

高抗逆性凝结魏茨曼氏菌筛选研究

肖 雪^{1,2} 余文帝^{1,2} 胡远亮^{1,2} 张喜才³ 余 翔^{1,2}

(1. 湖北师范大学生命科学学院, 湖北 黄石 435002; 2. 食用野生植物保育与利用湖北省重点实验室, 湖北 黄石 435002; 3. 荆楚理工学院生物工程学院, 湖北 荆门 448000)

摘要: [目的] 分离、筛选到具有高抗逆性能的凝结魏茨曼氏(*Weizmannia coagulans*)新菌株。[方法] 以市售泡菜水为样品, 采用选择性培养基法、形态学观察、生理生化鉴定和 16S rDNA 测序技术, 进行凝结魏茨曼氏菌株的分离、纯化和鉴定; 以菌株存活率为检测指标, 对所分离菌株以及实验室保藏的 3 株凝结魏茨曼氏菌株共同进行耐高温(80~100 ℃)、耐酸(pH 2.0~3.0)和耐胆盐(0.1%~0.5%)的菌株抗逆性能测定, 并采用主成分分析法对测试菌株的抗逆性能进行综合评价。[结果] 筛选到 2 株凝结魏茨曼氏菌株 WC412、WC413。菌株抗逆性测定及综合评价结果表明, 所分离菌株 WC412 的综合抗逆性能最佳, 其后依次为菌株 WC413、S17、S15、S8。[结论] 试验从市售泡菜水中筛选得到凝结魏茨曼氏新菌株 WC412 和 WC413, 其中菌株 WC412 具有优异的综合抗逆性能, 具有较高的开发利用价值。

关键词: 高抗逆性; 凝结魏茨曼氏菌; 筛选; 主成分分析

Screening of *Weizmannia coagulans* with high stress tolerance

XIAO Xue^{1,2} YU Wendi^{1,2} HU Yuanliang^{1,2} ZHANG Xicai³ YU Xiang^{1,2}

(1. College of Life Sciences, Hubei Normal University, Huangshi, Hubei 435002, China; 2. Hubei Key Laboratory of Edible Wild Plants Conservation and Utilization, Huangshi, Hubei 435002, China; 3. College of Bioengineering, Jingchu University of Technology, Jingmen, Hubei 448000, China)

Abstract: [Objective] To isolate and screen novel *Weizmannia coagulans* strains with high stress tolerance. [Methods] Using commercially fermented pickle brine as the sample, *W. coagulans* strains were isolated, purified, and identified by selective culture medium methods, morphological observation, physiological and biochemical characterization, and 16S rDNA sequencing. Taking survival rate as the evaluation index, the stress tolerance of the isolated strains and three laboratory-preserved *W. coagulans* strains was determined under high-temperature (80~100 ℃), acidic (pH 2.0~3.0), and bile salt (0.1%~0.5%) conditions. Principal component analysis (PCA) was applied to comprehensively assess the stress tolerance of the tested strains. [Results] Two *W. coagulans* strains, WC412 and WC413, were screened. The results of stress tolerance determination and comprehensive evaluation showed that strain WC412 exhibited the best overall stress tolerance, followed by WC413, S17, S15, and S8. [Conclusion] Two novel *W. coagulans* strains, WC412 and WC413, were obtained from commercially fermented pickle brine. Among them, strain WC412 exhibited excellent comprehensive stress tolerance and has high potential for development and application.

Keywords: high stress tolerance; *Weizmannia coagulans*; screening; principal component analysis

凝结魏茨曼氏菌(*Weizmannia coagulans*)是一种兼具乳酸菌和芽孢杆菌特点,能够进行兼性厌氧培养的革兰氏阳性菌^[1]。其独特的产芽孢特性,使菌株在面临恶劣环境,例如宿主消化系统的高酸、高胆盐环境,具有较强的抗逆性,能够以芽孢体结构顺利通过宿主消化系统,进而在肠道内萌发定植,实现抑制肠道内有害菌群滋生^[2],调

基金项目: 湖北省自然科学基金(联合基金)项目(编号:2023AFD025);荆楚理工学院校级科研项目(编号:YBYJS2407);湖北省区域科技创新计划项目(编号:2025EIA078)

通信作者: 余翔(1977—),男,湖北师范大学副教授,博士。E-mail:xiangyu@hbnu.edu.cn

收稿日期: 2025-06-05 **改回日期:** 2026-03-04

引用格式: 肖雪,余文帝,胡远亮,等. 高抗逆性凝结魏茨曼氏菌筛选研究[J]. 食品与机械, 2026, 42(6): 21-28.

Citation: XIAO Xue, YU Wendi, HU Yuanliang, et al. Screening of *Weizmannia coagulans* with high stress tolerance[J]. Food & Machinery, 2026, 42(6): 21-28.

节肠道微生态平衡^[3]和促进消化吸收^[4]的益生效果,该类菌株在食品^[5]、医药^[6]和饲料工业^[7]等领域中开展应用,均取得了显著的应用效果,产业化前景广阔。然而,高抗逆性凝结魏茨曼氏菌株筛选及评价过程中通常面临两方面问题:① 不同来源的凝结魏茨曼氏菌存在种内异质性差异较大的问题,导致不同来源的凝结魏茨曼氏菌株间的温度耐受性^[8]、酸耐受性^[9]、胆盐耐受性^[10]、抑菌活性^[11]等抗逆性能力存在较大差异;② 传统菌株筛选过程中,对菌株相关性能的评价通常以单个参数测定结果为准,主观性较强且难以全面反映菌株综合性能。因此,开展高抗逆性凝结魏茨曼氏菌株筛选并建立客观、全面的对菌株抗逆性能综合评价体系,对凝结魏茨曼氏菌株的产业发展意义重大。

主成分分析(principal component analysis, PCA)法可通过标准化处理原始数据、构建相关系数矩阵并提取主成分,将高维变量降维至少数独立综合指标,既能保留原始数据的主要信息,又可消除冗余变量的干扰^[12-13]。因此,将其应用于凝结魏茨曼氏菌抗逆性能综合评价中,可通过对不同菌株高温耐受性、酸性耐受性和胆盐耐受性等检测数据进行统计整合,客观量化反映菌株间的抗逆性差异并识别关键影响因子,为多维度综合评价菌株的抗逆性能提供高效解决方案。

研究拟以收集到的泡菜水为原料,采用选择性培养基法、形态学观察、生理生化鉴定和 16S rDNA 测序技术进行凝结魏茨曼氏菌的筛选和鉴定。在筛选得到凝结魏茨曼氏新菌株的基础上,结合实验室保藏菌株,对不同凝结魏茨曼氏菌株的高温耐受性、酸性耐受性、胆盐耐受性等抗逆性能力进行测定,并通过主成分分析法对测试菌株的抗逆性能进行综合评价,优选出高抗逆性能的凝结魏茨曼氏菌株,为后续产业化应用提供菌种资源保障。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

泡菜水:采集自黄石市黄石港区宏进农副产品批发市场泡菜产品;

凝结魏茨曼氏菌 S5、S8 和 S17:湖北师范大学微生物资源利用与加工实验室保藏菌株;

富集培养基:可溶性淀粉 10 g/L,磷酸氢二钾 1 g/L,硫酸镁 1 g/L,氯化钠 1 g/L,硫酸铵 5 g/L,碳酸钙 2 g/L,硫酸铁 0.001 g/L,氯化锰 0.005 g/L,硫酸锌 0.001 g/L, pH 6.6;

YPD 培养基:葡萄糖 20 g/L,蛋白胨 20 g/L,酵母粉 10 g/L;

固体分离培养基:在固体 YPD 培养基的基础上添加 0.04% 的溴甲酚紫;

葡萄糖、可溶性淀粉、硫酸锌、氯化钠、硫酸镁、硫酸铵、硫酸铁:分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;

蛋白胨、酵母粉、磷酸氢二钾、琼脂粉、溴甲酚紫、碳酸钙、氯化锰:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

PCR 仪:MP60101 型,莫纳生物科技有限公司;

核酸电泳仪:JY600C 型,北京君意东方电泳设备有限公司;

凝胶成像:Universal Hood II 型, Bio-Rad Laboratories, Inc;

恒温培养箱:LHS-150SC 型,上海齐欣科学仪器有限公司;

恒温摇床:TS-2102C 型,常州金坛良友仪器有限公司;

立式高压灭菌器:GI54DS 型,致微仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 凝结魏茨曼氏菌筛选 将 1 mL 泡菜水加至 50 mL 富集培养基中,45℃、180 r/min 培养 24 h,然后取 10 mL 培养物置于 80℃水浴处理 10 min,将热处理后的培养物稀释涂布于分离培养基中,45℃培养 24 h,根据菌落周围是否产生黄色变色圈为依据,初步挑选疑似凝结魏茨曼氏菌株,划线接种至固体 YPD 培养基上,45℃培养 24 h,挑选单菌落进行划线转接 3 次。最后,将分离到的疑似凝结魏茨曼氏菌株置于甘油管中于-80℃进行保藏。

1.2.2 凝结魏茨曼氏菌的鉴定

(1) 菌落形态观察:将保藏的凝结魏茨曼氏菌接种至 YPD 固体培养基,45℃培养 24 h,观察单菌落形态。

(2) 细胞形态观察:挑取单菌落涂抹于洁净载玻片上,滴加草酸铵结晶紫初染 1 min,纯净水洗去干燥后滴加碘液媒染 1 min,95%乙醇脱色 30 s 后滴加番红复染 2 min,清洗干燥进行显微镜观察。

(3) 生理生化试验:参照《常见细菌系统鉴定手册》和《伯杰细菌鉴定手册》进行菌株生理生化指标测定。

(4) 菌株的 16S rDNA 鉴定:将筛选出来的凝结魏茨曼氏菌株进行测序。测序选用细菌 16S rDNA 通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')。测序结果在 NCBI 数据库中检索与目标菌株具有较大同源性的菌种作分析比较,采用 MEGA11.0 软件进行多序列比对,并采用邻位相连法构建系统发育树。

1.2.3 菌株抗逆性测定

(1) 高温耐受性:将待测菌株样品菌悬液分别按照设定温度(37, 80, 90, 100℃)和设定时间(10, 20 min)进行水浴处理,以 37℃的样品处理组作为对照。

(2) 酸性耐受性:将待测菌株样品菌悬液按 1:10 比例分别加入设定 pH(2.0, 2.5, 3.0, 7.0)的系列 PBS 缓冲液

中,37℃处理3 h,以pH 7.0的样品处理组作为对照。

(3) 胆盐耐受性:将待测菌株样品菌悬液按1:10比例分别加入设定胆盐质量浓度(0.1,0.3,0.5 g/100 mL)的PBS缓冲液中,37℃处理3 h,以菌悬液添加至不含胆盐的PBS缓冲液的样品为对照。

取处理后的各试验组菌悬液进行稀释平板涂布计数,以对照组菌落数为参照,计算各处理组菌株存活率,探究5株凝结魏茨曼氏菌对高温、酸性以及胆盐的耐受性。参照张奕敏等^[8]的方法计算菌株存活率。

1.2.4 菌株抗逆性评价 对5株凝结魏茨曼氏菌的抗逆性数据进行主成分分析,根据总方差解释得到主成分表,经IBM SPSS Statistics 23处理得到主成分的线性组合。在此基础上,按主成分的得分方差所占比例计算各菌株总得分,实现对凝结芽孢杆菌抗逆性的综合评价。从而筛选出抗逆性强的菌株。

1.3 数据处理与分析

所有试验进行3次重复,数据以平均值±标准差表示,采用IBM SPSS Statistics 23软件进行数据分析,显著性检验采用One-way ANOVA程序进行方差分析,Duncan's法进行多重比较, $P<0.05$ 为差异显著性标准。

2 结果与分析

2.1 菌株的分离与形态学检测

取经过80℃水浴加热处理后泡菜水样品,在含溴甲酚紫指示剂的平板进行稀释涂布,待菌落生长后,依据其周围是否有水解圈现象和菌落形态差异(图1中红圈标识菌落)进行单菌落划线分离,初步确定2株疑似凝结魏茨曼氏菌株,分别命名为WC412和WC413,进行后续菌株测试试验。

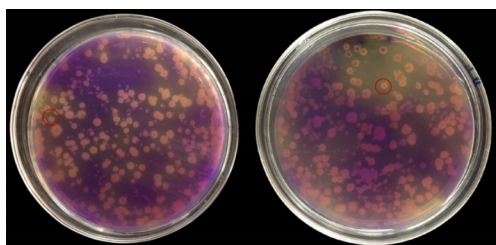


图1 平板初筛结果

Figure 1 Plate screening results

将分离到的2株菌分别接种至YPD固态培养基上,45℃培养24 h后,平板上两株菌的单菌落均为边缘整齐的圆形,表面呈白色不透明状且湿润有光泽(见图2(a)和图2(b)),符合凝结魏茨曼氏菌的形态特征。对其分别进行革兰氏染色后的显微观察结果表明,两株菌的菌体均呈紫色杆状, G^+ 菌,未见芽孢体细胞结构(见图2(c)和图2(d))。

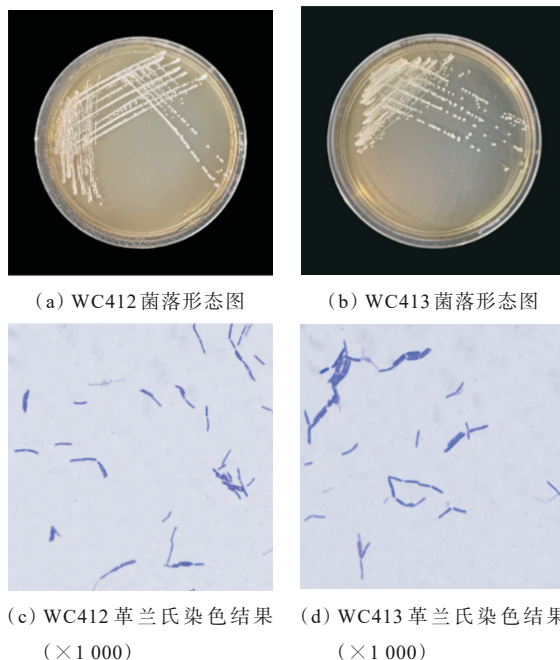


图2 分离菌株形态鉴定结果

Figure 2 Results of morphological identification of isolated strains

2.2 菌株生理生化鉴定

对两株菌开展的系列生理生化试验的结果(表1)表明,菌株WC412和WC413在运动性、接触酶、甲基红、V-P试验、淀粉水解及葡萄糖发酵试验中均显阳性反应,在吲哚试验、5% NaCl生长及明胶液化试验中均显阴性。对照《伯杰细菌手册》和《常见细菌系统鉴定手册》中相关凝结魏茨曼氏菌生理生化特性描述,初步确定所分离的菌株WC412和WC413为凝结魏茨曼氏菌。

2.3 16S rDNA分子生物学鉴定

以菌株基因组DNA为模板,PCR扩增后,对扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳,WC412和WC413均在约

表1 生理生化试验[†]

Table 1 Physiological and biochemical experiment

生化特性	WC412	WC413
运动性	+	+
接触酶	+	+
甲基红试验	+	+
V-P试验	+	+
吲哚试验	—	—
5% NaCl	—	—
淀粉水解	+	+
明胶液化	—	—
葡萄糖发酵试验	+	+

[†] “+”表示阳性或能利用;“—”表示阴性或不能利用。

1 600 bp 处有一条特异性条带(图 3),符合预期。将扩增产物送至武汉奥科鼎盛生物科技有限公司进行 16S rDNA 基因组测序后,提交至 NCBI 数据库进行序列比对,结果显示所测序列与凝结魏茨曼氏菌相似度最高,高达 99% 以上。进一步利用 MEGA 11 软件对选取的同源性较高序列构建系统进化树,结果如图 4 所示,菌株 WC412 与 *Weizmannia coagulans* (ON212077.1), WC413 与 *Weizmannia coagulans* (OQ222056.1) 在进化树上处于同一分支,同源性最高。结合生理生化试验结果,可以确定菌株 WC412 与 WC413 均为凝结魏茨曼氏菌。

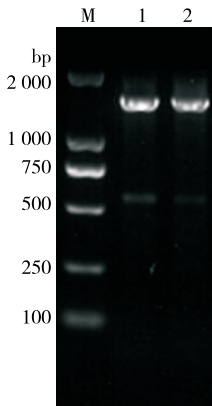


图 3 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳图

Figure 3 Agarose gel electrophoresis of PCR products

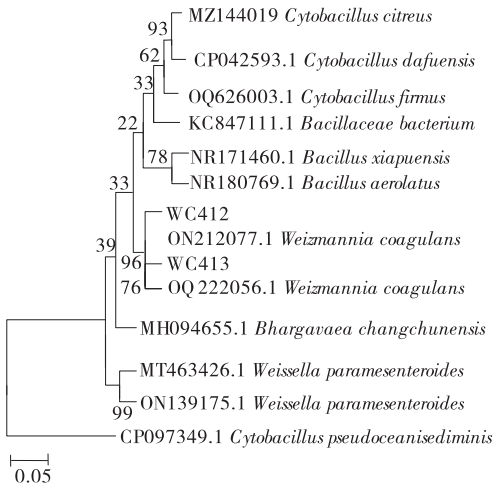


图 4 菌株 WC412 和 WC413 系统进化树分析结果

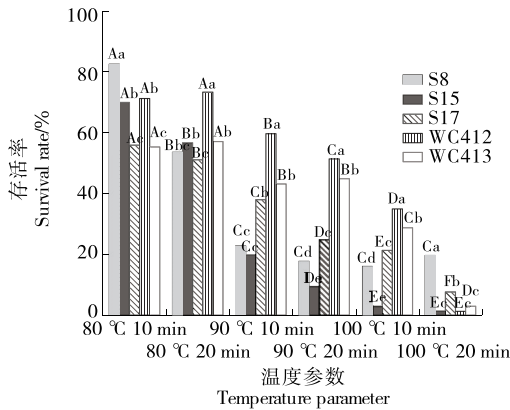
Figure 4 Phylogenetic tree analysis of strains WC412 and WC413

2.4 凝结魏茨曼氏菌抗逆性检测及评价

益生菌在生产加工过程以及被摄入动物体内后,菌株的存活率高低是其能否发挥益生作用的重要前提条件,现实应用场景中,工业生产中的高温工艺、动物体内的强胃酸及强胆盐等逆性环境直接关系到菌株的存活

率,进而影响到菌株的益生效果,因此,具备良好抗逆性能是一株理想凝结魏茨曼氏菌的必备条件。研究前期从市售主流品牌的凝结魏茨曼氏菌制品(如益生菌制剂、益生菌饮料)中筛选、鉴定到的凝结魏茨曼氏菌 S5、S8 和 S17,在产品实际应用过程中该 3 株菌良好的抗逆性和益生性能已得到广泛证实。故以菌株 S5、S8 和 S17 作为对照菌株,对所筛选到的凝结魏茨曼氏菌株 WC412 和 WC413 进行抗逆性能测定和分析,为新菌株的后续产业化应用提供参数依据。

2.4.1 高温耐受性测定 饲料加工过程中造粒工序的温度通常较高,一般在 80 °C 左右,水产饲料的造粒温度更是超过 90 °C^[14],因此,生产菌株——凝结魏茨曼氏菌耐高温性能高低对益生菌饲料的生产至关重要。对 5 株不同凝结魏茨曼氏菌株的耐高温性能测试结果(图 5)中,所有试验组菌株在 80 °C 水浴加热 10, 20 min 后其菌体存活率均在 50% 以上,其中菌株 WC412 在 80 °C 加热 20 min 后的菌体存活率高达 73.31%,显著高于其他处理组($P<0.05$)。随着加热温度的上升,所有试验组菌株的菌体存活率均呈大幅下降趋势,90 °C 加热 20 min 时,菌株 S8、S15 和 S17 的菌体存活率均低于 30%,但菌株 WC412 的菌体存活率仍达到 51.35%,显著高于其他处理组($P<0.05$),其次为菌株 WC413 组(44.86%),100 °C 加热 10 min 的样品组也呈现相同的现象。以上结果表明,5 株不同凝结魏茨曼氏菌测试菌株对高温均有一定耐受能力,其中菌株 WC412 的耐热能力相对最佳,其次为菌株 WC413。凝结魏茨曼氏菌耐高温性能不仅与其细胞结构^[15]和基因特性^[16]直接相关,而且不同筛选环境也会影响到其耐热性能。林松泉等^[17]从健康猪肠道中分离到的凝结魏茨曼氏菌 ZC-1 在 100 °C 下处理 30 min,菌体存活率为 41.67%;而余祖



小写字母不同表示组内差异显著($P<0.05$),大写字母不同表示组间差异显著($P<0.05$)

图 5 5 株凝结魏茨曼氏菌株的耐热性测定结果
Figure 5 Comparative analysis of heat tolerance of five *Weizmannia coagulans* strains

玲^[18]从玉米地土壤中分离到的凝结魏茨曼氏菌 MRS-913 在 100 °C 水浴中处理 15 min 后,存活率仍达到 54.0%。分析原因,可能是微生物所处的不同环境,促进或调控菌株内一些关键基因、转录因子或关键蛋白质的表达,例如热激基因 *Hsps*^[19]、转录因子 $\sigma 32$ ^[20] 和 *Hsf1*^[21] 以及 *Hsps* 类别蛋白等,能增强菌株的抗逆性能,保障其在逆性环境中的正常生理活动。菌株 WC412 和 WC413 相对较强的耐热性能,可能与菌株的来源环境——泡菜水内高渗环境的长期驯化有关,相关的机制有待进一步探索。

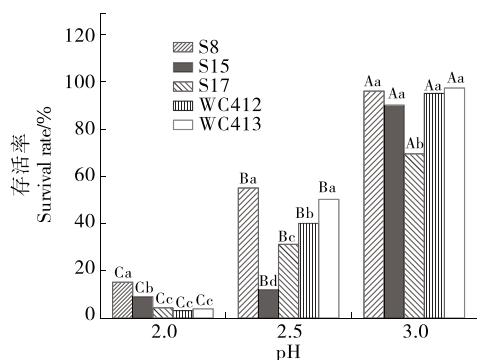
2.4.2 酸性耐受性测定 胃是生物体消化食物的主要场所,正常人体胃液 pH 在 2.0 左右,动物的略高。虽然在进食状态下胃液能被稀释,但 pH 依然维持在 3.5 左右^[22]。食物在胃部停留时间根据食物性质、种类、量的不同,停留时间在几分钟到几小时不等。因此,当凝结魏茨曼氏菌被摄入动物体后,菌株需具备对胃内强酸性环境有较好的耐受性,才能保障其顺利到达肠道定植萌发,进而对宿主产生益生作用。分别将 5 株待测菌株接种至 pH 2.0, 2.5, 3.0 的酸性环境中培养 3 h,对菌株存活率进行检测,来反映菌株对酸性环境的耐受能力。如图 6 所示, pH 3.0 环境中,5 株测试菌株中除 S17 外,其余 4 株菌的存活率均能达到 90% 以上。pH 2.5 处理组中,菌株 S8 和 WC413 的存活率均在 50% 以上,显著高于其他 3 株菌 ($P < 0.05$),其次为 WC412 (40.06%)。随着酸性环境的进一步增强,在 pH 2.0 条件中,所有菌株生存均受到显著抑制 ($P < 0.05$),仅 S8 的存活率超过 10%。而从猪肠道^[17]和仔猪粪便^[23]中分离的凝结魏茨曼氏菌株,对 pH 3.0 模拟胃液的耐受性分别为 91.75% 和 78.00%。综合以上结果,可以确定所有测试菌株中 S8、WC412 和 WC413 的酸性耐受性相对较佳。

2.4.3 胆盐耐受性测定 胆盐是胆汁酸与钠盐或钾盐结合形成的盐类,能改变细胞膜的通透性,浓度较高时会破

坏细胞膜的完整度进而导致细胞死亡,人体内正常的胆盐质量浓度为 0.1~0.5 g/100 mL^[24]。当凝结魏茨曼氏菌株经摄入后进入动物的十二指肠和小肠时,将会面临高胆盐的生存环境,而且此阶段持续 1~4 h^[25]。因此,具有优异的胆盐耐受性是一株性能优良的凝结魏茨曼氏菌的必备条件。

如图 7 所示,0.1% 胆盐环境下,菌株 WC413 的存活率最高 (98.70%),其次为菌株 S17 (93.28%) 和 WC412 (92.21%),S8 (48.07%) 的最低。随着胆盐质量浓度升高至 0.3 g/100 mL,菌株 WC413 (90.93%) 和 S17 (90.30%) 的存活率显著高于其他 3 株菌 ($P < 0.05$),其次为菌株 S15 (82.07%) 和 WC412 (81.55%),菌株 S8 的存活率最低,仅为 45.34%。当胆盐浓度进一步提高到 0.5 g/100 mL 时,菌株 WC413 的存活率仍保持最高 (88.56%) ($P < 0.05$),其后依次为菌株 S17 (88.56%)、WC412 (78.44%) 和 S15 (73.29%),菌株 S8 的存活率依然最低,为 41.19%。而从散养鸡肠道内分离到的凝结魏茨曼氏菌 DPLY-7,在胆盐质量浓度为 0.1, 0.3, 0.5 g/100 mL 的环境中,菌株的存活率依次为 97.83%, 53.57%, 42.86%^[22]。综上,可以确定 5 株测试菌株中除 S8 以外,其他 4 株菌对胆盐均有较好的耐受性,菌株胆盐耐受性顺序依次为 WC413、S17、WC412 和 S15。以乳酸菌为对象的细菌耐胆盐机理的研究表明,菌株在宿主体内高胆盐的环境中,能够自身分泌胆盐水解酶将毒性较高的初级胆盐转化为毒性相对较低的次级胆盐,进而提高菌株在宿主体内的生存能力^[26]。除 S8 外其他 4 株测试菌株对胆盐环境表现出较强的耐受性,可能与菌株自身具有较强的胆盐水解酶分泌能力有关,相关影响机制有待进一步研究验证。

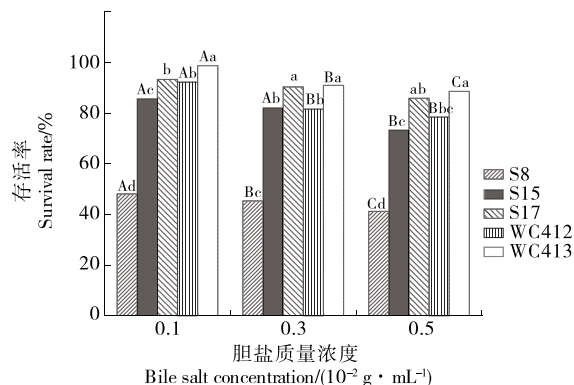
2.4.4 主成分分析 通过对 5 种测试菌株的 12 组抗逆性数据统计后进行主成分分析 (表 2),得到其特征值及贡献



小写字母不同表示组内差异显著 ($P < 0.05$), 大写字母不同表示组间差异显著 ($P < 0.05$)

图 6 5 株凝结魏茨曼氏菌株的耐酸性测定结果

Figure 6 Comparative analysis of acid tolerance of five *Weizmannia coagulans* strains



小写字母不同表示组内差异显著 ($P < 0.05$), 大写字母不同表示组间差异显著 ($P < 0.05$)

图 7 5 株凝结魏茨曼氏菌株的胆盐耐受性测定结果

Figure 7 Comparative analysis of bile salt tolerance of five *Weizmannia coagulans* strains

表 2 各成分总方差解释

Table 2 Interpretation of total variance of each component

成分	初始特征值			提取载荷平方和		
	总计	方差百分比/%	累积/%	总计	方差百分比/%	累积/%
1	6.73	56.11	56.11	6.73	56.11	56.11
2	3.25	27.09	83.20	3.25	27.09	83.20
3	1.40	11.66	94.85	1.40	11.66	94.85
4	0.62	5.15	100	—	—	—
5	8.56E-16	7.13E-15	100	—	—	—
6	5.22E-16	4.35E-15	100	—	—	—
7	1.95E-16	1.62E-15	100	—	—	—
8	7.20E-17	6.00E-16	100	—	—	—
9	-1.02E-17	-8.48E-17	100	—	—	—
10	-1.90E-16	-1.58E-15	100	—	—	—
11	-4.46E-16	-3.72E-15	100	—	—	—
12	-9.25E-16	-7.71E-15	100	—	—	—

率,提取特征值>1的3个主成分进行分析,其累计贡献率达到94.85%,能够代表所有指标的绝大部分信息。其中,第1主成分的贡献率最大,为56.11%,特征值为6.73,对凝结魏茨曼氏菌的抗逆性评价起主要作用。第2主成分的贡献率为27.09%,特征值为3.25,第3主成分的贡献率为11.67%,特征值为1.40,在抗逆性评价中起次要作用。将提取得到的3个主成分依次定义为 Y_1 、 Y_2 和 Y_3 ,通过开展统计分析,能够从多个维度全面评价菌株的抗逆性能,避免传统方法中单一筛选指标的片面性。

主成分分析的因子载荷矩阵(表3)可以显示菌株各个抗逆指标在每个主成分上的权重。根据主成分权重,构建主成分与菌株抗逆性之间的线性关系式:

$$Y_1=-0.302x_1+0.173x_2+0.301x_3+0.280x_4+0.236x_5-0.321x_6-0.383x_7-0.065x_8-0.072x_9+0.371x_{10}+0.352x_{11}+0.366x_{12}, \tag{1}$$

$$Y_2=0.215x_1+0.341x_2+0.312x_3+0.368x_4+0.400x_5+0.120x_6+0.008x_7+0.444x_8+0.374x_9-0.139x_{10}-0.219x_{11}-0.161x_{12}, \tag{2}$$

$$Y_3=0.366x_1+0.505x_2-0.028x_3-0.104x_4-0.243x_5-0.419x_6+0.037x_7-0.458x_8+0.386x_9+0.048x_{10}+0.002x_{11}-0.061x_{12}, \tag{3}$$

式中:

$Y_1 \sim Y_3$ ——提取得到的3个主成分;

$x_1 \sim x_{12}$ ——对应表3中的12个指标。

根据各主成分与菌株抗逆性之间的线性关系式,计算每个主成分的得分,再结合每个主成分贡献率,通过评价公式($Y=0.561Y_1+0.271Y_2+0.117Y_3$)计算不同抗逆条件下菌株的综合得分,结果见表4。

综合得分通过主成分贡献率加权计算,客观量化了

表 3 主成分因子载荷矩阵

Table 3 Principal component factor loading matrix

指标	Y_1 (56.11%)	Y_2 (27.09%)	Y_3 (11.66%)
80℃、10 min(x_1)	-0.784	0.387	0.433
80℃、20 min(x_2)	0.448	0.615	0.597
90℃、10 min(x_3)	0.780	0.563	-0.033
90℃、20 min(x_4)	0.726	0.663	-0.123
100℃、10 min(x_5)	0.612	0.721	-0.287
100℃、20 min(x_6)	-0.832	0.217	-0.495
pH 2.0(x_7)	-0.995	0.014	0.044
pH 2.5(x_8)	-0.168	0.801	-0.542
pH 3.0(x_9)	-0.188	0.674	0.456
0.1%胆盐(x_{10})	0.962	-0.251	0.057
0.3%胆盐(x_{11})	0.914	-0.394	0.002
0.5%胆盐(x_{12})	0.949	-0.291	-0.072

表 4 凝结魏茨曼氏菌各主成分得分及综合得分

Table 4 Main component scores and comprehensive scores of *Weizmannia coagulans*

菌株	Y_1 得分	Y_2 得分	Y_3 得分	综合得分	排名
WC412	1.97	1.96	0.95	1.75	1
WC413	1.95	0.63	-0.64	1.19	2
S17	1.05	-1.69	-1.34	-0.02	3
S15	-0.80	-2.11	1.50	-0.85	4
S8	-4.18	1.20	-0.47	-2.07	5

菌株的综合抗逆性。菌株WC412以1.75分位列第一,其中 Y_1 得分为1.97、 Y_2 得分为1.96和 Y_3 得分为0.95,表明该菌株在胆盐、酸性环境和高温中均表现优异,尤其在

90 ℃、20 min 和 0.5%胆盐的环境下其菌株存活率较高,分别达到 51.35% 和 78.44%,使其能够成为工业化应用的理想菌株。菌株 WC413 虽在 0.5%胆盐环境下耐受性较好,存活率达到 88.56%,但其 Y_3 得分(-0.64)较低,反映菌株对高温耐受性不足,菌株的抗逆性能综合排名第二,同理,菌株 S17 的 Y_1 得分为 1.05,但其 Y_2 (-1.69)和 Y_3 (-1.34)得分均为负值,说明该菌株虽高温耐受性较好,但酸性耐受性和胆盐耐受性相对较差,菌株抗逆性能综合排名第三。以上结果也印证了采用 PCA 法开展菌株抗逆性评价,在体现各菌株单项抗逆性能优势的同时,能够对菌株综合抗逆性能进行客观表征,反映出菌株的综合抗逆性能,避免了传统菌株筛选过程中的主观性和偏差。

3 结论

凝结魏茨曼氏菌以其独特的产乳酸和芽孢性能,在益生菌产业领域具有广阔的应用前景,挖掘开发具有高抗逆性能的凝结魏茨曼氏菌株丰富菌种资源库,成为行业进一步发展面临的现实问题。研究以市售泡菜水为原料,通过富集培养、选择性培养基分离、形态学观察、生理生化试验和 16S rDNA 扩增子测序技术,成功分离到 2 株菌株 WC412 和 WC413,并鉴定为凝结魏茨曼氏菌。进一步将筛选到的菌株 WC412、WC413 结合实验室保藏的 3 株凝结魏茨曼氏菌 S8、S15、S17 共同开展菌株抗逆性检测,结果表明,菌株 WC412 在 90 ℃下处理 20 min 存活率达到 51.35%,高温耐受性最优;菌株 S8、WC413 在 pH 2.5 条件下存活率均超 50%,酸性耐受性较好;在 0.5%胆盐环境中,菌株 WC413 的存活率高达 88.56%,胆盐耐受性最佳。基于菌株抗逆性测试数据,采用主成分分析法进行菌株抗逆性综合评价,确定菌株 WC412 抗逆性综合评分第一,其后依次为 WC413、S17、S15 和 S8。综上,从市售泡菜水中筛选到一株具备高抗逆性能的凝结魏茨曼氏菌 WC412,可作为理想的益生菌株纳入益生菌产品的开发中。未来研究可在益生功能系统性评价、作用机制深入解析及产业化应用适配性优化等方向进一步展开。

参考文献

- [1] 丁泓皓. 凝结芽孢杆菌的筛选及高密度发酵研究[D]. 武汉: 湖北工业大学, 2021: 1-2.
DING H H. Screening of *Bacillus coagulans* and high-density fermentation[D]. Wuhan: Hubei University of Technology, 2021: 1-2.
- [2] MU Y, CONG Y. *Bacillus coagulans* and its applications in medicine[J]. Beneficial Microbes, 2019, 10(6): 679-688.
- [3] JÄGER R, PURPURA M, FARMER S, et al. Probiotic *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 improves protein absorption and utilization[J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2018, 10(4): 611-615.
- [4] LIU C R, RADEBE S M, ZHANG H, et al. Effect of *Bacillus coagulans* on maintaining the integrity intestinal mucosal barrier in broilers[J]. Veterinary Microbiology, 2022, 266: 109357.
- [5] PAYNE J, BELLMER D, JADEJA R, et al. The potential of *Bacillus* species as probiotics in the food industry: a review[J]. Foods, 2024, 13(15): 2 444.
- [6] WANG Z B, GUO Z T, LIU L B, et al. Potential probiotic *Weizmannia coagulans* WC10 improved antibiotic-associated diarrhea in mice by regulating the gut microbiota and metabolic homeostasis[J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2025, 17(5): 3 451-3 467.
- [7] SUN T H, MIAO H B, ZHANG C B, et al. Effect of dietary *Bacillus coagulans* on the performance and intestinal microbiota of weaned piglets[J]. Animals, 2022, 16(7): 100561.
- [8] 张奕敏, 程辉, 柳良好, 等. 奶粉中凝结芽孢杆菌的分离鉴定及其耐受性研究[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(16): 110-114.
ZHANG Y M, CHENG H, LIU L H, et al. Isolation, identification and stress resistance of *Bacillus coagulans* from milk powder[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(16): 110-114.
- [9] SREENADH M, KUMAR K R, NATH S. In vitro evaluation of *Weizmannia coagulans* strain LMG S-31876 isolated from fermented rice for potential probiotic properties, safety assessment and technological properties[J]. Life (Basel, Switzerland), 2022, 12(9): 1 388.
- [10] 孔素芬, 朱明明, 朱建国, 等. 凝结魏茨曼氏菌 BC66 的筛选、鉴定及特性研究[J]. 食品工业科技, 2023, 44(15): 134-142.
KONG S F, ZHU M M, ZHU J G, et al. Screening, identification and biological characterization of *Weizmannia coagulans* BC66[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(15): 134-142.
- [11] 常家高, 侯乐乐, 王强, 等. 鸡肠源莫海威芽孢杆菌的分离鉴定、抗逆性与安全性研究[J]. 中国畜牧杂志, 2025, 61(5): 339-345.
CHANG J G, HOU L L, WANG Q, et al. Study on the isolation, identification, stress resistance, and safety of *Bacillus mojavensis* from chicken intestines[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2025, 61(5): 339-345.
- [12] 李鋆洋, 陈安均, 聂伟, 等. 基于主成分对比食盐对马铃薯生、熟全粉面片质构与面条品质的影响[J]. 食品与机械, 2025, 41(2): 22-32.
LI J Y, CHEN A J, NIE W, et al. Effect of salt on the texture and noodle quality of raw and cooked potato whole flour pasta sheets based on principal component comparison[J]. Food & Machinery, 2025, 41(2): 22-32.
- [13] 王涛. 山羊原奶中可培养乳酸菌多样性及菌株的体外益生特性分析[J]. 食品工业科技, 2024, 45(20): 141-149.
WANG T. Diversity and *in vitro* probiotic characteristics of culturable lactic acid bacteria from goat's raw milk[J]. Science

- and Technology of Food Industry, 2024, 45(20): 141-149.
- [14] 刘砾, 潘文静, 方玉芬, 等. 不同制粒温度熟化软颗粒饲料品质分析及其对罗非鱼生长性能的影响[J]. 饲料研究, 2025, 48(4): 45-50.
- LIU L, PAN W J, FANG Y F, et al. Analysis of feed quality of soft pellets aged at different pelleting temperatures and their effects on growth performance of tilapia[J]. Feed Research, 2025, 48(4): 45-50.
- [15] 苏斐. 基于多组学的凝结芽孢杆菌优良工业发酵特性的分子机制研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2014: 50-63.
- SU F. Characterization of the molecular mechanism of a good fermentation bacteria *Bacillus coagulans* based on multi-omics analysis[D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2014: 50-63.
- [16] 周子康. 凝结芽孢杆菌 2-6 耐热基因元件的挖掘与分子机制的研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2019: 49-55.
- ZHOU Z K. Discovery of heat-stress tolerant devices and molecular mechanism of *Bacillus coagulans* 2-6[D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2019: 49-55.
- [17] 林松泉, 庄若飞, 刘兵, 等. 1 株凝结芽孢杆菌 ZC-1 生物学特性研究[J]. 饲料研究, 2021, 44(17): 70-74.
- LIN S Q, ZHUANG R F, LIU B, et al. Study on biological characteristics of a strain of *Bacillus coagulans* ZC-1[J]. Feed Research, 2021, 44(17): 70-74.
- [18] 余祖玲. 降解纤维素凝结芽孢杆菌的分离鉴定、生物学特性及发酵条件研究[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2022: 22.
- YU Z L. Isolation, identification, biological characteristics and fermentation conditions of cellulose-degrading *Bacillus coagulans*[D]. Luoyang: Henan University of Science and Technology, 2022: 22.
- [19] SATO Y, OKANO K, HONDA K. Effects of small heat shock proteins from thermotolerant bacteria on the stress resistance of *Escherichia coli* to temperature, pH, and hyperosmolarity[J]. Extremophiles, 2024, 28(1): 12.
- [20] SUZUKI H, IKEDA A, TSUCHIMOTO S, et al. Synergistic binding of DnaJ and DnaK chaperones to heat shock transcription factor σ_{32} ensures its characteristic high metabolic instability: implications for heat shock protein 70 (Hsp70)-Hsp40 mode of function[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2012, 287(23): 19 275-19 283.
- [21] VERI A O, ROBBINS N, COWEN L E. Regulation of the heat shock transcription factor Hsf1 in fungi: implications for temperature-dependent virulence traits[J]. FEMS Yeast Research, 2018, 18(5): foy041.
- [22] 辛国芹, 汪祥燕, 曹斌, 等. 一株产酸凝结芽孢杆菌的筛选及耐受特性研究[J]. 中国酿造, 2022, 41(4): 111-115.
- XIN G Q, WANG X Y, CAO B, et al. Screening and tolerance property of an acid-producing *Bacillus coagulans*[J]. China Brewing, 2022, 41(4): 111-115.
- [23] 张韵, 赵丽娜, 曹琳, 等. 益生凝结芽孢杆菌的筛选及生物学特性研究[J]. 中国畜牧杂志, 2017, 53(1): 109-114.
- ZHANG Y, ZHAO L N, CAO L, et al. Screening and biological characteristics study of probiotic *Bacillus coagulans* [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2017, 53(1): 109-114.
- [24] 牛宇琴, 王辰元, 赵培, 等. 非热处理技术控制酸奶后酸化研究进展[J]. 食品与机械, 2023, 39(7): 234-240.
- NIU Y Q, WANG C Y, ZHAO P, et al. Advances in non-thermal treatment techniques to control yogurt post-acidification[J]. Food & Machinery, 2023, 39(7): 234-240.
- [25] 孙杰, 元少尉, 王秋燕, 等. 植物乳杆菌 PUM1785 抑菌作用及耐胆盐和耐盐性能[J]. 中国微生态学杂志, 2020, 32(10): 1 128-1 133.
- SUN J, YUAN S W, WANG Q Y, et al. Bacteriostasis, bile salt tolerance and salt tolerance of *Lactobacillus plantarum* PUM1785 [J]. Chinese Journal of Microecology, 2020, 32(10): 1 128-1 133.
- [26] BI J, LIU S, DU G C, et al. Bile salt tolerance of *Lactococcus lactis* is enhanced by expression of bile salt hydrolase thereby producing less bile acid in the cells[J]. Biotechnol Lett, 2016, 38(4): 659-665.