



舒娜,赵慧君,侯强川,等.基于高通量测序和纯培养联用技术的红糟酸细菌多样性解析[J].轻工学报,2026,41(1):26-33,68.
SHU N,ZHAO H J,HOU Q C,et al. Analysis of bacterial diversity in red vinasse acid based on high-throughput sequencing and pure culture techniques[J]. Journal of Light Industry,2026,41(1):26-33,68.
DOI:10.12187/2026.01.003

基于高通量测序和纯培养联用技术的红糟酸细菌多样性解析

舒娜^{1,2},赵慧君^{1,2},侯强川^{1,2},郭壮^{1,2},王玉荣^{1,2}

1. 湖北文理学院 湖北省食品配料工程技术研究中心,湖北 襄阳 441053;
2. 湖北文理学院 乳酸菌生物技术与工程襄阳市重点实验室,湖北 襄阳 441053

摘要:【目的】探究广西武宣地区红糟酸中细菌类群多样性,为红糟酸产品寻找菌种资源。【方法】采用 MiSeq 高通量测序技术对广西武宣地区 12 份红糟酸样品的细菌 α 多样性、群落结构及功能进行解析,并采用纯培养技术对乳酸菌进行分离鉴定。【结果】红糟酸样品的优势细菌门是厚壁菌门(Firmicutes)和变形菌门(Proteobacteria),平均相对含量分别为 90.17%和 9.17%;优势细菌属是乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)、片球菌属(*Pediococcus*)和促生乳杆菌属(*Levilactobacillus*),平均相对含量分别为 32.18%、20.54%和 11.62%。红糟酸样品在碳水化合物和氨基酸转运与代谢这 2 个功能上具有较高的丰度。12 份红糟酸样品中共分离出 29 株乳酸菌,隶属于 5 个属下的 6 个种,其中优势可培养乳酸菌为戊糖乳植物杆菌(*Lactiplantibacillus pentosus*)和乳酸片球菌(*Pediococcus acidilactici*),分别占乳酸菌分离株总数的 44.83%和 24.14%。【结论】武宣地区红糟酸中细菌多样性较高,乳酸菌资源丰富,可作为产业化红糟酸的菌种资源。

关键词:红糟酸;高通量测序;纯培养;细菌多样性;基因功能预测;乳酸菌

中图分类号:TS201.3 **文献标识码:**A **文章编号:**2096-1553(2026)01-0026-08

0 引言

红糟酸是广西壮族自治区的传统发酵食品,以红曲米为主要原料,以姜、藠头、泡椒、辣椒、蕹菜、豆角或刀豆等蔬菜为辅料,并加入食盐和米酒进行调味,入坛厌氧发酵不少于 2 周制得^[1-2]。地方标准^[3]规定,每 100 g 红糟酸中固形物含量不低于 60 g,食盐含量不低于 6 g,总酸含量不高于 2 g,这

使其口感酸咸适中,具有解腻开胃的作用,因而深受当地居民喜爱。乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)、醋酸杆菌属(*Acetobacter*)、片球菌属(*Pediococcus*)等在红糟酸制作过程中扮演着重要角色,且其功能特性一直是业界研究的焦点。例如,卓经纬等^[4]研究发现,添加红曲米能提升乳酸发酵剂的发酵酸度和产酸能力,并解决红糟酸在生产过程中发酵迟缓等问题。阮玄庄^[5]研究发现,使用植物乳植杆菌

收稿日期:2025-06-09;修回日期:2025-10-22;出版日期:2026-02-15

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(32402047);湖北省高等学校优秀中青年科技创新团队计划项目(T2023022)

作者简介:舒娜(1998—),女,湖北省襄阳市人,湖北文理学院硕士研究生,主要研究方向是食品生物技术。E-mail:sheyushuna@163.com

通信作者:王玉荣(1993—),女,湖北省襄阳市人,湖北文理学院副教授,博士,主要研究方向是食品生物技术。E-mail:wangyurong1993@163.com

(*Lactiplantibacillus plantarum*) 发酵得到的红糟酸中,姜还原糖含量和总酚含量均有所提高。J. M. Lyu 等^[6]研究发现,乳酸菌是红糟酸发酵过程中主导酮酸氧化脱羧生成羧酸代谢途径的关键微生物,其对红糟酸特征风味形成具有促进作用。因此,探究红糟酸中细菌的群落组成,对于提高其产品品质具有重要意义。

MiSeq 高通量测序技术通过直接提取环境样本中的微生物基因组 DNA 来构建宏基因组文库,能够精确识别低丰度微生物并对其进行分类,从而实现复杂微生物群落结构的系统性解析^[7],已广泛应用于腐乳^[8]、泡菜^[9]、米酒^[10]等发酵食品微生物群落的解析中。例如,周姝静等^[11]使用 MiSeq 高通量测序技术对不同发酵期的东北酸菜进行解析,发现发酵前期酸菜样品的物种丰富度及多样性均高于发酵后期。D. Kavitate 等^[12]利用 MiSeq 高通量测序技术对印度发酵食品进行了解析,发现乳球菌属(*Lactococcus*)、魏斯氏菌属(*Weissella*)和乳杆菌属为其优势菌属。因此,运用 MiSeq 高通量测序技术解析红糟酸中的细菌群落结构具有可行性。

武宣县位于广西中部,地处大瑶山南麓、黔江中游,属亚热带季风气候,由于当地终年温湿度较高,且制作红糟酸的红糟为本地特有,这可能使武宣地区红糟酸蕴含较为独特的微生物群落,但目前关于武宣地区红糟酸中微生物多样性的报道较少。鉴于此,本研究拟采集 12 份该地区红糟酸样品,利用 MiSeq 高通量测序技术对样品中的微生物基因组 DNA 进行测序,通过与 RDP 数据库进行比对分析,揭示其细菌 α 多样性、群落结构及功能;继而采用纯培养技术对样品中可培养乳酸菌进行分离鉴定,结合 GenBank 数据库比对,明确可培养乳酸菌的种类,以期传统发酵食品红糟酸的微生物资源开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

红糟酸,发酵 30 d 左右,无异味和霉变现象,采集自广西壮族自治区来宾市武宣县农贸市场(E109°30'~109°57',N23°26'~23°54'),所有样品

均在当地制作,共计 12 份,编号为 H1—H12,其中 H1—H7 分别添加了姜、藠头、泡椒、辣椒、蕹菜、豆角和刀豆。

MRS 合成培养基,北京奥博星生物技术有限公司;DNeasy mericon Food Kit 食品基因组 DNA 提取试剂盒,德国 QIAGEN 公司;PCR 清洁试剂盒,Axygen 生物技术有限公司;DNA 聚合酶、rTaq 酶、10×Buffer 和 d NTP,宝生物工程(大连)有限公司;正反向引物 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')/806R(5'-GGACTAC-HVGGGTWTCTAAT-3'),上海桑尼生物科技有限公司。

1.2 主要仪器与设备

DG250 型厌氧工作站,英国 Don Whitley 公司;CT15RE 型高速冷冻离心机,日本 HITACHI 公司;Veriti FAST 型 PCR 仪,美国 ABI 公司;UVPCDS8000 型凝胶成像分析系统,美国 BIO-RAD 公司;DYY-12 型电泳仪,北京六一仪器厂;MiSeq PE300 型高通量测序平台,美国 Illumina 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 DNA 提取、PCR 扩增和 MiSeq 高通量测序

参照 DNeasy mericon Food Kit 食品基因组 DNA 提取试剂盒提供的操作方法,提取红糟酸中的宏基因组 DNA;参照李娜等^[13]的方法,使用正反向引物 338F/806R 对细菌 16S rRNA 的 V₃—V₄ 高变区进行 PCR 扩增,并将纯化后的 PCR 产物送至上海美吉生物医药科技有限公司进行 MiSeq 高通量测序。

1.3.2 生物信息学分析方法

参照王玉荣等^[14]的方法,使用 QIIME(v. 1.9.1)分析平台对质控后的序列进行生物信息学分析。具体过程为:①将测序序列与参考序列进行比对和对齐,剔除无法比对成功的序列;②基于 UCLUST 软件^[15],在 97%相似度条件下进行操作分类单元(Operational Taxonomic Units,OTU)划分;③使用 vsearch(v. 2.30.1)软件进行嵌合体检查,并剔除属于嵌合体的 OTU 序列;④从每个 OTU 中选取 1 条代表性序列,将之与 RDP 数据库(v. 11.5)进行比对,从而明确各 OTU 所代表细菌的分类学地位;⑤在相同测序深度下,计算 Chao1 指数和香农指数,并对样品中细菌 α 多样性和丰富度进行评价。

1.3.3 乳酸菌分离鉴定 参照说明书配制 MRS 合成培养基,并参照李娜等^[16]的方法对红糟酸中乳酸菌进行分离纯化,经样品稀释、涂布培养、菌落筛选与纯化、菌种鉴定及保藏,可得到纯菌。参照张振东等^[17]的方法进行乳酸菌鉴定,委托上海美吉生物医药科技有限公司对筛选获得的阳性克隆子开展测序工作,并将待研究菌株的核酸序列数据提交至美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)数据库进行归档。基于 MEGA5.0 软件邻接法构建系统发育树,通过比对 16S rRNA 基因序列与参考数据库菌株的进化距离,明确菌株的系统分类地位。

1.4 数据处理

采用 Origin 2022 软件绘制柱状图,利用 R 软件绘制功能预测热图。

2 结果与分析

2.1 红糟酸细菌高通量测序结果及 α 多样性分析

红糟酸样品细菌高通量测序结果及 α 多样性分析见表 1。由表 1 可知,对 12 份红糟酸样品进行高通量测序后,累计产出 560 023 条序列,被划分为 23 098 个 OTU。此外,12 份红糟酸样品中的细菌被鉴定为 12 个门、28 个纲、43 个目、82 个科和 153 个

属。作为评估微生物群落多样性的重要指标,Chao1 指数侧重反映物种丰富度,而香农指数则综合考量物种多样性^[18]。H11 样品的 Chao1 指数和香农指数均最高,分别为 2110 和 5.52,表明该样品的细菌群落丰富度和多样性均最高。

2.2 红糟酸细菌群落结构分析

红糟酸样品细菌群落中平均相对含量>1.0%的优势细菌门如图 1 所示。由图 1 可知,红糟酸样品中优势细菌门为厚壁菌门(Firmicutes)和变形菌门(Proteobacteria),其平均相对含量分别为 90.17%和 9.17%。吕健曼^[19]对广西 3 个地区共 6 个红糟酸样品进行了微生物组成分析,发现变形菌门和厚壁菌门为其主要优势细菌门,子囊菌门(Ascomycota)为其主要优势真菌门。本研究的优势细菌门与其一致。

经比对分析,红糟酸样品中细菌群落共鉴定到 153 个属,其中平均相对含量>1.0%的细菌属如图 2 所示。由图 2 可知,添加蔬菜发酵的红糟酸样品 H1—H7 中细菌属与未添加蔬菜的红糟酸样品 H8—H12 中细菌属有明显差异。这一现象或许可归因于未灭菌的蔬菜原料,其复杂的微生物群落和多样的酶系为发酵奠定了基础^[20]。此外,发酵环境中盐浓度、水分含量、温度、氧气等因素,同样会对微生物的种类、功能及进化产生影响^[21]。由图 2 亦

表 1 红糟酸样品细菌高通量测序结果及 α 多样性分析
Table 1 High-throughput sequencing results and α -diversity analysis of bacteria in red vinasse acid samples

样品编号	原料	序列数/条	OTU 数/个	门/个	属/个	Chao1 指数	香农指数
H1	红曲米、姜	34 086	512	7	66	813	3.63
H2	红曲米、藟头	43 941	1134	9	49	1715	4.05
H3	红曲米、泡椒	33 109	706	8	68	1114	3.61
H4	红曲米、辣椒	45 662	958	10	64	1488	4.02
H5	红曲米、蕹菜	39 714	1357	6	58	1996	4.89
H6	红曲米、豆角	49 233	1049	3	39	1517	3.99
H7	红曲米、刀豆	44 811	774	8	86	942	3.87
H8	红曲米	45 719	968	3	21	1357	3.87
H9	红曲米	46 619	1314	3	24	1734	4.36
H10	红曲米	48 990	1325	5	27	1827	4.04
H11	红曲米	62 503	1807	4	28	2110	5.52
H12	红曲米	65 636	698	5	36	771	2.83

注:所有样品的 Chao1 指数和香农指数均在测序深度为 32 010 条序列时计算得到。

可知,平均相对含量>1.0%的细菌属共有 12 个,其中乳酸杆菌属、片球菌属、促生乳杆菌属 (*Levilactobacillus*)、粘液乳杆菌属 (*Limosilactobacillus*)、克罗彭斯特菌属 (*Kroppenstedtia*)、高温放线菌属 (*Thermoactinomyces*)、伴生乳杆菌属 (*Companilactobacillus*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、类芽孢杆菌属 (*Paenibacillus*) 和乳植杆菌属 (*Lactiplantibacillus*) 均隶属于厚壁菌门,其平均相对含量分别为 32.18%、20.54%、11.62%、6.15%、4.56%、3.45%、2.29%、1.65%、1.44% 和 1.31%。

而克雷伯氏菌属 (*Klebsiella*) 和伯克霍尔德氏菌属 (*Burkholderia*) 均隶属于变形菌门,其平均相对含量分别为 3.90% 和 3.34%。红糟酸中存在多种乳酸菌类群,包括乳酸杆菌属、片球菌属、促生乳杆菌属、粘液乳杆菌属、伴生乳杆菌属、乳植杆菌属等,其累计平均相对含量高达 73.95%。由此可见,红糟酸中蕴含了丰富且多样的乳酸菌资源。

本研究进一步对 12 份红糟酸样品中均存在的 OTU 进行比对,并对其平均相对含量进行计算,结果如图 3 所示。由图 3 可知,7 个 OTU 中有 3 个

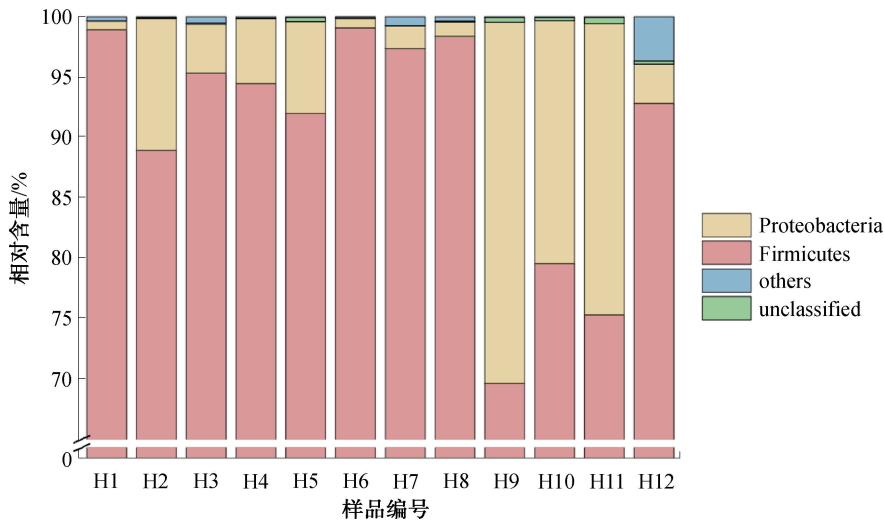


图 1 红糟酸样品细菌群落中平均相对含量>1.0%的优势细菌门

Fig. 1 Dominant bacterial phyla with average relative abundances >1.0% in the bacterial communities of red vinasse acid samples

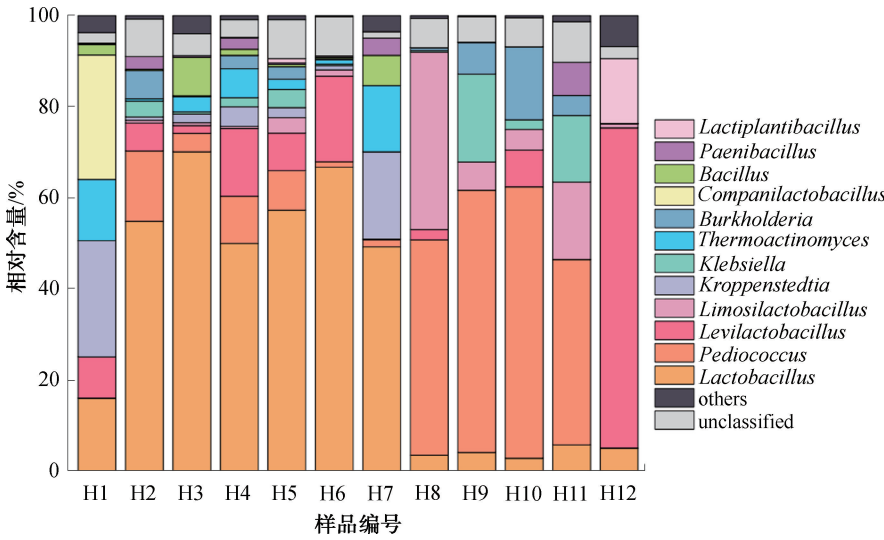


图 2 红糟酸样品细菌群落中平均相对含量>1.0%的细菌属

Fig. 2 Bacterial genera with average relative abundances >1.0% in the bacterial communities of red vinasse acid samples

OTU 被鉴定为片球菌属、促生乳杆菌属、粘液乳杆菌属等乳酸菌类群, 累计平均相对含量为 29. 86%; 1 个 OTU 被鉴定为类芽孢杆菌属, 平均相对含量为 0. 63%; 2 个 OTU 被鉴定为克雷伯氏菌属, 累计平均相对含量为 2. 13%; 1 个 OTU 被鉴定为伯克霍尔德氏菌属, 平均相对含量为 2. 21%。隶属于克雷伯氏菌属和伯克霍尔德氏菌属的细菌为致病菌^[22], 感染后易出现呕吐、腹痛、腹泻等消化道症状^[23], 类似情况在其他发酵食品中亦存在。例如, Z. Guo 等^[24]研究发现, 克雷伯氏菌属为酸豇豆中核心细菌类群, 平均相对含量达 11. 4%。这可能是因为以红糟酸和酸豇豆为代表的发酵食品常采用开放式发酵, 环境及原料中的微生物通常会进入发酵体系, 导致产品出现品质不稳定、杂菌污染、发酵效率降低等系列问题。陈晖等^[25]研究发现, 2005—2020 年, 我国唐菖蒲伯克霍尔德氏菌 (*B. gladioli*) 中毒事件多由家庭自制发酵食品引发。由此可见, 为提升红糟酸的食用安全性, 在后续研究中探讨通过接种乳酸菌进行纯种发酵是极为必要的。

2.3 红糟酸样品细菌功能分析

对红糟酸样品中的细菌序列进行功能预测分析, 根据蛋白质直系同源簇数据库 (Clusters of Orthologous Groups of proteins, COG) 进行功能注释^[26], 结果如图 4 所示, 其中 A 为 RNA 的加工与修饰; B 为染色质结构与动力学; C 为能量生产和转换; D 为细胞周期控制、细胞分裂和染色体分割; E、

F、G、H 和 I 分别为氨基酸、核苷、碳水化合物、辅酶和脂质的转运与代谢; J 为翻译、核糖体结构与生物发生; K 为转录; L 为复制重组和修复; M 为细胞壁/膜/包膜生物发生; N 为细胞运动; O 为翻译后修饰、蛋白质周转与伴侣蛋白; P 为无机离子运输与代谢; Q 为次生代谢产物的合成转运和分解代谢; R 为一般功能预测; S 为未知功能; T 为信号转导机制; U 为细胞内运输、分泌和囊泡运输; V 为防御机制; Z 为细胞骨架。由图 4 可知, 细菌序列分别注释到 23 个功能大类, 并在碳水化合物转运与代谢 (G)、氨基酸转运与代谢 (E) 功能上高表达, 平均占比均超过 7%。这可能是因为红糟酸以红曲米为主要原料, 富含淀粉, 因而其细菌类群在碳水化合物转运与代谢方面的表达较高; 同时, 红曲霉等真菌类群的存在使发酵基质中富含氨基端, 这使得其细菌类群可进一步利用氨基酸, 最终导致其氨基酸转运与代谢功能的表达偏高^[27]。

2.4 红糟酸样品中乳酸菌鉴定结果分析

MiSeq 高通量测序结果显示, 红糟酸中富含乳酸菌, 因此本研究进一步采用传统微生物纯培养技术从 12 份红糟酸样品中分离出 29 株疑似乳酸菌菌株, 部分菌株的菌落形态和细胞形态如图 5 所示。由图 5 可知, 在 MRS 平板上进行厌氧培养后, 菌株的菌落边缘整齐呈圆形, 表面光滑且湿润。不同菌株的菌落大小存在差异, 但多为白色或乳白色, 少数菌落偏透明状。分离后的菌株均呈现革兰氏阳

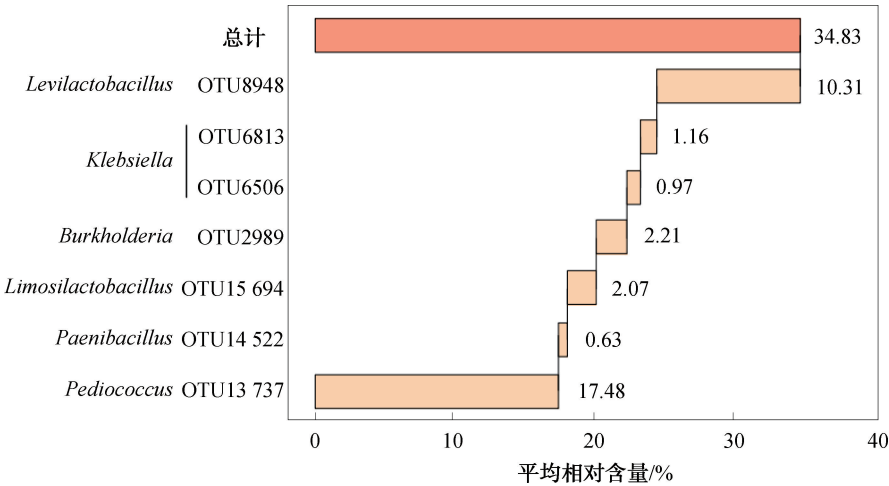


图 3 红糟酸样品中核心 OTU 鉴定结果及平均相对含量分析
Fig. 3 Analysis of the identification results and average relative abundances of core OTUs in red vinasse acid samples

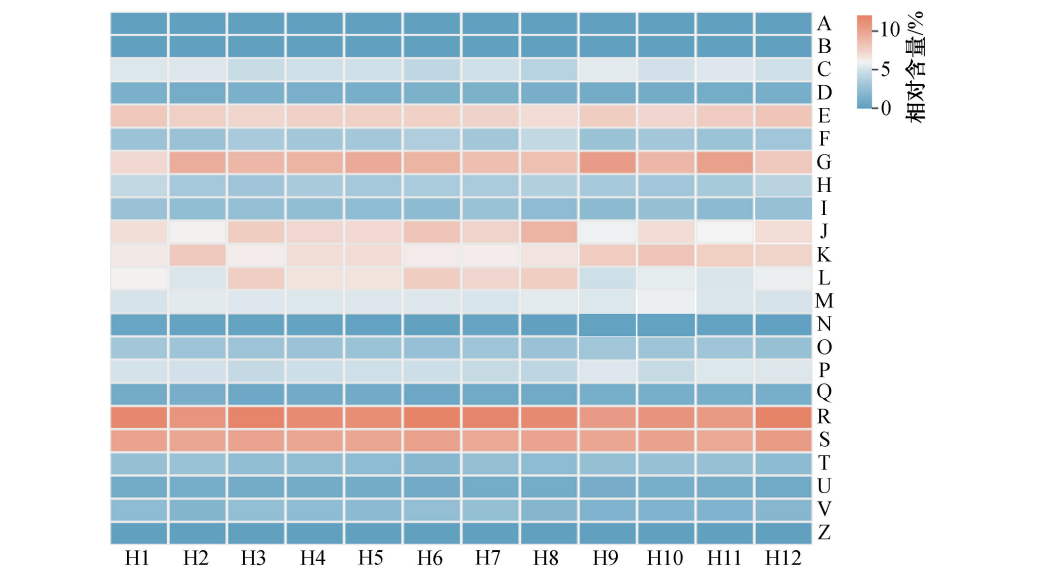


图 4 红糟酸样品中细菌功能预测热图
Fig. 4 Heatmap of bacterial functional prediction in red vinasse acid samples

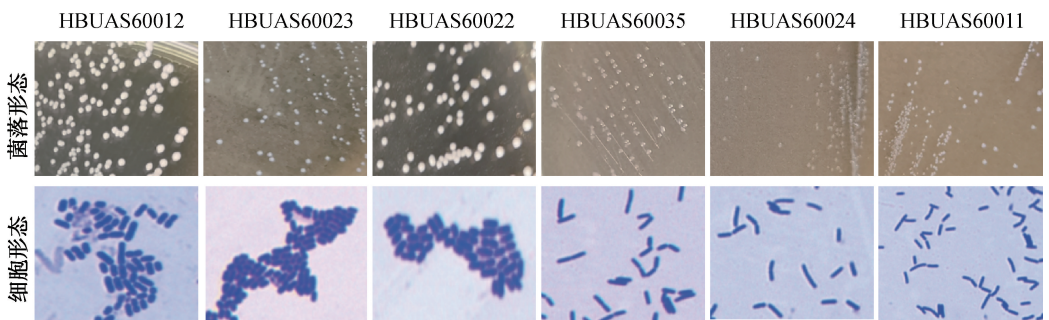


图 5 红糟酸样品中部分菌株的菌落形态和细胞形态
Fig. 5 Colonial and cell morphologies of some strains in red vinasse acid samples

性且无芽孢的细菌特征,细胞无鞭毛结构,不具备运动能力,形态上以杆状、短杆状为主,亦可见成对、短链或独立个体形态,整体符合乳酸菌的基本形态特征。

将 29 株疑似乳酸菌菌株的 16S rRNA 基因序列在 NCBI 网站进行比对,并构建其模式菌株的系统发育树,如图 6 所示。由图 6 可知,29 株疑似乳酸菌菌株被鉴定为 6 个种,其中 HBUAS60012 等 13 株菌株被鉴定为戊糖乳植物杆菌 (*L. pentosus*), 占比 44. 83%; HBUAS60023 等 7 株菌株被鉴定为乳酸片球菌 (*P. acidilactici*), 占比 24. 14%; HBUAS60022 等 4 株菌株被鉴定为斯特拉斯堡乳植物杆菌 (*L. argenteratensis*), 占比 13. 79%; HBUAS60035 等 3 株菌株被鉴定为发酵粘液乳杆菌 (*L. fermentum*), 占比 10. 34%; HBUAS60011 被

鉴定为苏氏乳杆菌 (*L. suantsaii*), 占比 3. 45%; HBUAS60024 被鉴定为鼠李糖乳酪杆菌 (*L. rhannosus*), 占比 3. 45%。由此可见,红糟酸中可培养优势乳酸菌为戊糖乳植物杆菌和乳酸片球菌。

3 结论

本研究采用 MiSeq 高通量测序和纯培养联用技术解析了广西武宣地区红糟酸中细菌 α 多样性、群落结构及功能,并对其蕴含的乳酸菌进行了分离鉴定,得到如下结论:在门水平上,厚壁菌门和变形菌门是红糟酸的优势菌门;在属水平上,乳酸杆菌属、片球菌属、促生乳杆菌属、粘液乳杆菌属、伴生乳杆菌属和乳植杆菌属为红糟酸的优势乳酸菌类群;在可培养乳酸菌中,戊糖乳植物杆菌和乳酸片球菌占

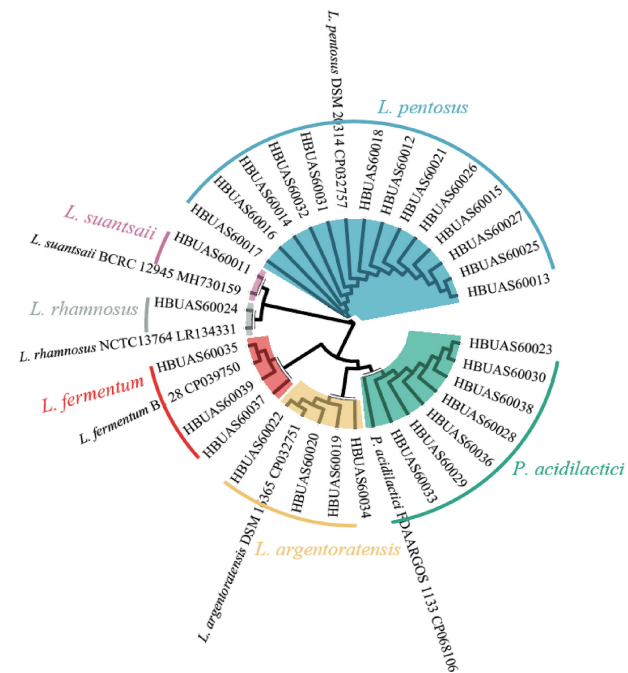


图6 红糟酸乳酸菌分离株的系统发育树
Fig.6 Phylogenetic tree of lactic acid bacteria isolates from red vinasse acid samples

据主导地位;此外,红糟酸中细菌类群在碳水化合物、氨基酸转运与代谢相关途径中表现出较高的代谢活性。然而,该地区的红糟酸中还存在克雷伯氏菌属、伯克霍尔德氏菌属等潜在致病菌。因此,广西武宣地区红糟酸富含乳酸菌资源,且物种多样性较高,但开放式发酵使得产品存在品质稳定性欠佳、易出现杂菌污染、发酵效率降低等问题。后续将进一步开展核心功能菌种的定向筛选等研究,为红糟酸产业化推进及产品创新研发提供理论依据和菌种资源支持。

参考文献:

[1] 张聪. 乡村振兴视域下饮食类非物质文化遗产的产业化发展研究:以广西武宣红糟酸为例[J]. 粮食科技与经济, 2021, 46(3): 40-43.
ZHANG C. Study on the development path of foods as intangible cultural heritage under rural revitalization strategy: Taking Wuxuan red vinasse acid as an example [J]. Food Science and Technology and Economy, 2021, 46(3): 40-43.
[2] 于兰. 红糟酸的制作工艺[J]. 中国调味品, 1997, 22(3): 21-22.
YU L. Production technology of kojic acid [J]. China

Condiment, 1997, 22(3): 21-22.
[3] 广西壮族自治区卫生健康委员会. 食品安全地方标准 红糟酸: DBS 45/061—2019[S].
Health and Wellness Commission of Guangxi Zhuang Autonomous Region. Local standard of food safety—Vinasse acid: DBS 45/061—2019[S].
[4] 卓经纬, 彭诗泳, 覃丽, 等. 添加红曲对乳酸发酵剂发酵性能的影响研究[J]. 中国调味品, 2023, 48(5): 65-70.
ZHUO J W, PENG S Y, QIN L, et al. Effect of addition of red yeast rice on the properties of lactic acid fermentation agent [J]. China Condiment, 2023, 48(5): 65-70.
[5] 阮玄庄. 生姜发酵食品发酵剂研究[D]. 南宁: 广西大学, 2023.
RUAN X Z. Study on fermentation agents in fermented ginger food [D]. Nanning: Guangxi University, 2023.
[6] LV (LYU) J M, YE Y L, ZHONG Y, et al. Microbial diversity and functional genes of red vinasse acid based on metagenome analysis [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 1025886.
[7] TAN G L, HU M, LI X Y, et al. High-throughput sequencing and metabolomics reveal differences in bacterial diversity and metabolites between red and white sufu [J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 758.
[8] 张振东, 王玉荣, 侯强川, 等. 市售茨河花色腐乳和红方腐乳微生物菌群及风味物质的比较分析[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(13): 70-77.
ZHANG Z D, WANG Y R, HOU Q C, et al. Comparative analysis of microbial community and flavor compounds between Huase and red sufu [J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(13): 70-77.
[9] YANG Y L, FAN Y, LI T, et al. Microbial composition and correlation between microbiota and quality-related physiochemical characteristics in Chongqing radish Paocai [J]. Food Chemistry, 2022, 369: 130897.
[10] 罗莉, 甘晋铭, 向亮亮, 等. 基于高通量测序技术对不同地区米酒曲微生物群落结构的分析[J]. 酿酒科技, 2024(9): 82-86.
LUO L, GAN J M, XIANG L L, et al. Analysis of microbial community structure of rice wine starter from different regions based on high-throughput sequencing [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2024(9): 82-86.
[11] 周妹静, 孙全敏, 迟乃玉, 等. 东北酸菜发酵前后期细菌菌群多样性分析[J]. 中国酿造, 2022, 41(5): 42-46.
ZHOU S J, SUN Q M, CHI N Y, et al. Diversity of bacterial community of Chinese Northeast sauerkraut fermentation at the prophase and anaphase [J]. China Brewing, 2022, 41(5): 42-46.
[12] KAVITAKE D, SURYAVANSHI M V, KANDASAMY S, et al. Bacterial diversity of traditional fermented food, Idli by high thorough-put sequencing [J]. Journal of Food Science and Technology, 2022, 59(10): 3918-3927.

- [13] 李娜,张苗苗,舒娜,等. 咸丰和当阳地区鲜广椒细菌群落结构差异性研究[J]. 中国酿造,2020,39(10):48-53.
LI N,ZHANG M M,SHU N,et al. Difference of bacterial community structure of Zhaguangjiao in Xianfeng and Dangyang region[J]. China Brewing,2020,39(10):48-53.
- [14] 王玉荣,孙永坤,代凯文,等. 基于单分子实时测序技术的3个当阳广椒样品细菌多样性研究[J]. 食品工业科技,2018,39(2):108-112,118.
WANG Y R,SUN Y K,DAI K W,et al. Study on the diversity of bacteria microflora in 3 Zhaguangjiao samples of Dangyang area by single molecule real-time sequencing technique[J]. Science and Technology of Food Industry,2018,39(2):108-112,118.
- [15] EDGAR R C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST[J]. Bioinformatics,2010,26(19):2460-2461.
- [16] 李娜,崔梦君,马佳佳,等. 基于 Illumina MiSeq 测序和传统可培养方法的洪湖鲜广椒乳酸菌多样性研究[J]. 食品与发酵工业,2021,47(4):110-115,122.
LI N,CUI M J,MA J J,et al. Lactic acid bacterial diversity of Zha-chili in Honghu county based on Illumina Miseq sequencing and traditional culture method[J]. Food and Fermentation Industries,2021,47(4):110-115,122.
- [17] 张振东,李学富,肖秋杨,等. 基于高通量测序与分离鉴定方法解析奉节和巫山鲜广椒微生物多样性[J]. 食品与发酵工业,2023,49(24):178-185.
ZHANG Z D,LI X F,XIAO Q Y,et al. Microbial diversity of Zha-chili from Fengjie and Wushan County using high-throughput sequencing and isolation and identification-based methods[J]. Food and Fermentation Industries,2023,49(24):178-185.
- [18] WANG X H,WANG S H,ZHAO H. Unraveling microbial community diversity and succession of Chinese Sichuan sausages during spontaneous fermentation by high-throughput sequencing[J]. Journal of Food Science and Technology,2019,56(7):3254-3263.
- [19] 吕健曼. 红糟酸宏基因组分析与高产色素菌株红曲霉筛选及液态发酵研究[D]. 武汉:华中农业大学,2023.
LYU J M. Macrogenome analysis of red vinasse acid and study on screening an fermentation of high pigment yielding strain *Monascus* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University,2023.
- [20] JACKSON C R,STONE B W G,TYLER H L. Emerging perspectives on the natural microbiome of fresh produce vegetables[J]. Agriculture,2015,5(2):170-187.
- [21] ALEKSEEVA A Y,GROENENBOOM A E,SMID E J,et al. Eco-evolutionary dynamics in microbial communities from spontaneous fermented foods [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health,2021,18(19):10093.
- [22] KAIN M J W,REECE N L,PARRY C M,et al. The rapid emergence of hypervirulent *Klebsiella* Species and *Burkholderia pseudomallei* as major health threats in Southeast Asia: The urgent need for recognition as neglected tropical diseases [J]. Tropical Medicine and Infectious Disease,2024,9(4):80.
- [23] MERLA C,RODRIGUES C,PASSET V,et al. Description of *Klebsiella spallanzanii* sp. nov. and of *Klebsiella pasteurii* sp. nov[J]. Frontiers in Microbiology,2019,10:2360.
- [24] GUO Z,WANG Y R,XIANG F S,et al. Bacterial diversity in pickled cowpea (*Vigna unguiculata* [Linn.] Walp) as determined by Illumina MiSeq sequencing and culture-dependent methods [J]. Current Microbiology,2021,78(4):1286-1297.
- [25] 陈晖,傅钺洁,王琦,等. 2005—2020 年我国唐菖蒲伯克霍尔德氏菌中毒事件流行病学分析[J]. 中国食品卫生杂志,2022,34(6):1336-1341.
CHEN H,FU Y J,WANG Q,et al. Analysis of epidemiological characteristics of *Burkholderia gladioli* poisoning in China from 2005 to 2020 [J]. Chinese Journal of Food Hygiene,2022,34(6):1336-1341.
- [26] GALPERIN M Y,WOLF Y I,MAKAROVA K S,et al. COG database update:Focus on microbial diversity,model organisms,and widespread pathogens[J]. Nucleic Acids Research,2021,49(D1):D274-D281.
- [27] ZHANG K,ZHANG T T,GUO R R,et al. The regulation of key flavor of traditional fermented food by microbial metabolism:A review[J]. Food Chemistry(X),2023,19:100871.

Analysis of bacterial diversity in red vinasse acid based on high-throughput sequencing and pure culture techniques

SHU Na^{1,2}, ZHAO Huijun^{1,2}, HOU Qiangchuan^{1,2}, GUO Zhuang^{1,2}, WANG Yurong^{1,2}

1. Hubei Provincial Engineering and Technology Research Center for Food Ingredients, Hubei University of Arts and Science, Xiangyang 441053, China;

2. Xiangyang Lactic Acid Bacteria Biotechnology and Engineering Key Laboratory, Hubei University of Arts and Science, Xiangyang 441053, China

4. Henan Collaborative Innovation Centre of Food Production Safety, Zhengzhou 450001, China;
5. Henan Key Laboratory of Cold Chain Food Quality and Safety Control, Zhengzhou 450001, China

Abstract: [Objective] This study aims to explore the antibacterial effect of phages on *Salmonella* in food. **[Methods]** Phages were isolated and purified from wastewater samples collected from a wastewater treatment plant in Zhengzhou, with *Salmonella typhimurium* as the host bacterium, by the double-layer agar plate method. Their biological characteristics, genomic features, and antibacterial effects on *S. typhimurium* in artificially contaminated milk and egg white were investigated. **[Results]** The optimal multiplicity of infection (*MOI*) of the isolated and purified phage ST-1 was 0.1, with a maximum titer of 10.45 lg PFU/mL. Its latent period was 20 min, the lysis period was 70 min, and the burst size was approximately 106.5 PFU/cell. It had a narrow host range, being able to lyse only *S. typhimurium* and *Streptococcus pneumoniae*. It exhibited good stability, maintaining activity within a temperature range of 30~60 °C and a pH range of 5~10, while also being insensitive to chloroform. Phage ST-1 belongs to the order Caudovirales. Its genome size is 84 672 bp, with a GC content of 38.82%, and it contains 142 open reading frames (ORFs). It does not carry resistance genes or virulence genes and can significantly inhibit the growth of *S. typhimurium* in artificially contaminated milk and egg white. **[Conclusion]** Phage ST-1 has high lysis efficiency, good thermal stability, acid-base tolerance, safety, and control effects, which can provide a reference for the development of targeted biocontrol agents against *Salmonella*.

Key words: *Salmonella*; phage; biological characteristic; genomic feature; antibacterial effect

[责任编辑: 杨晓娟 申慧珊]

(上接第 33 页)

Abstract: [Objective] This study aimed to investigate the bacterial community diversity in red vinasse acid (a traditional fermented acidic food from Wuxuan County, Guangxi Zhuang Autonomous Region) and thereby provide potential microbial strain resources for red vinasse acid products. **[Methods]** MiSeq high-throughput sequencing technology was applied to analyze the bacterial α -diversity, community structure, and functional profiles of 12 red vinasse acid samples collected from Wuxuan County, Guangxi. And a pure culture technique was utilized to isolate and identify lactic acid bacteria (LAB). **[Results]** The dominant bacterial phyla in the samples were Firmicutes and Proteobacteria, with average relative abundances of 90.17% and 9.17%, respectively. The dominant bacterial genera were *Lactobacillus*, *Pediococcus*, and *Levilactobacillus*, with average relative abundances of 32.18%, 20.54%, and 11.62%, respectively. The samples exhibited relatively high abundances in the transport and metabolism of carbohydrates and amino acids. A total of 29 LAB strains were isolated from the 12 samples, which belong to 6 species of 5 genera. Among them, the dominant cultivable LAB species were *Lactiplantibacillus pentosus* and *P. acidilactici*, accounting for 44.83% and 24.14% of the total LAB isolates, respectively. **[Conclusion]** Red vinasse acid from the Wuxuan region exhibits high bacterial diversity and abundant LAB resources, and thus can serve as microbial strain resources for the industrial production of red vinasse acid.

Key words: red vinasse acid; high-throughput sequencing; pure culture; bacterial diversity; gene function prediction; lactic acid bacteria

[责任编辑: 杨晓娟]