

## 鼠李糖乳杆菌利用不同益生元的增殖及耐受性研究

吴欢欢<sup>1</sup>, 宋馨<sup>1</sup>, 夏永军<sup>1</sup>, 艾连中<sup>1,2</sup>,  
潘澈<sup>3</sup>, 毛颖异<sup>3</sup>, 李翔<sup>3</sup>, 王光强<sup>\*1,2</sup>(1. 上海理工大学 健康科学与工程学院, 上海 200093; 2. 上海理工大学 公利医院医疗技术学院, 上海 200093;  
3. 雅培营养中国研发中心, 上海 200233)

**摘要:** 作者旨在通过对比鼠李糖乳杆菌(*Lactiplantibacillus rhamnosus*)与不同益生元组合后, 在生长情况、pH 和胆盐耐受性及乳酸产量方面的变化筛选出鼠李糖乳杆菌与益生元的最佳组合。结果表明, 鼠李糖乳杆菌 GG(*L. rhamnosus* GG, LGG)、鼠李糖乳杆菌 HN001 在以低聚半乳糖为唯一碳源生长时, 最大生物量分别为 1.253、1.552, 最大比生长速率分别为 0.316、0.290 h<sup>-1</sup>, 乳酸产量分别为 3.654、10.914 g/L, 与其他益生元组合相比, 表现出显著优势。为验证这两种组合在不同胁迫条件下的生长情况, 进一步测定了其在不同 pH 和胆盐质量浓度下的耐受性。这两种组合在 1 g/L 胆盐条件下的最大生物量分别为 0.712 和 0.694, 在 pH 4.0 条件下的最大生物量分别为 0.639 和 0.728, 与其他组合相比存在极显著差异。该研究结果有助于推动鼠李糖乳杆菌与低聚半乳糖组合在食品、医疗等领域的广泛应用, 为后续益生菌-益生元组合产品的开发提供了理论依据。

**关键词:** 益生元; 鼠李糖乳杆菌; 低聚半乳糖; 耐受性

中图分类号: TS 201.3 文章编号: 1673-1689(2024)04-0106-08 DOI: 10.12441/spyswjs.20231115001

Proliferation and Tolerance of *Lactobacillus rhamnosus*  
Utilizing Different PrebioticsWU Huanhuan<sup>1</sup>, SONG Xin<sup>1</sup>, XIA Yongjun<sup>1</sup>, AI Lianzhong<sup>1,2</sup>,  
PAN Che<sup>3</sup>, MAO Yingyi<sup>3</sup>, LI Xiang<sup>3</sup>, WANG Guangqiang<sup>\*1,2</sup>

(1. School of Health Science and Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China; 2. School of Gongli Hospital Medical Technology, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China; 3. Abbott Nutrition Research and Development Center, Shanghai 200233, China)

**Abstract:** To determine the optimal synbiotics of *Lactobacillus rhamnosus* (LGG) and prebiotics, the LGG-galactooligosaccharide combination is significantly superior to other combinations through growth and pH changes. The maximum biomass OD<sub>600</sub> of LGG and HN001 were 1.253 and 1.552, respectively, and the maximum specific growth rates were 0.316 and 0.290 h<sup>-1</sup> when galactooligosaccharide was used as the sole carbon source. Similarly, the lactic acid yield also showed a significant preference for this combination over others, with yields of 3.654 and 10.914 g/L,

收稿日期: 2023-11-15 修回日期: 2024-03-13

基金项目: 中国食品科学技术学会食品科技基金—雅培食品营养与安全专项科研基金项目(2022-F04)。

\* 通信作者: 王光强(1985—), 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事益生菌与益生元研究。E-mail: 1015wangq@163.com

respectively. Meanwhile, in order to confirm that the combination can successfully pass through the gastrointestinal tract and exhibit probiotic functions, the tolerance of LGG and HN001 under different pH and bile salt mass concentration was determined respectively when galacto-oligosaccharide was used as the sole carbon source. The results revealed a significant difference in the maximum biomass under 1 g/L bile salt and pH 4.0 conditions compared to other synbiotics, with OD<sub>600</sub> values of 0.712, 0.694 (1 g/L bile salt), 0.639, and 0.728 (pH 4.0), respectively. This study provides theoretical basis and experimental evidence for the subsequent development of related probiotic-prebiotic products.

**Keywords:** prebiotics, *Lactobacillus rhamnosus*, galacto-oligosaccharides, tolerance

美国食品药品监督管理局和世界卫生组织共同提出益生菌的最新定义是“当给予足够的量时会为宿主带来健康益处的活的微生物”<sup>[1]</sup>。益生菌发酵乳能够从肠道、免疫、代谢和神经 4 个方面维护机体健康<sup>[2]</sup>,例如在肠道研究中发现,厚壁菌门与拟杆菌门的相对丰度比值(F/B)是反映肠道微生态平衡的关键参数,其变化提示菌群失衡<sup>[3]</sup>。LGG 是乳酸菌中的乳杆菌属,革兰氏阳性益生菌<sup>[4]</sup>。鼠李糖乳杆菌通过抑制病原体的黏附和定植、平衡肠道菌群、维持肠道屏障的完整性、调节肠道免疫功能等促进肠道健康,具有防治腹泻、排除毒素、提高动物产量的能力<sup>[5]</sup>。当益生菌活菌浓度的对数值高于 6 时,能够以活菌的形式进入肠道,由于其黏附能力强<sup>[6-7]</sup>,并能分泌有机酸等抑菌物质,从而抑制病原菌的附着,同时鼠李糖乳杆菌可定植在肠上皮细胞,平衡肠道菌群,有助于改善宿主的健康状况<sup>[8]</sup>。然而,在储存和食用时,鼠李糖乳杆菌会暴露于水、胃酸、胆盐等环境中,导致其活性下降,甚至失活<sup>[9]</sup>。

益生元是短链低聚糖,不会被宿主消化或吸收,但可被肠道微生物(如鼠李糖乳杆菌)摄入,并用于刺激益生菌在肠道中的增殖<sup>[10-11]</sup>。研究表明,益生元可以为益生菌提供营养,促进增殖,同时抑制肠道病原菌的生长和定植,对肠道益生菌有保护作用<sup>[12-13]</sup>。但是由于益生菌的分解代谢途径和碳水化合物活性酶不同,不同益生菌对益生元的利用程度也不同<sup>[14]</sup>。李雅丽等发现不同益生元对益生菌的影响存在显著差异,其中乳酸双歧杆菌 BL-99 利用乳糖的增殖作用较好,而婴儿双歧杆菌 YLGB-1496、副干酪乳杆菌 K56 和副干酪乳杆菌 ET-2 利用低聚半乳糖的增殖作用较好<sup>[15]</sup>。Anzawa 等利用乳酸双歧杆菌 GCL2505 和菊粉生产了一种合生元饮料,可有效

增加双歧杆菌在人体内的数量<sup>[16]</sup>。Duque 等证明,在益生菌中添加益生元可以提高其存活率<sup>[17]</sup>。Nunes 等发现补充菊粉、海藻糖和直链淀粉对嗜酸乳杆菌 La-5 有很好的保护作用<sup>[18]</sup>。聂远洋等发现添加适量发酵香菇可以改变大鼠肠道菌群的生物多样性,增加有益菌群,降低病原菌的相对丰度,使物种分布更均匀,肠道健康得到改善<sup>[19]</sup>。也有研究发现母乳低聚糖是母乳中的关键活性成分,对婴幼儿健康成长至关重要,有助于增强免疫力、维持肠道健康<sup>[20]</sup>。

目前,关于通过添加益生元改善鼠李糖乳杆菌耐酸和耐胆盐能力的研究较少。为使其能顺利通过胃酸、胆盐的胁迫进入肠道,从而快速建立肠道内的优势益生菌群落<sup>[21]</sup>,分别以不同益生元作为碳源,以生长特性和代谢产物产量为指标,针对鼠李糖乳杆菌筛选特异性的益生元,形成特定的益生菌-益生元组合,并设置不同 pH 和胆盐质量浓度的生长环境,评估益生元对鼠李糖乳杆菌耐受性的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

鼠李糖乳杆菌 LGG、鼠李糖乳杆菌 HN001、低聚半乳糖、低聚果糖、菊粉、抗性糊精、燕麦纤维:雅培营养中国研发中心提供;葡聚糖 T10、L-乳酸:上海源叶生物科技有限公司;人工结肠液、牛胆粉:生工生物有限公司;葡萄糖、蛋白胨等其他试剂:国药集团化学试剂有限公司。

MRS 培养基(1 L):酪蛋白胨 10 g、牛肉浸粉 10 g、酵母浸粉 5 g、葡萄糖 20 g、无水磷酸氢二钾 2 g、无水乙酸钠 5 g、柠檬酸二铵 2 g、七水硫酸镁 0.58 g、一水硫酸锰 0.25 g、吐温-80 1 mL,pH 6.4±0.2,115 ℃灭菌 20 min。不含碳源的 MRS 培养

基记为 MRS-培养基,以益生元为唯一碳源的 MRS 培养基记为 MRS-益生元培养基。

## 1.2 仪器与设备

SW-CJ-2D 型双人单面净化工作台:苏州净化设备有限公司;Bugbox 厌氧培养箱:英国 Ruskinn 有限公司;SPX-150B-Z 生化培养箱、HZQ-X100 恒温振荡培养箱:上海博讯实业有限公司;多功能酶标仪:美谷分子仪器有限公司;pH 计:梅特勒-托利多有限公司;全自动生长曲线分析仪:芬兰 Biosceen C 公司;2695 高效液相色谱仪(HPLC):美国 Waters 公司;高速冷冻离心机:西格玛奥德里奇贸易有限公司。

## 1.3 实验方法

**1.3.1 鼠李糖乳杆菌的培养** 将活化好的鼠李糖乳杆菌 LGG 和 HN001 按体积分数 1%接种至含不同碳源以及不含碳源的 MRS 培养基中,吸取 200  $\mu\text{L}$  发酵液置于生长曲线板中,以未接种菌株的培养基为对照,在 37  $^{\circ}\text{C}$  下静置培养 36 h,每 30 min 测定培养基的  $\text{OD}_{600}$  并记录,以  $\text{OD}_{600}$  表征菌株的最大生物量。每个样本设置 3 个平行。以时间为横坐标, $\text{OD}_{600}$  为纵坐标,得到两株鼠李糖乳杆菌在 37  $^{\circ}\text{C}$  利用不同碳源的生长曲线。

**1.3.2 乳酸产量测定** 将鼠李糖乳杆菌 LGG 和 HN001 划线接种于 MRS 固体平板,厌氧培养 24 h。挑取单菌落于 2 mL MRS 液体培养基中,37  $^{\circ}\text{C}$  培养 10~12 h。 $\text{OD}_{600}$  调为 0.6 左右,按体积分数 1%接种至 200  $\mu\text{L}$  液体 MRS-益生元培养基,培养 24 h 后,在 4  $^{\circ}\text{C}$  下以 12 000 r/min 离心 10 min,利用 1 mL 一次性灭菌注射器吸取上清液,经过 0.22  $\mu\text{m}$  水相滤膜进入进样瓶,随后上机。通过 HPLC 进行分析,采用 Sepax carbomix H-NP 柱,流动相为 2.5 mmol/L  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,流量 0.6 mL/min,自动进样,进样量 10  $\mu\text{L}$ ,运行时间 20 min,梯度洗脱。

**1.3.3 胆盐耐受性测定** 为研究鼠李糖乳杆菌与益生元组合在不同胆盐质量浓度下的生长情况,将鼠李糖乳杆菌 LGG 和 HN001 活化后的  $\text{OD}_{600}$  调为 0.6 左右,以体积分数 1%接种于含 1、2、3 g/L 胆盐的 MRS-益生元培养基中。吸取 200  $\mu\text{L}$  发酵液加入自动生长曲线分析仪的培养板中,并将不含菌液的液体 MRS-益生元培养基作为空白对照,使用正常 MRS 培养基作为阳性对照,不含葡萄糖的 MRS 液体培养基(含胆盐)作为阴性对照,在 37  $^{\circ}\text{C}$  下每 30

min 测量一次培养基的  $\text{OD}_{600}$ ,持续 36 h<sup>[22]</sup>。每个样品设置 3 个平行。

**1.3.4 pH 耐受性测定** 分别配制 pH 为 3.5、3.8、4.0 的 MRS-益生元培养基,灭菌后将过夜培养的鼠李糖乳杆菌 LGG 和 HN001 的  $\text{OD}_{600}$  调为 0.6 左右,以体积分数 1%接种于不同 pH 的 MRS-益生元培养基,吸取 200  $\mu\text{L}$  发酵液加入自动生长曲线分析仪的培养板中,以未接菌的培养基作对照,在 37  $^{\circ}\text{C}$  下每 30 min 测量一次培养基的  $\text{OD}_{600}$ ,持续 36 h。每个样品设置 3 个平行。

**1.3.5 数据统计与分析** 各项指标的测定均进行 3 次重复实验。通过 GraphPad Prism 9.0 进行数据整理和显著性分析,其中  $P < 0.05$  为统计学的差异显著, $P < 0.01$  为统计学的差异极显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 鼠李糖乳杆菌利用不同益生元的生长情况

研究表明,益生元和葡萄糖同时存在时,葡萄糖会被优先利用,其代谢产物会抑制其他糖代谢相关基因的表达,即碳分解代谢物阻遏效应。因此,作者探究了益生元为唯一碳源条件下,鼠李糖乳杆菌 LGG 和 HN001 的生长曲线和环境 pH 变化曲线,见图 1。鼠李糖乳杆菌在所有培养基中的迟滞时间无显著差异。在以低聚半乳糖为唯一碳源的 MRS 培养基中,其进入对数期的时间与在 MRS 培养基中一致,与其他培养基相比差异显著。对比 pH 变化可知,生长曲线与 pH 的变化趋势一致,都在 6 h 左右开始增长,于 12 h 左右增长完毕。对鼠李糖乳杆菌的最大生物量和最大比生长速率进行单因素方差分析,结果见表 1。两株菌以低聚半乳糖为唯一碳源生长时的最大生物量分别为 1.253、1.552,与其他益生元组合均呈现显著差异( $P < 0.05$ )。两株菌以低聚半乳糖为唯一碳源生长时的最大比生长速率分别为 0.316、0.290  $\text{h}^{-1}$ ,与其他益生元组合均呈现显著差异( $P < 0.05$ )。依据鼠李糖乳杆菌在不同培养基中的最大生物量得出碳源利用的强弱次序:葡萄糖>低聚半乳糖>菊粉>低聚果糖、抗性糊精,另外鼠李糖乳杆菌在葡聚糖和燕麦纤维培养基中基本没有生长,推测燕麦纤维是因为粗纤维过多,葡聚糖是因为相对分子质量过大,因此菌株无法利用这两种益生元。

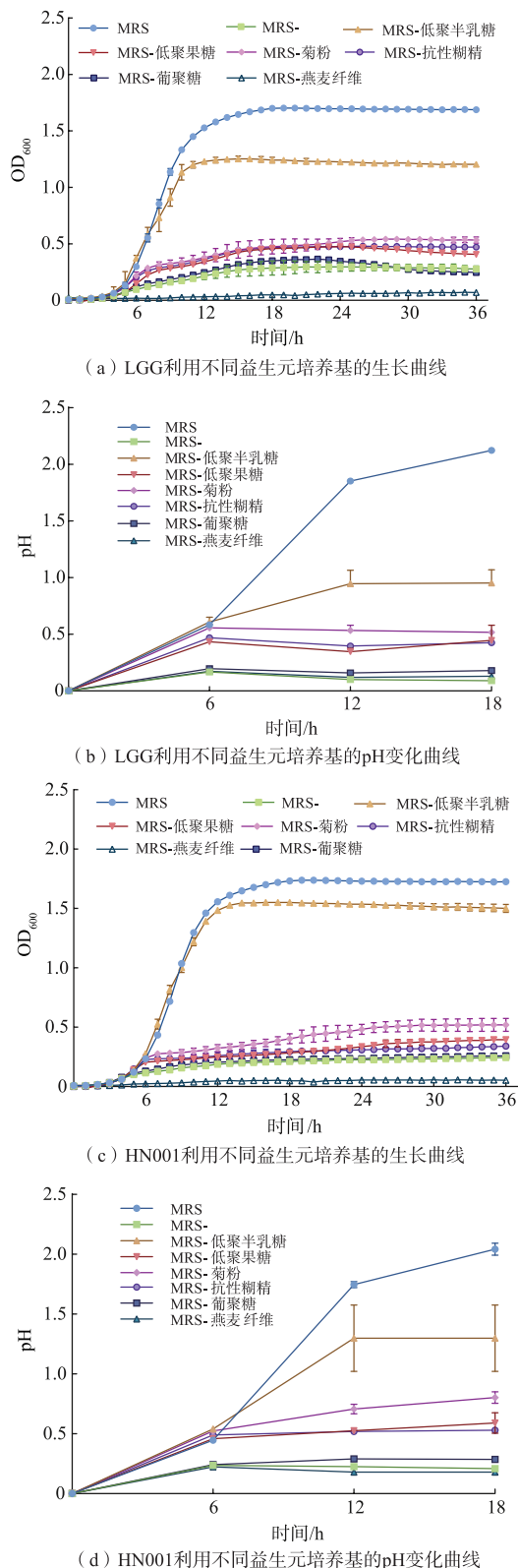


图1 两种鼠李糖乳杆菌利用不同益生元培养基的生长和pH变化曲线

Fig. 1 Growth and pH curves of two kinds of *Lactobacillus rhamnosus* using different prebiotic media

表1 鼠李糖乳杆菌在不同培养基下的最大生物量及最大比生长速率

Table 1 Maximum biomass and maximum growth rate of *Lactobacillus rhamnosus* in different culture medium

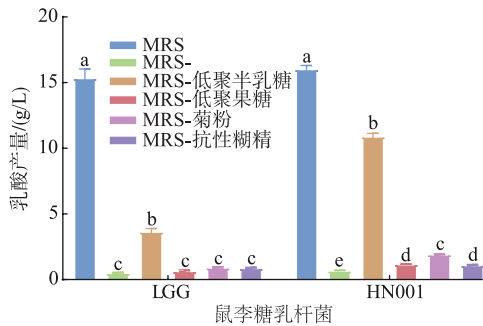
培养基	OD <sub>600</sub>		最大比生长速率/h <sup>-1</sup>	
	LGG	HN001	LGG	HN001
MRS	1.704 <sup>a</sup>	1.739 <sup>a</sup>	0.301 <sup>a</sup>	0.318 <sup>a</sup>
MRS-	0.317 <sup>c</sup>	0.246 <sup>c</sup>	0.033 <sup>bc</sup>	0.037 <sup>c</sup>
MRS-低聚半乳糖	1.253 <sup>b</sup>	1.552 <sup>b</sup>	0.316 <sup>a</sup>	0.290 <sup>b</sup>
MRS-低聚果糖	0.477 <sup>d</sup>	0.395 <sup>d</sup>	0.081 <sup>b</sup>	0.074 <sup>d</sup>
MRS-菊粉	0.547 <sup>c</sup>	0.522 <sup>c</sup>	0.100 <sup>b</sup>	0.106 <sup>c</sup>
MRS-抗性糊精	0.481 <sup>d</sup>	0.341 <sup>d</sup>	0.090 <sup>b</sup>	0.087 <sup>d</sup>
MRS-葡萄糖	0.365 <sup>c</sup>	0.259 <sup>c</sup>	0.044 <sup>bc</sup>	0.043 <sup>c</sup>
MRS-燕麦纤维	0.073 <sup>f</sup>	0.057 <sup>f</sup>	0.006 <sup>c</sup>	0.009 <sup>f</sup>

注:同一列不同字母表示在  $P<0.05$  水平下差异显著。

## 2.2 鼠李糖乳杆菌利用不同益生元的乳酸代谢产物分析

进一步根据 HPLC 和构建的线性方程计算 LGG 和 HN001 在不同碳源条件下培养 24 h 的乳酸产量,以乳酸质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线, $y=66\ 824x+11\ 541$ , $R^2=0.999\ 6$ ,线性关系良好。分析鼠李糖乳杆菌对不同益生元的利用程度,结果见图 2。张秋香等研究发现当低聚果糖或低聚木糖作为唯一碳源时,乳酸菌的生长速率和乳酸产率呈正相关<sup>[23]</sup>。因此,鼠李糖乳杆菌对益生元的利用效果按照乳酸产量的排序为:葡萄糖>低聚半乳糖>菊粉、低聚果糖、抗性糊精,其中鼠李糖乳杆菌 LGG 和 HN001 利用低聚半乳糖为唯一碳源时,乳酸产量分别为 3.654、10.914 g/L,与其他处理组相比,乳酸产量显著增加 ( $P<0.05$ )。同时 LGG 在 MRS-与含低聚果糖、菊粉和抗性糊精的培养基中培养时,乳酸产量较低且相互之间没有显著差异,而 HN001 在 MRS-与含低聚果糖、菊粉和抗性糊精的培养基中培养时,乳酸产量差异显著。同时,HN001 在以低聚半乳糖为唯一碳源时,乳酸产量可达到以葡萄糖为唯一碳源时的 68.02%。由此低聚半乳糖表现最好,可作为碳源添加至培养基中供鼠李糖乳杆菌生长。





不同字母表示在  $P < 0.05$  水平下差异显著。

图2 在不同碳源培养基上鼠李糖乳杆菌的乳酸产量  
Fig. 2 Lactic acid yield of *Lactobacillus rhamnosus* in different carbon source medium

### 2.3 鼠李糖乳杆菌利用不同益生元的耐受性能分析

益生菌被人体吸收后,只有先后在胃酸和肠道胆盐等环境因素的压力下才能发挥其益生作用。为探究鼠李糖乳杆菌以不同益生元为唯一碳源时,对环境的耐受性能,分别设置不同 pH 和胆盐质量浓

度,以  $OD_{600}$  作为测定指标,反映菌株的最大生物量,观察其生长情况。

由图 3、表 2 和表 3 可知,两株鼠李糖乳杆菌在 3 g/L 胆盐质量浓度下均不生长。在 2 g/L 胆盐质量浓度下,只在 MRS 培养基中有微弱生长。而在 1 g/L 胆盐环境中,鼠李糖乳杆菌在以低聚半乳糖为唯一碳源时,最大生物量较其他益生元处理组有显著差异 ( $P < 0.05$ ),LGG 和 HN001 的最大生物量分别为 0.712、0.694。

由图 4、表 2 和表 3 可知,两株鼠李糖乳杆菌在 pH 3.5 条件下均不生长,而在 pH 3.8 和 pH 4.0 条件下均可生长,同时在酸的胁迫条件下,鼠李糖乳杆菌以低聚半乳糖为唯一碳源时,生长情况显著优于其他益生元处理组。在 pH 3.8 条件下,两株鼠李糖乳杆菌以低聚半乳糖为唯一碳源时,LGG 和 HN001 的最大生物量分别为 0.530、0.662,其中 LGG 在 MRS-低聚半乳糖培养基中的最大生物量与

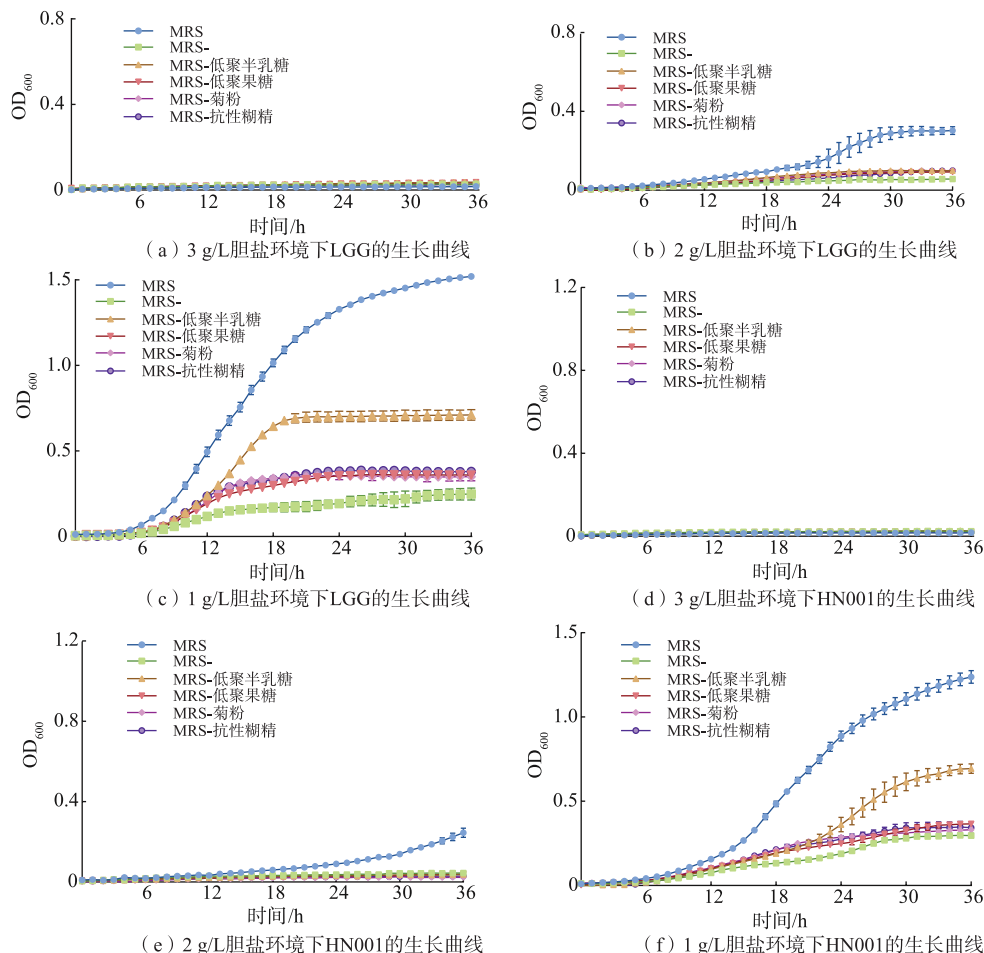


图3 两种鼠李糖乳杆菌利用不同益生元的耐胆盐情况

Fig. 3 Bile salt tolerance of two kinds of *Lactobacillus rhamnosus* using different prebiotics

表 2 LGG 在不同培养条件下的最大生物量及最大比生长速率

Table 2 Maximum biomass and maximum specific growth rate of LGG under different culture conditions

培养基	OD <sub>600</sub>				最大比生长速率/h <sup>-1</sup>			
	1 g/L 胆盐	2 g/L 胆盐	pH 3.8	pH 4.0	1 g/L 胆盐	2 g/L 胆盐	pH 3.8	pH 4.0
MRS	1.520 <sup>a</sup>	0.303 <sup>a</sup>	0.366 <sup>b</sup>	0.470 <sup>b</sup>	0.102 <sup>a</sup>	0.034 <sup>a</sup>	0.029 <sup>a</sup>	0.040 <sup>b</sup>
MRS-	0.249 <sup>d</sup>	0.057 <sup>c</sup>	0.169 <sup>de</sup>	0.167 <sup>e</sup>	0.025 <sup>c</sup>	0.006 <sup>b</sup>	0.020 <sup>bc</sup>	0.028 <sup>c</sup>
MRS-低聚半乳糖	0.712 <sup>b</sup>	0.101 <sup>b</sup>	0.530 <sup>a</sup>	0.639 <sup>a</sup>	0.084 <sup>b</sup>	0.007 <sup>b</sup>	0.026 <sup>ab</sup>	0.049 <sup>a</sup>
MRS-低聚果糖	0.363 <sup>c</sup>	0.093 <sup>b</sup>	0.259 <sup>c</sup>	0.291 <sup>c</sup>	0.038 <sup>d</sup>	0.006 <sup>b</sup>	0.018 <sup>c</sup>	0.037 <sup>b</sup>
MRS-菊粉	0.358 <sup>c</sup>	0.100 <sup>b</sup>	0.238 <sup>cd</sup>	0.327 <sup>c</sup>	0.050 <sup>c</sup>	0.006 <sup>b</sup>	0.015 <sup>cd</sup>	0.040 <sup>b</sup>
MRS-抗性糊精	0.387 <sup>c</sup>	0.100 <sup>b</sup>	0.164 <sup>e</sup>	0.264 <sup>d</sup>	0.050 <sup>c</sup>	0.008 <sup>b</sup>	0.010 <sup>d</sup>	0.033 <sup>c</sup>

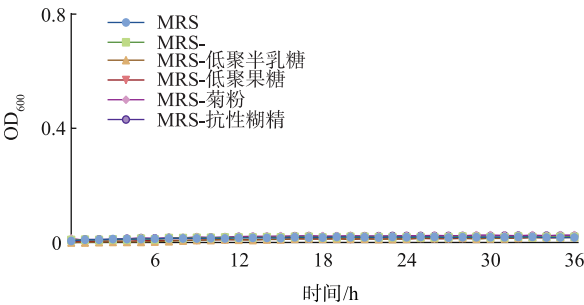
注:同一列不同字母表示在  $P<0.05$  水平下差异显著。

表 3 HN001 在不同培养条件下的最大生物量及最大比生长速率

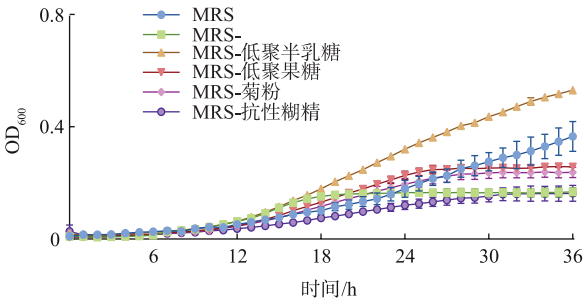
Table 3 Maximum biomass and maximum specific growth rate of HN001 under different culture conditions

培养基	OD <sub>600</sub>				最大比生长速率/h <sup>-1</sup>			
	1 g/L 胆盐	2 g/L 胆盐	pH 3.8	pH 4.0	1 g/L 胆盐	2 g/L 胆盐	pH 3.8	pH 4.0
MRS	1.238 <sup>a</sup>	0.245 <sup>a</sup>	0.603 <sup>a</sup>	0.493 <sup>b</sup>	0.081 <sup>a</sup>	0.021 <sup>a</sup>	0.031 <sup>a</sup>	0.044 <sup>b</sup>
MRS-	0.299 <sup>d</sup>	0.045 <sup>b</sup>	0.188 <sup>d</sup>	0.168 <sup>f</sup>	0.022 <sup>c</sup>	0.006 <sup>b</sup>	0.023 <sup>b</sup>	0.024 <sup>c</sup>
MRS-低聚半乳糖	0.694 <sup>b</sup>	0.037 <sup>b</sup>	0.662 <sup>a</sup>	0.728 <sup>a</sup>	0.054 <sup>b</sup>	0.004 <sup>b</sup>	0.034 <sup>a</sup>	0.056 <sup>a</sup>
MRS-低聚果糖	0.366 <sup>c</sup>	0.039 <sup>b</sup>	0.367 <sup>b</sup>	0.334 <sup>d</sup>	0.017 <sup>c</sup>	0.007 <sup>b</sup>	0.034 <sup>a</sup>	0.038 <sup>d</sup>
MRS-菊粉	0.332 <sup>c</sup>	0.029 <sup>b</sup>	0.350 <sup>bc</sup>	0.359 <sup>c</sup>	0.021 <sup>c</sup>	0.010 <sup>b</sup>	0.031 <sup>ab</sup>	0.042 <sup>bc</sup>
MRS-抗性糊精	0.348 <sup>c</sup>	0.030 <sup>b</sup>	0.268 <sup>cd</sup>	0.292 <sup>c</sup>	0.024 <sup>c</sup>	0.005 <sup>b</sup>	0.027 <sup>a</sup>	0.039 <sup>cd</sup>

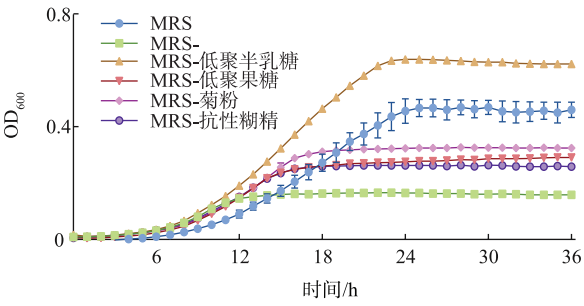
注:同一列不同字母表示在  $P<0.05$  水平下差异显著。



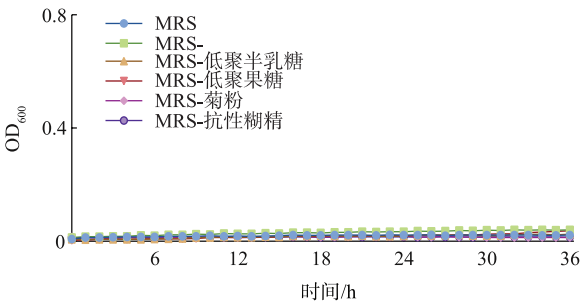
(a) pH 3.5条件下LGG的生长曲线



(b) pH 3.8条件下LGG的生长曲线



(c) pH 4.0条件下LGG的生长曲线



(d) pH 3.5条件下HN001的生长曲线

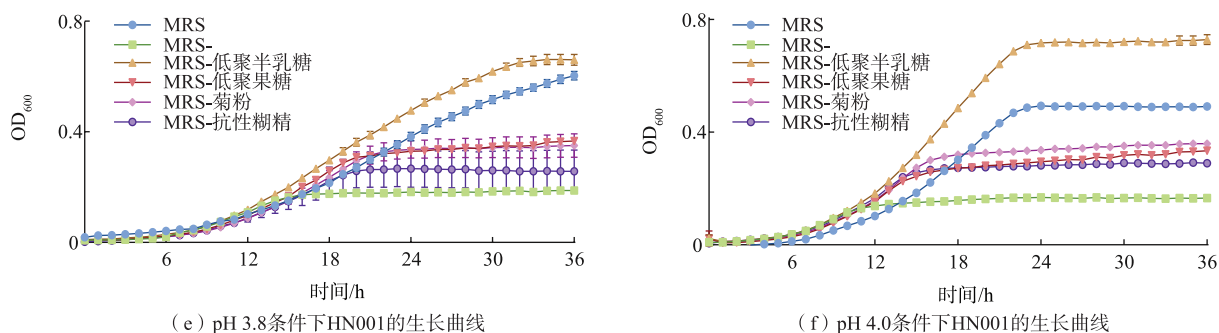


图4 两种鼠李糖乳杆菌利用不同益生元的耐酸情况

Fig. 4 Acid resistance of two kinds of *Lactobacillus rhamnosus* using different prebiotics

在 MRS 培养基中相比呈显著增加 ( $P < 0.05$ ), 最大比生长速率差异不显著, 这表明在酸胁迫下添加低聚半乳糖, 菌株耐受性增加。LGG 和 HN001 与低聚半乳糖组合得到的最大生物量和最大比生长速率与在 MRS 培养基中的结果对比均具有显著差异 ( $P < 0.05$ ), 其中两种组合的最大生物量分别为 0.639、0.728, 最大比生长速率分别为 0.049、0.056  $\text{h}^{-1}$ 。另外在酸的胁迫条件下, 菌株的对数生长期会增加, 在正常 pH 条件下, 对数生长期为 8 h 左右, 而在酸的胁迫条件下, 对数生长期为 18~24 h。两株鼠李糖乳杆菌在 pH 3.8 条件下的对数生长期均比在 pH 为 4.0 时长。而在两种 pH 条件下, 最大生物量基本一致。由此, 低聚半乳糖作为益生元在耐受性测试中表现最佳。

### 3 结 语

作者以鼠李糖乳杆菌 LGG 和 HN001 为目标菌

株, 分别以不同益生元为唯一碳源, 深入探究了益生元对菌株生长特性和胁迫环境下耐受性的影响。结果表明, 与其他组合相比, 鼠李糖乳杆菌以低聚半乳糖为唯一碳源时具有最大生物量和最大比生长速率, 突出了低聚半乳糖作为优质益生元的潜力, 也为鼠李糖乳杆菌在工业生产中的应用提供了参考。此外, 该研究中还发现鼠李糖乳杆菌与低聚半乳糖组合在乳酸生产方面具有显著优势, 乳酸产量远高于其他组合。同时, 该组合具有较高环境耐受性, 特别是在 1 g/L 胆盐质量浓度下仍能保持较好的生长性能, 在环境 pH 为 3.8 时的生长特性与其他组合相比具有显著差异。综上所述, 鼠李糖乳杆菌与低聚半乳糖组合不仅具有优异的生长特性, 还表现出良好的环境适应性, 为其在发酵食品及其他领域的应用提供了有力支持, 为益生菌-益生元组合在相关产品的开发方面提供了科学依据。

### 参考文献:

- [1] PANDEY K R, NAIK S R, VAKIL B V. Probiotics, prebiotics and synbiotics-a review[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2015, 52(12): 7577-7587.
- [2] 赵崔雨, 吴子健, 李树森, 等. 益生菌发酵乳辅助调节机体健康的研究进展[J]. *食品与机械*, 2023, 39(6): 210-218.  
ZHAO C Y, WU Z J, LI S S, et al. Research progress of probiotic fermented milk to help regulate body health[J]. *Food & Machinery*, 2023, 39(6): 210-218. (in Chinese)
- [3] 梁金辉, 陈文迪, 吴翠芳, 等. 基于 16S rDNA 测序研究白酒对大鼠肠道菌群的影响[J]. *食品与生物技术学报*, 2023, 42(12): 98-105.  
LIANG J H, CHEN W D, WU C F, et al. The effect of liquor on intestinal flora in rats was studied based on 16S rDNA sequencing[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2023, 42(12): 98-105. (in Chinese)
- [4] 黄丹. 人肠道鼠李糖乳杆菌的比较基因组与部分生理生化特性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2019.
- [5] 唐昱婷, 汤加勇, 赵华. 鼠李糖乳杆菌对肠道屏障功能的影响机制研究进展[J]. *四川农业大学学报*, 2021, 39(4): 427-432.  
TANG Y T, TANG J Y, ZHAO H. Research progress on the effect of *Lactobacillus rhamnosus* on intestinal barrier function and the potential mechanism[J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2021, 39(4): 427-432. (in Chinese)
- [6] KLOPPER K B, DEANE S M, DICKS L M T. Aciduric strains of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus rhamnosus*, isolated

- from human feces, have strong adhesion and aggregation properties[J]. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, 2018, 10(1): 89-97.
- [7] KANDASAMY S, VLASOVA A N, FISCHER D, et al. Differential effects of *Escherichia coli* nissle and *Lactobacillus rhamnosus* strain GG on human rotavirus binding, infection, and B cell immunity[J]. **Journal of Immunology**, 2016, 196(4): 1780-1789.
- [8] TAO T, DING Z, HOU D P, et al. Influence of polysaccharide as co-encapsulant on powder characteristics, survival and viability of microencapsulated *Lactobacillus paracasei* Lpc-37 by spray drying[J]. **Journal of Food Engineering**, 2019, 252: 10-17.
- [9] SHORI A B. Microencapsulation improved probiotics survival during gastric transit[J]. **HAYATI Journal of Biosciences**, 2017, 24(1): 1-5.
- [10] 郑志昌, 陈映彤, 郭娟娟, 等. 益生元对早产儿、肥胖及老年群体肠道菌群调节机制的研究现状[J]. **食品科学**, 2018, 39(1): 297-304.  
ZHENG Z C, CHEN Y T, GUO J J, et al. Advances in intestinal flora regulatory mechanisms of prebiotics in premature infants, obesity subjects and elderly populations[J]. **Food Science**, 2018, 39(1): 297-304. (in Chinese)
- [11] 李蕊, 王一如, 刘一鸣, 等. 不同益生元对酸奶游离氨基酸及风味的影响[J]. **食品科学**, 2020, 41(20): 83-89.  
LI R, WANG Y R, LIU Y M, et al. Effect of adding different prebiotics on free amino acids and flavor of yogurt[J]. **Food Science**, 2020, 41(20): 83-89. (in Chinese)
- [12] 温永平, 唐季清, 韩冬, 等. 魔芋甘露寡糖对酸奶免疫调节活性的影响[J]. **食品科学**, 2021, 42(17): 133-142.  
WEN Y P, TANG J Q, HAN D, et al. Effects of konjac mannanoligosaccharide fortification on immunomodulatory activity of yogurt[J]. **Food Science**, 2021, 42(17): 133-142. (in Chinese)
- [13] OBA P M, VIDAL S, WYSS R, et al. Effect of a novel animal milk oligosaccharide biosimilar on the gut microbial communities and metabolites of *in vitro* incubations using feline and canine fecal inocula[J]. **Journal of Animal Science**, 2020, 98(9): 273.
- [14] 郭佳颖, 陈敏暄, 金天赐, 等. 双歧杆菌和乳杆菌对水苏糖的利用特性[J]. **食品与发酵工业**, 2021, 47(24): 13-20.  
WU J Y, CHEN M X, JIN T C, et al. Utilization characteristics of stachyose by *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* [J]. **Food and Fermentation Industries**, 2021, 47(24): 13-20. (in Chinese)
- [15] 李雅丽, 王默涵, 赵雯, 等. 益生菌与益生元组合的筛选及体外发酵特性研究[J]. **食品与发酵工业**, 2022, 48(7): 50-57.  
LI Y L, WANG M H, ZHAO W, et al. *In vitro* fermentation characteristics by different combination of probiotics and prebiotics[J]. **Food and Fermentation Industries**, 2022, 48(7): 50-57. (in Chinese)
- [16] ANZAWA D, MAWATARI T, TANAKA Y, et al. Effects of synbiotics containing *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* GCL2505 and inulin on intestinal bifidobacteria: a randomized, placebo-controlled, crossover study [J]. **Food Science and Nutrition**, 2019, 7(5): 1828-1837.
- [17] DUQUE A L R F, DEMARQUI F M, SANTONI M M, et al. Effect of probiotic, prebiotic, and synbiotic on the gut microbiota of autistic children using an *in vitro* gut microbiome model[J]. **Food Research International**, 2021, 149: 110657.
- [18] NUNES G L, DE ARAUJO E M, CICHOSKI A J, et al. Inulin, hi-maize, and trehalose as thermal protectants for increasing viability of *Lactobacillus acidophilus* encapsulated by spray drying[J]. **LWT-Food Science and Technology**, 2018, 89: 128-133.
- [19] 聂远洋, 贾亚娟, 卢森, 等. 乳酸菌发酵香菇对肠道菌群的调节作用及其产品研制[J]. **食品与生物技术学报**, 2022, 41(12): 75-84.  
NIE Y Y, JIA Y J, LU S, et al. Regulation of *Lentinus edodes* fermented by lactic acid bacteria on gut microbiota and product development[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2022, 41(12): 75-84. (in Chinese)
- [20] 姜毅康, 董玲, 刘鸿飞, 等. 母乳低聚糖与婴幼儿健康关系研究进展[J]. **食品与机械**, 2024, 40(2): 1-8.  
JIANG Y K, DONG L, LIU H F, et al. Research progress on the relationship between breast milk oligosaccharides and infant health[J]. **Food & Machinery**, 2024, 40(2): 1-8. (in Chinese)
- [21] HOVE H, NØRGAARD H, MORTENSEN P B. Lactic acid bacteria and the human gastrointestinal tract[J]. **European Journal of Clinical Nutrition**, 1999, 53(5): 339-350.
- [22] 唐洪玉. 植物乳杆菌 AR113 不同胆盐水解酶对其生理活性的影响[D]. 上海: 上海理工大学, 2020.
- [23] 张秋香, 应聪萍, 刘思思, 等. 乳酸菌利用低聚果糖和低聚木糖的特性研究[J]. **食品与生物技术学报**, 2020, 39(4): 18-23.  
ZHANG Q X, YING C P, LIU S S, et al. Fructooligosaccharides and xylooligosaccharides utilization properties of lactic acid bacteria[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2020, 39(4): 18-23. (in Chinese)