

大豆种皮多糖对副干酪乳杆菌 6244 生长及肠道黏附性的影响

宋虹¹, 陈晨¹, 张尊琴¹, 杨立娜¹, 张亚茹², 张银旭³, 刘贺^{1*}

¹渤海大学食品科学与工程学院 辽宁锦州 121013

²阜新市药品检验所 辽宁阜新 123007

³锦州医科大学第一附属医院普通外科 辽宁锦州 121001)

摘要 目的:探究两种大豆种皮多糖对益生菌生长及肠道黏附性的影响。方法:通过对 OD_{600nm} 吸光度、生长代时及 pH 值的测定,分析大豆种皮多糖对副干酪乳杆菌 6244 增殖能力的影响。构建小鼠肠组织益生菌黏附模型,从黏附能力(表面疏水性、自聚力和共聚力)及肠道微环境的变化等研究大豆种皮多糖对副干酪乳杆菌 6244 生长及肠道黏附能力的影响。结果表明:0.5 mg/mL C-ASP 和 HW-ASP 培养显著加快了副干酪乳杆菌 6244 的生长速度,生长代时分别缩短至 4.08 h 和 4.69 h,然而对副干酪乳杆菌 6244 的产酸能力影响不显著。C-ASP 显著提高了副干酪乳杆菌 6244 表面疏水力及共聚力,促进胞外多糖、表层蛋白等黏附素的分泌,增加了副干酪乳杆菌 6244 在不同肠段的定植能力,尤其在空肠和回肠肠段其黏附率均提高了 32% 以上。结论:大豆种皮多糖促进了肠道内益生菌的增殖和黏附,改善了肠道微环境,有利于肠道益生菌发挥活性作用。

关键词 大豆种皮多糖; 副干酪乳杆菌; 增殖; 黏附

文章编号 1009-7848(2025)01-0142-09 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2025.01.014

益生菌发挥功能活性的重要前提是其能够在肠道上定植和黏附^[1-2]。益生菌的黏附性有利于维持肠黏膜形态和功能的完整性,调节肠道菌群的组成和代谢,抑制或排斥病原菌的生长和定植。细胞壁成分如表层蛋白、脂蛋白、胞外多糖等均可与肠道上皮黏液层的黏液蛋白结合,从而有效提高其黏附力^[3-4]。菌毛的存在也是益生菌(如双歧杆菌)增加其黏附能力的一种工具^[5]。益生菌通过非特异性作用黏附于肠道表面,此过程主要是受到细胞表面疏水性、静电作用及氢键等影响^[6-7]。益生菌的增殖需要营养供给,蛋白质和碳水化合物可作为益生菌的生长促进因子,对提高益生菌定植和调节肠道微环境具有重要作用^[8]。

我国作为世界主要的大豆生产国及消费国,年产量约为 1 900 万 t (2020 年),进口大豆约为 10 033 万 t^[9]。在初级豆制品加工过程中产生了大量的副产品。大豆种皮是大豆加工产生的一种副

产物,按 8% 的比例计算,我国每年的大豆种皮产量在 954 万 t 左右,目前大豆种皮主要被用作饲料,如何有效提升其附加值是亟需解决的问题。大豆种皮主要由 50% 半纤维素、30% 果胶和 20% 纤维素组成^[10],是一种潜在的植物多糖来源。研究发现大豆种皮多糖是一种由同型高聚半乳糖醛酸和 I 型鼠李半乳糖醛酸组成的果胶类多糖^[11],是一种潜在的益生元,对肠道菌群具有调控作用。然而,对于肠道益生菌黏附性能的影响未见报道。

本试验旨在通过测定益生菌的表面疏水力、自聚力及共聚力来评价添加大豆种皮多糖对副干酪乳杆菌 6244 非特异性黏附性的影响。采用小鼠肠组织益生菌黏附模型模拟人体真实肠道环境,测定肠道内多糖及蛋白含量的变化和生物被膜的生成量。使用扫描电镜观察菌株在小鼠肠组织上的黏附形态,研究大豆种皮多糖对肠道微环境及益生菌黏附能力的影响,为开发新型改善肠道稳态的膳食补充剂提供参考。

收稿日期: 2024-01-19

基金项目: 辽宁省自然科学基金面上项目(2023-MS-293); 辽宁省“兴辽英才计划”项目(XLYC2002039); 辽宁省“百千万人才工程”人选科技活动支持项目(LNBQW2019B0089)

第一作者: 宋虹,女,博士,讲师

通信作者: 刘贺 E-mail: liuhe2066@163.com

1 材料与方法

1.1 材料与设备

1.1.1 材料与试剂 大豆种皮多糖为实验室自制;戊二醛,上海麦克林生化科技有限公司;结晶

紫,上海源叶生物科技有限公司。其它化学试剂和溶剂均为分析纯级。

副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracasei*)6244, 中国工业微生物菌种保藏中心。

1.1.2 实验动物 8 周龄 C57BL/6 小鼠购自锦州医科大学实验动物中心。

1.1.3 仪器与设备 UV-2550 紫外-可见分光光度计,日本 Shimadzu 公司;ALC-210 精密分析天平,德国 Sartorius 公司;RE-3000 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;S-4800 扫描电子显微镜,日本 Hitachi 公司。

1.2 方法

1.2.1 大豆种皮多糖的制备 利用 Song 等^[12]的方法,得到热水提取法大豆种皮多糖(HW-ASP)和纤维素酶法大豆种皮多糖(C-ASP)。

1.2.2 益生菌生长特性的测定 将 1 mL 活化后菌液转移到无菌试管中,并用 9 mL 无菌氯化钠溶液(10 mg/mL)连续稀释。将 150 μ L 碳源培养基加入 96 孔板中,并接种 50 μ L 稀释后的菌液,置于生化培养箱中于 37 $^{\circ}$ C 培养 48 h,在 OD_{600nm} 处测定其的生长曲线。倍增时间由线性拟合益生菌生长对数期斜率计算得出,如式(1)所示。

$$GT = \frac{\ln 2}{k} \quad (1)$$

式中:GT 为倍增时间,h;k 为斜率。

1.2.3 益生菌表面疏水能力测定 将培养至对数生长期的菌液于 5 000 \times g 离心 15 min,菌体用 PBS 溶液(pH 7.2)洗 2 次,重悬于 PBS 中,调整菌悬液浓度为 1 \times 10⁸ CFU/mL。取 3 mL 菌悬液与 1 mL 有机试剂(二甲苯、氯仿和乙酸乙酯)混合,室温放置 10 min 后漩涡混匀 2 min,再于室温下放置 20 min。测定菌液与二甲苯混合前、后在波长 600 nm 处的吸光度,分别为 A₀ 和 A₁。利用以公式(2)计算益生菌表面疏水率(BATS)。

$$BATS(\%) = (1 - \frac{A_1}{A_0}) \times 100 \quad (2)$$

1.2.4 益生菌自聚能力测定 5 000 \times g 离心 15 min 收集菌体,PBS 洗涤 2 次后调整菌液浓度为 1 \times 10⁸ CFU/mL,取 2 mL 菌液置于离心管中,室温静置,分别在 1 h 和 4 h 后取上清液测量波长 600 nm 处的吸光度,PBS 作为空白对照。

$$SA(\%) = (1 - \frac{A_t}{A_0}) \times 100 \quad (3)$$

式中:A_t 为 1 h 和 4 h 后测得的吸光度;A₀ 为最初测得的吸光度。

1.2.5 益生菌共聚能力测定 使用 PBS 缓冲液洗涤并调节益生菌大肠杆菌菌液浓度 1 \times 10⁸ CFU/mL,分别取益生菌和大肠杆菌菌液 5 mL,37 $^{\circ}$ C 静置培养 5 h,分别测量混合前、后液菌的 OD_{600nm}。

$$CP(\%) = \frac{(A_0 + A_x) - 2A_{mix}}{A_0 + A_x} \times 100 \quad (4)$$

式中:A₀ 为益生菌初始吸光度;A_x 为大肠杆菌初始吸光度;A_{mix} 为培养 5 h 后测得的吸光度。

1.2.6 基于小鼠肠组织的副干酪乳杆菌 6244 黏附模型的建立 选择健康成年 8 周龄小鼠,脱颈处死后,酒精浸泡 5 min 后,于超净台中解剖。使用无菌器械去除肠组织外部的膜、血管和脂肪、肠内容物等。取小鼠肠段,按其生理结构分为十二指肠、空肠、回肠、盲肠、结肠,各肠段置于无菌平皿中,用 0.01 mol/L PBS 缓冲液在 4 $^{\circ}$ C 下洗涤,用无菌刀片将每个肠段分成 5 mm 长的肠组织。将各组肠组织分别平铺于 24 孔板内,肠黏膜层朝上。PBS 缓冲液洗涤并调节益生菌菌液浓度至 1 \times 10⁸ CFU/mL,每孔接种菌液 1 mL,PBS 作为空白对照。将孔板置于恒温摇床培养箱中培养,温度为 37 $^{\circ}$ C,转速为 100 r/min,培养时间为 120 min。

1.2.7 益生菌黏附率测定 取与副干酪乳杆菌 6244 共培养的肠段,加入 1 mL 的 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液,并将肠组织剪碎成匀浆,收集备用。将收集的菌液按照梯度稀释(10⁻¹,10⁻²,10⁻³,10⁻⁴,10⁻⁵,10⁻⁶),活菌计数,按照式(5)计算黏附率。

$$\text{黏附率}(\%) = \frac{A-B}{A} \times 100 \quad (5)$$

式中:A 为细菌总数,CFU/mL;B 为未黏附的细菌数,CFU/mL。

1.2.8 益生菌黏附肠道的外观形貌 取与副干酪乳杆菌 6244 共培养的肠段,置于无菌 24 孔板中,用 2 mL 2.5%戊二醛固定 4 h;用 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.2)洗涤 3 次;固定后的肠段用蒸馏水清洗 3 次;冷冻干燥 18 h。将肠段置于样品台上,喷金镀膜,在扫描电镜下观察肠道的微观形貌,放大倍数为 5 000 \times 。

1.2.9 肠道内环境指标测定 采用苯酚硫酸法测

定小鼠肠组织益生菌黏附模型中多糖的含量变化。采用 BCA 试剂法测定小鼠肠组织益生菌黏附模型中蛋白的含量变化。在 Rajamani 等^[13]结晶紫染色法的基础上,对生物膜生物量的测定进行改进。取肠组织匀浆液 200 μL ,加入 200 μL 10 mg/L 结晶紫,培养 15 min 后,使用 0.1 mol/L PBS 洗涤样品 3 次,然后加入 1 mL 95%乙醇,取 200 μL 转移到 96 孔板上,在波长 570 nm 处测定吸光度。

1.3 数据处理与分析

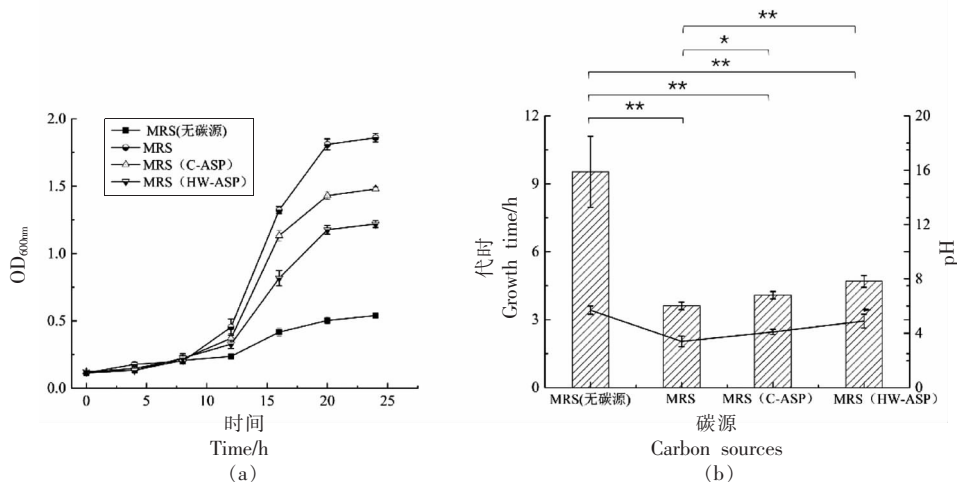
所有数值均以“平均值 \pm 标准偏差”表示。采用 SPSS 22.0 软件进行 ANOVA 单因素方差分析,以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 为显著性检验水平。

2 结果与分析

2.1 大豆种皮多糖对副干酪乳杆菌 6244 增殖作用的影响

非消化性的多糖通常是由多个单糖分子聚合,以糖苷键连接而成,形成直链或者有分支的长链大分子物质,具有促进益生菌生长的益生元功能。益生菌的生长需要碳源、氮源等营养物质的供给。MRS 培养基是一种常用的益生菌培养物,其碳源为葡萄糖,氮源为酵母提取物、牛肉提取物和

蛋白胨。本研究以不同方法提取大豆种皮多糖(HW-ASP、C-ASP),在缺少碳源的 MRS 培养基中加入等量的大豆种皮多糖,探讨其对副干酪乳杆菌 6244 生长的影响。发现培养 24 h 后,C-ASP、HW-ASP 均可促进副干酪乳杆菌 6244 增殖,显著优于空白对照(不含碳源)($P<0.05$)(图 1)。根据副干酪乳杆菌 6244 的生长曲线计算其生长代时,如图 1b 所示,C-ASP、HW-ASP 替换培养基中葡萄糖的生长代时与无碳源 MRS 实验组生长代时相比均显著降低,即生长代时由 9.53 h 缩短至 4.08 h 和 4.69 h。以不同提取方法获得的大豆种皮多糖作为碳源可以刺激益生菌的生长,表明 C-ASP 和 HW-ASP 是良好的生长基质,其中 C-ASP 对益生菌的增殖作用优于 HW-ASP。不同多糖的益生元效应存在差异,可能与单糖含量及分子质量不同密切相关^[12]。益生菌的产酸能力是评价其生长状态的指标之一。利用 C-ASP、HW-ASP 和葡萄糖作为碳源培养益生菌测定其酸化活性,结果如图 1b 所示。与副干酪乳杆菌 6244 共培养 24 h 后,培养基的 pH 值与无碳源培养基相比均显著降低($P<0.05$),而 MRS 组与 C-ASP 组、HW-ASP 组之间培养基的 pH 值无显著差异。



注: * 组间具有显著性差异($P<0.05$), ** 组间具有显著性差异($P<0.01$)。

图 1 副干酪乳杆菌 6244 生长曲线(a)和生长代时(b)

Fig.1 The growth curve (a) and growth time (b) of *Lactobacillus paracei* 6244

2.2 大豆种皮多糖对副干酪乳杆菌 6244 黏附作用的影响

黏附是一个复杂的过程,涉及非特异性(细胞表面的相互作用)和特异性(配体-受体相互作用)^[14]。

疏水性和自聚集能力是益生菌黏附在生物或非生物表面的重要特性^[15]。Souza 等^[16]研究发现疏水性越高的细菌能更好地与上皮细胞结合,从而在一定程度上影响黏附能力。细菌表面疏水性和自聚

集能力的强弱主要取决于细菌表面非极性基团的数量,并与表面蛋白质、细菌毛发和足细胞的结构有关^[17],疏水性越强的菌株黏附能力越强。益生菌共同聚集能力可能形成一种阻止病原微生物定植的屏障。益生菌与肠道病原菌的共聚集,可以使肠道环境中的病原菌更容易被清除,而产生抑制物质的乳酸菌与病原菌的凝集有助于宿主抵抗病原感染^[18]。

本文测定了副干酪乳杆菌 6244 对二甲苯、氯仿和乙酸乙酯 3 种有机溶剂的疏水能力,试验结果见表 1。HW-ASP 和 C-ASP 培养的菌株在二甲苯中的表面疏水能力优于 MRS 培养的菌株。菌株

对氯仿和乙酸乙酯的疏水能力是评价细菌表面路易斯(Lewis)酸-碱特性的指标^[19]。添加了 HW-ASP 和 C-ASP 对菌株在氯仿溶液中的表面疏水能力影响较低。添加 HW-ASP 和 C-ASP 培养菌株显著降低了在乙酸乙酯中的表面疏水能力 ($P < 0.05$)。副干酪乳杆菌 6244 在 3 种有机试剂中均表现出一定的疏水能力,间接表明菌株可能具有较强的黏附能力。含有不同碳源的培养基培养副干酪乳杆菌 6244,对菌株表面的表层蛋白和胞外多糖的表达可能会产生影响,因此表现出不同的疏水性能^[6]。

表 1 不同碳源对副干酪乳杆菌 6244 表面疏水性的影响

Table 1 Effect of different carbon sources on surface hydrophobicity of *Lactobacillus paracasei* 6244

名称	二甲苯/%	氯仿/%	乙酸乙酯/%
MRS	34.77 ± 0.52 ^{Bb}	39.52 ± 0.57 ^{Aa}	33.03 ± 0.99 ^{Aa}
MRS(C-ASP)	39.33 ± 1.91 ^{Aa}	45.10 ± 1.40 ^{Aa}	30.32 ± 2.57 ^{Bab}
MRS(HW-ASP)	40.70 ± 0.84 ^{Aa}	41.39 ± 0.74 ^{Aa}	28.71 ± 0.36 ^{Bb}

注:同一列不同肩标小写字母表示组间存在显著差异($P < 0.05$),同一行不同肩标大写字母表示组间存在显著差异($P < 0.05$)。

由表 2 可知,静置 1 h 后,与 MRS 培养相比,C-ASP 和 HW-ASP 对菌株的自聚力均无显著影响($P > 0.05$)。副干酪乳杆菌 6244 的自聚集力随着培养时间的延长而增加,可能是因为菌株表面的糖类和蛋白表达增加,逐渐增强其自聚能力。菌液在培养 4 h 后,添加了 C-ASP 和 HW-ASP 培养的副干酪乳杆菌 6244 的自聚力显著增强,这与 Tang

等^[20]研究结果相似,菌株的自聚能力随时间的延长而增强,在室温下培养 24 h 后的自聚力达到最高。相比于 MRS 培养副干酪乳杆菌 6244,添加 C-ASP 对菌株共聚集力无显著影响,而添加 HW-ASP 培养菌株显著降低其共聚集力($P < 0.05$)。共聚集力的降低可能会影响益生菌在肠道中的定植和存活,致病风险会增加。

表 2 不同碳源对副干酪乳杆菌 6244 的自聚力和共聚力的影响

Table 2 Effect of different carbon sources on the self-cohesion and copolymerization of *Lactobacillus paracasei* 6244

名称	自聚力/%		共聚力/%
	1 h	4 h	
MRS	16.92 ± 1.05 ^a	40.30 ± 1.00 ^b	24.93 ± 1.01 ^a
MRS(C-ASP)	18.28 ± 0.81 ^a	45.22 ± 0.57 ^a	26.24 ± 2.18 ^a
MRS(HW-ASP)	17.49 ± 1.53 ^a	43.56 ± 1.08 ^a	21.56 ± 0.63 ^b

注:同一列不同肩标小写字母表示组间存在显著差异($P < 0.05$)。

为了准确地评价细菌的肠道黏附能力,建立了基于小鼠肠组织的副干酪乳杆菌 6244 黏附模型,其中益生菌黏附率是直接反映其黏附能力的重要指标。副干酪乳杆菌 6244 在不同的肠道位置的黏附能力差异如图 2 所示。添加了 C-ASP 和

HW-ASP 对菌株在十二指肠的黏附率影响较小。在空肠中,MRS 培养的副干酪乳杆菌 6244 黏附率为 (36.73 ± 1.18)% ,C-ASP 组和 HW-ASP 组的菌株黏附率分别为 (49.29 ± 1.61)% 和 (54.17 ± 7.25)% ,C-ASP 组和 HW-ASP 组的菌株黏附率显著高于

MRS 组。在回肠中,与 MRS 组的(38.91±5.44)%结果比较,C-ASP 组黏附率为(51.39±2.58)%,显著提高菌株在回肠肠道内的黏附率($P<0.05$),HW-ASP 组黏附率为(42.89±4.87)%,HW-ASP 组对菌株的黏附率影响较小。在盲肠中,C-ASP 组黏附率为(36.69±5.86)%,其黏附效果优于 HW-ASP 组的(27.14±1.46)%,而与 MRS 组的黏附率(31.93±4.56)%无显著性差异。在结肠中,与 MRS 组相比,添加了 HW-ASP 培养的菌株在结肠内的黏附率显著提高,而添加 C-ASP 组的黏附率显著下降($P<0.05$)。

如图 3 所示,扫描电镜放大 5 000 倍下可以直观地观测到添加了 C-ASP 和 HW-ASP 培养副干酪乳杆菌 6244 在肠组织上的黏附状况。在菌株与肠组织共培养 4 h 后,观察到各组的副干酪乳杆菌 6244 紧密地黏附在肠组织表面。

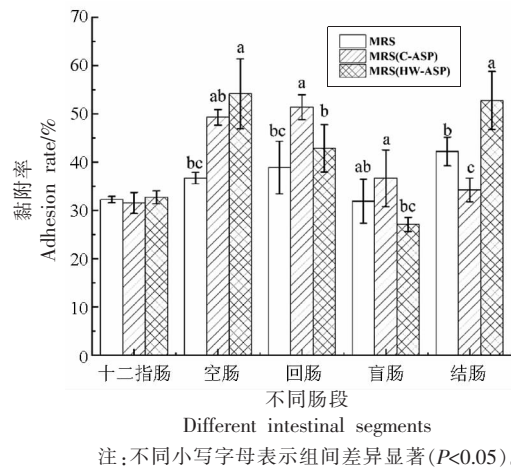
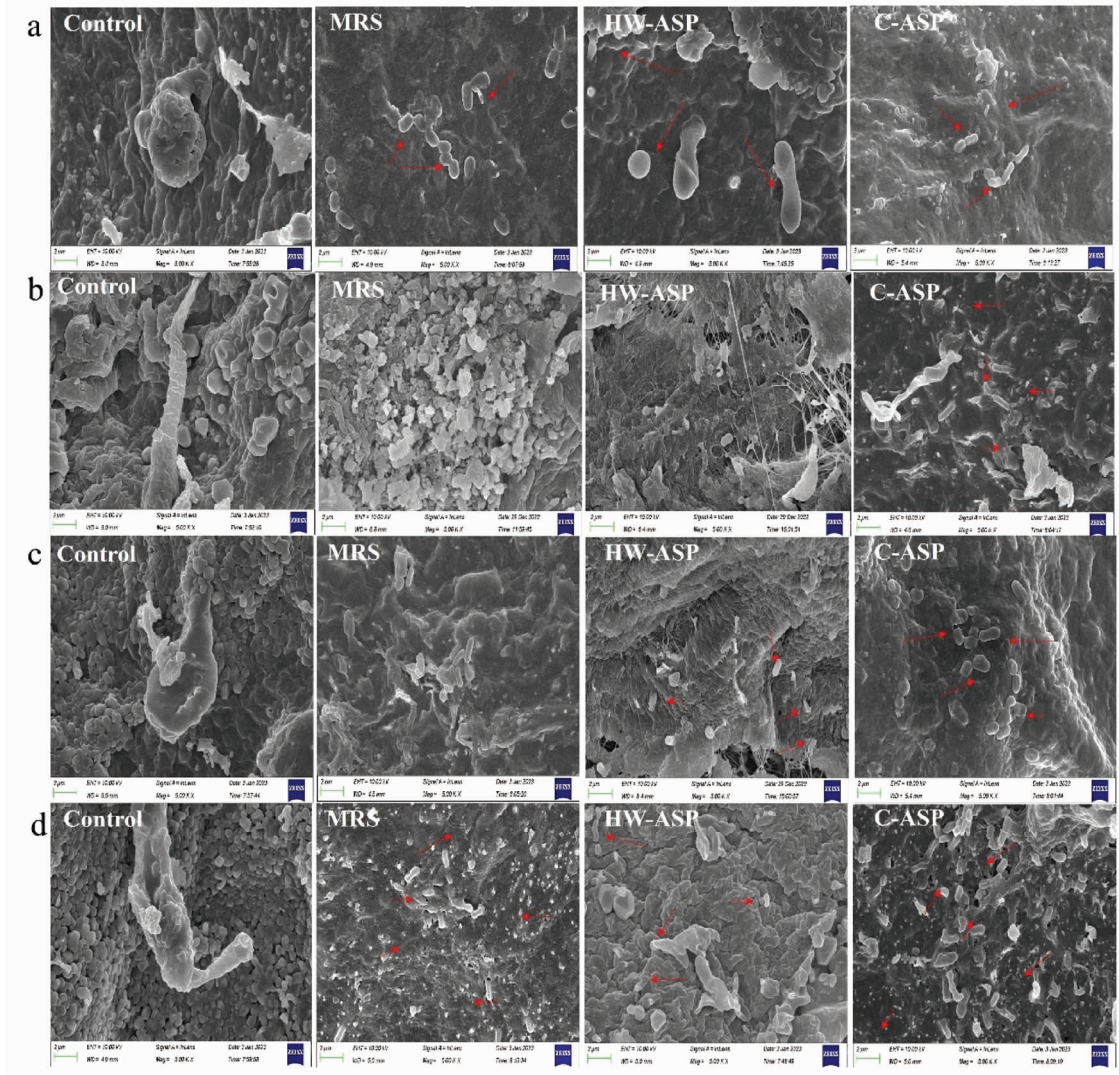
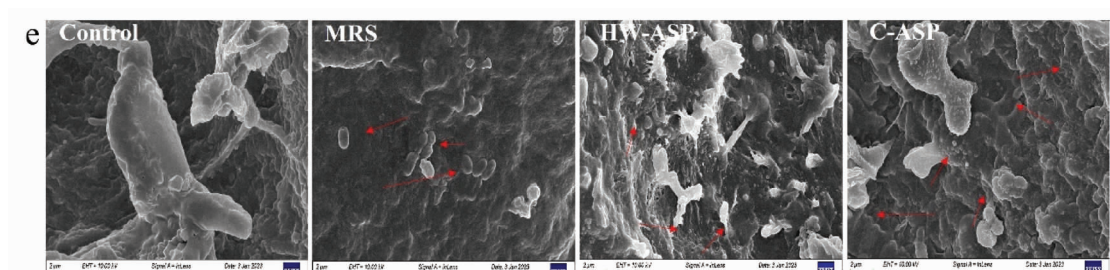


图 2 副干酪乳杆菌 6244 体外肠道黏附性分析
Fig.2 Analysis of intestinal adhesion of *Lactobacillus paracei* 6244 in vitro





注:a. 十二指肠;b. 空肠;c. 回肠;d. 盲肠;e. 结肠。

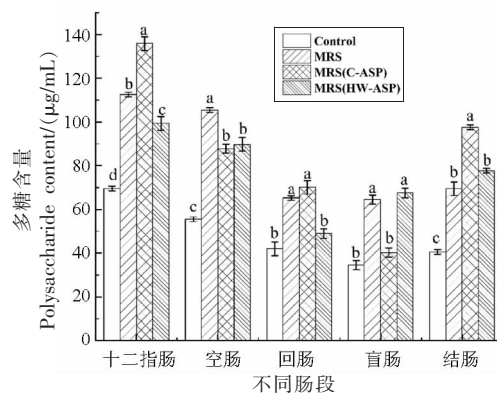
图 3 副干酪乳杆菌 6244 在肠道黏附扫描电镜分析 (5 000×)

Fig.3 Scanning electron microscopic analysis of *Lactobacillus paracasei* 6244 in intestinal adhesion (5 000×)

2.3 大豆种皮多糖对副干酪乳杆菌 6244 致肠道环境指数变化的影响

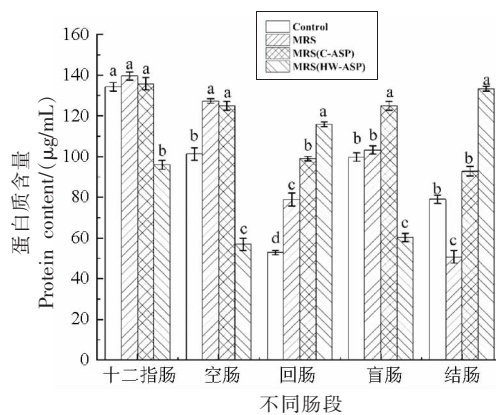
肠道多糖含量反映了益生菌分泌的胞外多糖和益生菌降解黏多糖两者含量变化的总和^[21]。图 4 显示了分别添加 C-ASP 和 HW-ASP 培养的副干酪乳杆菌 6244 在各肠段黏附引起的多糖含量的变化。在各肠段,与空白组相比,MRS 组、C-ASP 组和 HW-ASP 组的副干酪乳杆菌 6244 黏附显著提高了肠段内多糖含量 ($P<0.05$)。与 MRS 组相比,十二指肠与结肠中 C-ASP 组副干酪乳杆菌 6244 黏附显著提高了肠段内多糖含量 ($P<0.05$),在空肠与盲肠中,C-ASP 组副干酪乳杆菌 6244 黏附显著降低了肠段内多糖含量 ($P<0.05$),与回肠组的多糖含量无显著性差异;另外研究发现,与 C-ASP 组相比,在十二指肠、回肠及结肠中 HW-ASP 组副干酪乳杆菌 6244 黏附显著降低了肠段内多糖含量 ($P<0.05$),只有在盲肠中显著提高了肠段内多糖含量 ($P<0.05$)。综上所述,C-ASP 培养促进了副干酪乳杆菌 6244 在十二指肠、回肠、结肠细胞外多糖分泌,HW-ASP 培养促进了副干酪乳杆菌 6244 在盲肠的细胞外多糖分泌。副干酪乳杆菌 6244 可能是通过调整各肠段内多糖的含量,来调节菌株在肠道的黏附,改善肠道微环境,起到保护肠道屏障的作用^[15]。

益生菌在生长过程中会分泌表层蛋白,可促进菌株黏附,使其在肠道中定植^[22]。如图 5 所示,在十二指肠中,MRS 组和 C-ASP 组的副干酪乳杆菌 6244 黏附对肠段内蛋白含量变化影响较小,HW-ASP 组显著降低了肠道内蛋白含量 ($P<0.05$)。在空肠中,与空白组相比,MRS 组和 C-ASP 组的菌株黏附均显著提高了肠道内的蛋白含量,HW-



注:不同小写字母表示组间差异显著 ($P<0.05$)。

图 4 C-ASP 和 HW-ASP 对各肠段多糖含量的影响
Fig.4 Effect of C-ASP and HW-ASP on the content of intestinal polysaccharides



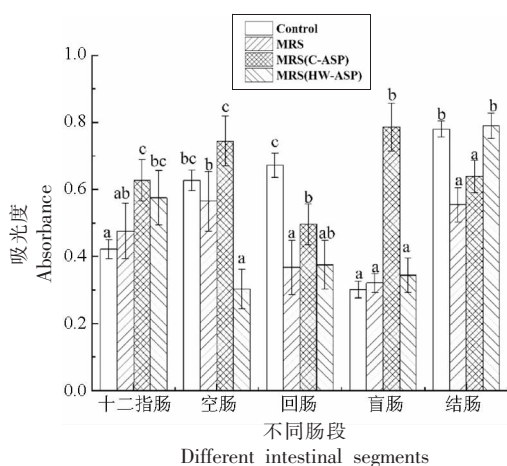
注:不同小写字母表示组间差异显著 ($P<0.05$)。

图 5 C-ASP 和 HW-ASP 对各肠段蛋白含量的影响
Fig.5 Effects of C-ASP and HW-ASP on the protein content of each intestine

ASP 组显著降低了肠道内蛋白含量 ($P<0.05$)。在回肠中,各组菌株的黏附均能显著提高肠道内蛋

白含量。在盲肠中,添加 C-ASP 培养的菌株黏附显著提高了肠道内蛋白含量($P<0.05$)。在结肠中,HW-ASP 组的肠道内蛋白含量显著高于 MRS 组与 C-ASP 组。肠道内蛋白含量的增加可刺激益生菌黏附于肠道,产生肠道黏液,抑制致病菌定植,能更好的发挥益生活性^[15]。

生物膜也称为生物被膜,是指附着于有生命或无生命物体表面被细菌胞外大分子包裹的有组织的细菌群体。在十二指肠中,与空白组相比,MRS 组、C-ASP 组和 HW-ASP 组显著提高了肠道内生物被膜量($P<0.05$)。在空肠中,添加 C-ASP 的菌株黏附显著提高了肠道内生物被膜的生物量,MRS 组的副干酪乳杆菌 6244 黏附对肠道内生物被膜量影响较小,而 HW-ASP 较空白组显著降低了肠道内生物被膜的生物量。在回肠中,各组副干酪乳杆菌 6244 的黏附均显著降低了肠道内生物被膜的生物量($P<0.05$)。在盲肠中,与空白的盲肠肠组织相比,C-ASP 组的肠道内生物被膜量显著升高,而其它组的副干酪乳杆菌 6244 黏附对肠道内生物被膜量影响较小。在结肠中,与空白组比较,除 HW-ASP 组的肠道内生物被膜量变化较小,MRS 组和 C-ASP 组的副干酪乳杆菌 6244 黏附显著降低了肠道内生物被膜的生物量($P<0.05$)。菌株在肠道内形成生物被膜的能力越高,越能促进菌株在肠道的黏附。



注:不同小写字母表示组间差异显著($P<0.05$)。

图6 C-ASP 和 HW-ASP 对各肠道生物被膜量的影响

Fig.6 The effect of C-ASP and HW-ASP on the amount of intestinal biofilm

3 结论

本研究采用 2 种提取方法获得的大豆种皮多糖培养副干酪乳杆菌 6244, 比较 C-ASP 和 HW-ASP 对副干酪乳杆菌 6244 生长曲线、生长代时、产酸能力的影响。C-ASP 培养显著加快了副干酪乳杆菌 6244 的生长速度, 两种大豆种皮多糖的添加对副干酪乳杆菌 6244 的产酸能力影响不大。基于小鼠肠道组织的益生菌黏附模型, 评价 C-ASP 和 HW-ASP 对副干酪乳杆菌 6244 在各肠段黏附能力和肠道微环境的影响。与 HW-ASP 相比,C-ASP 更能促进副干酪乳杆菌 6244 分泌胞外多糖、表层蛋白等黏附素, 增加副干酪乳杆菌 6244 在不同肠段的定植能力。大豆种皮多糖的添加也影响了副干酪乳杆菌 6244 的疏水性、自聚集力和共聚能力。大豆种皮多糖对益生菌增殖效应及黏附能力的促进作用, 有助于开发其作为改善肠道稳态的膳食补充剂。

参 考 文 献

- [1] RANADHEERA C S, EVANS C A, ADAMS M C, et al. *In vitro* analysis of gastrointestinal tolerance and intestinal cell adhesion of probiotics in goat's milk ice cream and yogurt[J]. Food Research International, 2012, 49(2): 619-625.
- [2] LIU M M, SUN Z H, SHI C S, et al. How do *Lycium barbarum* polysaccharides promote the adhesion of *Lactobacillus* to Caco-2 cells?[J]. Journal of Functional Foods, 2022, 89: 104929.
- [3] MUTAMED M A, ABDELMONEIM K A, NADIA S A, et al. Invited review: Characterization of new probiotics from dairy and nondairy products—Insights into acid tolerance, bile metabolism and tolerance, and adhesion capability[J]. Journal of Dairy Science, 2021, 104(8): 8363-8379.
- [4] BHAT M I, SINGH V K, SHARMA D, et al. Adherence capability and safety assessment of an indigenous probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* MTCC-5897[J]. Microbial Pathogenesis, 2019, 130: 120-130.
- [5] 吕秀莉, 岳莹雪, 平丽筠, 等. 益生菌黏附机制及其拮抗肠道致病菌研究进展[J]. 食品科学, 2022, 44(9): 313-320.

- LÜ X L, YUE Y X, PING L J, et al. Research progress on the adhesion mechanism and antagonistic effects against intestinal pathogens of probiotics [J]. Food Science, 2022, 44(9): 313–320.
- [6] DUBEY V, MISHRA A K, GHOSH A R. Cell adherence efficacy of probiotic *Pediococcus pentosaceus* GS4 (MTCC 12683) and demonstrable role of its surface layer protein (Slp)[J]. Journal of Proteomics, 2020, 226: 103894.
- [7] HOJJATI M, BEHABAHANI B A, FALAH F. Aggregation, adherence, anti-adhesion and antagonistic activity properties relating to surface charge of probiotic *Lactobacillus brevis* gp104 against *Staphylococcus aureus* [J]. Microbial Pathogenesis, 2020, 147: 104420.
- [8] ZHANG C, ZHANG Y X, LI H, et al. The potential of proteins, hydrolysates and peptides as growth factors for *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*: Current research and future perspectives [J]. Food & Function, 2020, 11(3): 1946–1957.
- [9] WU Y S, WANG E L, GONG W Z, et al. Soybean yield variations and the potential of intercropping to increase production in China [J]. Field Crops Research, 2023, 291: 108771.
- [10] LIU H M, WANG F Y, LIU Y L. Hot-compressed water extraction of polysaccharides from soy hulls [J]. Food Chemistry, 2016, 202: 104–109.
- [11] SONG H, HAN L, ZHANG Z Q, et al. Structural properties and bioactivities of pectic polysaccharides isolated from soybean hulls [J]. LWT—Food Science and Technology, 2022, 170: 114079.
- [12] SONG H, ZHANG Z Q, LI Y X, et al. Effects of different enzyme extraction methods on the properties and prebiotic activity of soybean hull polysaccharides [J]. Heliyon, 2022, 8(11): e11053.
- [13] RAJAMANI S, SANDY R, KOTA K, et al. Robust biofilm assay for quantification and high throughput screening applications [J]. Journal of Microbiological Methods, 2019, 159: 179–185.
- [14] OKOCHI M, SUGITA T, ASAI Y, et al. Screening of peptides associated with adhesion and aggregation of *Lactobacillus rhamnosus* GG *in vitro* [J]. Biochem Eng J, 2017, 128: 178–185.
- [15] LIU G Y, CHU M, NIE S Y, et al. Effects of *Il-isha elongata* protein, soy protein and whey protein on growth characteristics and adhesion of probiotics [J]. Current Research in Food Science, 2022, 5: 2125–2134.
- [16] SOUZA B D, BORGONOV I T F, CASAROTTI S N, et al. *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus fermentum* strains isolated from mozzarella cheese: Probiotic potential, safety, acidifying kinetic parameters and viability under gastrointestinal tract conditions [J]. Probiotics & Antimicrobial Proteins, 2018, 11: 382–396.
- [17] REMUS D M, KLEEREBEZEM M, BRON P A. An intimate tête-à-tête – how probiotic *Lactobacilli* communicate with the host [J]. European Journal of Pharmacology, 2011, 668: S33–S42.
- [18] GARCÍA-CAYUELA T, KORANY A M, BUSTOS I, et al. Adhesion abilities of dairy *Lactobacillus plantarum* strains showing an aggregation phenotype [J]. Food Research International, 2014, 57: 44–50.
- [19] 张莉. 植物乳杆菌的黏附特性研究及其在益生菌干酪中的应用 [D]. 长春: 吉林大学, 2013.
- ZHANG L. Study on adhesion properties of *Lactobacillus plantarum* and applications in probiotic cheese [D]. Changchun: Jilin university, 2013.
- [20] TANG H Q, QIAN B J, XIA B, et al. Screening of lactic acid bacteria isolated from fermented *Cornus officinalis* fruits for probiotic potential [J]. Journal of Food Safety, 2018, 38(6): e12565.
- [21] LIU G Y, CHU M, XU P, et al. Effects of *Il-isha elongata* proteins on proliferation and adhesion of *Lactobacillus plantarum* [J]. Food Chemistry: X, 2022, 13: 100206.
- [22] LAZADO C C, CAIPANG C M A, BRINCHMANN M F, et al. *In vitro* adherence of two candidate probiotics from Atlantic cod and their interference with the adhesion of two pathogenic bacteria [J]. Veterinary Microbiology, 2011, 148(23): 252–259.

Effects of Soybean Hull Polysaccharides on the Growth and Adhesion of *Lactobacillus paracasei* 6244

SONG Hong¹, CHEN Chen¹, ZHANG Zunqin¹, YANG Lina¹, ZHANG Yaru², ZHANG Yinxu³, LIU He^{1*}

¹College of Food Science and Technology, Bohai University, Jinzhou 121013, Liaoning

²Fuxin Institute for Drug Control, Fuxin 123007, Liaoning

³Department of General Surgery, The First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning)

Abstract Purpose: To explore the effect of soybean hull polysaccharides on the growth and adhesion of probiotics. Methods: The absorbance of OD_{600nm}, growth time and pH value were explored to analyze the proliferation capacity of *Lactobacillus paracasei* 6244. A mouse intestinal probiotic adhesion model was established to study the effects of soybean hull polysaccharides on the adhesion capacity of *Lactobacillus paracasei* 6244 from measuring the changes of auto-aggregation, co-aggregation, hydrophobicity and intestinal microenvironment. The results showed that 0.5 mg/mL C-ASP and HW-ASP significantly accelerated the growth rate of *Lactobacillus paracasei* 6244, shortened the growth time to 4.08 h and 4.69 h, respectively, but had no significant effect on the acid-producing capacity of *Lactobacillus paracasei* 6244. In addition, C-ASP can significantly improve the surface hydrophobicity and co-aggregation of *Lactobacillus paracasei* 6244, promoted the secretion of exopolysaccharides, surface proteins and other adhesins and intestinal mucus, and increased the colonization of *Lactobacillus paracasei* 6244 in different intestinal tissue, especially in the jejunum and ileum segments, the adhesion rate of *Lactobacillus paracasei* 6244 increased by more than 32%. Conclusion: Soybean hull polysaccharide can promote the proliferation and adhesion of intestinal probiotics, which is conducive to the active role of intestinal probiotics and the improvement of intestinal microenvironment.

Keywords soybean hull polysaccharides; *Lactobacillus paracasei*; proliferation; adhesion