

辣木叶水提醇溶物对干酪乳酪杆菌的促生长作用

罗开莲^{1,2,3}, 田洋^{4*}, 李亚南³, 毕学员³, 张晓迪³, 赵艳⁵, 盛军¹, 高晓余^{1,2,3*}

¹ 食药同源资源开发与利用教育部工程研究中心 昆明 650201

² 云南省精准营养与个性化食品制造重点实验室 昆明 650201

³ 云南农业大学食品科学技术学院 昆明 650201

⁴ 普洱学院 云南普洱 665000

⁵ 云南农业大学科技处 昆明 650201

摘要 目的:系统评价辣木叶提取物对乳杆菌属微生物生长的影响,并探究其促生作用特点。方法:通过体外纯培养法评估辣木叶提取物对乳杆菌生长的影响,筛选具有促进作用的“辣木叶提取物-乳杆菌”组合。利用植物MRM广泛靶向代谢组学技术检测辣木叶水提醇溶物的主要物质构成,并从生物膜特性、胞外蛋白、总糖和还原糖含量、耐冻和耐盐能力等方面评价其促生作用特点。结果:辣木叶水提物和辣木叶水提醇溶物对乳杆菌的生长主要表现为较低的促进或抑制作用,辣木叶水提醇溶物可在低含量(0.08%)下刺激干酪乳酪杆菌(LCA)的生长,促进率达16.63%。辣木叶水提醇溶物富含黄酮类、氨基酸类和核苷酸类等物质,可促进LCA生物膜的形成并增加生物膜的黏附性、表面疏水性以及酸碱电荷。同时促进胞外蛋白含量分泌,增加还原糖和总糖的含量($P < 0.01$),还显著提高了LCA的抗冻能力以及 β -半乳糖苷酶的活性($P < 0.01$)。此外,辣木叶水提醇溶物还提高了LCA的耐NaCl能力。结论:辣木提取物对乳杆菌属微生物的生长既有低促进作用也有抑制作用。辣木叶水提醇溶物可通过刺激生物膜的分泌,增加其黏附性来增强干酪乳酪杆菌的抗逆能力,提高胞外蛋白、总糖和还原糖含量以及通过增强耐受性来促进LCA的生长。

关键词 辣木; 干酪乳酪杆菌; 生长; 生物膜; 耐受性

文章编号 1009-7848(2025)02-0055-15 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2025.02.005

辣木(*Moringa oleifera* Lam.)原产于印度,广泛分布于亚洲和非洲的热带和亚热带地区。辣木叶富含蛋白质、钙、铁、维生素A等营养物质^[1-2]。辣木叶具有多种生物活性,包括抗氧化、降血压、抗炎、抗衰老和调节肠道功能^[3]等。有研究指出,长期服用辣木叶可提高人体免疫力^[4],具有一定的疾病预防作用^[5]。

乳杆菌作为常见益生菌,广泛存在于人体胃、肠道中,具有免疫调节、抗癌和抗炎等重要作用^[6]。乳杆菌属微生物的数量与人体健康密切相关。乳杆菌属微生物数量因宿主遗传、年龄或疾病状态等存在差异^[7]。同时也受饮食、乳酸的分泌以及胆

盐耐受性的影响^[8]。在体外,乳杆菌的生长受到碳源、氮源和其它生长因子等影响^[9-10]。乳杆菌属被广泛用于益生菌发酵食品中,其对人体健康有益。提高细菌活力,筛选乳杆菌增殖作用的功能因子尤为重要。

干酪乳酪杆菌(*Lactocaseibacillus casei*)作为革兰氏阳性、不产芽孢的兼性异型的乳杆菌属微生物^[11-12],是国内外研究和应用较多的益生菌之一,其因益生特性而闻名,常用于食品发酵或辅助发酵以改善食品特性^[13-14]。Massa等^[15]研究表明槲皮素和山奈酚等物质可刺激干酪乳酪杆菌、动物双歧杆菌等益生菌的生长和代谢活性。研究证实,干酪乳酪杆菌发酵果蔬汁可产生多种有益作用,如提高果蔬抗氧化能力和活性成分^[16],增强生理功效以及改善风味等^[17-18],可有效改善和提高产品品质。有研究表明人参提取物能增强副干酪乳杆菌JLU66菌株产胞外多糖能力和胆盐耐受能力^[19]。

近年来,寻找天然的益生元成为食品科学领

收稿日期: 2024-02-03

基金项目: 云南省省市一体化专项(202302AN360002); 云南省“兴滇英才支持计划”青年人才项目(2022-0255); 云南省农业基础研究联合专项(202301BD070001-026)

第一作者: 罗开莲,女,硕士生

通信作者: 田洋 E-mail: tianyang1208@163.com
高晓余 E-mail: 2018014@ynau.edu.cn

域的热点。辣木叶富含多种活性物质。有研究报道,辣木叶多酚对曲霉菌、杆菌和枯草芽孢杆菌有明显的抑制作用^[20]。辣木叶多糖可显著提高德氏乳杆菌保加利亚亚种和植物乳杆菌的耐受性^[21]。辣木叶提取物和复合益生菌联用可显著增强蛋鸭抗氧化性能,改善脂质代谢和提高免疫球蛋白分泌量^[22]。然而,到目前为止,鲜见辣木叶提取物对乳杆菌属微生物生长影响的系统研究报道。为此,本研究通过纯培养法探究辣木叶提取物对10种代表性乳杆菌属微生物生长的影响,筛选出具有促进作用的“益生组合”,并从生物膜特性、胞外蛋白、总糖和还原糖含量、耐冻和耐盐能力等方面评价其促生作用特点,为辣木叶提取物-乳杆菌属微生物互作机制研究以及辣木叶功能食品的开发利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 菌种

干酪乳酪杆菌(*Lactocaseibacillus casei*)CICC 6065、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)CICC6091、鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus*)CICC6001、瑞氏乳杆菌(*Lactobacillus helveticus*)CICC6032、唾液联合乳杆菌(*Ligilactobacillus salivarius*)CICC23174、约氏乳杆菌(*Lactobacillus johnsonii*)CICC6084、罗伊氏粘液乳杆菌(*Limosilactobacillus euteri*)CICC6226、德氏乳杆菌保加利亚亚种(*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)CICC6047、发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentium*)CICC22808、植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)CICC6002,10种乳杆菌均购自中国工业微生物菌种保藏中心(CICC),均已在食品工业中运用。

1.2 主要材料与试剂

本试验所用化学试剂均为分析纯级。辣木叶粉,云南德宏天佑生物科技有限公司;琼脂粉、MRS肉汤培养基,北京索莱宝科技有限公司; β -半乳糖苷酶试剂盒,上海生工生物工程有限公司;淀粉葡萄糖苷酶,美国sigma公司;结晶紫、二甲苯、丙酮酸钠、苯酚、葡萄糖,均购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;无水乙醇,天津市致远化学试剂有限公司;氯仿,成都市科隆化学品有限公

司;硫酸,重庆川东化工(集团)有限公司;乙酸乙酯、氢氧化钠、酒石酸钾钠,均购自成都金山化学试剂有限公司。

1.3 仪器与设备

XJ120ASCS电子分析天平,上海精密科学仪器有限公司;EPOCH2酶标仪,美国伯腾仪器有限公司;PB-10 pH计,梅特勒托利多仪器(上海)有限公司;ZSD-A1090恒温厌氧培养箱,上海智诚分析仪器制造有限公司;KQ-600DB真空冷冻干燥机,北京博医康实验仪器有限公司;VL-7F落地式低速冷冻离心机,长沙市白诺克离心机仪器有限公司;DLSB-5/10旋转蒸发仪,巩义市子华仪器有限公司;高效液相色谱仪,美国安捷伦科技公司。

1.4 方法

1.4.1 辣木叶提取物的制备

1.4.1.1 辣木叶水提取物 准确称取5 000 g辣木叶粉末,按照料液比1:9加入煮沸的去离子水,混合均匀后煮沸1 min,用纱布过滤。将滤液离心(4 500 r/min,5 min),收集上清液,真空冷冻干燥,得到辣木叶水提物干粉。

1.4.1.2 辣木叶水提物的醇溶和醇沉部分 准确称取500 g辣木叶水提物干粉,按料液比1:10加入灭菌水,缓慢加入无水乙醇,快速搅拌混合物,使乙醇体积分数达到70%。于4℃放置24 h后,提取物明显分层,将上层清液(醇溶部位)和沉淀物(醇沉部位)分开。沉淀物4 500 r/min离心5 min后获得的少量上清液合并至醇溶部位,沉淀物冷冻干燥,即辣木叶水提醇沉部位,醇溶部位通过旋转蒸发法浓缩去除乙醇(60℃),得到浅绿色浸膏状物质,即辣木叶水提醇溶部位。

1.4.2 生长曲线的绘制 试验前,将菌种接种至MRS培养基中活化,3代后用于试验。将菌种按照1%的接种量接种于MRS液体培养基中,37℃生长培养,每2 h测定OD_{600nm}值。

辣木提取物干预乳杆菌方法如下:将活化好的菌种按1%分别接种到含0.02,0.04,0.08,0.16,0.32 g/L辣木叶水提醇溶、醇沉或水提物的灭菌培养基,于37℃厌氧培养箱中振荡培养12 h,测定其OD_{600nm}值。每种提取物质量浓度做3个平行,同时,设置纯培养基空白对照。促进率按照式(1)

进行计算。

$$\text{促进率}(\%) = [L_i - K_w - (L_0 - K_m)] / (L_0 - K_m) \times 100 \quad (1)$$

式中: L_i 为辣木叶提取物干预质量浓度的 OD_{600nm} 均值; K_w 为对应辣木叶提取物样品质量浓度的 OD_{600nm} 均值; K_m 为纯培养基的 OD_{600nm} 均值; L_2 为接种菌液的不含辣木叶提取物培养基的 OD_{600nm} 均值。

1.4.3 结晶紫染色法测定生物膜的形成 参考杜文芳^[23]的方法并稍做改进。将菌液置于 96 孔板静置培养 12 h (37 °C)。弃菌液 PBS 漂洗 2 次后, 37 °C 干燥 30 min。取 150 μ L 0.1% 结晶紫染液染色 15 min。弃染色液, PBS 洗涤生物膜 3 次, 直至对照孔无过量染色。37 °C 干燥 30 min, 200 μ L 95% 乙醇过夜脱色, 测定 A_{595nm} 值。

1.4.4 扫描电子显微镜测定生物膜黏附性 参考 Wei 等^[24]的方法并稍做改进。将菌液置于 12 孔板 (孔内放置 10 mm \times 10 mm 的无菌盖玻片) 静置培养 12 h (37 °C)。弃菌液, PBS 洗涤 1~2 次, 2.5% 戊二醛浸泡过夜, 用乙醇 (20%, 50%, 80%, 100% 各 10 min) 脱水。最后, 在盖片上溅射镀金, 并用 FlexSEM1000 扫描电镜拍摄图像。

1.4.5 干酪乳酪杆菌表面疏水性和酸碱电荷的测定 细胞表面疏水性的测定采用 Samot 等^[25]所用方法, 并稍作修改。将菌液培养 12 h, 离心收集菌体 (4 °C, 10 000 \times g, 10 min), 将菌体悬浮于 pH 7.0 的 PBS 缓冲液中, 在波长 600 nm 下调节吸光度为 0.6 ± 0.2 , 记做 OD_1 , 将 1 mL 二甲苯加入到上述已经调节过浓度的 3 mL 菌液中, 振荡培养 2 min, 于室温下孵育 20 min 后测定水相的 OD_{600nm} 值, 记做 OD_2 。

$$\text{表面疏水率}(\%) = (OD_1 - OD_2) / OD_1 \times 100 \quad (2)$$

酸碱电荷的测定方法同上, 将乙酸乙酯 (路易斯碱) 或氯仿 (路易斯酸) 替代二甲苯。

1.4.6 干酪乳酪杆菌胞外蛋白、总糖和还原糖含量的测定

1.4.6.1 胞外蛋白含量的测定 采用 TCA-丙酮沉淀法提取胞外蛋白。将菌液发酵 12 h 后于离心机 (3 500 r/min, 10 min) 离心收集上清液, 加入配好的 2% 的脱氧胆酸钠混匀于 4 °C 冰箱中静置 30 min, 加入 15% 的 TCA 于 4 °C 的样品沉淀蛋白, 离

心收集沉淀, 冰丙酮充分洗涤沉淀; 再离心收集沉淀, 于室温自然风干丙酮, 将蛋白样品保存在 -80 °C 冰箱中备用。采用 BCA 试剂盒检测蛋白含量。

1.4.6.2 总糖含量的测定 采用苯酚硫酸法测定菌液的总糖含量^[26], 具体方法如下: 分别取 0.1 mg/mL 的葡萄糖标准溶液 0.0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mL 于比色管中, 加水补至 2.0 mL, 再加入 5% 苯酚溶液 1.0 mL, 摇匀, 加入浓硫酸 5.0 mL, 于波长 490 nm 处测定其吸光值。以葡萄糖质量浓度为横坐标, 吸光值为纵坐标绘制标准曲线: $y = 4.5998x + 0.0109$, $R^2 = 0.9958$ 。

1.4.6.3 还原糖含量的测定 采用 3,5-二硝基水杨酸比色法 (DNS) 测定菌液的还原糖含量^[27], 具体方法如下: 分别取 1 mg/mL 的葡萄糖标准溶液 0, 40, 80, 120, 160, 200, 240 μ L 于比色管中, 加水补至 0.4 mL, 摇匀, 加入 DNS 溶液 0.4 mL, 沸水浴 5 min 后, 迅速冷却至室温, 加水稀释至 5 mL, 于波长 540 nm 处测定吸光值。以葡萄糖质量浓度为横坐标, 吸光值为纵坐标绘制标准曲线: $y = 1.3418x - 0.0215$, $R^2 = 0.9969$ 。

1.4.7 辣木叶水提醇溶物对干酪乳酪杆菌活菌数及冻干存活率的影响 活菌数测定采用平板计数法。取一定量稀释后的菌悬液于固体培养基内, 用涂布棒进行涂布, 培养 48~72 h 后进行计数。冻干存活率的测定参考王瑞雪等^[28]的方法并稍作改进。将含有辣木叶水提醇溶物溶液 (0.08%) 菌液冻干前和冻干后 (将冷冻后的样品放在冻干机中冻 12 h, 真空度 20 Pa, 冷陷温度 -45 °C), 分别取冻干前、后的菌悬液于固体培养基内, 用涂布棒进行涂布, 培养 48~72 h 后进行计数。冻干存活率按下式计算:

$$\text{冻干存活率}(\%) = N_1 / N_2 \times 100 \quad (3)$$

式中: N_1 为冻干后样品活菌数, CFU/mL; N_2 为冻前样品活菌数, CFU/mL。

1.4.8 辣木叶水提醇溶物对干酪乳酪杆菌 β -半乳糖苷酶活性测定 取冻干前、后的样品 (菌数约为 1×10^9 CFU/mL), 加 0.05 mol/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$ 缓冲液 10 mL, 4 °C、4 000 r/min 离心 5 min, 各取上清液 1 mL, 用 β -半乳糖苷酶试剂盒对 3 组样品的 β -半乳糖苷酶活性进行 3 次重复测定, 酶活性的单位以 U 表示。

1.4.9 辣木叶水提醇溶物对干酪乳酪杆菌耐 NaCl 能力的影响 参考崔子杭等^[29]的方法并稍作改进。将培养好的菌液以体积分数 1% 接种量分别接种到 NaCl 质量分数为 0, 1.0%, 2.%, 4.0%, 8.0% 的 MRS 液体培养基中, 37 °C 恒温厌氧培养箱培养, 分别在 12 h 取样, 用酶标仪在波长 600 nm 波长下测定生长情况。

1.4.10 植物 MRM 广泛靶向代谢组学检测辣木叶水提醇溶物 在离心管中加入 10 mg 冻干辣木叶水提醇溶物粉末、2 个小钢球和 500 μ L 提取液 ($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{水}}=1:2$)。混合物在 40 °C 下预冷, 包括内标。混合 30 s, 以 35 Hz 的频率匀浆 4 min, 然后放入冰水浴中超声匀浆 5 min。超声匀浆重复 3 次。然后将混合物在匀浆器上 4 °C 温育过夜。然后, 将混合物在 4 °C 下以 12 000 r/min 的转速离心 15 min。上清液经 0.22 μ m 微孔滤膜仔细过滤。将每个样品的 100 μ L 混入质控样品中, 并在 -80 °C 下保存, 直至计算机分析。

目标成分通过 EXIONLCSytem (SCIEX) 高效液相色谱法 (EXIONLCSytem) 和 Waters UPLC 液相色谱柱分离。液相色谱相为含 0.1% 甲酸的水溶液, B 相为乙腈。柱温箱温度为 40 °C, 自动进样器温度为 4 °C, 进样量为 2 μ L。使用 Sciex QTrap 6500+ (Sciex Technologies) 进行检测开发。典型的

离子源参数如下: 离子喷雾电压 +5 500/-4 500 V, 帘式气体: 213.73 kPa, 温度 400 °C, 离子源气体 1: 413.7 kPa, 离子源气体 2: 413.7 kPa, 去簇电压: ± 100 V。

SCIEX Analyst Work Station 软件 (1.6.3 版) 用于 MRM 数据采集和处理。使用 MS converter 将 MS 原始数据 (wiff) 文件转换为 TXT 格式。使用内部 R 程序和数据库进行峰值检测和注释。

1.4.11 统计学分析 试验数据采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行分析, 结果以“平均值 \pm 标准差” ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较采用独立 T 检验 (两尾法), $P < 0.05$ 为差异性显著, $P < 0.01$ 为差异性极显著。

2 结果与分析

2.1 10 种乳杆菌生长曲线的绘制

10 种乳杆菌的生长曲线如图 1 所示。由图 1 可知, 在 0~4 h, 10 种乳杆菌生长缓慢, 进入生长迟缓期; 在 4~12 h, 乳杆菌迅速生长, 进入对数生长期; 在 12~24 h, 除干酪乳酪杆菌、德氏乳杆菌保加利亚亚种、嗜酸乳杆菌、约氏乳杆菌和发酵乳杆菌外, 其它菌株由对数生长期逐渐进入稳定区。结果表明, 10 种乳杆菌于 12 h 时基本保持恒定生长, 进入稳定期。

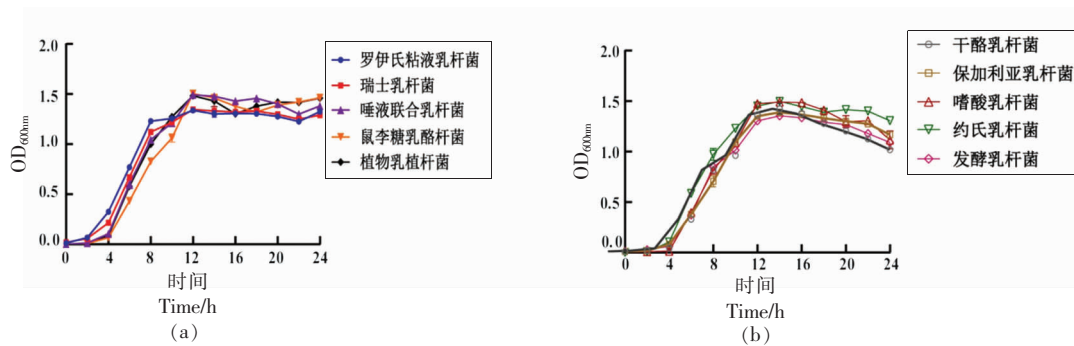


图 1 10 种乳杆菌的生长曲线

Fig.1 Growth curves of ten species of *Lactobacillus*

2.2 辣木叶水提物对 10 种乳杆菌生长的影响

辣木叶水提物抑制罗伊氏粘液乳杆菌和唾液联合乳杆菌的生长, 抑制率为 10.0% 左右 (图 2a~2b); 鼠李糖乳酪杆菌、嗜酸乳杆菌、发酵乳杆菌和干酪乳酪杆菌的促进率在添加 0.32 g/L 辣木叶水提物时最高 (图 2c~2g); 添加不同含量的辣木叶水

提物对德氏乳杆菌保加利亚亚种促生长作用影响较小 (图 2h); 对植物乳杆菌和约氏乳杆菌呈剂量依赖性升高 (图 2i~2j)。以上结果表明, 辣木叶水提物对 10 种常见乳杆菌的生长主要表现为较低的促进作用或抑制作用。

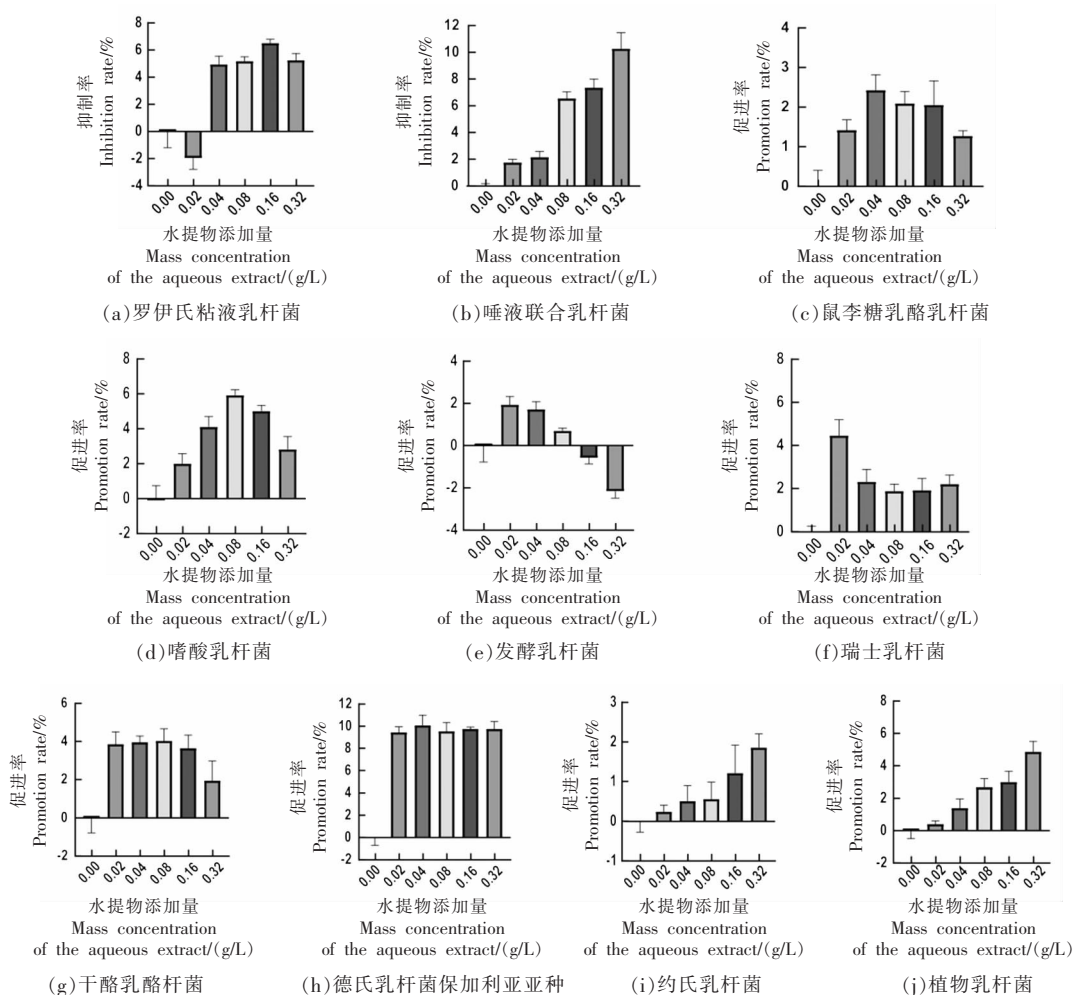


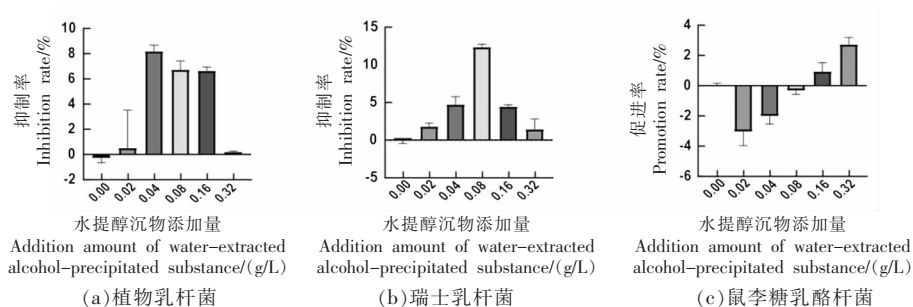
图 2 辣木叶水提物对乳杆菌生长的影响

Fig.2 Effects of water extract from *M. oleifera* leaves on the growth of *Lactobacillus*

2.3 辣木叶水提醇沉物对 10 种乳杆菌生长的影响

辣木叶水提醇沉物对植物乳杆菌和瑞士乳杆菌均表现为抑制作用(图 3a~3b);对鼠李糖乳酪杆菌、唾液联合乳杆菌、德氏乳杆菌保加利亚亚种、发酵乳杆菌和干酪乳酪杆菌的促进作用呈现剂量

依赖性增高,但促进率较低(图 3c~3g);对罗伊氏粘液乳杆菌、约氏乳杆菌和嗜酸乳杆菌的促进作用随着辣木叶水提醇沉添加量先升高后降低(图 3h~3j)。以上结果表明,辣木叶水提醇沉物对 10 种常见乳杆菌的生长主要表现为较低的促进作用或抑制作用。



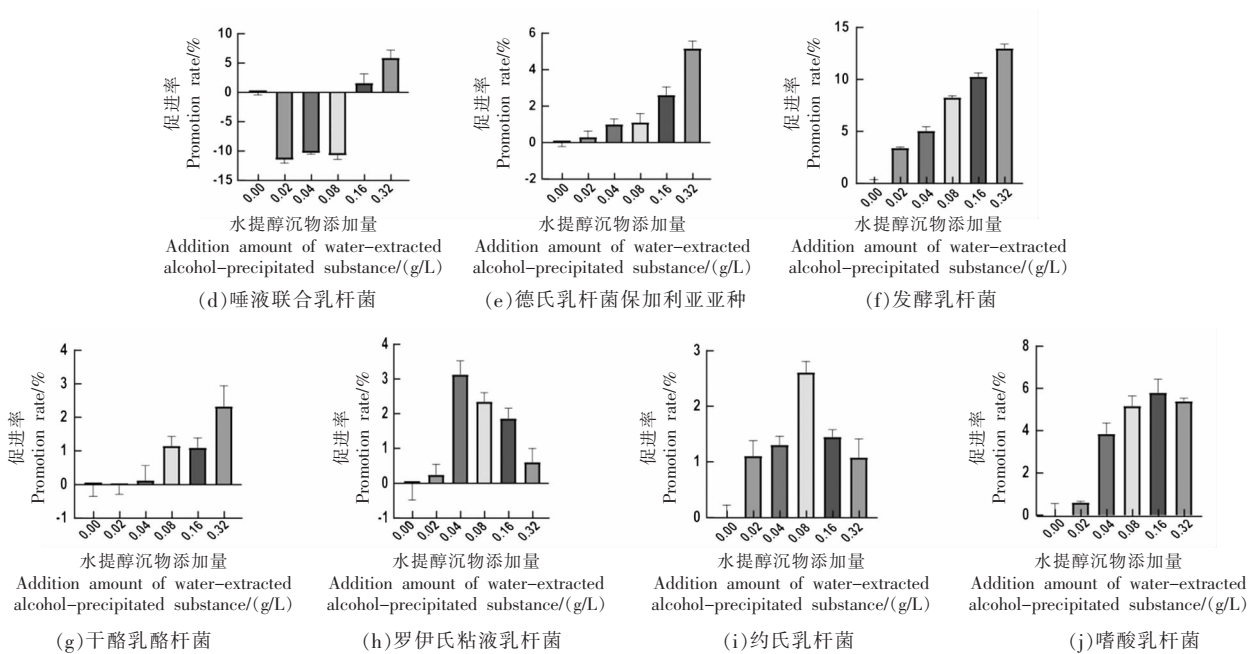


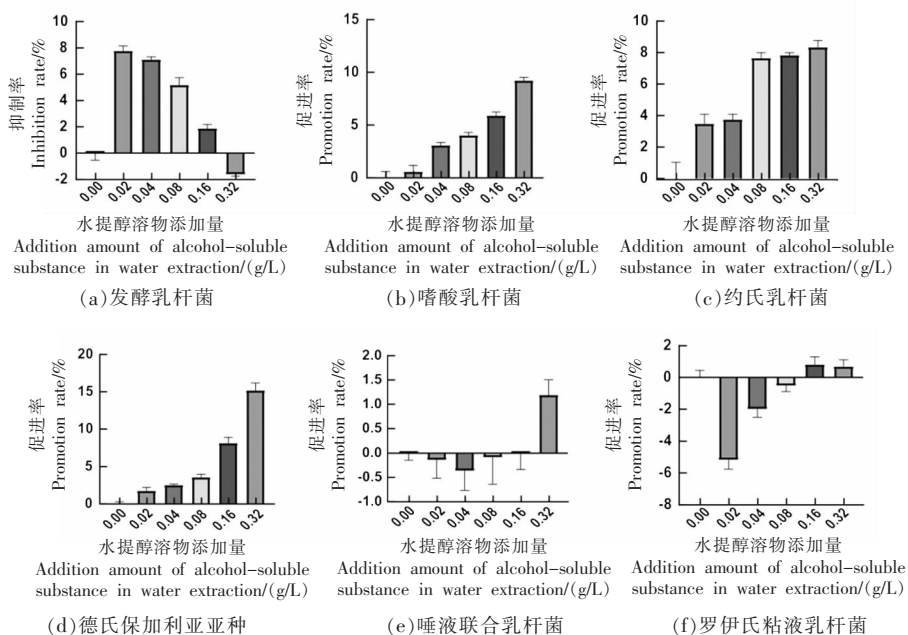
图3 辣木叶水提醇沉物对10种乳杆菌生长的影响

Fig.3 Effects of water extract and ethanol precipitation of *M.oleifera* leaves on the growth of 10 *Lactobacillus specie*

2.4 辣木叶水提醇溶物对10种乳杆菌生长的影响

辣木叶水提醇溶物对发酵乳杆菌均表现为抑制作用(图4a);嗜酸乳杆菌、约氏乳杆菌、德氏乳杆菌保加利亚亚种、唾液联合乳杆菌和罗伊氏粘液乳杆菌促进率随着添加辣木叶水提醇溶物含量

呈剂量依赖性升高(图4c~4f);对植物乳杆菌生长影响较小(图4g);瑞士乳杆菌、鼠李糖乳酪杆菌和干酪乳酪杆菌随着辣木叶水提醇溶物添加量先升高后降低,且0.08%的辣木叶水提醇溶物对于酪乳酪杆菌促进率最高,达16.63%(图4h~4j)。



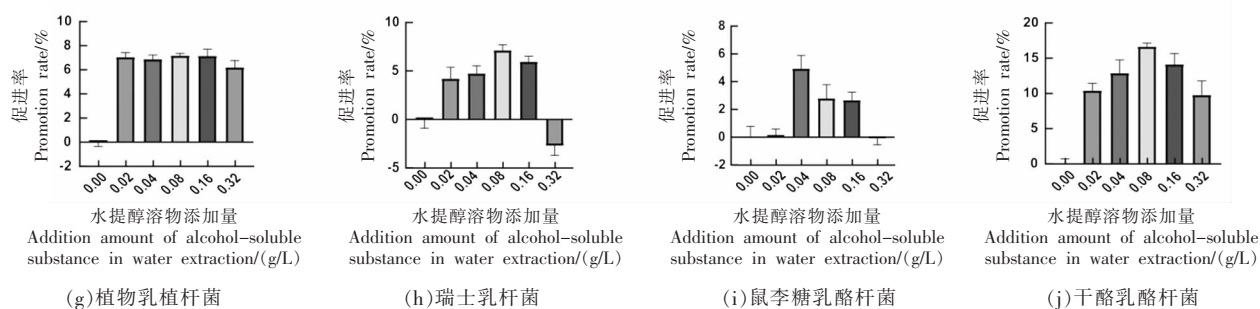


图 4 辣木叶水提醇溶物对 10 种乳杆菌生长的影响

Fig.4 Effect of aqueous alcoholic solubles of *M. oleifera* leaves on the growth of 10 *Lactobacillus* species

2.5 辣木叶水提醇溶的化学构成

根据超高效液相色谱-质谱 (UHPLC-MS) 的结果,对可识别的化合物进行了分类(表 1),相对丰度排名前 10 位的物质类别依次为黄酮类、氨基酸类、核苷酸类、脂类和芳香族化合物、生物碱类、酚类、维生素和有机酸类、苯丙类、色胺类、吲哚类和吡啶类。*L*-苯丙氨酸(Phe)、异槲皮素、紫云英苷及阿糖腺苷是相对丰度较高的单体化合物(表 2)。

2.6 辣木叶水提醇溶物对干酪乳酪杆菌生长的影响

生物膜(Biofilms)是细菌吸附在有机或无机介质上时,通过分泌含表面多糖、蛋白、DNA 的细胞外基质,将菌群包围其中所形成的复合体^[30]。生物膜的形成和生长受到多种因素的影响,如菌株、环境特性、pH 值、养分浓度和温度^[31]。由图 5a 可知,辣木叶水提醇溶促进干酪乳酪杆菌的生长,在 0.08%时促进率最高,达到 16.63%;为了进一步探究辣木叶水提醇溶物对干酪乳酪杆菌的促进作用,本研究检测了干酪乳酪杆菌的生物膜的形成以及黏附性,发现辣木叶水提醇溶物显著促进了生物膜的分泌,增加了生物膜黏附性(图 5b~5d)。结果表明,辣木叶水提醇溶物可能通过刺激生物膜的分泌,增加其黏附性来增强干酪乳酪杆菌的抗逆能力。

2.7 辣木叶水提醇溶物对干酪乳酪杆菌的表面疏水性、酸碱电荷的影响

细菌的疏水性会受到表面蛋白、菌毛、脂磷壁酸以及荚膜等多种附着器的影响^[32]。由图 6a 可知,与未添加辣木叶水提醇溶物的对照组相比,辣

表 1 辣木叶水提醇溶物大类成分的相对含量(前 10)

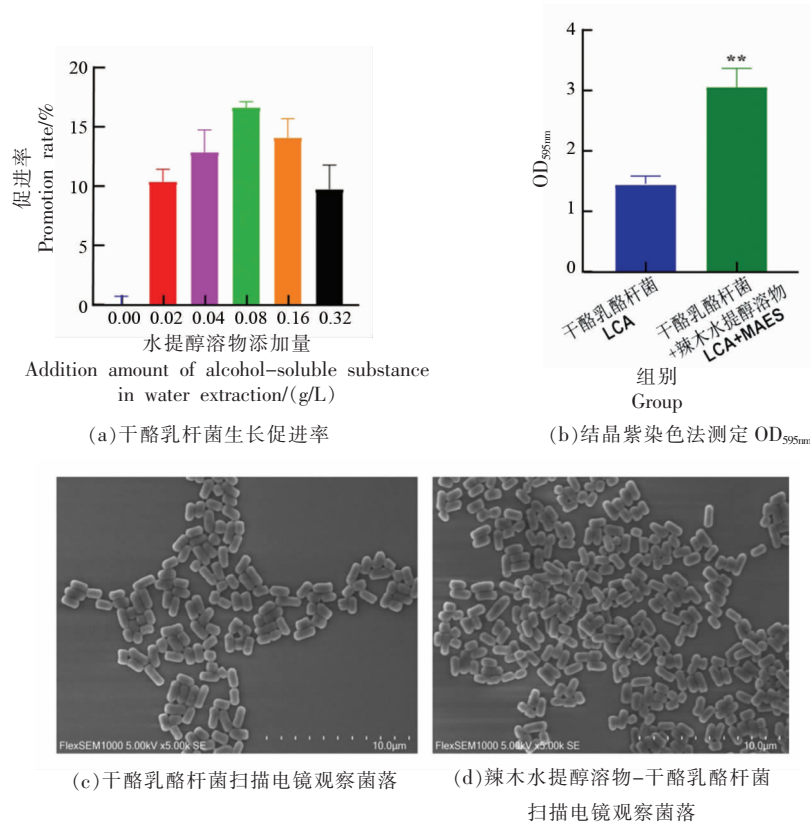
Table 1 Relative contents of major components in ethanol-soluble fraction of water extract from *M. oleifera* leaves (Top 10)

名称	英文名称	相对含量/%
黄酮类	Flavonoids	30.14
氨基酸类	Amino acids	22.23
核苷酸类	Nucleotides	13.47
脂类和芳香族类	Lipids and aromatics	13.17
生物碱类	Alkaloids	5.09
酚类	Phenols	3.01
维生素和有机酸类	Vitamins and organic acids	1.71
苯丙素类	Phenylpropanoids	0.35
色胺	Tryptamine	0.33
吲哚及吡啶类	Indole and pyridine	0.21

表 2 辣木叶水提醇溶物中单体成分的相对含量(前 10)

Table 2 Relative content of monomers in ethanol-soluble fraction of water extract from *M. oleifera* leaves (Top 10)

CAS 号	化学式	名称	相对含量/%
63-91-2	C ₉ H ₁₁ NO ₂	<i>L</i> -苯丙氨酸	11.84
482-35-9	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	异槲皮素	8.73
480-10-4	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	紫云英苷	6.38
5536-17-4	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	阿糖腺苷	5.33
7665-99-8	C ₁₀ H ₁₂ N ₅ O ₇ P	鸟苷-3',5'-环一磷酸	4.56
74-79-3	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	<i>L</i> -精氨酸	2.59
634-01-5	C ₁₀ H ₁₂ N ₅ O ₆ P	腺苷-2',3'-环磷酸	2.57
147-85-3	C ₃ H ₉ NO ₂	<i>L</i> -脯氨酸	2.55
1818-71-9	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₅	巴豆苷	1.70
3681-93-4	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	牡荆素	1.55



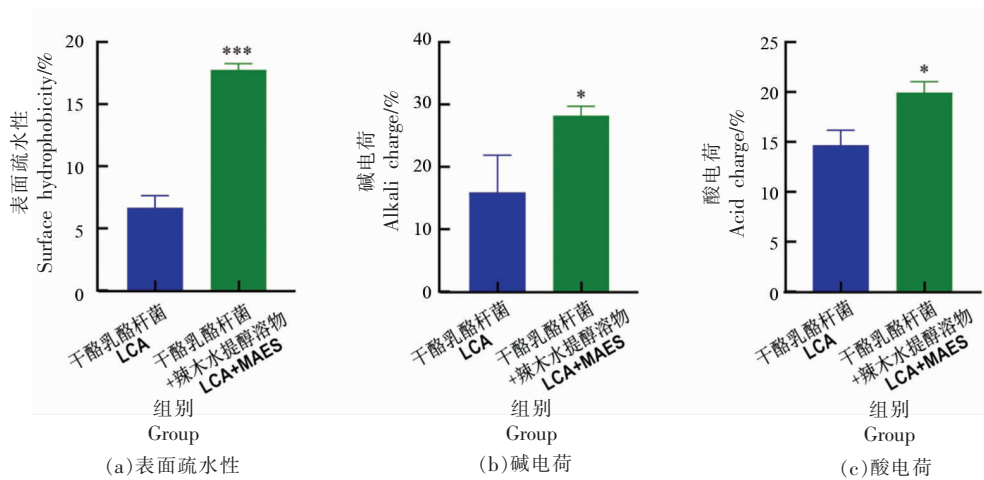
注:与含 0%辣木水提醇溶物比较,**表示 $P < 0.01$ 。

图 5 辣木叶水提醇溶物对干酪乳酪杆菌生长的影响

Fig.5 Effect of *M. oleifera* water extract on the growth of *Lactocaseibacillus casei*

木叶水提醇溶物显著提高干酪乳酪杆菌的表面疏水性 ($P \leq 0.001$);同时还提高了干酪乳酪杆菌的

酸碱电荷 ($P < 0.05$) (图 6b~6c),从而为干酪乳酪杆菌提供适宜的生长环境。



注:与含 0%辣木水提醇溶物比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$ 。

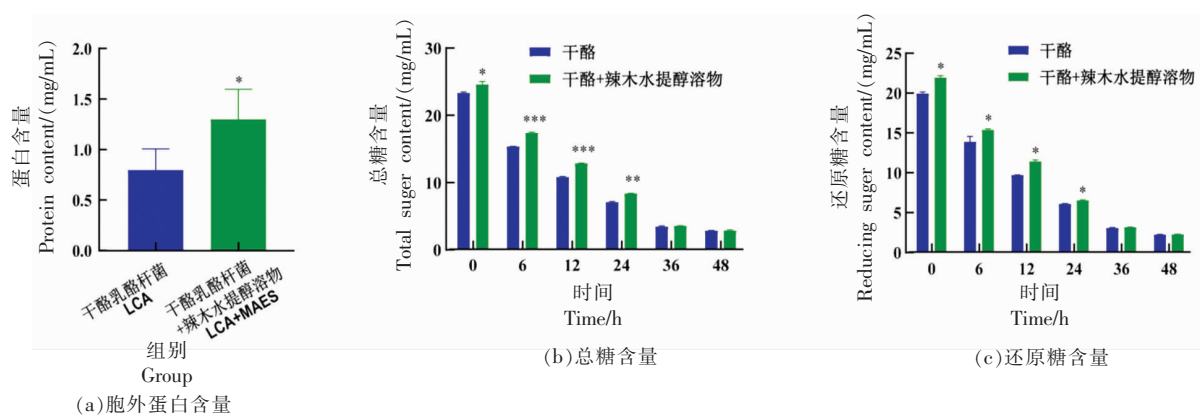
图 6 辣木叶水提醇溶物对干酪乳酪杆菌表面疏水性,酸、碱电荷的影响

Fig.6 Effects of aqueous alcoholic solubles of *M. oleifera* leaves on the hydrophobicity, acid-base charge of *Lactocaseibacillus casei*

2.8 辣木叶水提醇溶物对干酪乳酪杆菌的胞外蛋白、还原糖和总糖含量的影响

乳杆菌分泌的胞外蛋白有多种作用,可以强化黏膜防御、调节免疫系统,同时维护肠道的稳定状态^[33]。如图 7a 所示,与干酪乳酪杆菌相比,辣木叶水提醇溶物显著增加了干酪乳酪杆菌菌液的蛋白含量($P < 0.05$)。结果表明,辣木叶水提醇溶物可以促进干酪乳酪杆菌胞外蛋白的分泌。干酪乳

酪杆菌菌液的总糖和还原糖含量随发酵时间延长逐渐降低。如图 7b~7c 所示,与干酪乳酪杆菌相比,辣木叶水提醇溶物提高了干酪乳酪杆菌总糖和还原糖含量,在 0 h 分别提高了 24.59 mg/mL 和 21.90 mg/mL; 在 6, 12, 24 h 两者间均存在显著性差异($P < 0.05$)。结果表明,辣木叶水提醇溶物显著增加干酪乳酪杆菌菌液的总糖和还原糖含量。



注:与含 0%辣木水提醇溶物比较,* 表示 $P < 0.05$; ** 表示 $P < 0.01$; *** 表示 $P < 0.001$ 。

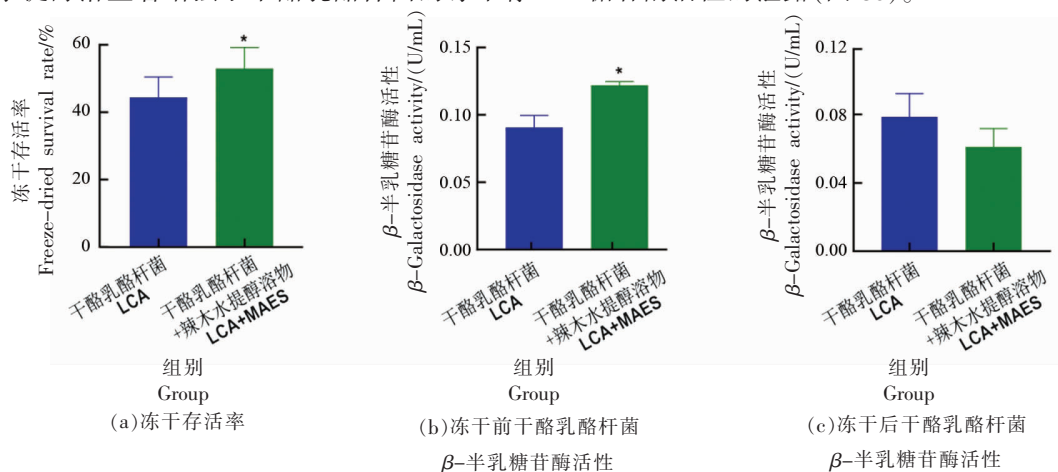
图 7 辣木叶水提醇溶物对干酪乳酪杆菌胞外蛋白、总糖和还原糖含量的影响

Fig.7 Effects of aqueous alcohol solubles of *M. oleifera* leaves on extracellular protein, total sugar and reducing sugar contents of *Lactocaseibacillus casei*

2.9 辣木叶水提醇溶物对酪乳酪杆菌抗冻能力的影响

β -半乳糖苷酶属于胞内酶,其在上清液中活性能反映细胞膜通透性的改变^[34]。由图 8a 可得,辣木叶水提醇溶显著增强了干酪乳酪杆菌的冻干存

活率;半乳糖苷酶是一类水解含半乳糖苷键物质的酶类。由图 8b~8c 可知,辣木叶水提醇溶物显著上调冻干前干酪乳酪杆菌 β -半乳糖苷酶活性(图 8b);同时,降低了冻干后干酪乳酪杆菌的 β -半乳糖苷酶活性的泄露(图 8c)。



注:与含 0%辣木水提醇溶物比较,* 表示 $P < 0.05$ 。

图 8 辣木叶水提醇溶物对干酪乳酪杆菌抗冻能力的影响

Fig.8 Effects of aqueous alcohol solubles of *M. oleifera* leaves on the anti-freezing ability of *Lactocaseibacillus casei*

2.10 辣木叶水提醇溶物提高干酪乳酪杆菌耐 NaCl 的能力

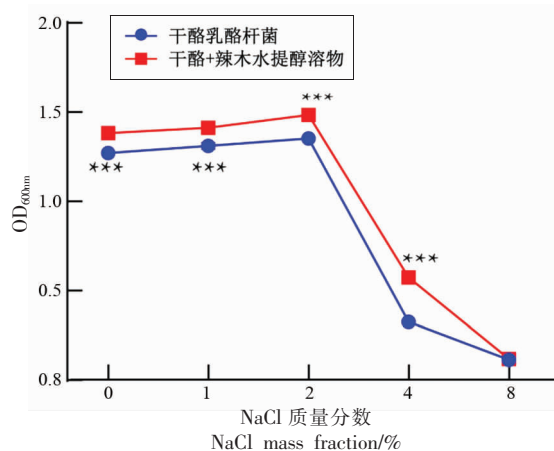
如图 9 所示,随着 NaCl 质量分数的不断增加,干酪乳酪杆菌的生长先升高后降低;在 NaCl 质量分数分别为 2.0% 时菌株生长相比其它质量分数的较好,质量分数为 4.0% 时 OD_{600nm} 值明显下降,菌株生长受到抑制,NaCl 质量分数为 8.0% 时抑制了干酪乳酪杆菌的生长。结果表明,辣木叶水提醇溶物可提高干酪乳酪杆菌的耐 NaCl 作用。

3 讨论

乳杆菌具有调节人体胃、肠道正常菌群,提高食物消化率和生物效价,抑制肠道内腐败菌的生长繁殖和腐败产物的产生等作用^[35-36],在医药和食品工业等领域有广泛的应用^[37]。营养物质及含量是影响乳杆菌生长增殖的重要因素。本研究结果显示,辣木叶提取物对 10 种乳杆菌的生长既有促进作用也有抑制作用,推测辣木叶提取物可能为各种乳杆菌塑造了不同的生长条件,从而导致不同乳杆菌属微生物生长存在差异。

为明确辣木叶水提醇溶物促生长作用的物质基础,本研究通过代谢组学检测辣木水提醇溶物的物质构成,发现辣木叶水提醇溶物主要含有黄酮类、氨基酸类和核苷酸类等活性成分,这与赵谋明等^[38]的研究结果基本一致。此外,本研究还发现辣木水提醇溶物富含 L-苯丙氨酸和异槲皮素等单体化合物。前人研究表明,氨基酸类可显著促进乳杆菌的生长及抗冻能力^[39],细菌介导的色氨酸代谢物含有吲哚生物活性,吲哚-3-丙酸可以促进产孢梭状芽孢杆菌定植^[40]。黄酮类化合物可调节人体肠道菌群,并通过抑制有害菌的同时增加双歧杆菌等益生菌的丰度,来改善炎症性肠病^[41],而植物乳杆菌 17-17 菌株可以有效提高大豆异黄酮的生物利用度^[42]。本研究发现 0.08 g/L 辣木叶水提醇溶物显著促进干酪乳酪杆菌的生长,推测辣木叶水提醇溶物可能为干酪乳酪杆菌生长提供黄酮类、氨基酸类和吲哚类等物质从而增强其生长能力。

菌体的自聚现象与其益生功能紧密相关,并与黏附特性有一定的相关性,自聚性高的菌株往往更易于定植于消化道内发挥其益生作用^[43]。有



注:同一 NaCl 质量分数下,与含 0% 辣木水提醇溶物比较,*** 表示 $P < 0.001$ 。

图 9 辣木叶水提醇溶物对干酪乳酪杆菌耐 NaCl 的影响
Fig.9 Effects of aqueous alcoholic solubles of *M. oleifera* leaves on NaCl resistance of *Lactocaseibacillus casei*

研究表明,补充外源性核苷酸显著促进干酪乳酪杆菌生物膜和细胞外聚合物的生长、分泌^[44]。外源核苷酸(5'-CMP 和 5'-AMP)对干酪乳酪杆菌的生物被膜有明显的促进作用^[45]。本研究结果显示 0.08 g/L 辣木水提醇溶物显著促进干酪乳酪杆菌生物膜的分泌并增强其黏附性,推测辣木叶水提醇溶物可能为干酪乳酪杆菌生长提供了核苷酸类营养物质进而增强菌体黏附性。

同时,微生物疏水性等表面性质与酸碱电荷息息相关。Del 等^[46]的研究证明了细菌表面电荷参与对宿主黏膜的黏附和细菌物种内部之间的聚集黏附。有研究表明,较低的酸电荷和较高的碱电荷时不利于乳杆菌生物膜的形成^[30]。本研究结果显示辣木水提醇溶可显著提高干酪乳杆菌的表面疏水性和酸电荷水平以及降低了碱电荷的表达水平,这可能是辣木水提醇溶物中的核苷类物质提高了干酪乳杆菌的黏附性与表面性质,从而促进干酪乳杆菌的生长。

Meng 等^[47]研究表明乳杆菌表层蛋白可以抑制致病菌的黏附和侵袭。在本研究中辣木叶水提醇溶物提高干酪乳酪杆菌对糖的利用率,增加胞外蛋白、总糖和还原糖含量。推测辣木叶水提醇溶物可能为干酪乳酪杆菌提供了碳源和氮源,从而增强干酪乳酪杆菌的抗逆能力。

前人研究表明酵母浸出物含有的肌苷酸、尿

嘧啶核苷酸、胞嘧啶核苷酸等物质有助于嗜酸乳杆菌的菌体分裂和菌体长度缩短,进而提升嗜酸乳杆菌冻干存活率^[48]。本研究中辣木叶水提醇溶物组胞外 β -半乳糖苷酶活性低于干酪乳酪杆菌组,表明培养基中辣木叶水提醇溶物能有效阻止 β -半乳糖苷酶的泄露。何宗柏等^[49]研究发现添加不同浓度的油酸可阻止植物乳杆菌-半乳糖苷酶的泄露,这与本研究结果基本一致,推测辣木叶水提醇溶物可能为干酪乳杆菌生长提供了核苷酸类物质,从而增强了干酪乳杆菌的抗冻能力。

有研究证明嗜酸乳杆菌 NCFM 的表层蛋白可提高菌体的耐酸耐胆盐能力,对菌体黏附肠道组织产生有益影响^[50]。植物乳杆菌 KCTC 33131 和干酪乳杆菌 KCTC 13086 的纯培养物发酵的水果表现出良好的理化特性和增强的植物化学成分、抗氧化特性。本研究发现辣木叶水提醇溶物可在一定程度上提高干酪乳酪杆菌的耐 NaCl 能力^[51]。推测干酪乳酪杆菌抗 NaCl 能力与辣木叶水提醇溶物的植物化学有关。总之,辣木叶水提醇溶物促进干酪乳酪杆菌的生长,与其增加干酪乳酪杆菌的黏附性、生物膜形成以及升高 β -半乳糖苷酶和乳酸脱氢酶活性等有关。

综上,辣木叶提取物对 10 种乳杆菌具有促进或抑制作用,仅 0.08 g/L 辣木叶水提醇溶物可显著促进干酪乳酪杆菌的生长,促进率可达 16.63%。0.08 g/L 辣木叶水提醇溶物处理能够促进干酪乳酪杆菌生物膜的分泌以及增强其黏附性,同时显著提高干酪乳酪杆菌的表面疏水性和酸电荷的能力,增加干酪乳酪杆菌的胞外蛋白含量,提高干酪乳酪杆菌对糖的利用率;此外,辣木叶水提醇溶物还增强干酪乳酪杆菌的抗冻能力和耐 NaCl 能力,从而促进嗜酸乳杆菌的生长增殖。本研究可为深入开展辣木叶作为益生元产品的开发运用前景提供了数据支撑,由于辣木叶水提醇溶物促进干酪乳酪杆菌生长作用的分子机制尚不完全清楚,需要开展进一步的深入研究。

参 考 文 献

- [1] CHEN C, ZHANG B, HUANG Q, et al. Microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Moringa oleifera* Lam. leaves: Characterization and hypoglycemic activity[J]. *Industrial Crops and Products*, 2017, 100: 1-11.
- [2] JAYAWARDANA B C, LIYANAGE R, LALANTHA N, et al. Antioxidant and antimicrobial activity of drumstick (*Moringa oleifera*) leaves in herbal chicken sausages[J]. *LWT- Food Science and Technology*, 2015, 64(2): 1204-1208.
- [3] ABD EL LATIF A, EL BIALY BEL S, MAHBOUB H D, et al. *Moringa oleifera* leaf extract ameliorates alloxan-induced diabetes in rats by regeneration of β cells and reduction of pyruvate carboxylase expression[J]. *Biochemistry and Cell Biology*, 2014, 92(5): 413-419.
- [4] 苏科巧, 陶亮, 黄艾祥. 辣木食品研究进展[J]. *农产品加工*, 2015(1): 72-74.
SU K J, TAO L, HUANG A X. Research progress of moringa food[J]. *Agricultural Product Processing*, 2015(1): 72-74.
- [5] 林羨, 徐玉娟, 肖更生, 等. 干燥方式对辣木叶营养活性成分、抗氧化活性及色泽的影响[J]. *热带作物学报*, 2018, 39(12): 2465-2472.
LIN X, XU Y J, XIAO G S, et al. Effects of drying methods on bioactive components, antioxidant capacity and color of the leaves of *Moringa oleifera* Lam[J]. *Journal of Tropical Crops*, 2018, 39(12): 2465-2472.
- [6] HUANG R, WU F, ZHOU Q, et al. *Lactobacillus* and intestinal diseases: Mechanisms of action and clinical applications [J]. *Microbiological Research*, 2022, 260: 127019.
- [7] HEENEY D D, GAREAU M G, MARCO M L. Intestinal *Lactobacillus* in health and disease, a driver or just along for the ride?[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2018, 49: 140-147.
- [8] 秦文飞, 宋馨, 夏永军, 等. 乳酸菌在肠道定植的影响因素及研究方法[J]. *食品科学*, 2021, 42(23): 275-283.
QIN W F, SONG X, XIA Y J, et al. Influencing factors and research methods of lactic acid bacteria colonization in intestinal tract [J]. *Food Science*, 2021, 42(23): 275-283.
- [9] 姚国强, 张雪梅, 高志敏, 等. *Lactobacillus reuteri* IMAU10240 增殖培养基及高密度培养工艺优化[J]. *食品科学*, 2017, 38(14): 97-105.

- YAO G Q, ZHANG X M, GAO Z M, et al. Optimization of *Lactobacillus reuteri* IMAU10240 proliferation medium and high density culture technology [J]. Food Science, 2017, 38(14): 97-105.
- [10] 余乐. 植物乳杆菌的增殖、干燥及贮藏研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013.
- YU L. Study on proliferation, drying and storage of *Lactobacillus plantarum*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2013.
- [11] 迟珺曦, 刘孝芳, 雷文平, 等. 干酪乳酪杆菌的益生特性及在食品中应用研究进展[J]. 农产品加工, 2020(18): 70-74, 83.
- CHI J X, LIU X F, LEI W P, et al. Research progress on probiotics of *Bacillus casei* and its application in food[J]. Processing of Agricultural Products, 2020(18): 70-74, 83.
- [12] 翟清燕, 郑世超, 李新玲, 等. 乳酸菌的分类鉴定及在食品工业中的应用[J]. 食品安全质量检验学报, 2019, 10(16): 5260-5265.
- CHAI Q Y, ZHEN S C, LI X L, et al. Classification and identification of lactic acid bacteria and its application in food industry[J]. Journal of Food Safety and Quality Inspection, 2019, 10(16): 5260-5265.
- [13] RANADHEERA C, VIDANARACHCHI J, ROCHAR, et al. Probiotic delivery through fermentation: Dairy vs. non-dairy beverages[J]. Fermentation, 2017, 3(4): 67.
- [14] BANCALARI E, CASTELLONE V, BOTTARI B, et al. Wild *Lactobacillus casei* group strains: Potentiality to ferment plant derived juices[J]. Foods, 2020, 9(3): 314.
- [15] MASSA N M L, FRANCISCA N D D M, THATYANE M R A, et al. Effects of digested jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) by-product on growth and metabolism of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* indicate prebiotic properties[J]. LWT, 2020, 131: 109766.
- [16] HU X, ZENG J R, SHEN F, et al. Citrus pomace fermentation with autochthonous probiotics improves its nutrient composition and antioxidant activities[J]. LWT, 2022, 157: 113076.
- [17] LIU Y Y, CHEN H M, CHEN W M, et al. Beneficial effects of tomato juice fermented by *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei* antioxidation, antimicrobial effect, and volatile profiles [J]. Molecules, 2018, 23(9): 2366.
- [18] MUSTAFA S M, CHUA L S, EL-ENSHASY H A, et al. Kinetic profile and anti-diabetic potential of fermented *Punica granatum* juice using *Lactobacillus casei*[J]. Process Biochemistry, 2020, 92: 224-231.
- [19] 舒月, 朱梓燚, 杨涛, 等. 人参提取物胁迫培养对副干酪乳杆菌 JLUs66 菌株生长特性及耐受性的影响[J]. 食品工业科技, 2022, 43(11): 144-150.
- SHU Y, ZHU Z Y, YANG T, et al. Effects of stress culture of ginseng extract on growth characteristics and tolerance of *Lactobacillus paracasei* JLUs66 strain[J]. Food Industry Science And Technology, 2022, 43(11): 144-150.
- [20] 孙洲悦, 陈思远, 陈永雄, 等. 辣木叶多酚提取条件的优化及其抑菌性能研究[J]. 食品工业, 2018(5): 70-74.
- SUN Z Y, CHEN S Y, CHEN Y X, et al. Study on the optimization of polyphenol extraction conditions and antibacterial performance of *Moringa oleifera* leaves[J]. Food Industry, 2018(5): 70-74.
- [21] 白聪豪, 符珍, 林莹. 辣木叶多糖对益生菌生长及耐受性的影响[J]. 食品科技, 2020, 45(9): 7-13.
- BAI C H, FU Z, LIN Y. Effects of *Moringa oleifera* leaf polysaccharide on the growth and tolerance of probiotics[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(9): 7-13.
- [22] 饶体宇, 吴伯梅, 鲜思美, 等. 辣木叶提取物与复合益生菌联用对蛋鸭生产性能、蛋品质、抗氧化性能、脂质代谢及免疫功能的影响[J]. 动物营养学报, 2020, 32(4): 1684-1692.
- RAO T Y, WU B M, XIAN S M, et al. Effects of *Moringa oleifera* leaf extract combined with compound probiotics on performance, egg quality, antioxidant performance, lipid metabolism and immune function of laying ducks[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2020, 32(4): 1684-1692.
- [23] 杜文芳. EGCG 抑制单增李斯特菌的机理研究[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2018.
- DU W F. Study on mechanism of EGCG inhibiting *Listeria monocytogenes*[D]. Wuhan: Wuhan University of Light Industry, 2018.
- [24] WEI L N, SHI C Z, LUO C X, et al. Phloretin inhibits biofilm formation by affecting quorum sensing under different temperature[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 131: 109668.
- [25] SAMOT J, LEBRETON J, BADET C. Adherence capacities of oral *Lactobacilli* for potential probiotic

- purposes[J]. *Anaerobe*, 2011, 17(2): 69–72.
- [26] 孟鸽. 霍山石斛多糖对嗜酸乳杆菌生理特性影响及在发酵乳中的应用[D]. 芜湖: 安徽工程大学, 2017.
MENG G. Effects of *Dendrobium huoshanense* polysaccharide on physiological characteristics of *Lactobacillus acidophilus* and its application in fermented milk[D]. Wuhu: Anhui University of Technology, 2017.
- [27] 王腾. 黄参粗多糖的益生元特性及其在发酵乳中的应用[D]. 兰州: 兰州大学, 2022.
WANG T. Prebiotic properties of crude polysaccharide from Yellow ginseng and its application in fermented milk[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2022.
- [28] 王瑞雪, 杨影, 杨友馨, 等. 培养基中添加 Ca^{2+} 对植物乳杆菌 LIP-1 冷冻干燥存活率的影响[C]. 中国食品科学技术学会: 第十七届益生菌与健康国际研讨会摘要集, 2022: 118–119.
WANG R X, YANG Y, YANG Y X, et al. Effect of adding Ca^{2+} in medium on survival rate of LIP-1 freeze-drying of *Lactobacillus plantarum*[C]. Chinese Society of Food Science and Technology: Summary of the 17th International Symposium on Probiotics and Health, 2022: 118–119.
- [29] 崔子杭, 孙昊, 唐海峰, 等. 一株产细菌素植物乳杆菌的筛选及其所产细菌素特性研究[J]. 江苏海洋大学学报(自然科学版), 2022, 31(4): 59–67.
CUI Z H, SUN H, TANG H F, et al. Screening and characterization of bacteriocin-producing *Lactobacillus plantarum*[J]. Journal of Jiangsu Ocean University (Natural Science Edition), 2022, 31(4): 59–67.
- [30] 尹一婷. 乳杆菌生物膜成膜规律及其特性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2019.
YIN Y T. Study on the formation and characteristics of *Lactobacillus* biofilm[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019.
- [31] 李静, 包斐斐, 李家璜, 等. 温度, pH 值和 H_2O_2 对减毒沙门氏菌 VNP20009 的生长及生物膜形成的影响[J]. 药学学报, 2021, 56(6): 1606–1611.
LI J, BAO F F, LI J H, et al. Effects of temperature, pH and H_2O_2 on growth and biofilm formation of attenuated *Salmonella* VNP20009[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2021, 56(6): 1606–1611.
- [32] 赵维俊. 益生菌表面疏水性与自动聚集能力的研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2012.
ZHAO W J. Study on surface hydrophobicity and autoaggregation ability of probiotics[D]. Xi'an: Shaanxi University of Science and Technology, 2012.
- [33] 陈慧. 三株乳杆菌对 β -乳球蛋白致敏小鼠免疫调节和肠道菌群的影响[D]. 南昌: 南昌大学, 2019.
CHEN H. Effects of three strains of *Lactobacillus* on immune regulation and intestinal flora in β -lactoglobulin sensitized mice[D]. Nanchang: Nanchang University, 2019.
- [34] 任艳. 真空冷冻干燥过程中保护剂对乳酸菌的保护机理[J]. 中国乳品工业, 2013, 41(9): 41–45.
REN Y. Protective mechanism of protective agent against lactic acid bacteria in vacuum freeze drying[J]. *China Dairy Industry*, 2013, 41(9): 41–45.
- [35] 张红梅. 乳酸菌知识漫谈[J]. 生物学教学, 2008, 33(10): 63–64.
ZHANG H M. Knowledge of lactic acid bacteria[J]. *Biology Teaching*, 2008, 33(10): 63–64.
- [36] DEVINE D A, HANCOCK R E. Cationic peptides: Distribution and mechanisms of resistance[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2002, 8(9): 703–714.
- [37] NO-SEONG K, DAVID J J. Functional foods Part 1: The development of regulatory concept[J]. *Food Control*, 2001, 12(2): 99–107.
- [38] 赵谋明, 李巧琳, 林恋竹, 等. 辣木叶提取物的制备及抗氧化活性[J]. 食品科学, 2018, 39(21): 25–30.
ZHAO M M, LI Q L, LIN L Z, et al. Preparation and antioxidant activity of *Moringa oleifolia* leaf extract[J]. *Food Science*, 2018, 39(21): 25–30.
- [39] 王磊, 陈合, 舒国伟, 等. 氨基酸对嗜酸乳杆菌生长及冻干的影响[J]. 中国酿造, 2011(2): 59–62.
WANG L, CHEN H, SHU G W, et al. Effects of amino acids on the growth and lyophilization of *Lactobacillus acidophilus*[J]. *Chinese Brewing*, 2011(2): 59–62.
- [40] KONOPELSKI P, KONOP M, GAWRYS-KOPCZYNSKA M, et al. Indole-3-propionic acid, a tryptophan-derived bacterial metabolite, reduces weight gain in rats[J]. *Nutrients*, 2019, 11(3): 591.
- [41] 李明, 卢慧, 徐振江. 黄酮类天然产物调控肠道微生物改善炎症性肠病的研究进展[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2020, 41(3): 118–129.
LI M, LU H, XU Z J. Research progress of flavonoid natural products regulating intestinal microorganisms to improve inflammatory bowel disease[J]. *Journal of Henan University of Technology (Nat-*

- ural Science Edition), 2020, 41(3): 118–129.
- [42] 杜龙. 乳酸菌发酵黄浆水的发酵特性以及其对大豆异黄酮的生物转化能力研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(16): 2509–5217.
- DU L. Study on the fermentation characteristics of lactic acid bacteria fermented yellow pulp water and its biotransformation ability to soybean isoflavones[J]. Journal of Food Safety and Quality Inspection, 2022, 13(16): 2509–5217.
- [43] 俞涵丽, 妥彦峰, 艾连中, 等. 乳杆菌抑菌和粘附性能的研究[J]. 现代食品科技, 2013, 29(6): 1247–1251.
- YU H L, TUO Y F, AI L Z, et al. Study on antibacterial and adhesion properties of *Lactobacillus*[J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(6): 1247–1251.
- [44] DING T, XU M H, LI Y. An overlooked prebiotic: Beneficial effect of dietary nucleotide supplementation on gut microbiota and metabolites in senescence-accelerated mouse prone-8 mice[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 820799.
- [45] 丁婷, 李勇. 外源核苷酸对干酪乳酪杆菌生长的促进作用及机制[J]. 食品科学, 2021, 42(22): 201–207.
- DING T, LI Y. Promotion of exogenous nucleotides on the growth of *Bacillus casei* and its mechanism [J]. Food Science, 2021, 42(22): 201–207.
- [46] DEL R B, SGORBATI B, MIGLIOLI M, et al. Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum*[J]. Letters in Applied Microbiology, 2000, 31(6): 438–442.
- [47] MENG J, ZHU X, GAO S M, et al. Characterization of surface layer proteins and its role in probiotic properties of three *Lactobacillus* strain[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 65(5): 110–114.
- [48] 伍业旭, 熊昌武, 朱亚军, 等. 酵母浸出物对嗜酸乳杆菌菌体形态及冻干存活率的影响[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(3): 118–124.
- WU Y X, XIONG C W, ZHU Y J, et al. Effects of yeast extract on morphology and lyophilized survival rate of *Lactobacillus acidophilus* [J]. Food and Fermentation Industry, 2023, 49(3): 118–124.
- [49] 何宗柏, 孙瑞胤, 鄂晶晶, 等. 油酸对植物乳杆菌 LIP-1 生长及冻干存活率的影响及其机理[J]. 食品科学, 2020, 41(10): 68–74.
- HE Z B, SUN R Y, E J J, et al. Effect of oleic acid on the growth and lyophilized survival rate of *Lactobacillus plantarum* LIP-1 and its mechanism[J]. Food Science, 2020, 41(10): 68–74.
- [50] 胡斌, 田丰伟, 赵建新. 嗜酸乳杆菌 NCFM 表层蛋白的提取及其与菌体酸和胆盐耐受及粘附性能的关系[J]. 食品工业科技, 2014, 35(5): 118–121.
- HU B, TIAN F W, ZHAO J X. Extraction of NCFM surface protein from *Lactobacillus acidophilus* and its relationship with bacterial acid and bile salt tolerance and adhesion[J]. Food Industry Science and Technology, 2014, 35(5): 118–121.
- [51] LIZARDO R C M, CHO H D, WON Y S, SEO K I. Fermentation with mono- and mixed cultures of *Lactobacillus plantarum* and *L. casei* enhances the phytochemical content and biological activities of cherry silverberry (*Elaeagnus multiflora* Thunb.) fruit [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 100(9): 3687–3696.

The Growth-promoting Effect of Ethanol-soluble Part of *Moringa oleifera* Aqueous Extract on *Lactobacillus casei*

LUO Kailian^{1,2,3}, TIAN Yang^{4*}, LI Yanan³, BI Xueyuan³, ZHANG Xiaodi³, ZHAO Yan⁵, SHENG Jun¹, GAO Xiaoyu^{1,2,3*}

¹Development and Utilization of Food and Drug Homology Resources Engineering Center, Ministry of Education, Kunming 650201

²Yunnan Key Laboratory of Precision Nutrition and Personalized Food Manufacturing, Kunming 650201

³College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201

⁴Pu'er University, Pu'er 665000, Yunnan

⁵Department of Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201

Abstract Objective: The effects of *Moringa oleifera* leaf extract on the growth of *Lactobacillus* were systematically evaluated, and the characteristics of its growth-promoting effect were explored. Methods: The effect of *M. oleifera* leaves extract on the growth of *Lactobacillus* was evaluated by *in vitro* pure culture method, and the combination of *M. oleifera* leaves extract and *Lactobacillus* with promoting effect was screened; the main components of the ethanol-soluble part of *M. oleifera* leaves aqueous extract (MAES) were detected by plant MRM broad targeting metabonomics technology, and its growth-promoting characteristics were evaluated from the aspects of biofilm characteristics, extracellular protein, total sugar and reducing sugar content, freezing and salt tolerance. Results: The aqueous extract of *M. oleifera* leaves (MAE) and MAES showed low promotion or inhibition on the growth of *Lactobacillus*, MAES could stimulate the growth of *Lacticaseibacillus casei* (LCA) at low concentrations (0.08%) and the promotion rate was 16.63%. MAES was rich in flavonoids, amino acids and nucleotides, which could promote the formation of LCA biofilm and increase the adhesion, surface hydrophobicity and acid-base charge of the biofilm; at the same time, the secretion of extracellular protein was promoted, and the contents of reducing sugar and total sugar were increased ($P < 0.01$); the antifreeze ability of LCA and the activity of β -galactosidase were also improved significantly ($P < 0.01$). In addition, MAES improved the NaCl tolerance of LCA. Conclusion: MEA had both low promoting effect and inhibiting effect on the growth of *Lactobacillus*. MAES could promote the growth of LCA by promoting the formation and adhesion of biofilm, increasing the content of extracellular protein, total sugar and reducing sugar, and enhancing the tolerance.

Keywords *Moringa oleifera*; *Lacticaseibacillus casei*; growth; biofilm; tolerance