

国立东, 李秀萍, 张焕, 等. 一株酸面团源乳酸菌的益生特性及其对刺五加叶总皂苷的影响 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(14): 121-126.
doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020120035

GUO Lidong, LI Xiuping, ZHANG Huan, et al. The Probiotic Properties of a Strain of Sourdough-derived Lactic Acid Bacteria and Its Effect on the Total Saponins of *Acanthopanax senticosus* Leaves[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(14): 121-126. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020120035

· 生物工程 ·

一株酸面团源乳酸菌的益生特性及其对刺五加叶总皂苷的影响

国立东¹, 李秀萍¹, 张 焕¹, 陈 晨¹, 王丽群^{2,*}

(1. 黑龙江中医药大学药学院, 黑龙江哈尔滨 150040;

2. 黑龙江省农业科学院食品加工研究所, 黑龙江哈尔滨 150086)

摘要: 为了评价前期分离的一株酸面团源菌株 HUCM105 的益生特性及其对刺五加叶总皂苷含量的影响, 通过形态学特征及 16S rDNA 基因序列分析鉴定种属, 分别于 pH2.0、pH2.5 和 pH3.0 的酸性环境及 0.5% 胆汁环境培养 3 h, 并监测活菌数变化, 于富含胆固醇的培养基中培养 24 h 并监测胆固醇含量的变化, 以评价菌株 HUCM105 的益生特性, 随后以刺五加水提液为唯一基质, 经菌株 HUCM105 静置或振荡培养 72 h, 同时监测活菌数和刺五加叶总皂苷含量的变化。结果表明, 菌株 HUCM105 被鉴定为短乳杆菌, 其对酸和胆汁均展现出了良好的耐受性, 在 pH 高于 2.5 和 0.5% 胆汁环境下培养 3 h 活菌数均无明显变化。菌株 HUCM105 体外培养 24 h, 可去除培养基中 26.4% 的胆固醇。菌株 HUCM105 静置或振荡培养于刺五加水提液中 24 h 时活菌数达到最高值, 约为 5×10^8 CFU/mL 水平。菌株 HUCM105 静置培养对刺五加叶总皂苷含量无显著影响, 而振荡培养可明显提高总皂苷水平, 振荡培养 48 h 时刺五加叶总皂苷含量最高, 达 42.6 $\mu\text{g/mL}$, 较未接种菌株提高了 79.0%。总之, 短乳杆菌 HUCM105 展现出了良好的酸和胆汁耐受性及降胆固醇的益生特性, 在刺五加水提液中生长良好, 并可提高其总皂苷水平, 在开发刺五加叶益生菌发酵产品方面具有潜在的应用价值。

关键词: 酸面团, 短乳杆菌, 刺五加, 皂苷, 益生特性

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2021)14-0121-06

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020120035

The Probiotic Properties of a Strain of Sourdough-derived Lactic Acid Bacteria and Its Effect on the Total Saponins of *Acanthopanax senticosus* Leaves

GUO Lidong¹, LI Xiuping¹, ZHANG Huan¹, CHEN Chen¹, WANG Liqun^{2,*}

(1. College of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China;

2. Food Processing Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: The purpose of this paper was to evaluate the probiotic properties of a previously isolated strain HUCM105 from sourdough and its effect on the total saponins of *Acanthopanax senticosus* leaves. The genus and species was identified by the morphological properties and 16S rDNA gene sequences analysis of strain HUCM105. In order to evaluate the probiotic properties, the number of viable bacteria of the strain HUCM105 was monitored at the acidic environment of pH2.0, pH2.5, and pH3.0 and the 0.5% bile environment incubated for 3 h, respectively, and the change of cholesterol content in the cholesterol-rich medium was determined after fermentation of the strain HUCM105 for 24 h. Subsequently, the aqueous extract of *Acanthopanax senticosus* leaves was used as the sole substrate, and the number of viable bacteria and the total

收稿日期: 2020-12-04

基金项目: 黑龙江省自然科学基金面上项目 (C2016052); 黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才培养计划项目 (UNPYSCT-2017220); 黑龙江省教育厅面上项目 (12531631); 黑龙江省博士后资助项目 (LBH-Z15195)。

作者简介: 国立东 (1982-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 益生菌及中药保健食品, E-mail: lidguo@126.com。

* 通信作者: 王丽群 (1982-), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 农产品加工及贮藏, Email: lqwang_work@163.com。

saponin content of *Acanthopanax senticosus* leaves were measured under static or shaking incubation for 72 h by the strain HUCM105. The results suggested that the strain HUCM105 was identified as *Lactobacillus brevis*, and exhibited a good tolerance to acid and bile. The number of viable bacteria had no significant changes in a pH value higher than pH2.5 and 0.5% oxgall for 3 h, respectively. Moreover, the strain HUCM105 could remove 26.4% of the cholesterol in the culture medium supplemented with cholesterol after incubation for 24 h. The number of viable cell of the strain HUCM105 was higher and reached the level of 5×10^8 CFU/mL through the static or shaking incubation at 24 h in the aqueous extract of *Acanthopanax senticosus* leaves. Static incubation of the strain HUCM105 had no significant effect on the total saponins content of *Acanthopanax senticosus* leaves, while shaking incubation could significantly increase the total saponins level. The total saponins content of *Acanthopanax senticosus* leaves was higher when shaking incubation of the strain HUCM105 for 48 h, and reached 42.6 $\mu\text{g/mL}$, which was 79.0% higher than that of no strain inoculation. In conclusion, it suggested that the strain HUCM105 exhibited probiotic properties including good tolerance to acid and bile and cholesterol removal ability, could grow well in the aqueous extract of *Acanthopanax senticosus* leaves and increase the total saponins level of *Acanthopanax senticosus* leaves, and showed a potential application value as a probiotic candidate strain to develop probiotic fermentation products of *Acanthopanax senticosus* leaves.

Key words: sourdough; *Lactobacillus brevis*; *Acanthopanax senticosus*; saponin; probiotic properties

传统发酵食品,如酸奶、发酵香肠、酸面团等,蕴含着丰富的乳酸菌资源,乳酸菌经口摄入可顺利通过胃酸和胆汁胁迫,并以相当数量活菌进入肠道^[1]从而发挥其益生功能,包括降胆固醇^[2]、抗糖尿病^[3]、抗肥胖^[4]、抗抑郁^[5]等。微生物因生长速度快、酶系丰富,可高效转化中草药活性成分从而提高药效^[6],近年来作为一般公认为安全(generally recognized as safe, GRAS)的乳酸菌,因安全性高且为益生菌的重要来源而备受关注,其在人参^[7]等单味中药,小柴胡汤^[8]、四君子汤^[9]等中药经典名方的生物转化方面展现出了积极作用。值得注意的是,这些都因菌种及菌株而异。因此,获得具有益生功能且可高效转化药食同源中药有效成分的乳酸菌菌株,进而开发兼具活性益生乳酸菌与高水平药食同源活性物质于一体的保健食品具有重要意义。

刺五加是黑龙江省道地药材,根及根茎均可入药,具有益气健脾、补肾安神之功效。关于刺五加的乳酸菌发酵转化鲜有报道,研究人员发现乳酸菌发酵刺五加可提高其异嗟皮啶含量,降低紫丁香苷水平^[10]。然而,刺五加药用根及根茎的过度使用,使其被列为渐危植物,属于国家三级保护野生药材物种,禁止采挖幼株,但刺五加叶为可再生资源,可大量使用,已作为山野菜或加工成茶开发利用,成为当地一种特色农产品^[11]。值得关注的是刺五加叶与根部具有类似的化学成分及生物活性,其中皂苷为其主要活性物质之一^[12],故深入挖掘刺五加叶的开发利用途径具有重要意义。以刺五加叶为发酵基质进行乳酸菌发酵尚无相关报道,乳酸菌能否通过生物转化提高刺五加叶皂苷水平仍有待于证实。

鉴于以上考虑,本研究以前期分离的一株可形成溶钙圈的酸面团源分离菌株 HUCM105 为出发菌株,通过形态学及分子生物学手段对其进行种属鉴定,并进一步评价其益生特性,包括酸和胆汁的耐受性及体外去除胆固醇的能力,同时考察其对刺五加叶水提液为唯一基质的发酵能力,以及发酵后刺五加叶

总皂苷含量的变化,旨在为益生菌生物转化刺五加叶总皂苷及二者联合使用开发活性益生菌发酵的保健产品提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

刺五加叶 采自黑龙江省伊春市丰林县野生刺五加植株嫩叶;菌株 HUCM105 分离自黑龙江地区家庭长期使用的传统自然发酵酸面团;胆固醇 美国 Amresco 公司;牛胆粉 德国 Merck 公司;齐墩果酸对照品 成都曼思特生物科技有限公司;香草醛 天津市光复精细化工研究所;硝酸铝 天津市巴斯夫化工有限公司;细菌基因组提取试剂盒 天根生化科技(北京)有限公司;其他试剂 均为国产分析纯。

SW-CJ-2D 超净工作台 苏州净化设备有限公司;DM2500 显微镜 上海徕卡显微镜有限公司;SPX-200-II 生化培养箱 上海跃进医疗器械厂;BSD-100 振荡培养箱 上海博讯实业有限公司;BXM-30R 全自动高压灭菌锅 上海博讯实业有限公司;TGL-16 离心机 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;SP-752(PC)紫外-可见分光光度仪 上海光谱仪器有限公司;KQ-500DE 型数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司;XL-16B 800 密封摇摆式粉碎机 广州市旭朗机械设备有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 菌株的鉴定 菌株 HUCM105 采用改良 MRS (mMRS) 固体培养基^[13]于 37 °C 培养 24 h,记录形成菌落的特征,同时进行过氧化氢酶试验,挑取单菌落进行革兰氏染色观察,并记录菌体细胞特征。随后,参照文献 [13] 的方法进行 16S rDNA 基因的扩增及测序,并利用 MEGA5.1 软件与乳杆菌属内模式菌株的 16S rDNA 基因序列进行比对分析,通过构建系统发育树确定其种属。

1.2.2 酸耐受性测定 菌株 HUCM105 对酸的耐受

性是通过其在酸性条件下的存活情况来评价。菌株 HUCM105 经 mMRS 液体培养基连续传代 3 次以活化,离心收集菌泥,并分别用 pH 2.0、pH 2.5 或 pH 3.0 的 mMRS 液体培养基重悬,37 °C 培养 3 h,分别于 0、1、2、3 h 取样采用平板菌落计数法测定活菌数,从而确定其对酸的耐受能力。

1.2.3 胆汁耐受性测定 菌株 HUCM105 对胆汁的耐受性是通过其在胆汁环境中的存活情况来评价。传代 3 次活化的菌株 HUCM105 发酵液经离心收集菌泥,用含 0.5% 牛胆汁的 mMRS 液体培养基重悬,37 °C 培养 3 h,采用平板菌落计数法分别检测 0、1、2、3 h 的活菌数,从而确定其对胆汁的耐受能力。

1.2.4 胆固醇去除能力的测定 菌株 HUCM105 体外对胆固醇的去除能力,主要是通过其与富含胆固醇培养基共培养前后培养液中胆固醇含量的变化进行评价。简言之,活化的菌株 HUCM105 按 1% 接种至含 0.3% 牛胆汁和 100 μg/mL 胆固醇的 mMRS 液体培养基,37 °C 培养 24 h,离心得上清液,并测定胆固醇含量,胆固醇含量测定采用邻苯二甲醛法^[14],胆固醇去除率参照文献^[15]方法计算。

1.2.5 刺五加叶水提液的制备 刺五加叶阴干并粉碎得刺五加叶干粉。精密称取 10.00 g 刺五加叶干粉,用 100 mL 蒸馏水重悬于 250 mL 锥形瓶中,室温下超声波(500 W, 40 kHz)处理 1 h,并经 121 °C 灭菌 15 min 得刺五加叶水提液,冷却至室温备用。

1.2.6 刺五加叶水提液的发酵 菌株 HUCM105 在 mMRS 液体培养基中连续传代(37 °C, 24 h)2 次后,发酵液经离心得菌泥,用等体积 PBS 缓冲液(pH7.2)洗涤 2 次,得 PBS 重悬菌液,并按 1% 接种至刺五加叶水提液中,分别于 37 °C 静置或振荡(80 r/min)培养 3 d。

1.2.7 刺五加叶发酵液活菌数的测定 分别于发酵第 0、24、48、72 h 取菌株 HUCM105 发酵刺五加叶水提液的发酵液,采用平板菌落计数法测定不同时间点的活菌数。发酵液经适当梯度稀释后涂布于 mMRS 固体培养基,37 °C 培养 24 h 后进行菌落计数。

1.2.8 刺五加叶发酵液总皂苷含量的测定 菌株 HUCM105 发酵刺五加叶水提液期间,分别于发酵第 0、24、48、72 h 取发酵液,先后经离心及 0.45 μm 滤膜过滤得滤液,并对滤液中总皂苷含量进行检测。

总皂苷含量的测定参考文献^[16]方法,取 1 mL 滤液水浴挥干,依次加 0.5 mL 8% 香草醛无水乙醇溶液和 5 mL 72% 硫酸,振荡混匀并于 60 °C 水浴 10 min,冷却至室温测定吸光值 $A_{542\text{ nm}}$,以齐墩果酸为对照品绘制标准曲线,标准曲线方程为 $y=0.0063x+0.008$, $R^2=0.9992$ 。

1.3 数据处理

试验数据采用 SPSS 17.0 软件应用单因素方差分析进行组间比较,每个试验做三个重复, $P<0.05$ 表

示差异显著。

2 结果与分析

2.1 菌株 HUCM105 的鉴定

2.1.1 形态学特征 将菌株 HUCM105 接种至 mMRS 固体培养基中,于 37 °C 培养 24 h,形成的单菌落如图 1(A)。单菌落为圆形,边缘完整,低凸,表面光滑,乳白色,不透明,质地黏稠。在菌落表面滴加 3% 过氧化氢无气泡产生,为过氧化氢酶阴性菌株。挑取单菌落进行革兰氏染色观察,如图 1(B),菌株 HUCM105 为革兰氏阳性,菌体细胞为短杆,单在或成对排列。这些均符合乳酸菌的基本特征。

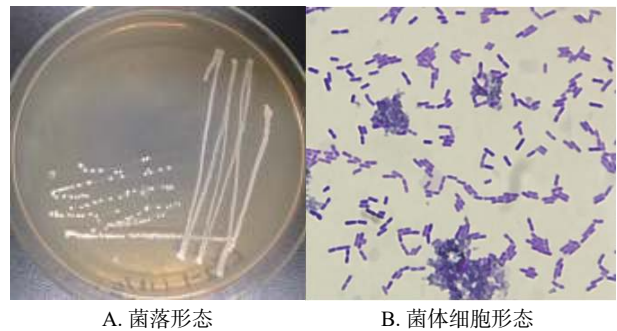


图 1 菌株 HUCM105 的形态学特征

Fig.1 The morphology characteristics of the strain HUCM105

2.1.2 16S rDNA 序列比对分析 菌株 HUCM105 的 16S rDNA 基因经测序,获得 1488 bp 长度的序列,经 BLAST 后发现与乳杆菌属的同源性最高。从 GenBank 数据库中获取 11 株代表性的乳杆菌属内模式菌株的 16S rDNA 基因序列,以非同属的 *Escherichia coli* 模式菌株为外标,利用 MEGA5.1 软件经两端对齐后进行序列比对分析,并绘制系统发育树,结果如图 2 所示。

由图 2 可知,菌株 HUCM105 同 *Lactobacillus brevis* ATCC 14869 模式株的亲缘关系最近,序列相似度大于 99%,故将 HUCM105 菌株鉴定为短乳杆菌(*L. brevis*)。

2.2 菌株 HUCM105 的酸耐受能力

三种酸性条件 pH2.0、pH2.5 和 pH3.0 下,短乳杆菌 HUCM105 在 37 °C 培养不同时间其活菌数的变化情况如图 3 所示。菌株 HUCM105 在 pH2.5 和 pH3.0 酸性条件下维持 3 h,其活菌数均无显著变化($P>0.05$),一直维持在 10^9 CFU/mL 水平,而 pH2.0 酸性条件对菌株 HUCM105 的存活影响较大,处理 1 h 后存活率降为 21.1%,2 h 后活菌数仅能维持在 10^3 CFU/mL 水平,而培养 3 h 后则无活菌检出。短乳杆菌 HUCM105 的酸耐受能力明显优于先前报道的植物乳杆菌 HUCM115,后者在 pH 2.0 条件下处理 1 h 后存活率仅为 4.4%,2 h 后则无活菌检出^[15]。

2.3 菌株 HUCM105 的胆汁耐受能力

短乳杆菌 HUCM105 在 0.5% 浓度的胆汁环境中培养 3 h,每隔 1 h 培养液中活菌数变化结果如图 4

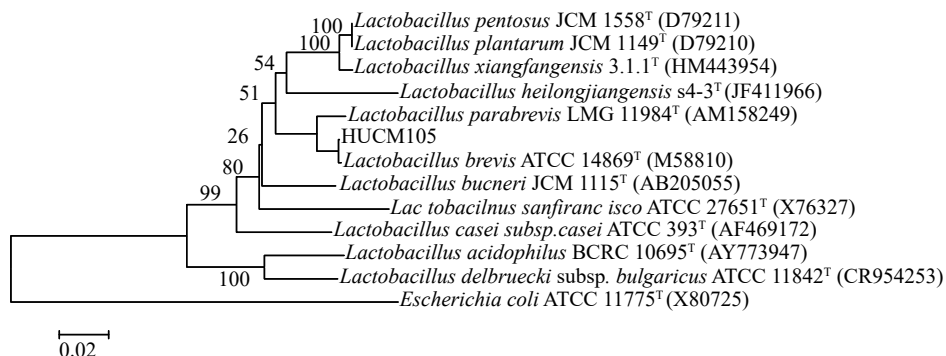


图 2 基于 16S rDNA 基因序列构建的系统发育树

Fig.2 The phylogenetic tree based on the 16S rDNA gene sequences

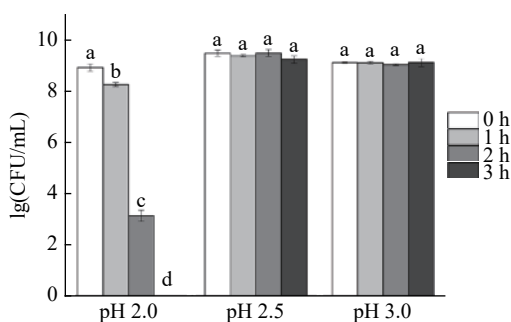


图 3 不同酸性条件下短乳杆菌 HUCM105 的存活情况

Fig.3 The viability of *Lactobacillus brevis* HUCM105 under different acidic conditions

注: 字母不同表示差异显著($P < 0.05$), 图 4 同。

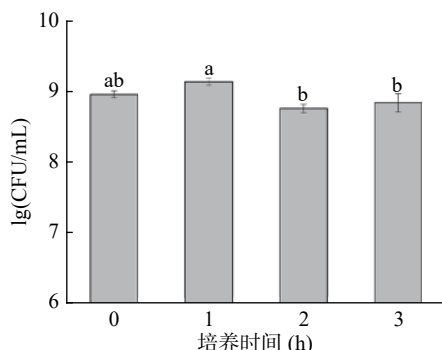


图 4 0.5% 胆汁对短乳杆菌 HUCM105 存活力的影响

Fig.4 Effect of 0.5% oxgall on the viability of *Lactobacillus brevis* HUCM105

所示。整个培养期间, 0.5% 胆汁处理 1 h 时活菌数 (1.4×10^9 CFU/mL) 最高, 与 0 h (9.4×10^8 CFU/mL) 差异不显著 ($P > 0.05$), 但与 2 h 或 3 h 相比差异显著 ($P < 0.05$)。0.5% 胆汁处理 2 h 与 3 h 相比, 活菌数无显著差异 ($P > 0.05$)。菌株 HUCM105 经 0.5% 胆汁处理后活菌数先出现微弱增加后降低的趋势, 说明培养初期胆汁可能对其生长具有一定的促进作用。0.5% 胆汁环境培养 3 h 后, 菌株 HUCM105 存活率为 78.1%, 自 2 h 以后活菌数趋于稳定, 一直维持在 5.0×10^8 CFU/mL 水平以上, 与初始菌数无明显差异 ($P > 0.05$), 说明 0.5% 胆汁胁迫处理 3 h 不会对菌株 HUCM105 的活力产生影响, 短乳杆菌 HUCM105 对胆汁表现出了良好的耐受能力, 与前期报道的植物

乳杆菌 HUCM115 的胆汁耐受能力相当^[15]。

2.4 菌株 HUCM105 的胆固醇去除能力

短乳杆菌 HUCM105 在含胆固醇培养基中 37 °C 培养 24 h, 培养前后培养上清液中胆固醇含量测定结果如表 1 所示。短乳杆菌 HUCM105 在富含胆固醇的环境中 37 °C 发酵 24 h, 可去除其中 26.4% 胆固醇, 说明该菌株具有一定的体外降胆固醇特性, 且胆固醇去除率较实验室前期报道的植物乳杆菌 HUCM115 高 28.2%^[15]。

表 1 短乳杆菌 HUCM105 的胆固醇去除能力

Table 1 Cholesterol removal ability of *Lactobacillus brevis* HUCM105

菌株	胆固醇浓度(μg/mL)		胆固醇去除率(%)
	未接种	接种	
短乳杆菌HUCM105	106.4±3.4	78.5±11.0	26.4±8.0

2.5 菌株 HUCM105 发酵刺五加叶的特性

菌株 HUCM105 以刺五加叶水提液为唯一基质进行发酵, 考察刺五加叶发酵期间菌株 HUCM105 活菌数的变化及其对刺五加叶总皂苷含量的影响, 以此评价其对刺五加叶的发酵和转化总皂苷的能力, 结果如图 5 所示。

菌株 HUCM105 在刺五加叶水提液中静置或振荡培养 24 h 时, 活菌数均达到最高, 静置培养 24 h 活菌数从初始菌数 3.9×10^7 CFU/mL 上升至 5.9×10^8 CFU/mL, 随后菌数逐渐降低, 至 72 h 时降为 1.9×10^8 CFU/mL; 振荡培养 24 h 活菌数从初始菌数 4.4×10^7 CFU/mL 上升至 4.7×10^8 CFU/mL, 随后菌数逐渐降低, 至 72 h 时降为 1.5×10^8 CFU/mL。菌株 HUCM105 在刺五加叶水提液中静置或振荡培养条件下, 其生物量变化趋势及关键节点基本相同, 虽然在初始菌数上静置培养稍低于振荡培养, 但从不同培养时间点的活菌数水平看, 静置培养均略高于振荡培养, 这说明菌株 HUCM105 的生长更适于低氧环境。

菌株 HUCM105 在刺五加叶水提液中静置培养 72 h, 不同时间点发酵液中总皂苷含量变化不大, 差异不显著 ($P > 0.05$)。相比之下, 振荡培养条件下随着培养时间的延长发酵液中总皂苷含量变化呈先上

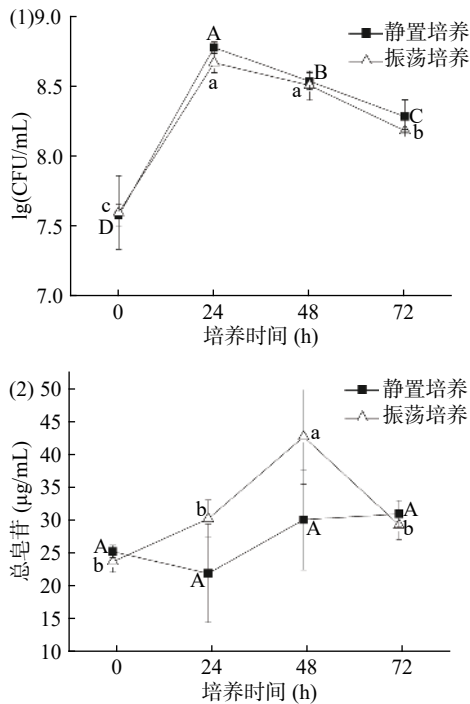


图 5 菌株 HUCM105 发酵刺五加叶的特性

Fig.5 The properties of *Acanthopanax senticosus* leaves fermented by the HUCM105 strain

注: 同种培养方式字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。

升后下降的趋势, 发酵液中总皂苷含量最高的时间点并不是出现在活菌数最高的 24 h, 而是出现在培养 48 h, 其总皂苷含量达 42.6 $\mu\text{g/mL}$, 较初始总皂苷含量提高了 79.0% ($P < 0.05$), 总皂苷水平最高的时间点滞后于活菌数最高的时间点, 这说明菌株 HUCM105 代谢产生的皂苷转化酶可能具有胞内酶活性, 当其处于衰亡期时会释放出更多的胞内皂苷转化酶, 从而转化生成更多的皂苷。此外, 振荡培养活菌数略低于静置培养, 但总皂苷含量却高于静置培养, 这可能与振荡培养时乳酸菌细胞与刺五加叶水提液之间接触更为充分从而使酶与底物之间反应更为彻底有关。由此说明, 不同培养方式及培养时间对菌株 HUCM105 发酵刺五加叶总皂苷含量影响较大, 菌株 HUCM105 与刺五加叶水提液经振荡培养可显著提高刺五加叶总皂苷含量, 在生物转化刺五加叶总皂苷方面具有潜在的应用价值。

3 讨论

供试酸面团源菌株 HUCM105 经形态学特征及 16S rDNA 序列分析鉴定为短乳杆菌, 短乳杆菌是传统发酵酸面团中常见的优势菌种之一^[17], 不仅对酸面团的质构及风味起积极作用^[18], 而且具有潜在的益生功能^[19-20]。益生菌若能在体内发挥作用, 则需要以相当活菌数量进入人体肠道。消化道胁迫环境被认为是益生菌顺利进入肠道的一道屏障, 故酸和胆汁通常被用于体外评价益生菌对消化道的抵抗能力^[21]。短乳杆菌 HUCM105 在 pH2.5 以上的酸性环境孵育 3 h, 其活菌数无明显变化, 展现出了良好的酸耐

受性, 其对酸的耐受能力明显优于 Mancini 等^[22]报道的两株短乳杆菌, pH2.5 条件下处理 3 h 后, 短乳杆菌 DSM 32386 的活菌数下降了两个数量级, 而短乳杆菌 DSM 20054 则无活菌检出。短乳杆菌对胆汁的耐受能力因菌株而异, Vasicek 等^[23]从意大利传统发酵食品中分离的 4 株短乳杆菌中, 只有 3 株能在 0.5% 胆酸盐环境中生长, 而奶酪源短乳杆菌 DSM 32386 经 0.3% 胆汁处理 3 h 后活菌数从 10^5 下降到 10^2 水平^[22], 相比之下, 短乳杆菌 HUCM105 在 0.5% 胆汁环境中培养 3 h, 活菌数无显著变化, 表现出良好的耐受性。由此推测, 短乳杆菌 HUCM105 可抵抗消化道胁迫作用, 并以相当活菌数量顺利进入肠道进而发挥其益生作用。

近年来, 已有大量临床研究显示乳酸菌在降低人体血清胆固醇水平上具有积极作用^[24], 体外试验因周期短且操作简便而通常作为筛选体内具有降胆固醇作用乳酸菌的先决条件。短乳杆菌 HUCM105 在富含胆固醇培养基中生长 24 h 可去除四分之一以上的胆固醇, 可作为潜在候选降胆固醇菌株, 其降胆固醇能力略低于姜华等^[25]报道的短乳杆菌 JH-1, 而 Watanabe 等^[19]报道的 8 株短乳杆菌中, 只有 3 株胆固醇去除率超过 20%, 这也说明了短乳杆菌的降胆固醇特性存在菌株特异性。

中药的微生物转化作用, 体现了中药现代化^[26]。乳酸菌之所以被选择用于转化中药, 与其高安全性有直接关系, 其在单味药及经典方剂的生物转化方面取得了一定进展^[7-8, 27-28]。然而, 关于乳酸菌生物转化刺五加的研究鲜有报道, 而开发具有类似化学成分且可再生的刺五加叶, 对保护中药刺五加资源尤为重要, 故以刺五加叶为研究对象, 选取了植物基来源的菌株 HUCM105, 试图探寻其发酵刺五加叶的可能性并考察其对刺五加叶总皂苷含量的影响, 以为开发兼具活性乳酸菌与刺五加叶皂苷的发酵产品提供理论支持, 结果表明供试菌株 HUCM105 可以刺五加叶水提液为唯一发酵基质, 维持较高水平的活菌数量, 且振荡培养可提高刺五加叶总皂苷水平。刺五加叶皂苷具有降血脂作用^[29], 故短乳杆菌 HUCM105 发酵刺五加叶产品在降血脂方面可体现双重叠加效果, 不仅可通过短乳杆菌 HUCM105 自身的降胆固醇作用, 也可通过其发酵促进刺五加叶总皂苷生成途径提高降血脂功效, 具有广阔的开发前景。短乳杆菌 HUCM105 促生皂苷的机制源于何种关键酶作用^[30]尚有待于进一步研究。此外, 已有研究表明短乳杆菌具有一定的糖苷酶活性, 可使人参皂苷原型去糖基化转化为稀有皂苷 CK^[7], 后者为小分子皂苷, 肠道内更易吸收而发挥药效^[31], 短乳杆菌 HUCM105 能否将刺五加叶皂苷原型转化为更易吸收的小分子皂苷仍需进一步深入研究加以确定。

总之, 酸面团源短乳杆菌 HUCM105 可耐受酸和胆汁胁迫, 并具有降胆固醇作用, 同时可以刺五加

叶水提液为唯一发酵基质,维持较高活菌数量并可提高刺五加叶总皂苷水平,可作为候选益生菌株用于发酵刺五加叶提高其功效,进而为益生菌发酵刺五加叶产品的开发提供理论支持。

参考文献

- [1] Fiocco D, Longo A, Arena M P, et al. How probiotics face food stress: They get by with a little help[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2020, 60(9): 1552-1580.
- [2] Guo L D, Wang L Q, Liu F, et al. Effect of bile salt hydrolase-active *Lactobacillus plantarum* KLDS 1.0344 on cholesterol metabolism in rats fed a high-cholesterol diet[J]. *Journal of Functional Foods*, 2019, 61: 103497.
- [3] Sun Z K, Sun X J, Li J, et al. Using probiotics for type 2 diabetes mellitus intervention: advances, questions, and potential[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2020, 60(4): 670-683.
- [4] Cerdo T, Garcia-Santos J A, Berm M G, et al. The role of probiotics and prebiotics in the prevention and treatment of obesity[J]. *Nutrients*, 2019, 11(3): 635.
- [5] 国立东, 王丽群. 综述乳酸菌对抑郁症的改善作用[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(7): 317-325.
- [6] Hussain A, Bose S, Wang J H, et al. Fermentation, a feasible strategy for enhancing bioactivity of herbal medicines[J]. *Food Research International*, 2016, 81: 1-16.
- [7] Yoo J M, Lee L Y, Lee Y G, et al. Enhanced production of compound K in fermented ginseng extracts by *Lactobacillus brevis*[J]. *Food Science and Biotechnology*, 2019, 28(3): 823-829.
- [8] Lee J, Kwon H, Lee J, et al. Fermented soshiho-tang with *Lactobacillus plantarum* enhances the antiproliferative activity in vascular smooth muscle cell[J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 14: 78.
- [9] Yim N H, Gu M J, Park H R, et al. Enhancement of neuroprotective activity of sagunja-tang by fermentation with *Lactobacillus* strains[J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 18: 312.
- [10] 郑春英, 石震华, 徐翠. 乳酸杆菌 HD11 发酵刺五加对紫丁香苷及异嗪皮啶含量的影响[J]. *食品科学*, 2012, 33(23): 189-192.
- [11] 张含生, 张健全, 杨春梅, 等. 伊春地区山野菜资源开发利用现状与对策[J]. *黑龙江农业科学*, 2016(10): 162-166.
- [12] Ge Y W, Zhu S, Yoshimatsu K, et al. MS/MS similarity networking accelerated target profiling of triterpene saponins in *Eleutherococcus senticosus* leaves[J]. *Food Chemistry*, 2017, 227: 444-452.
- [13] 刘倩, 刘爱芳, 江柳青, 等. 开菲尔粒中一株高加索酸牛奶杆菌的分离及鉴定[J]. *黑龙江医药*, 2013, 26(5): 810-813.
- [14] Rudel L L, Morris M D. Determination of cholesterol using O-phthalaldehyde[J]. *Journal of Lipids Research*, 1973, 14(3): 364-366.
- [15] 国立东, 张天文, 刘艳, 等. 传统发酵东北酸菜中植物乳杆菌 HUCM115 的分离及益生特性[J]. *食品科学*, 2020, 41(18): 140-145.
- [16] 金焱, 姚会敏. 刺五加口服液刺五加总皂苷的含量测定[J]. *黑龙江医药*, 2011, 24(1): 25-26.
- [17] Fraberger V, Unger C, Kummer C, et al. Insights into microbial diversity of traditional Austrian sourdough[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 127: 109358.
- [18] Sun L, Li X F, Zhang Y Y, et al. A novel lactic acid bacterium for improving the quality and shelf life of whole wheat bread[J]. *Food Control*, 2020, 109: 106914.
- [19] Watanabe S, Katsube T, Sonomoto K. Cholesterol-lowering effects of *Lactobacillus brevis* isolated from Turnip "Tsuda Kabu"[J]. *Food Science and Technology Research*, 2012, 18(6): 825-834.
- [20] Shin M Y, Yong C C, Oh S. Regulatory effect of *Lactobacillus brevis* Bmb6 on gut barrier functions in experimental colitis[J]. *Foods*, 2020, 9(7): 864.
- [21] Zheng Y, Lu Y, Wang J, et al. Probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from Tibetan kefir grains[J]. *Plos One*, 2013, 8(7): e69868.
- [22] Mancini A, Carafa I, Franciosi E, et al. *In vitro* probiotic characterization of high GABA producing strain *Lactobacillus brevis* DSM 32386 isolated from traditional "wild" Alpine cheese[J]. *Annals of Microbiology*, 2019, 69(13): 1435-1443.
- [23] Vasiee A, Behbahani B A, Yazdi F T, et al. Diversity and probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from Horreh, a traditional Iranian fermented food[J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2018, 10(2): 258-268.
- [24] Pourrajab B, Fatahi S, Dehnad A, et al. The impact of probiotic yogurt consumption on lipid profiles in subjects with mild to moderate hypercholesterolemia: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 2020, 30(1): 11-22.
- [25] 姜华, 吕凤霞, 别小妹, 等. 去除胆固醇细菌的分离、鉴定及其性能的初步研究[J]. *食品与生物技术学报*, 2011, 30(4): 495-499.
- [26] Li L, Wang L, Fan W, et al. The application of fermentation technology in traditional Chinese medicine: A review[J]. *American Journal of Chinese Medicine*, 2020, 48(4): 899-921.
- [27] Xu C, Ji G E. Bioconversion of flavones during fermentation in milk containing *Scutellaria baicalensis* extract by *Lactobacillus brevis*[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2013, 23(10): 1422-1427.
- [28] Park H R, Lee H, Park H, et al. Fermented sipjeondaebotang alleviates memory deficits and loss of hippocampal neurogenesis in scopolamine-induced amnesia in mice[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 22405.
- [29] 睢大员, 韩丛成, 于晓风, 等. 刺五加叶皂苷对高脂血症大鼠血脂代谢的影响及其抗氧化作用[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2004(1): 56-59.
- [30] 徐圆圆, 陈仲, 贾黎明, 等. 植物三萜皂苷生物合成途径及调控机制研究进展[J/OL]. *中国科学: 生命科学*: 1-31. (2021-02-04) [2021-02-20]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5840.Q.20210204.1415.002.html>.
- [31] Karikura M, Miyase T, Tanizawa H, et al. Studies on absorption, distribution, excretion and metabolism of ginseng saponins. VII. Comparison of the decomposition modes of ginsenoside-Rb1 and -Rb2 in the digestive tract of rats[J]. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin (Tokyo)*, 1991, 39: 2357-2356.