

DOI: 10.3969/j.issn.2096-8248.2025.01.003

引用格式: 许凤, 陈金玲, 张梦雪, 等. 一株发酵条斑紫菜植物乳杆菌的筛选、发酵特性及其发酵多糖抗氧化活性[J]. 江苏海洋大学学报(自然科学版), 2025, 34(1): 16-23.

## 一株发酵条斑紫菜植物乳杆菌的筛选、发酵特性 及其发酵多糖抗氧化活性

许凤, 陈金玲, 张梦雪, 赵鹏鹏, 房耀维, 杨杰, 刘姝

(江苏海洋大学 海洋食品与生物工程学院, 江苏 连云港 222005)

**摘要:** 为探明乳酸菌在海洋食品发酵中的应用, 研究了一株从贵州卤水中筛选的乳酸菌对条斑紫菜发酵的可行性。首先, 通过形态观察、16S rDNA 测序和生理生化分析进行菌种鉴定并建立系统发育树。然后, 测定该植物乳杆菌的生长曲线、产酸、耐盐和耐酸特性。进一步, 测定其发酵条斑紫菜的生长情况, 并对发酵后条斑紫菜多糖的抗氧化活性进行分析。菌株 L13 为直短杆状的阳性乳杆菌, 16S rDNA 测序与植物乳杆菌相似度为 100%, 结合生理生化鉴定确定该菌株为植物乳杆菌。菌株 L13 具有较强的耐盐和耐酸特性, 在 NaCl 含量为 12%, pH 为 4.0 培养条件下能够正常生长, 稳定期 OD<sub>600</sub> 大于 2.0。菌株 L13 发酵条斑紫菜 24 h 时, 活菌数达到最高, 为 9.32 log<sub>10</sub> CFU/g; 发酵 72 h 后活菌数为 7.39 log<sub>10</sub> CFU/g, 此时获得的条斑紫菜多糖对 Fe<sup>3+</sup> 的还原能力提高了 176.23%, 对 DPPH· 自由基清除率提高了 131.79%, 对 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率提高了 123.62%。上述结果表明, 菌株 L13 发酵能够显著增强条斑紫菜的抗氧化能力, 在海洋食品发酵中具有良好的应用前景。

**关键词:** 菌株筛选; 植物乳杆菌 L13; 乳酸菌发酵; 条斑紫菜; 抗氧化性

中图分类号: S816.3 文献标志码: A 文章编号: 2096-8248 (2025) 01-0016-08

## Screening and fermentation characteristics of a strain of fermented *Porphyra yezoensis* lactobacillus and the antioxidant activity of its fermented polysaccharides

XU Feng, CHEN Jinling, ZHANG Mengxue, ZHAO Pengpeng, FANG Yaowei, YANG Jie, LIU Shu  
(School of Ocean Food and Biological Engineering, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, China)

**Abstract:** In order to explore the application of lactic acid bacteria in marine food fermentation, the feasibility of a strain of lactic acid bacteria screened from brine in Guizhou Province for the fermentation of *Porphyra yezoensis* was studied. Firstly, the strain identification was identified by morphological observation, 16S rDNA sequencing, and physiological and biochemical analyses; then, its growth curve, acid production, salt and acid tolerance characteristics were determined; finally, the growth of its fermented *P. yezoensis*, and the antioxidant activity of the polysaccharides of fermented *P. yezoensis* were also analyzed. The results showed that L13 was a straight and short rod-shaped positive *Lactiplantibacillus* with 100% similarity to *Lactiplantibacillus plantarum* by 16S rDNA sequencing, which was determined to be *L.*

收稿日期: 2024-04-11; 修订日期: 2024-04-18

基金项目: 江苏高校“青蓝工程”资助项目; 连云港市科技计划(基础研究)项目(JCYJ232)

作者简介: 许凤(1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品微生物与生物技术, (E-mail) xufeng0737@163.com。

通信作者: 刘姝(1988—), 女, 教授, 博士, 研究方向为食品微生物与生物技术, (E-mail) jdliushu@163.com。

*plantarum* in combination with physiological and biochemical identification. *L. plantarum* L13 has strong salt- and acid-tolerant properties, and can grow normally under the culture conditions of NaCl concentration of 12% and pH 4.0 ( $OD_{600} > 2.0$  at steady state). The viable count achieved highest of  $9.32 \log_{10}$  CFU/g after fermented *P. yezoensis* for 24 h by L13 and achieved  $7.39 \log_{10}$  CFU/g for 72 h. After fermentation for 72 h, the  $Fe^{3+}$  reducing capacity, the DPPH· radical scavenging rate and the ABTS<sup>+</sup>· radical scavenging rate was 176.23%, 131.79% and 123.62%, respectively. The study indicates that the fermented *P. yezoensis* polysaccharide by strain L13 could enhance the antioxidant capacity, which has a good application prospect in marine food fermentation.

**Key words:** strain screening; *Lactobacillus plantarum* L13; lactic acid bacteria fermentation; *Porphyra yezoensis*; antioxidation

## 0 引言

条斑紫菜 (*Porphyra yezoensis*) 是一种营养丰富且具有重要经济价值的海藻, 可以被制作为食品, 如寿司、零食和泡菜等<sup>[1-3]</sup>, 其加工和开发成为当前关注的热点。目前, 紫菜加工过程中存在的加工方式单一、生产效率低、产品质量差等问题, 严重影响了紫菜工业的发展<sup>[4-5]</sup>。如何能将其制作为商业价值高的产品, 提升产品品质, 赢得消费者的喜爱是亟需解决的难题<sup>[6]</sup>。发酵紫菜是以紫菜为原料制成的发酵产品, 通过发酵可提升产品的营养成分含量和生物活性, 包括多糖、多酚、类黄酮、氨基酸以及抗氧化活性强等<sup>[6-7]</sup>。董玉婷等<sup>[8]</sup>使用乳杆菌发酵坛紫菜, 发现乳杆菌发酵对羟自由基的清除能力约等于  $700 \mu\text{g/mL}$  VC 对羟自由基的清除能力。纳豆菌发酵增加了紫菜中多糖的提取率, 且对羟自由基清除能力提高了 4.1%<sup>[9]</sup>。已有研究表明, 发酵技术能增加紫菜中多糖类物质的活性和产量, 对提高其营养价值比较重要。

乳酸发酵能促进对人类健康有积极影响的某些化合物的生物转化和合成, 利用乳酸菌发酵食品使其营养、感官特性增强和保质期延长而受到越来越多的关注<sup>[10]</sup>。各种食品基质都可以成为其生长的培养基, 包括肉类、牛奶、大豆、水果、蔬菜等<sup>[11-13]</sup>。植物乳杆菌 (*Lactiplantibacillus plantarum*) 属于乳酸菌的一种, 具有广泛的生理功能, 如肠道菌群调节、免疫调节、降低血清胆固醇水平、预防癌症等<sup>[14-15]</sup>。食品中的酚类物质因其健康益处而引起了极大的关注, 而这些健康益处可以由于微生物转化而增强<sup>[16-18]</sup>。植物乳杆菌被证实具有代谢酚类化合物的能力<sup>[19-21]</sup>。此外, 还有研究表明发酵后某些有毒物质的含量可

以减少<sup>[22-23]</sup>。

目前, 植物乳杆菌很少用于发酵海洋类相关食品。本研究的目的是从贵州卤水中筛选一株植物乳杆菌 L13, 对其进行菌种鉴定, 测定其生长曲线和发酵特性, 特别是菌株的耐盐性、耐酸性等。进一步探索发酵条斑紫菜的活菌数, pH 变化和发酵后多糖的抗氧化性。本研究结果可丰富有关乳酸菌发酵条斑紫菜的基础知识, 为具有高营养价值和安全性的益生菌发酵条斑紫菜产品的开发提供指导。

## 1 材料与设备

### 1.1 主要材料及试剂

主要材料取自贵州省黔东南州卤水和连云港条斑紫菜“渔东香”。

MRS 液体和固体培养基、LB 液体和固体培养基购自北京路桥技术股份有限公司; 细菌新型生化鉴定盒购自广东环凯微生物科技有限公司; 细菌基因组快速提取试剂盒购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司。

### 1.2 主要仪器设备

TGL 20MW 台式高速冷冻离心机购自湖南赫西仪器装备有限公司; YXQ-LS-50S 立式压力蒸汽灭菌锅购自上海博讯实业有限公司; ZGX-300E 智能光照培养箱购自杭州钱塘江仪器设备有限公司; FA2204B 电子天平购自上海精科天美科学仪器有限公司; SP-754 紫外分光光度计购自上海光谱仪器有限公司等。

## 2 实验方法

### 2.1 样品采集

用无菌勺取适量卤水样品, 并使用无菌纱布过滤

后,取滤液于无菌三角瓶中,密封,置于 $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱暂存备用。

## 2.2 菌株的分离纯化

参照陈作国等<sup>[24]</sup>的方法稍加修改,向有90 mL MRS 液体培养基的锥形瓶中加入10 mL 卤水样品,用报纸封口,置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱中富集培养。取富集后菌液,在MRS 固体培养基中三区或四区划线,于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养48 h。挑数个单菌落分别接种至含有MRS 液体培养基的离心管中,于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养48 h,再次划线培养,直至平板内为单一菌落。挑取分离纯化后的单菌落,扩大培养,存于甘油中。

## 2.3 菌株的筛选

在120 mL 蒸馏水中加入100.0 g 条斑紫菜粉,搅拌成糊状,于 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌30 min。冷却至室温后,按照3%接种量向紫菜糊中添加菌株,于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 静止发酵72 h。以FRAP 值和活菌数为指标,未接种发酵的条斑紫菜为空白对照,筛选出适合发酵条斑紫菜,且能提升提取液抗氧化活性的菌株。取发酵条斑紫菜于烧杯中加入超纯水稀释(质量浓度为 $0.2\text{ g/mL}$ ),磁力搅拌器搅拌30 min后,1 000 r/min 离心15 min,相同条件下反复离心2次,取上清进行指标测定。

## 2.4 菌株 L13 的鉴定

(1) 通过菌落形态观察、革兰氏染色和理化鉴定对分离纯化后的菌株进行初步鉴定。划线观察其菌落形态并记录。吸取菌液进行革兰氏染色、镜检,红色为革兰氏阴性,紫色为革兰氏阳性。使用乳酸菌鉴定盒、明胶生化管和其他糖类试剂盒进行乳酸菌检验。具体方法为将菌液用0.85%的生理盐水稀释至2 McFarland,各吸取1~2滴加入每种微量西林瓶中,在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下培养24 h,依据鉴定盒说明书观察颜色变化判断是否为乳杆菌。

(2) 将筛选得到的菌株按照1%的接种量接种于液体MRS 培养基中, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养过夜后,12 000 r/min,离心2 min,弃上清。提取目标菌株基因组进行PCR 扩增,其中以27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和1492R(5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3')为引物,在50  $\mu\text{L}$ 的总反应体系下进行扩增,PCR 扩增产物送至南京思普金公司进行序列检测。通过BLAST 程序对比,并利用MEGA 7.0 软件构建系统发育树。

## 2.5 菌株 L13 生长曲线及发酵特性

### 2.5.1 菌株 L13 的生长曲线和 pH 测定

以1%的接种量将菌株L13 接种于MRS 液体

培养基中, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养72 h,0~24 h 期间每2 h 取样,24~36 h 期间每4 h 取样,36~72 h 期间每12 h 取样。在吸光度为600 nm 下测量菌株的OD 值,并记录其pH。

### 2.5.2 菌株 L13 耐盐性试验

参照 Yang 等<sup>[25]</sup>的方法,将活化好的菌株L13 接种到分别含有氯化钠0,4%,8%,12%和16%的MRS 液体培养基中,接种量为2%,于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱中静置培养,在600 nm 下分别观察4,8,12,24,36,48,60和72 h 的菌液生长情况。

### 2.5.3 菌株 L13 耐酸性试验

参照宋佳等<sup>[26]</sup>的研究方法,用1 mol/L 盐酸将MRS 液体培养基pH 分别调为2.0,3.0,4.0,5.0和6.0。在不同pH 的培养基中,接种活化好的菌株L13,接种量为1%,静置培养于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱中。在4,8,12,24,36,48,60和72 h 无菌环境下取样,以 $\text{OD}_{600}$  测定其生长情况。

## 2.6 菌株 L13 复发酵条斑紫菜试验

将上述筛选获得的菌株接种到MRS 液体培养基,传代2次后,培养至对数期(OD 值大约为0.7~0.8),同时设置对照组(未接入乳酸菌)作为对比组于同等条件下进行发酵。按照3%接种量接种至上述方法制备的条斑紫菜中进行发酵,发酵温度设置在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,静止发酵0,12,24,48和72 h。

### 2.6.1 发酵条斑紫菜活菌数测定

称取1.0 g 上述发酵条斑紫菜与9 mL 无菌生理盐水混匀,采用梯度稀释以及平板菌落计数法进行测定,细胞计数以菌落数表示( $\log_{10}\text{ CFU/g}$ )。

### 2.6.2 发酵条斑紫菜多糖提取

紫菜中发酵液多糖提取采用水提醇沉法。称取10.00 g 样品,放置于100 mL 烧杯中。加入20 mL 去离子水混匀,磁力搅拌器搅拌 $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,提取2 h。提取结束后,在10 000 r/min 下离心15 min,相同条件下反复离心2次,弃沉淀取上清。上清液减压浓缩至原体积的1/6后,向浓缩液中加入4倍体积无水乙醇, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 静置12 h,8 000 r/min 离心15 min。所得沉淀加水复溶,制备成条斑紫菜多糖溶液。

## 2.7 抗氧化活性测定

### 2.7.1 FRAP 值测定

参照 Chen 等<sup>[27]</sup>和陈晨等<sup>[28]</sup>的方法,精确取发酵条斑紫菜多糖提取液5  $\mu\text{L}$ ,加入100  $\mu\text{L}$  甲醛及2.85 mL FRAP 工作液,混匀,避光静置30 min,于593 nm 处测定吸光度。以Trolox 为标准品,以标

准液浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线。计算公式为

$$\text{FRAP 值 (mmol/L)} = A \times N。$$

式中:  $A$  为样品的吸光度代入回归方程得到的值 (mmol/L);  $N$  为稀释倍数。

### 2.7.2 DPPH· 自由基清除率测定

方法参照刘静等<sup>[29]</sup>的研究,取发酵多糖提取液 2 mL,加 0.1 mmol/mL DPPH 溶液 2 mL,室温避光反应 30 min,无水乙醇作为参比溶液,在 517 nm 处测定吸光值 ( $A_1$ ),同时测定 2 mL 发酵液和 2 mL 无水乙醇混匀后的吸光值 ( $A_2$ ),2 mL 无水乙醇和 2 mL DPPH 溶液混匀后的吸光值 ( $A_3$ ),计算 DPPH· 自由基清除率,公式为

$$\text{DPPH· 清除率 (\%)} = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_3}\right) \times 100\%。$$

### 2.7.3 ABTS<sup>+</sup>· 自由基清除率测定

参照 Thambiraj 等<sup>[30]</sup>的方法,将 7 mmol/L ABTS 和 2.45 mmol/L 过硫酸钾等体积混合配制成 ABTS<sup>+</sup>· 自由基工作液,并用蒸馏水将工作液在 734 nm 处的吸光度值调整到  $0.7 \pm 0.02$  备用。取 0.5 mL 发酵多糖提取液与 5 mL 工作液混匀,避光反应 5 min,在 734 nm 处测定其吸光度值,公式为

$$\text{ABTS<sup>+</sup>· 清除率 (\%)} = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_3}\right) \times 100\%。$$

式中:  $A_1$  为 0.5 mL 发酵多糖提取液与 5 mL 工作液的吸光值;  $A_2$  为 0.5 mL 发酵多糖提取液与 5 mL 无水乙醇的吸光值;  $A_3$  为 0.5 mL 无水乙醇与 5 mL 工作液的吸光值。

## 2.8 数据处理

所有实验重复 3 次,实验结果表示为平均值  $\pm$  标准差。数据处理和绘图采用 Excel, SPSS 27 和 Origin 2021 软件,显著性分析 ( $P < 0.05$ )。

## 3 结果与分析

### 3.1 菌株筛选

从贵州卤水中共分离纯化出菌株 267 株,其中革兰染色阳性,细菌的形态为短小的杆状,表面光滑的菌 170 株。进一步通过产酸能力实验筛选其中 5 株发酵条斑紫菜。结果如图 1 所示,5 种菌株均能增强条斑紫菜提取液对  $\text{Fe}^{3+}$  的还原能力,其活菌数也有所增加。对提高紫菜抗氧化能力有效程度由高到低依次为 L13, X5, YY9, T8 和 C6。同时, L13 发酵

后的活菌数也较高。因此,选择菌株 L13 为发酵条斑紫菜的菌株,以进一步对 L13 进行鉴定和研究。

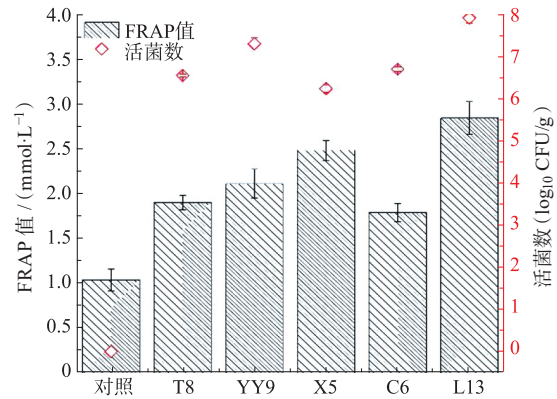


图1 不同菌株条斑紫菜发酵活菌数和提取液 FRAP 值

Fig. 1 Number of viable bacteria and FRAP value of extracts of different strains of *P. yezoensis*

### 3.2 菌株 L13 的鉴定

#### 3.2.1 菌株 L13 的形态特征

如图 2 所示,菌株 L13 的菌落形态呈凸起圆点状,表面光滑,边缘清晰,颜色为乳白色。镜检显示单个菌株为直短杆状,单个存在或成链状连接存在,革兰氏染色后颜色为紫色。因此,根据上述现象判断菌株 L13 为革兰氏阳性菌株。

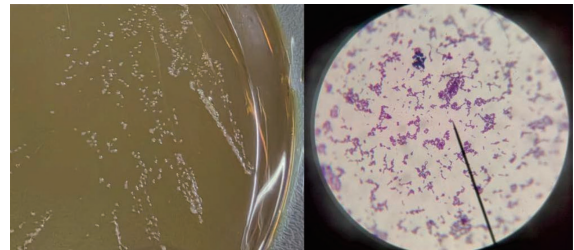


图2 菌株 L13 的菌落形态及革兰氏染色

Fig. 2 Colony morphology and Gram staining of strain L13

#### 3.2.2 菌株 L13 的 16S rDNA 序列分析和系统发育树的构建

通过 BLAST 将序列进行对比分析,发现与植物乳杆菌相似度为 100%。根据比对结果选择合适的菌株并采用 MEGA 软件以 Neighbor-Joining 法建立菌株 L13 的发育树(见图 3),对比显示该菌株序列与植物乳杆菌序列相似性为 100%,初步确定筛选得到的菌株为植物乳杆菌,并将 L13 命名为植物乳杆菌 (*L. plantarum*)。

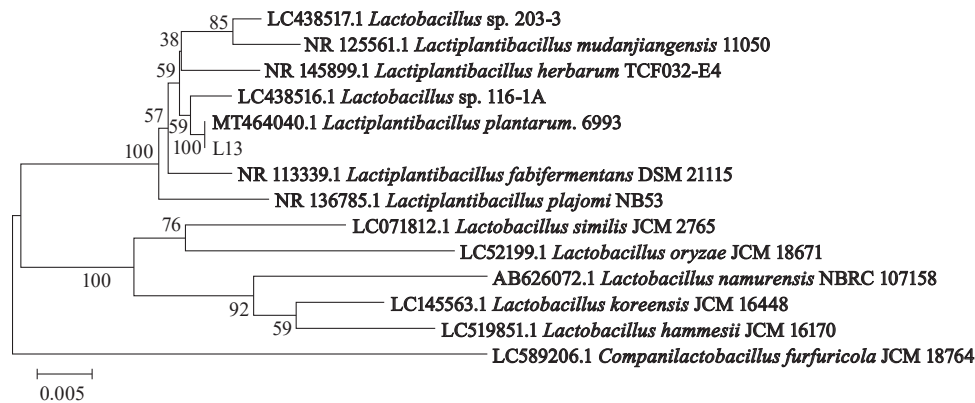


图3 植物乳杆菌 L13 的系统发育树  
Fig. 3 Phylogenetic tree of *L. plantarum* L13

### 3.2.3 菌株 L13 的生化鉴定

根据表 1 的生化鉴定结果发现菌株 L13 发酵葡萄糖不产气,明胶液化结果呈阴性,可以发酵利用海藻糖、木糖、果糖、阿拉伯糖、水杨酸等糖类。结合上述结果确定菌株 L13 为植物乳杆菌 (*L. plantarum*)。

表 1 菌株 L13 生化鉴定表  
Table 1 Biochemical identification of strain L13

类型	结果	类型	结果
葡萄糖产气	-	七叶苷	+
明胶液化	-	纤维二糖	+
海藻糖	+	麦芽糖	+
木糖	+	甘露醇	+
果糖	+	水杨苷	+
阿拉伯糖	+	山梨醇	+
水杨酸	+	蔗糖	+
蜜二糖	+	棉子糖	+

注:“+”表示 90% 以上菌株阳性,“-”表示 90% 以上菌株阴性。

### 3.3 菌株 L13 的生长曲线和 pH 值动态变化

植物乳杆菌 L13 的生长曲线以及 pH 变化如图 4 所示。该菌株接种到新的培养基后,0~2 h 处于生长延迟期,为了适应新的接种环境,菌株在此阶段生长缓慢,此期间发酵液的 pH 变化较缓;接种 2 h 后,菌株进入对数生长期,菌株生命力较强,分裂增殖速度加快,吸光值迅速提高,发酵液 pH 显著降低,显示出良好的产酸能力;接种约 12 h 后,菌株 L13 开始进入稳定生长期,其生长速度减缓,OD<sub>600</sub> 值变化平缓,代谢产物不断增加,pH 下降缓慢;菌株 L13 在 60 h 左右逐渐进入衰退期,发酵液的 pH 下降缓慢,基本保持不变。菌株 L13 从 0~72 h,OD 值增长至 2.96±0.057,pH 从 6.14±0.130 下降到 3.52±0.008。从图 4 可以看出菌株 L13 的生长值与 pH 呈负相关,

这和代谢物乳酸的积累有关。

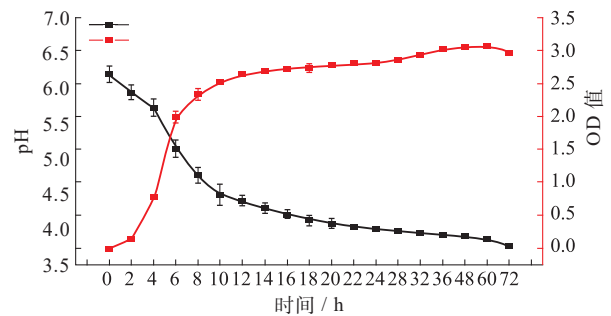


图 4 植物乳杆菌 L13 的生长值和 pH 变化  
Fig. 4 Growth and pH changes in *L. plantarum* L13

### 3.4 菌株 L13 耐盐性试验

乳酸菌被广泛应用于含盐乳制品的培养物,盐浓度不当会阻碍细菌生长<sup>[31]</sup>。由图 5 可知,L13 的生长值随着培养基中氯化钠浓度的增加而显著降低,其生长趋势随着时间的延长均呈现先显著上升后趋于平缓的趋势。与对照组相比,在培养基中氯化钠含量为 4% 时,菌株的生长几乎不受影响。当氯化钠含量为 8%,12% 和 16% 时,菌株的生长值均受到不同程度的影响,并且随着盐浓度的增加生长值影响越大。当氯化钠含量为 4%,8% 和 12% 时,菌株的生长值均能维持在 2.0 以上,说明菌株 L13 的耐盐性能够达到 12%。Karendash 等<sup>[32]</sup>评价了不同 NaCl 含量下柠檬乳杆菌、植物乳杆菌和食蜜魏斯氏菌,发现其被抑制 50% 时,NaCl 含量分别为 7.2%,6.6% 和 5.2%。Gonzalez 等<sup>[31]</sup>研究了乳杆菌 R-604 在不同环境下的耐盐性。所有处理均从菌体浓度 5 log<sub>10</sub> CFU/mL 开始,在 5 种 NaCl 含量 (0,1%,3%,5% 和 7%) 的 M17 肉汤中测定生长情

况。结果表明：在含有 5% NaCl 的 M17 肉汤中，中温处理、过氧化氢和乙醇处理环境下，乳杆菌 R-604 的耐盐性均有增强。通过比较发现，本研究筛选获得的植物乳杆菌 L13 具有良好的耐盐性，在发酵方面具有较好的应用潜力。

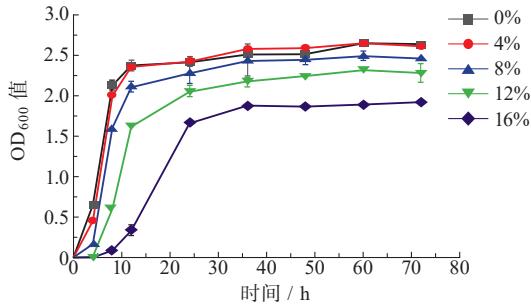


图 5 植物乳杆菌 L13 的耐盐性  
Fig. 5 Salt tolerance of *L. plantarum* L13

### 3.5 菌株 L13 耐酸性试验

一般来说，乳酸杆菌是产酸也耐酸的细菌。Barros 等<sup>[33]</sup>鉴定了 15 株乳酸杆菌基因组，共 653 个耐酸基因有所表达，发现乳酸杆菌的耐酸性涉及翻译、核糖体结构和生物合成等多种功能，得出乳酸杆菌对酸性环境的响应是复杂的、多方面的这一结论。在图 6 中，L13 的 OD<sub>600</sub> 值随着培养基的 pH 减小而显著降低，其生长趋势随着时间的延长均呈现先显著上升后趋于平缓的趋势。在培养基的 pH 为 6.0 时，菌株稳定生长期的 OD<sub>600</sub> 值在 2.5 左右；当 pH 为 5.0 和 4.0 时，菌株稳定生长期的 OD<sub>600</sub> 值能够不低于 1.5；当 pH 为 2.0 和 3.0 时，菌株的 OD<sub>600</sub> 值均受到严重的影响，其 OD<sub>600</sub> 值低于 0.5。以生长值 2.0 时作为耐酸性临界点，得出菌株 L13 的耐酸性能够达到 pH 5.0。研究表明，酸性代谢物积累引起的酸胁迫严重影响乳酸菌的发酵性能，因此，具有好的耐酸性对于乳酸菌的生长应用十分重要<sup>[34]</sup>。

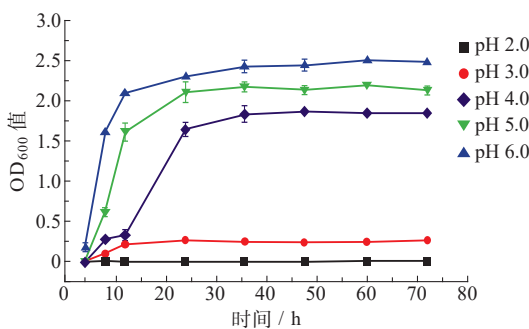


图 6 植物乳杆菌 L13 的耐酸性  
Fig. 6 Acid tolerance of *L. plantarum* L13

### 3.6 菌株 L13 复发酵条斑紫菜试验

从图 7 可以看出，发酵液 pH 随着发酵时间的增加呈现先下降后趋于平缓的趋势；活菌数随着发酵时间的延长呈现先升高后缓慢降低至平缓的趋势。这与上述植物乳杆菌 L13 的 pH 变化情况相符。同时在菌株 L13 的耐酸性分析中，pH 小于 4.0 时，菌株不耐酸，其生长值急剧下降。因此发酵液中的活菌数在发酵液 pH 降低至 4.0 以下后其活菌数逐渐减少至平缓。

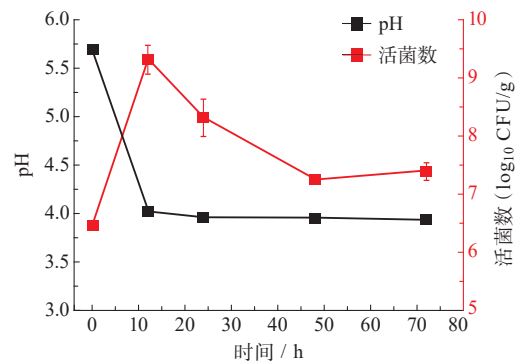


图 7 发酵时间对条斑紫菜的 pH 及活菌数的影响  
Fig. 7 Effects of fermentation time on pH and viable bacterial count of *P. yezoensis*

发酵是一种能够提高食品中各种有益变化的有效过程，如增强营养物质的转化、利于消化和丰富风味，提升抗氧化性能等<sup>[35]</sup>。从图 8 可以看出，在 0~48 h，经菌株 L13 发酵后的条斑紫菜多糖抗氧化能力随着发酵时间的延长而显著增强，发酵至 72 h 时，FRAP 值达到 2.79 mmol/L，提高了 176.23%；DPPH· 自由基清除率达到 75.1%，提高了 131.79%；ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率达到 85.2%，提高了 123.62%，说明菌株 L13 发酵条斑紫菜能够增强条斑紫菜多糖的抗氧化能力。Wanida 等<sup>[35]</sup>以植物乳杆菌 TISTR 1465、唾液乳杆菌 TISTR 1112 和博氏酵母菌 CNCM I-745 为原料制备益生菌发酵果汁，测定其抗氧化活性，结果显示发酵后 FRAP 值和 DPPH· 自由基清除能力测定值都有所提高，分别为 (78.40±0.51) mM TE/mL 和 (3.44±0.10) mM TE/mL。Aya 等<sup>[36]</sup>研究了 *L. plantarum* 发酵对肉桂水溶液抗氧化的影响，发酵肉桂在 35 °C 培养 3 d 后，在 pH 6.0 条件下对 ABTS<sup>+</sup>、DPPH· 自由基清除力和过氧化氢清除力分别比对照增加了 24.63%，58.31% 和 60.27%。本文研究结果与先前的研究相符合，*L. plantarum* L13 发酵后能够提升条斑紫菜多糖的抗氧化能力。

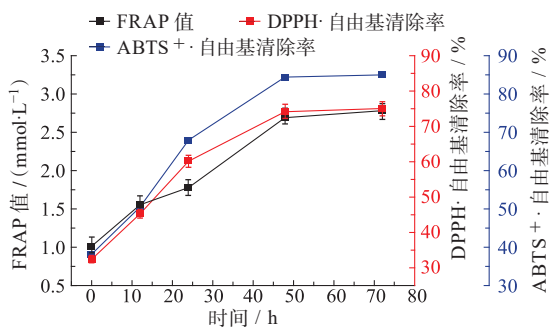


图8 发酵时间对条斑紫菜多糖抗氧化能力的影响  
Fig. 8 Effects of fermentation time on the antioxidant capacity of *P. yezoensis*

#### 4 总结

从贵州卤水中筛选出5株产酸能力较强的乳酸菌,选择其中发酵条斑紫菜提取液抗氧化能力最高的L13作为研究菌株。经过16S rDNA序列测定以及系统发育树的建立的初步研究表明其与植物乳杆菌的相似度为100%,确定该菌株为*L. plantarum*,其生长曲线良好,生长时pH变化符合乳酸菌生长特性。经过耐盐和耐酸性试验表明菌株L13的耐盐性能够达到12%,耐酸性达到pH 5.0。

菌株L13在条斑紫菜中生长情况良好,活菌数随着发酵时间的延长呈现先升高后缓慢降低至平缓的趋势。发酵结束时,条斑紫菜多糖提取液FRAP值达到2.79 mmol/L,对DPPH·自由基清除率达到75.1%,对ABTS<sup>+</sup>·自由基清除率达到85.2%,菌株L13发酵条斑紫菜能够增强条斑紫菜多糖的抗氧化活性潜力。

#### 参考文献:

- [1] CAO Ronghu, ZHAO Mengyue, WANG Ling, et al. Flavor characteristics of different crops of laver (*Porphyra yezoensis*) during one harvest cycle [J]. Journal of Ocean University of China, 2021, 20 (1): 213-220.
- [2] 陈利梅. 超声波辅助双水相提取条斑紫菜黄酮类物质及其抗氧化活性研究 [J]. 食品科学, 2012, 33 (4): 41-46.
- [3] 许育衍, 程慧敏, 韩贵新, 等. 枯草芽孢杆菌发酵紫菜制备一种 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂 [J]. 食品与发酵工业, 2023, 49 (17): 1-9.
- [4] LU Wei, LI Xiuchen, ZHANG Guochen, et al. Tensile and shear mechanical properties of laver (*Porphyra yezoensis* Ueda) [J]. International Journal of Food Properties, 2023, 26 (1): 1005-1019.
- [5] 张雪楠, 罗佳峰, 卓丹琪, 等. 特色紫菜酱的发酵工艺 [J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11 (8): 2609-2616.
- [6] YANG Jie, GAO Tengqi, WANG Qiqi, et al. Ultra-sound-assisted fermentation of *Porphyra yezoensis* sauce at different growth stages using *Lactiplantibacillus plantarum*; metabolic response and biological activity [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2024, 102: 106727.
- [7] 田雨, 郭莹莹, 李娜, 等. 体外消化和结肠发酵对不同采收期坛紫菜中酚类物质生物可及性和肠道菌群的影响 [J]. 食品科学, 2022, 43 (20): 157-164.
- [8] 董玉婷, 蔡宏浩, 李志朋, 等. 乳杆菌发酵提高坛紫菜的抗氧化和抑制糖脂代谢关键酶活性 [J]. 食品科学, 2022, 43 (10): 162-171.
- [9] 黄莺莺, 董焕焕, 杨苗苗, 等. 紫菜纳豆菌发酵物中醇提取物和多糖生物活性的初步研究 [J]. 海洋科学, 2016, 40 (6): 56-61.
- [10] DI CAGNO R, CODA R, DE ANGELIS M, et al. Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation [J]. Food Microbiology, 2013, 33 (1): 1-10.
- [11] LEROY F, DE VUYST L. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry [J]. Trends in Food Science & Technology, 2004, 15 (2): 67-78.
- [12] WANG Hongmei, TAO Yang, LI Yiting, et al. Application of ultrasonication at different microbial growth stages during apple juice fermentation by *Lactobacillus plantarum*: investigation on the metabolic response [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 73: 105486.
- [13] 张怡芸, 王兴奔, 韩文, 等. 乳酸菌发酵液对面团发酵特性及面包品质的影响 [J]. 美食研究, 2024, 41 (1): 95-100.
- [14] MARKOWIAK P, ŚLIŻEWSKA K. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health [J]. Nutrients, 2017, 9 (9): 1021.
- [15] YANG Jie, SUN Yue, GAO Tengqi, et al. Fermentation and storage characteristics of "Fuji" apple juice using *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*; microbial growth, metabolism of bioactives and in vitro bioactivities [J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 833906.
- [16] SELMA M, ESPIN J, TOMAS-BARBEARN F. Interaction between phenolics and gut microbiota: role in human health [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57 (15): 6485-6501.

- [17] 张志红, 陈志健, 王舒瑜, 等. 乳酸菌发酵对荞麦壳多酚组成及胃肠消化、酵解特性的影响[J]. 中国食品学报, 2024, 24(4): 54-68.
- [18] 崔爽, 仪垂江, 孔凡军, 等. 传统发酵乳制品中分离乳酸菌的益生菌特性研究[J]. 乳品与人类, 2024(1): 16-22.
- [19] RODRIGUEZ H, CUIRIEL J, LANDETE J, et al. Food phenolics and lactic acid bacteria[J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 132(2): 79-90.
- [20] FILANNINO P, BAI Yunpeng, DI CAGNO R M, et al. Metabolism of phenolic compounds by *Lactobacillus* spp. during fermentation of cherry juice and broccoli puree[J]. Food Microbiology, 2015, 46: 272-279.
- [21] PASQUALE F, MARCO G, MARIA DE A, et al. Hydroxycinnamic acids used as external acceptors of electrons: an energetic advantage for strictly heterofermentative lactic acid bacteria[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2014, 80(24): 7574-7582.
- [22] YANG Jie, SUN Yue, CHEN Jinling, et al. Fermentation of ginkgo biloba kernel juice using *Lactobacillus plantarum* Y2 from the ginkgo peel: fermentation characteristics and evolution of phenolic profiles, antioxidant activities in vitro, and volatile flavor compounds [J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 1025080.
- [23] CHEN Jinling, WANG Qiqi, WU Yuting, et al. Ultrasound-assisted fermentation of ginkgo kernel juice by *Lactiplantibacillus plantarum*: microbial response and juice composition development [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2023, 99: 106587.
- [24] 陈作国, 郑志瑶, 陈彩玲, 等. 一株具有缓解酒精性肝损伤的发酵粘液乳杆菌及其功效评价研究[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(8): 89-96.
- [25] YANG Jingpeng, WANG Jing, YANG Kun, et al. Antibacterial activity of selenium-enriched lactic acid bacteria against common food-borne pathogens in vitro [J]. Journal of Dairy Science, 2018, 101(3): 1930-1942.
- [26] 宋佳, 李雪龙, 余萍, 等. 一株具有降血糖功能的鼠李糖乳酪杆菌 RH0121 筛选及其益生特性研究[J]. 中国食品添加剂, 2024, 35(3): 103-110.
- [27] CHEN Ya, XU Miao, WANG Xinyi, et al. Preparation of wood ear medicinal mushroom, *auricularia auricula-judae* (agaricomycetes), melanin and its antioxidant properties: evaluation in vitro and in vivo [J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2021, 23(6): 89-100.
- [28] 陈晨, 唐中华, 杨楠, 等. 热加工方式对辽东椴木营养成分及抗氧化活性的影响[J]. 中国食品添加剂, 2024, 35(3): 111-120.
- [29] 刘静, 李湘利, 苗仙仙, 等. 蛋白酶水解鸡枞菌制备酶解液工艺优化及抗氧化活性[J]. 中国调味品, 2020, 45(3): 77-82.
- [30] THAMBIRAJ S, PHILLIPS M, KOYYALAMUDI S, et al. Yellow lupin (*Lupinus luteus* L.) polysaccharides: antioxidant, immunomodulatory and prebiotic activities and their structural characterisation [J]. Food Chemistry, 2018, 267: 319-328.
- [31] GONZALEZ E, OLSON D, ARYANA K. Short communication: salt tolerance of *Lactococcus lactis* R-604 as influenced by mild stresses from ethanol, heat, hydrogen peroxide, and UV light [J]. Journal of Dairy Science, 2017, 100(6): 4290-4293.
- [32] KARENDASH G, LIDIA D, HUMBERTO H, et al. Halotolerance and survival kinetics of lactic acid bacteria isolated from jalapeño pepper (*Capsicum annuum* L.) fermentation [J]. Journal of Food Science, 2014, 79(8): 1545-1553.
- [33] BARROS S, NAILÊ D, HITOMI N, et al. Acid tolerance of *Lactobacillus* spp. on root carious lesions: a complex and multifaceted response [J]. Archives of Oral Biology, 2023, 156: 105820.
- [34] ZHU Zhengming, YANG Peishan, YANG Jinhua, et al. Comparative transcriptome analysis reveals the contribution of membrane transporters to acid tolerance in *Lactococcus lactis* [J]. Journal of Biotechnology, 2022, 357: 9-17.
- [35] WANIDA L, DUANGPORN K, WORRAPANIT C, et al. Effects of probiotic fermented fruit juice-based biotransformation by lactic acid bacteria and *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 on anti-salmonella and antioxidative properties [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2022, 32(10): 1315-1324.
- [36] AYA E, ZHAO YanSheng, OSAMAM D. Improving the antioxidant and anticancer potential of *Cinnamomum cassia* via fermentation with *Lactobacillus plantarum* [J]. Biotechnology Reports, 2022, 36: e00768.

(责任编辑: 李琴)