能力。在应用性能方面，与传统自然发酵相比，RS11 接种发酵可显著提升酸菜生产效率：发酵周期从 7 d 缩短至 2 d，同时有效控制亚硝酸盐积累（全程最高含量仅 0.63 mg·kg^{-1}，远低于国家标准的 20 mg·kg^{-1} 限值）。这些特性使 RS11 成为一种极具开发潜力的发酵酸菜专用菌株，为实现酸菜的安全、高效生产提供了新的微生物资源，对传统发酵食品的工业化生产具有重要的实践意义。

参考文献

[1] 万正杰,付文苑,余长春,等.中国芥菜育种进展与展望[J].园艺学报,2025,52(5):1180-1188.

[2] 莫传园,唐兵,付文苑,等.14 个叶用芥菜营养成分及抗氧化能力分析[J].安徽农业科学,2024,52(21):168-172.

[3] 全昌彬,刘丽萍,龙应霞,等.贵州黔南地区泡制酸菜中酵母菌的分离鉴定及特性研究[J].粮食与油脂,2024,37(9):103-108.

[4] SATORA P, STRNAD S. The influence of fermentation vessels on yeast microbiota and main parameters of sauerkraut [J]. Applied Sciences, 2024, 14(1): 2076-3417.

[5] TAN X, CUI F, WANG D, et al. Fermented vegetables: health benefits, defects, and current technological solutions [J]. Foods, 2024, 13(1): 38.

[6] 姚蒋庞.发酵芥菜乳酸菌的筛选及其应用性研究[D].贵阳:贵州大学,2021.

[7] WANG W, LI W, HUANG Y, et al. Optimisation of *Lactobacillus* fermentation conditions and its application in the fermentation of salt-free sauerkraut[J]. Frontiers in Microbiology, 2024, 15: 1482163.

[8] NABIHAH B H A, JIA N X, HAZWANI N S O. A comprehensive review of bioactive compounds from lactic acid bacteria: potential functions as functional food in dietetics and the food industry [J]. Foods (Basel, Switzerland), 2023, 12(15): 2850.

[9] QI Z, SHI Z Z, ZI N Z, et al. Dynamic changes of bacterial communities and nitrite character during northeastern Chinese sauerkraut fermentation [J]. Food Science and Biotechnology, 2018, 27(1): 79-85.

[10] 解文利.贵州吉林传统发酵蔬菜微生物多样性及其乳酸菌抗氧化功能评估[D].贵阳:贵州大学,2021.

[11] LU Y, WU J, HUANG J, et al. Fermented vegetables in China: overview, novel processes, influencing factors, lactic acid bacteria and industrialisation status [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2024, 59(7): 4420-4436.

[12] LIU Z, LI J, ZHOU X, et al. The lactic acid bacteria and yeast community of home-made sauerkraut from three provinces in Southwest China [J]. Archives of Microbiology, 2021, 203(6): 1-12.

[13] 黄丽娟,孙镕基,高文婧,等.全株水稻表面优势乳酸菌的筛选与鉴定[J].草业学报,2024,33(1):117-125.

[14] WEN S L, WAN L W, XIAO Y D, et al. Regulation of the nitrite, biogenic amine and flavor quality of Cantonese pickle by selected lactic acid bacteria [J]. Food Bioscience, 2023, 53.

[15] GB5009.33-2016 食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定[S].

[16] A T C, B I K, I A N. The isolation, identification and analyses of lactobacillus genus bacteria with probiotic potential [J]. Advances in Experimental Medicine and Biology, 2016, 897: 103-111.

[17] 扈莹莹,巴音巴特·巴依尔塔,刘跃,等.发酵肉制品中微生物的代谢作用及其对风味物质形成的影响研究进展[J].食品科学,2024,45(22):322-328.

[18] 周宁萍.直投式发酵红酸汤技术研究[D].南昌:南昌大学,2024.

[19] GE S, ZHEN H, XIN Y W, et al. Improving the quality of Suancai by inoculating with *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus* [J]. Food Research International, 2021, 148: 110581.

[20] 夏紫茜,王瑞,马超,等.不同温度、气体微环境对红托竹荪干品储藏品质的影响[J].菌物学报,2022,41(12):2057-2073.

[21] 田佳雪.东北酸菜复合发酵剂的制备及其对酸菜品质影响探究[D].长春:吉林大学,2024.

[22] LI L, LIU W, WANG X, et al. Analysis of microbial diversity and differences in characteristic volatile components of sauerkraut in different regions of Guizhou province [J]. Food Biophysics, 2025, 20(1): 1-16.

[23] 生书晶,佘婷婷,孙婷琪,等.广州酸菜中乳酸菌的分离鉴定及发酵特性分析[J].中国调味品,2025,50(3):192-197.

[24] HU X, WEI W, ZHANG J, et al. Nitrite self-degradation process in radish Paocai under the synergistic regulation of prokaryotic microorganisms [J]. Food Bioscience, 2024, 57: 103612.

[25] 赵玉娟,刘才子,高岩松,等.东北酸菜发酵乳酸菌的筛选及评价[J].现代食品科技,2024,40(3):121-130.

[26] 付雪.酸菜生物发酵剂研究[D].大连:大连工业大学,2018.

[27] 李萍,管咏梅,潘荣斌,等.山楂发酵制品研究进展[J].食品工业科技,2025,1-17.

[28] 陆开祥.乳酸菌-MTG 酶交联诱导花生豆腐凝胶的形成及机理研究[D].昆明:云南农业大学,2024.

[29] ZHANG J, YANG L, HUANG D, et al. Drug resistance analysis and safety evaluation of lactic acid bacteria from Sichuan pickles[C]//Abstract book of the 14th asian congress of nutrition--basic Nutrition& Research.Chengdu Medical College, 2023: 36.

[30] DESALEGN A, KETEMA B. Probiotic potential and safety analysis of lactic acid bacteria isolated from Ethiopian traditional fermented foods and beverages [J]. Annals of Microbiology, 2023, 73(1): 37.

[31] ZHU H, OU Z, ZhANG T, et al. Safety assessment of enterococcus lactis B3 isolated from the traditional Chinese fermented food Bianba and its effect on the quality change in radish paocai [J]. LWT, 2025, 226: 117999.

[32] FAN Y, YANG X, HU C, et al. Fermentation performance evaluation of lactic acid bacteria strains for Sichuan radish paocai production[J]. Foods (Basel, Switzerland), 2024, 13(12): 1813.

[33] XIN Y C, MING W Z, SI B Z, et al. Effect of autochthonous lactic acid bacteria-enhanced fermentation on the quality of suancai [J]. Foods, 2022, 11(21): 3310.