

西梅发酵乳酸菌的筛选、鉴定及其抗氧化特性研究

戴志伟, 孔令明*, 刘伟, 张玥, 杨罡, 伊力夏提·艾热提
(新疆农业大学食品科学与药学院 乌鲁木齐 830000)

摘要 采用传统平板划线的方式分离纯化西梅原浆中的乳酸菌。通过溴甲酚紫 MRS 固体培养基和西梅汁固体培养初步筛选出 5 株产酸性能较好, 适合西梅发酵的乳酸菌种, 经生理、生化鉴定和 16S rDNA 分子生物学鉴定, 最终确定 4 株菌为屎肠球菌, 1 株菌为肠膜明串珠菌。测定 5 株乳酸菌在 MRS 肉汤中的生长性能、产酸性能以及菌种自身抗氧化性能, 结果肠膜明串珠菌 E2 在 MRS 肉汤中生长迅速且产酸性能较好, 肠膜明串珠菌 E2 和屎肠球菌 C2 的完整乳酸菌细胞悬液具有较好的抗氧化能力。以总酚含量、DPPH 自由基清除率、ABTS 自由基清除率为指标, 对比 5 种乳酸菌在西梅浆中的发酵性能, 结果肠膜明串珠菌 E2 更适合西梅浆的发酵, 屎肠球菌 C2 次之。

关键词 乳酸菌; 西梅发酵; 筛选鉴定; 抗氧化

文章编号 1009-7848(2022)07-0310-09 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.07.031

西梅 (*Prunus domestica*), 是蔷薇科 (Rosaceae) 李属 (*Prunus*) 果树果实^[1]。西梅以独特的外形和口感、不含胆固醇和脂肪的特性^[2], 富含抗氧化物质^[3]和骨骼健康的相关物质^[4]而获得“奇迹水果”的美称。其中, 新疆有野生种西梅的分布^[5], 是西梅的发源地之一。

蔬菜和水果的内部或表皮上的微生物、当地环境, 共同形成一个互生或共生的系统, 该系统相对稳定, 而不同地域环境的微生物种群也不同^[6], 其中的乳酸菌是这个系统中微生物区系的一小部分^[6-7], 甚至是系统的优势菌。一般来说, 从果蔬中分离出的本地乳酸菌, 在适应当地环境的同时也适应植物的基质, 相比于商业乳酸菌更适应以果蔬为发酵基质的不利条件, 从而保留果蔬的感官品质及其活性成分。

Raffaella 等^[8]在 Nancy 等^[9]的基础上对自源乳酸菌发酵果蔬进行研究, 直投式发酵剂在一定程度上不能完全适应某种果蔬底物, 大多需要驯化, 为得到较理想的发酵终产物, 所选菌种必须适应原料的内在特性^[9]。研究发现: 本地自源乳酸菌在发酵当地萝卜、菜豆等蔬菜时, 在色泽、保存期等

方面均有一定优势, 同时利用本地自源乳酸菌发酵红辣椒和黄辣椒结合一些其它处理, 可以最大程度地保护色泽, 延长货架期^[10]。在利用乳酸菌发酵樱桃泥的过程中, 本地乳酸菌对黏度、抗氧化等也有一定的正向影响^[11]。在最小加工的前提下, 本地乳酸菌可以最大程度地保证菠萝的抗氧化活性和硬度, 同时最大程度地保存菠萝的天然颜色和气味^[12]。虽然本地乳酸菌在一定程度上优于商业发酵菌种, 但并不是所用本地菌种都有预期的发酵效果。

本文以新疆喀什县的“女神”西梅为原料, 采用溴甲酚紫 MRS 培养基和改良的西梅汁 MRS 培养基, 从“女神”西梅原浆样品中筛选、鉴定产酸性好, 适合西梅发酵的乳酸菌株, 从产酸性能及抗氧化性能方面评估 5 株乳酸菌, 通过 pH 值、总酸、总酚含量等指标对比它们发酵西梅浆的性能, 为筛选优良的果蔬发酵专用菌种, 丰富菌种库, 为开发新型西梅深加工产品提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料 新疆“女神”西梅, 新疆喀什地区伽师县。

1.1.2 培养基 MRS 培养基、MRS 肉汤培养基, 北京奥博星生物技术有限公司; 溴甲酚紫 MRS 培养基^[13]; 在 MRS 培养基的基础上添加溴甲酚紫 0.4 g/L; 西梅汁培养基^[14]; 无菌水 900 mL、西梅汁

收稿日期: 2021-07-09

基金项目: 新疆维吾尔自治区重点研发专项
(2022B02008-3)

作者简介: 戴志伟(1997—), 男, 硕士生

通信作者: 孔令明 E-mail: Klingming@126.com

100 mL、葡萄糖 22 g/L、乙酸钠 5 g/L、牛肉膏 10 g/L、酵母膏 5 g/L、琼脂 15 g/L。

1.1.3 试剂 HBI 乳酸菌生化鉴定条(GB),海博生物技术有限公司;福林酚试剂,北京索莱宝科技有限公司;2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸),上海源叶生物科技有限公司;其它试剂,天津市北联精细化学品开发有限公司。

1.2 主要仪器与设备

UV-1200 紫外分光光度计,北京普析通用有限责任公司;AIPHAPHOT-2 YS2 光学显微镜,日本 Nikon 公司;DHP-9162 微生物恒温培养箱,上海一恒科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 乳酸菌富集和分离筛选 取适量新疆“女神”西梅原浆接入液体培养基中,37℃恒温厌氧培养对菌种进行富集。

蘸取富集液在溴甲酚紫 MRS 固体培养基上划线,于 37℃恒温厌氧培养 36 h,挑取周围黄色面积较大的菌落进行纯化。通过革兰氏染色及酶触试验初筛符合条件的乳酸菌株。将初筛菌株接入西梅汁培养基中,选择生长较好的乳酸菌接入 MRS 斜面培养基中,4℃低温保藏。

1.3.2 乳酸菌的鉴定

1.3.2.1 生理、生化鉴定 根据文献[15]和[16]对分离的菌株进行碳源消耗试验及明胶液化、产硫化氢试验、吲哚试验等,对筛选出的菌株进行生理、生化综合评定。

1.3.2.2 16S rDNA 分子鉴定 将最终筛选的目标菌株送至上海生工生物工程有限公司测定 16S rDNA 序列。

1.3.3 5 株自源乳酸菌生长曲线及产酸性能测定

1.3.3.1 乳酸菌生长曲线 以体积分数 2%的接种量将活化的菌种接入 250 mL MRS 肉汤中,37℃恒温培养,每隔 2 h 测定其 OD_{600nm} ,用同样处理的空白 MRS 肉汤调零,绘制 5 株菌种的生长曲线。

1.3.3.2 乳酸菌 pH 值的测定 用 PHS-3C 型 pH 计测定。

1.3.3.3 乳酸菌总酸含量的测定 参考 GB/T 12456-2008^[17]测定。

1.3.4 5 株自源乳酸菌抗氧化性的测定

1.3.4.1 细胞提取 完整乳酸菌细胞悬液(Intact cell, IC)^[18-19]的制备:将 5 株活化两代后的菌种接入 MRS 肉汤中恒温培养 36 h,4℃,6 000 r/min 低温离心 10 min,取菌体沉淀,用磷酸盐缓冲液(pH 7~7.3)清洗 2~3 遍后,配成菌悬液(1.0×10^8 CFU/mL)。

无细胞提取液(Cell-free Extract, CFE)^[18-19]的制备:取配制的 5 株完整细胞菌悬液,超声冰浴破碎至在显微镜下无完整细胞,10 000 r/min 低温离心 20 min,取上清液。

1.3.4.2 菌株 DPPH 自由基清除能力的测定 参考文献[20],根据本试验样品特性略作修改。取 5 株乳酸菌的完整细胞悬液和无细胞提取液各 2 mL,加入新配制的 0.2 mmol/L DPPH 溶液 2 mL(将吸光度调节至 1.2~1.3),避光反应 30 min,在波长 517 nm 处测定吸光值。根据公式(1)计算 DPPH 自由基清除率。

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_3}\right) \times 100 \quad (1)$$

式中, A_1 ——样品组,完整细胞液/无细胞提取物与 DPPH 溶液混合时的吸光度; A_2 ——空白组,完整细胞液/无细胞提取物与 2 mL 无水乙醇溶液的吸光度; A_3 ——对照组,为 2 mL DPPH 溶液与 2 mL 无水乙醇的吸光度。

1.3.4.3 菌株 ABTS 自由基清除率的测定 参考文献[21],根据本试验样品特性略作修改。取完整细胞液/无细胞提取物 0.2 mL 与 ABTS 工作液 4 mL 充分混合,在室温避光条件下静置 30 min,在波长 734 nm 处测定吸光值。根据公式(2)计算 ABTS 自由基清除率。

$$\text{ABTS 自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_1}\right) \times 100 \quad (2)$$

式中, A_1 ——空白组,磷酸盐缓冲液与 ABTS 工作液混合的吸光度; A_2 ——样品组,完整细胞液/无细胞提取物与 ABTS 工作液混合的吸光度。

1.3.4.4 菌株还原力的测定 根据文献[22]并如下修改:在 5 个完整细胞液/无细胞提取物样品中分别加入 2.5 mL 质量分数为 1%的 $K_3[Fe(CN)_6]$,2.5 mL 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 6.6),振荡均匀后 50℃水浴 20 min,4℃冰水冷却 5 min,冷却

后分别加入 2.5 mL 10%TCA 溶液,3 500 r/min 离心 10 min,取上清液 2.5 mL,逐次加入蒸馏水 2.5 mL,0.1%FeCl₃ 溶液 0.5 mL,室温静置 10 min 后测定吸光值(OD_{700nm})。吸光值代表还原能力,吸光值越高还原力越强。

1.3.5 筛选乳酸菌发酵西梅浆过程中浆液抗氧化性的测定

1.3.5.1 西梅浆的制备及发酵 挑选新鲜西梅漂洗、沥干,去核。按西梅与水质量比 1:1 打浆。为给菌种提供适宜的发酵环境,用 NaHCO₃ 将西梅浆 pH 值调至 4.50~5.00 范围,用蔗糖将西梅浆的糖度调节至 12°Brix。为使杀菌彻底,将西梅浆煮沸 3~5 min 灭菌、灭酶,冷却后分别以 5%的接种量(体积分数)接种乳酸菌,以未接种的西梅浆为空白对照。在 37 °C 恒温培养箱静置发酵 96 h,每 24 h 取样 1 次并测定。

1.3.5.2 发酵西梅浆总酚含量的测定 采用福林-酚比色法^[23]测定,以没食子酸为标准品制作标准曲线 ($y = 0.6289x + 0.0192, R^2 = 0.9979$)。每 1 mL 西梅浆发酵液中总多酚含量以没食子酸记,单位为 mg/L。

1.3.5.3 发酵西梅浆 DPPH 自由基清除能力的测定 将 1.3.4.1 节样品换为离心后的西梅浆上清

液。

1.3.5.4 发酵西梅浆 ABTS 自由基清除率的测定 将 1.3.4.2 节样品换为离心后的西梅浆上清液,空白组用蒸馏水和样品混合。

2 结果与分析

2.1 乳酸菌初筛结果与分离纯化

通过溴甲酚紫 MRS 固体培养基对富集液中的乳酸菌进行初筛。挑取黄色圈较大的菌株多次划线纯化,经革兰氏染色和过氧化氢酶试验,8 株菌为革兰氏阳性,过氧化氢酶阴性,初步确定为乳酸菌。将这 8 株乳酸菌接入西梅汁固体培养基,37 °C 恒温培育 24 h,其中 3 株菌未生长,5 株菌(E2、C2、D2、M2、P1)生长良好。

2.2 乳酸菌生理、生化鉴定结果

5 株乳酸菌的部分生理、生化试验及糖类发酵试验结果见表 1、表 2。由表 1 可知,5 株菌的过氧化氢酶试验、明胶液化试验、产硫化氢试验、吲哚试验、乙酰甲基甲醇试验均为阴性。糖类发酵试验表明,5 株菌均能利用七叶苷、纤维二糖、麦芽糖、水杨苷、蔗糖、棉子糖、菊糖、乳糖等碳水化合物。除 E2 外,均能利用甘露醇。

表 1 5 株自源乳酸菌的生理、生化鉴定结果

Table 1 Physiological and biochemical identification results of 5 self-sourced lactic acid bacteria

| 菌株 | 革兰氏染色 | 过氧化氢酶 | 明胶液化 | 产硫化氢 | 吲哚试验 | 乙酰甲基甲醇 |
|----|-------|-------|------|------|------|--------|
| E2 | + | - | - | - | - | - |
| C2 | + | - | - | - | - | - |
| D2 | + | - | - | - | - | - |
| M2 | + | - | - | - | - | - |
| P1 | + | - | - | - | - | - |

注:“+”表示阳性反应,“-”表示阴性反应。

表 2 5 株自源乳酸菌的碳源发酵试验结果

Table 2 Carbon source fermentation test results of 5 self-sourced lactic acid bacteria

| 菌株 | 七叶苷 | 纤维二糖 | 麦芽糖 | 甘露醇 | 水杨苷 | 山梨醇 | 蔗糖 | 棉子糖 | 菊糖 | 乳糖 |
|----|-----|------|-----|-----|-----|-----|----|-----|----|----|
| E2 | + | + | + | - | + | - | + | + | + | + |
| C2 | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + |
| D2 | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + |
| M2 | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + |
| P1 | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + |

注:“+”表示阳性反应,“-”表示阴性反应。

2.3 菌株的 16S rDNA 鉴定结果

将 5 株菌进行 16S rDNA 测序, 将测序结果与 NCBI 数据库进行 BLAST 同源性比对, 将菌株序列同源性高于 99% 的几株菌株进行 BLAST 分析, 构建系统发育树, 见图 1。通过分析结果, 可确定 E2 为肠膜明串珠菌 (*Leuconostoc mesenteroides*), C2、D2、M2、P1 为屎肠球菌 (*Enterococcus Faecium*)。

2.4 5 株自源乳酸菌的生长曲线及产酸性能

2.4.1 在 MRS 肉汤中的生长曲线 5 株自源乳酸菌在 MRS 肉汤中的生长曲线如图 2 所示。屎肠球菌 C2、D2、M2、P1 生长趋势大体相似, 无明显滞后期, 对数生长期内菌体数量增长平稳, 25~38 h 逐渐进入稳定期, 其中, 屎肠球菌 P1 在稳定期菌体含量高于其它 3 株屎肠球菌。肠膜明串珠菌 E2 有 2~3 h 的滞后期以适应生长环境, 5 h 后迅速进入对数生长期, 增长速率显著高于其它 4 株屎肠球菌, 15 h 时进入稳定期, 发酵 30 h 仍保持较高的菌体含量且高于其它 4 株屎肠球菌。

2.4.2 在 MRS 肉汤中的产酸性能 发酵液中的 pH 值和总酸含量可以很好地反映菌株的产酸性能, 其中 pH 值下降速率反映菌株对发酵基质的利用情况^[13], 发酵终点 pH 间接反映菌株的耐酸性。如图 3 和图 4 所示, 发酵液和产酸量的变化趋势相似, 5 株菌的发酵液在 0~20 h 内处于对数生长期, pH 值逐渐下降, 总酸含量逐渐上升。20 h 后处于稳定期, pH 值趋于平缓, 总酸含量上升幅度减缓。相比 4 株屎肠球菌, 肠膜明串珠菌 E2 在 MRS 肉汤中有更好的产酸性能, 40 h 左右将发酵液的 pH 值降至 4.29, 总酸含量升至 13.15 g/L, 说明利用肠膜明串珠菌 E2 接种发酵, 可使体系快速酸化, 将体系 pH 值降至较低水平。

2.5 乳酸菌的抗氧化能力

如图 5 所示, 5 株乳酸菌的 IC 组与 CFE 组均具有一定的 DPPH 自由基清除能力。4 株屎肠球菌的 IC 组的 DPPH 自由基清除率低于已报道的部分屎肠球菌菌株^[19,24]。肠膜明串珠菌 E2 的 IC 组和 CFE 组的 DPPH 自由基清除率均远高于屎肠球菌 ($P < 0.05$), 说明肠膜明串珠菌 E2 有较好的 DPPH 自由基清除率能力。5 株乳酸菌的 IC 组的 DPPH 清除率均高于 CFE 组, 说明清除 DPPH 自

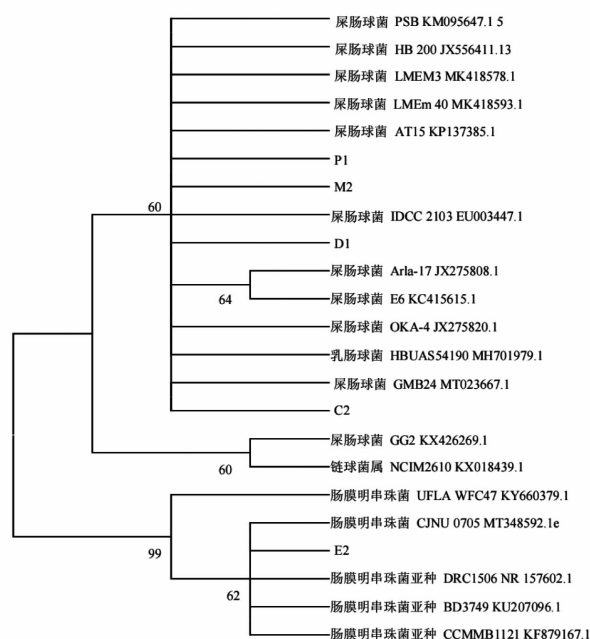


图 1 基于 16S rDNA 序列 5 株乳酸菌的系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree of 5 kinds of lactic acid bacteria based on 16S rDNA sequence

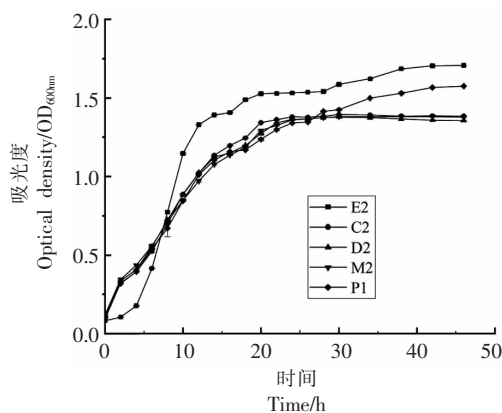


图 2 5 种乳酸菌在 MRS 肉汤中的生长曲线

Fig.2 Growth curve of 5 kinds of lactic acid bacteria in MRS broth

由基的活性物质主要存在于它们活细胞的表面, 与张香美等^[19]、夏海燕等^[25]的研究结果一致。

如图 6 所示, 肠膜明串珠菌 E2 和屎肠球菌 C2、M2、P1 的 IC 组 ABTS 自由基清除率高于 CFE 组, 说明这 4 株乳酸菌清除 ABTS 自由基的活性物质主要存在于菌体表面和代谢物中, 其中 E2、C2 和 M2 的 IC 组有相对较好的 ABTS 自由基清除能力。屎肠球菌 D2 的 CFE 组的 ABTS 清除率高于

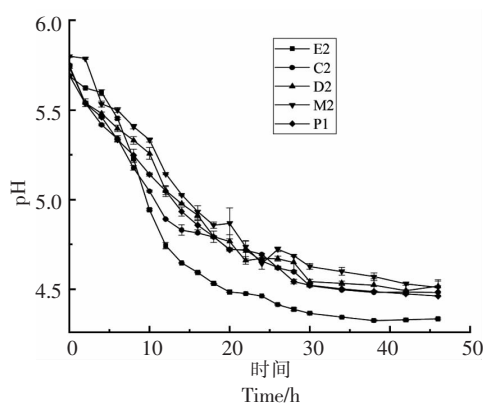


图3 5种乳酸菌在MRS肉汤中pH值的变化
Fig.3 The changes of pH value of 5 kinds of lactic acid bacteria in MRS broth

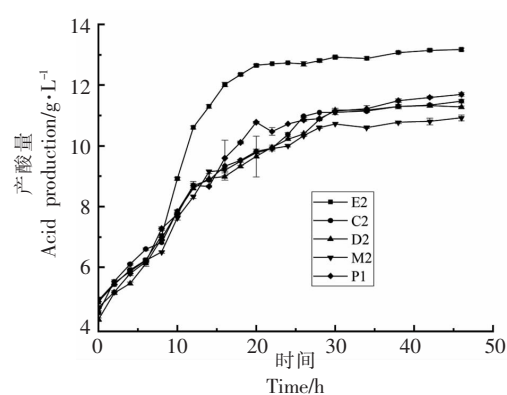
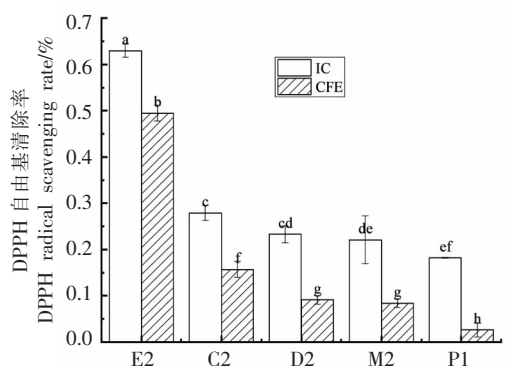


图4 5种乳酸菌在MRS肉汤中产酸量的变化
Fig.4 Changes in acid production of 5 kinds of lactic acid bacteria in MRS broth



注:图中不同小写字母表示不同组别间具有显著性差异 ($P < 0.05$),下同。

图5 5株自源乳酸菌菌悬液及无细胞提取物对DPPH自由基的清除率

Fig.5 The scavenging rate of DPPH free radicals by 5 strains of self-sourced lactic acid bacteria intact cell and cell-free extracts

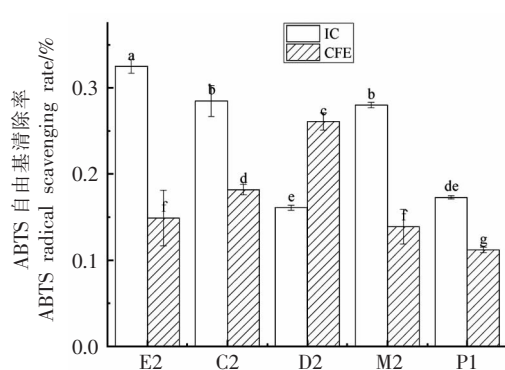


图6 5株自源乳酸菌菌悬液及无细胞提取物对ABTS自由基的清除率

Fig.6 The scavenging rate of ABTS free radicals by 5 strains of self-sourced lactic acid bacteria intact cell and cell-free extracts

IC组,与其它3株屎肠球菌相反,说明菌株清除ABTS自由基的活性物质的部位在同属菌种中也有一定差异^[26]。

乳酸菌的还原性能力也是衡量其抗氧化活性的指标之一^[27]。由图7可知,5株乳酸菌的IC组和CFE组均表现出一定的还原能力,5株菌IC组的还原能力差异性较小,肠膜明串珠菌E2的IC组还原能力较强,5株菌IC组的还原能力均显著高于CFE组,说明5株乳酸菌具有还原能力的活性物质均分布在细胞表面或代谢物中,胞内分布较少。

2.6 乳酸菌发酵西梅浆的抗氧化活性

相关研究^[28-29]表明,植物组织中的酚类物质通

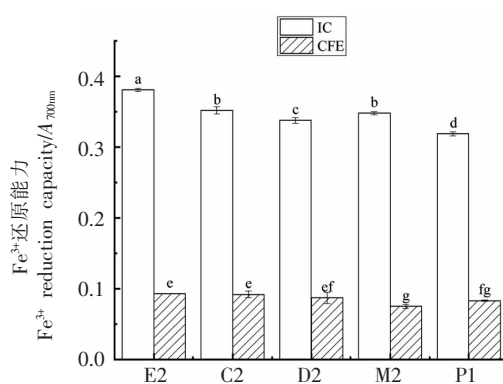


图7 5株自源乳酸菌菌悬液及无细胞提取物的还原能力

Fig.7 Reducing ability of 5 self-sourced lactic acid bacteria intact cell and cell-free extracts

过氢原子转移或单原子传递螯合金属离子清除自由基达到抗氧化效果。西梅汁中酚类物质含量丰富,发酵过程中西梅浆中酚类物质为主要抗氧化成分。乳酸菌发酵过程中通过自身繁殖代谢起到辅助抗氧化或维持抗氧化活性的作用。综上所述,乳酸菌发酵过程中的抗氧化能力是由果蔬中酚类物质与菌种自身决定。

如图 8 所示,对照组和发酵组总酚含量均呈下降趋势,相较于对照组,5 个发酵组的总酚含量 24 h 后下降幅度趋于平缓,且在发酵终点(96 h)的总酚含量均高于对照组,其中肠膜明串珠菌 E2 发酵西梅浆在 96 h 时总酚含量最高(583.16 mg/L),屎肠球菌 C2 次之(568.89 mg/L)。

如图 9、图 10 所示,对照组和发酵组的 DPPH 自由基清除率和 ABTS 自由基清除率均呈下降趋势,肠膜明串珠菌 E2 的 DPPH 自由基清除率下降速率较为平缓,发酵 96 h 时的 DPPH 自由基清除率远高于其余 4 个发酵组。对照组及屎肠球菌 D2、M2、P1 发酵组的 ABTS 自由基清除率在发酵 48 h 后快速下降,肠膜明串珠菌 E2 及屎肠球菌 C2 发酵 48 h 后 ABTS 自由基的清除率下降较为

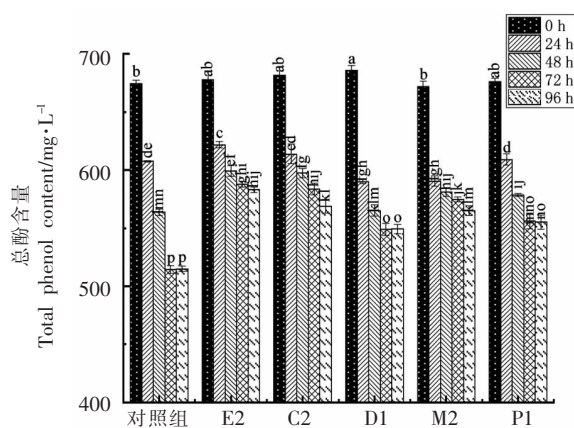


图 8 不同自源乳酸菌在发酵西梅浆过程中总酚含量的变化

Fig.8 The changes in the total phenol content of prunes pulp during fermentation of different self-sourced lactic acid bacteria

平缓,且在发酵终点(96 h)的 ABTS 自由基清除率高于其它组。

通过对比,肠膜明串珠菌 E2 和屎肠球菌 C2 在发酵西梅汁过程中保持较高的抗氧化活性,推断这 2 株更适合西梅浆发酵。

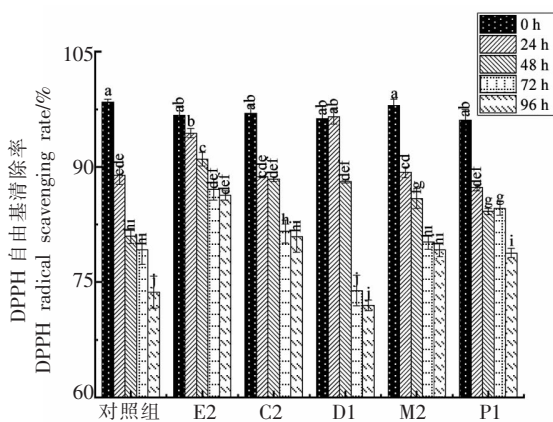


图 9 不同自源乳酸菌发酵西梅浆过程中 DPPH 自由基清除能力的变化

Fig.9 The changes in scavenging DPPH radical of prunes pulp during fermentation of different self-sourced lactic acid bacteria

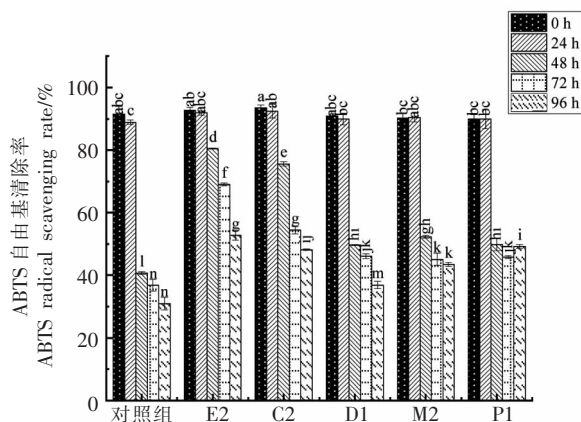


图 10 不同自源乳酸菌发酵西梅浆过程中 ABTS 自由基清除能力的变化

Fig.10 The changes in scavenging ABTS radical of prunes pulp during fermentation of different self-sourced lactic acid bacteria

3 结论

1) 从新疆“女神”西梅原浆中筛选出 5 株产酸性能较好且在西梅汁培养基中生长较好的乳酸

菌,经生理、生化鉴定及分子生物学鉴定,确定 E2 为肠膜明串珠菌,C2、D2、M2、P1 为屎肠球菌。

2) 肠膜明串珠菌 E2 在 MRS 肉汤中生长迅

速且产酸性能较好,经综合比对,肠膜明串珠菌 E2 和屎肠球菌 C2 的完整乳酸菌细胞悬液有较好的抗氧化能力。

3) 发酵西梅浆过程中,肠膜明串珠菌 E2 和屎肠球菌 C2 发酵组的总酚含量较高,抗氧化能力较为突出,适合西梅浆的发酵。

参 考 文 献

- [1] 王斐, 卢春生, 张平, 等. 欧洲李不同品种授粉结实性试验研究[J]. 新疆农业科学, 2010, 47(6): 1081-1083.
WANG F, LU C S, ZHANG P, et al. The studies on pollinated setting of different *P. domestica* L. varieties[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2010, 47(6): 1081-1083.
- [2] 杨艳, 陈润, 王琼. 西梅汁抗氧化作用动物实验研究[J]. 医学理论与实践, 2013, 26(6): 707-710.
YANG Y, CHEN R, WANG Q. Study on the antioxidative effect of prune juice in mice[J]. The Journal of Medical Theory and Practice, 2013, 26(6): 707-710.
- [3] 刘海丽, 葛声. 西梅防治骨质疏松症的研究进展[J]. 中国食物与营养, 2017, 23(3): 67-71.
LIU H L, GE S. Research advancements on prevention and treatment function of prunes for osteoporosis[J]. Food and Nutrition in China, 2017, 23(3): 67-71.
- [4] 努尔曼·阿布拉, 故丽米热·卡克什, 沙比尔江, 等. 西梅品种“法兰西”引种试验表现及栽培技术[J]. 新疆林业, 2011(6): 24-46.
NU E M, GU L M R, SHA B E J, et al. Introduction test performance and cultivation techniques of prune variety "France"[J]. Forestry of Xinjiang, 2011(6): 24-46.
- [5] XU X X, LUO D S, BAO Y J, et al. Characterization of diversity and probiotic efficiency of the autochthonous lactic acid bacteria in the fermentation of selected raw fruit and vegetable juices[J]. Frontiers in Microbiology, 2018(9): 9.
- [6] RAFFAELLA D, SURICO R F, SONYA S, et al. Selection and use of autochthonous mixed starter for lactic acid fermentation of carrots, French beans or marrows[J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 127(3): 220-228.
- [7] VERÓN H E, DI RISIO H D, ISLA M I, et al. Isolation and selection of potential probiotic lactic acid bacteria from *Opuntia ficus-indica* fruits that grow in Northwest Argentina[J]. LWT, 2017(84): 1-9.
- [8] NANCY J G, TONY S, PAULE O, et al. Champagne. Selection and characterization of mixed starter cultures for lactic acid fermentation of carrot, cabbage, beet and onion vegetable mixtures[J]. International Journal of Food Microbiology, 2001, 64(3): 261-275.
- [9] RAFFAELLA D, SURICO R F, PARADISO A, et al. Effect of autochthonous lactic acid bacteria starters on health-promoting and sensory properties of tomato juices[J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 128(3): 473-483.
- [10] RAFFAELLA D C, SURICO R F, MINERVINI G, et al. Use of autochthonous starters to ferment red and yellow peppers (*Capsicum annum* L.) to be stored at room temperature[J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 130(2): 108-116.
- [11] RAFFAELLA D C, SURICO R F, MINERVINI G, et al. Exploitation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) puree added of stem infusion through fermentation by selected autochthonous lactic acid bacteria[J]. Food Microbiology, 2011, 28(5): 900-909.
- [12] RAFFAELLA D C, CARDINALI G, MINERVINI G, et al. Taxonomic structure of the yeasts and lactic acid bacteria microbiota of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) and use of autochthonous starters for minimally processing[J]. Food Microbiology, 2010, 27(3): 381-389.
- [13] 王璐, 王伟伟, 王艳霞, 等. 果蔬发酵乳酸菌的筛选、鉴定及发酵性能分析[J]. 食品科学, 2020, 41(10): 166-171.
WANG L, WANG W W, WANG Y X, et al. Screening, identification and fermentation characteristics of lactic acid bacteria for fermentation of fruits and vegetables[J]. Food Science, 2020, 41(10): 166-171.
- [14] 马云. 软枣猕猴桃品质分析及乳酸菌发酵饮料的加工工艺优化[D]. 锦州: 锦州医科大学, 2019.
MA Y. Quality analysis of *Actinidia arguta* and processing technology optimization of lactic acid fermented beverage bacteria[D]. Jinzhou: Jinzhou Medical University, 2019.

- [15] 布坎南 R E, 吉本斯 N E. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 1995: 797-810.
BUCHANAN R E, GIBBONS B E. Bergey's manual of determinative bacteriology [M]. Beijing: Science Press, 1995: 797-810.
- [16] 凌代文. 乳酸细菌分类鉴定及实验方法[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999: 117-127.
LIN D W. Classification, identification and experimental methods of lactic acid bacteria[M]. Beijing: China Light Industry Press, 1999: 117-127.
- [17] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 食品中总酸的测定: GB/T 12456-2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008: 1-2.
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Determination of total acid in food: GB/T 12456-2008 [S]. Beijing: China Standards Press, 2008: 1-2.
- [18] 甘奕. 乳酸菌的特性研究及发酵山楂液对大鼠脂质代谢的影响[D]. 重庆: 西南大学, 2019.
GAN Y. The characteristics of lactic acid bacteria and the effect of fermented hawthorn juice on the lipid metabolism of rats [D]. Chongqing: Southwest University, 2019.
- [19] 张香美, 赵玉星, 闫晓晶, 等. 1株具抑菌和抗氧化活性乳酸菌的筛选及鉴定[J]. 食品科学, 2018, 39(2): 93-98.
ZHANG X M, ZHAO Y X, YAN X J, et al. Screening and identification of lactic acid bacterium with antimicrobial and antioxidant activity [J]. Food Science, 2018, 39(2): 93-98.
- [20] CHEN Y X, LIU X Y, XIAO Z, et al. Antioxidant activities of polysaccharides obtained from *Chlorella pyrenoidosa* via different ethanol concentrations [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016(91): 505-509.
- [21] LI X, LIN J, GAO Y, et al. Antioxidant activity and mechanism of *Rhizoma cimicifugae* [J]. Chemistry Central Journal, 2012, 6(1): 1-10.
- [22] FLORIN B, TAKASHI K, NAKO T, et al. The γ -aminobutyric acid-producing ability under low pH conditions of lactic acid bacteria isolated from traditional fermented foods of Ishikawa Prefecture, Japan, with a strong ability to produce ACE-inhibitory peptides [J]. Biotechnology Reports, 2016, 10(3): 105-110.
- [23] 唐思颖, 涂传海, 胡文秀, 等. 红茶菌发酵黄浆水的体外抗氧化活性[J]. 食品科学, 2019, 40(17): 1-6.
TANG S J, XU C H, HU W X, et al. Antioxidant activity of fermented soy whey with kombucha consortium [J]. Food Science, 2019, 40(17): 1-6.
- [24] 吴贝, 张盼望, 王喜亮, 等. 益生屎肠球菌 HDRsEfl 抗氧化性能评估[J]. 华中农业大学学报, 2016, 35(6): 98-103.
WU B, ZHANG P W, WANG X L, et al. Antioxidant performance evaluation of *Enterococcus faecium* HDRsEfl [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2016, 35(6): 98-103.
- [25] 夏海燕, 周思多, 张明喆, 等. 醉辣椒中益生乳酸菌的筛选及其功能特性[J]. 食品科学, 2019, 40(6): 93-99.
XIA H Y, ZHOU S D, ZHANG M Z, et al. Screening and functional characteristics of probiotics from Zuolajiao, a traditional fermented hot pepper product [J]. Food Science, 2019, 40(6): 93-99.
- [26] 卢佳音. 发酵蔬菜中菌的分离鉴定及其益生性研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2018.
LU J Y. The isolation, identification and probiotic properties of lactic acid bacteria from sauerkraut [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2018.
- [27] 蒋琰洁. 新疆传统乳制品中抗氧化乳酸菌的筛选及其特性的初步研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2015.
JIAN Y J. Screening and study of lactic acid bacteria in Xinjiang traditional dairy products with antioxidative activity [D]. Shihezi: Shihezi University, 2015.
- [28] LOFFREDO L, VIOLI F. Polyphenolic antioxidants and health[M]. Chocolate and Health. Milan: Springer, 2012: 89-93.
- [29] 符莎露, 吴甜甜, 吴春华, 等. 植物多酚的抗氧化和抗菌机理及其在食品中的应用[J]. 食品工业, 2016(6): 242-246.
FU S L, WU T T, WU C H, et al. Antioxidation and antibacterial mechanisms of Plant polyphenols and application in food industry [J]. The Food Industry, 2016(6): 242-246.

Screening and Identification of Lactic Acid Bacteria Fermenting Prunes and Studies on Their Antioxidant Properties

Dai Zhiwei, Kong Lingming*, Liu Wei, Zhang Yue, Yang Gang, Yilixiati·AIRETI
(College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830000)

Abstract In this paper, the traditional method of streaking was used to separate and purify the lactic acid bacteria in the prune puree. Through bromocresol purple MRS solid medium and prune juice solid culture, five lactic acid bacteria with better acid-producing performance and suitable for prune fermentation were preliminarily screened out. Through physiological and biochemical identification and 16S rDNA molecular biology identification, it was finally determined that 4 strains were *Enterococcus faecium* and 1 strain was *Leuconostoc mesenteroides*. The growth performance and acid production performance of 5 strains of lactic acid bacteria in MRS broth and the anti-oxidation performance of the strains themselves were determined. *Leuconostoc mesenteroides* E2 grows rapidly in MRS broth and had good acid-producing performance. Intact lactic acid bacteria cell suspensions of *Leuconostoc mesenteros* E2 and *Enterococcus faecium* C2 had good antioxidant capacity. The total phenol content, DPPH free radical scavenging rate, and ABTS free radical scavenging rate were used to compare the fermentation performance of 5 strains of lactic acid bacteria in prune juice. *Leuconostoc mesenteroides* E2 was more suitable for the fermentation of prune juice, and followed by *Enterococcus faecium* C2.

Keywords lactic acid bacteria; prune fermentation; screening and identification; antioxidant