

螺旋藻渣营养成分分析及其发酵产物功能活性评价

付云¹, 庞一扬¹, 赵谋明^{1,2}, 刘小玲^{1*}

(1. 广西大学轻工与食品工程学院, 广西南宁 530004; 2. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510000)

摘要:对螺旋藻渣的基本营养组成、常量元素和重金属含量进行分析, 评价不同菌种发酵螺旋藻渣的发酵产物功能活性。结果表明:螺旋藻渣蛋白质较高(48.08%), 氨基酸种类丰富, 是微生物生长繁殖的良好基料。5种菌种发酵螺旋藻渣的发酵产物中, 枯草芽孢杆菌 YA215 和地衣芽孢杆菌 YA269 发酵产物对 DPPH 自由基和 ABTS⁺ 自由基有较强的清除能力(YA215: 45.9%和 77.2%; YA269: 41.2%和 75.8%), 罗伊氏乳杆菌 LT906 发酵产物体外降血脂活性最为突出(3种胆酸盐结合率分别为: 44.6%、68.4%和 77.6%)。与酵母菌 NBRC10858 和保加利亚乳杆菌 YB177 发酵产物相比, 枯草芽孢杆菌 YA215、地衣芽孢杆菌 YA269 和罗伊氏乳杆菌 LT906 等3种益生菌的螺旋藻渣发酵产物对食源性致病菌抑菌效果更好, 且抑菌谱更为广泛。

关键词:螺旋藻渣; 抗氧化; 降血脂; 抑菌; 活性

Nutrient Composition Analysis of Spirulina Residue and Functional Activity Evaluation of Fermentation Products

FU Yun¹, PANG Yi-yang¹, ZHAO Mou-ming^{1,2}, LIU Xiao-ling^{1*}

(1. College of Light Industry and Food Engineering, Guangxi University, Nanning 530004, Guangxi, China;
2. School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510000, Guangdong, China)

Abstract: The contents of basic nutrients, macroelements and heavy metals in spirulina residue were analyzed to evaluate the functional activity of the fermentation products of different strains of spirulina residue. The results showed that spirulina residue was of high protein (48.08%), rich in amino acids, and was a good substrate for microbial growth and reproduction. Among the fermentation products of spirulina residue fermented by five strains of bacteria, *Bacillus subtilis* YA215 and *Bacillus licheniformis* YA269 had strong scavenging ability to DPPH free radicals and ABTS⁺ free radicals (YA215: 45.9% and 77.2%; YA269: 41.2% and 75.8%), *Lactobacillus reuteri* LT906 fermentation products showed the most prominent activity of lowering blood lipid *in vitro*

基金项目: 广西壮族自治区科技攻关计划资助项目(AA17204075); 广西科学基金资助项目(2016GXNSFEA380003)

作者简介: 付云(1996—), 男(汉), 硕士研究生, 研究方向: 副产物加工利用与微生物发酵。

* 通信作者: 刘小玲, 教授, 博士, 研究方向: 海洋资源开发与水产加工。

1228

- [12] 吴雪梅, 兰红军, 黎少映, 等. 淡水鱼中无机砷的液相色谱-原子荧光光谱测定法[J]. 职业与健康, 2019, 35(12): 1629-1632
- [13] 沈黎, 陈晓园, 路磊, 等. 液相色谱-原子荧光光谱联用检测小龙虾和鱼中不同形态砷的研究[J]. 绿色科技, 2013(11): 160-162
- [14] 苏美冬, 杨锐, 陈佳, 等. 液相色谱-原子荧光光谱法测定稻米中

无机砷含量的不确定度评定[J]. 农产品加工, 2019(18): 43-45, 48

- [15] 刘付英, 邵志凌, 李彩霞. 液相色谱-原子荧光联用法测定粮食中无机砷含量的不确定度评定[J]. 粮油食品科技, 2018, 26(4): 45-49

收稿日期: 2020-08-28

(the binding rates of the three cholic salts were 44.6%, 68.4% and 77.6%, respectively). Compared with the fermentation products of *Arxula adenivorans* NBRC10858 and *Lactobacillus bulgaricus* YB177, the fermentation products of spirulina residue from three probiotics, *Bacillus subtilis* YA215, *Bacillus licheniformis* YA269 and *Lactobacillus reuteri* LT906, had better antibacterial effect on foodborne pathogens and had a wider antibacterial spectrum. This study opens up a new direction for the scientific and rational development and utilization of spirulina residue, and has certain reference value.

Key words: spirulina residue; antioxidant; antilipemic; antibacterial; activity

引文格式:

付云,庞一扬,赵谋明,等.螺旋藻渣营养成分分析及其发酵产物功能活性评价[J].食品研究与开发,2020,41(24):186-192

FU Yun, PANG Yiyang, ZHAO Mouming, et al. Nutrient Composition Analysis of Spirulina Residue and Functional Activity Evaluation of Fermentation Products[J]. Food Research and Development, 2020, 41(24): 186-192

螺旋藻是工业化规模养殖的微藻之一^[1],其蛋白质含量丰富,氨基酸种类齐全,被誉为天然食物之冠^[2]。螺旋藻渣是工业上螺旋藻粉生产过程中的沉积物。广西北部湾是螺旋藻粉的重要生产基地,每年大量的螺旋藻渣被以污水排放的形式进行处理,小部分作为水产饲料低价销售^[3],这导致螺旋藻渣资源不仅没有被充分利用,反而成为了螺旋藻生产企业的经济负担,然而目前关于螺旋藻渣资源的回收利用相关的研究却鲜有报道。因此,螺旋藻渣资源开发应用不仅可以提高螺旋藻的经济价值,降低企业生产成本,同时也为废弃蛋白质资源的开发利用提供了一条新途径。

本研究以广西北部湾螺旋藻渣为原材料,分析螺旋藻渣的基本营养组成、常量元素和重金属含量,评价螺旋藻渣的可利用性,然后以5种不同来源益生菌对其进行液态发酵,评价螺旋藻渣发酵产物的抗氧化、降血脂及抑菌等功能活性,为科学合理开发利用螺旋藻渣提供技术支撑,同时,也为后续研究螺旋藻渣发酵产物中功能活性物质的种类及机理奠定基础。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 菌株

供试菌株:金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* CGMCC14519)、大肠杆菌(*Escherichia coli* CGMCC-112252)、沙门氏菌(*Salmonella typhimurium* CGMCC-11190)、志贺氏菌(*Shigella flexneri* CGMCC110599);中国普通微生物菌种保藏管理中心;枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis* YA215)、地衣芽孢杆菌(*Bacillus*

licheniformis YA269)、蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus* YA184)、保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus bulgaricus* YB177);课题组研究人员从北部湾海洋中分离并保存;罗伊氏乳杆菌(*Lactobacillus reuteri* LT906);轻工与食品工程学院613实验室筛选;酵母菌(*Arxula adenivorans* NBRC10858);日本生物资源中心。

1.1.2 培养基

螺旋藻渣培养基(g/L):螺旋藻渣 15 g、果糖 10 g、NaCl 10 g。制备固体培养基时添加 2%琼脂粉,调节 pH 值至 7.0,121 °C 高压灭菌 20 min。

LB 培养基(g/L)提供:蛋白胨 10 g、酵母浸粉 5 g、NaCl 10 g。制备固体培养基时添加 2%琼脂粉,调节 pH 值至 7.0,121 °C 高压灭菌 20 min。

1.1.3 试剂

螺旋藻渣:广西生巴达生物科技有限公司(冷链运输后快速冻结放于-20 °C 备用)。

氢氧化钠、氯化钠、三氯乙酸、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、硫酸铜均为分析纯;成都金山化学试剂有限公司;DPPH、ABTS、牛磺胆酸钠、胆酸钠、甘氨酸、胰蛋白酶(250 U/mg)、胃蛋白酶(3 000 U/mg)、福林酚、果糖;北京索莱宝科技有限公司;蛋白胨、酵母浸粉、琼脂粉;北京奥博星生物技术有限责任公司。

1.2 仪器与设备

UV-6100 紫外可见分光光度计:上海美谱达仪器有限公司;CR21N 高速冷冻离心机、L-8900 全自动氨基酸分析仪:日立公司;SUNRISE 酶标仪:帝肯(上海)贸易有限公司;ZQZY-85CS 振荡培养箱:上海知楚仪器有限公司;SQP 电子天平:赛多利斯科学仪器有限公司;SW-CJ-2F 洁净工作台:苏州安泰空气技术有限公

司;GI80TW 高压蒸汽灭菌锅:致微(厦门)仪器有限公司;DHP-9082 电热恒温培养箱:上海齐欣科学仪器有限公司;SKD-800 自动凯氏定氮仪:上海沛欧分析仪器有限公司;SZF-06A 自动脂肪测定仪:上海新嘉电子有限公司;SX-2-2.5-10 马弗炉:余姚金电仪表有限公司;Agilent 7700e 电感耦合等离子体质谱仪:安捷伦科技有限公司(日本)。

1.3 方法

1.3.1 主要营养成分测定

水分含量:105℃恒温烘干法参照 GB 5009.3-2016《食品安全国家标准 食品中水分的测定》;蛋白质含量:GB 5009.5-2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》;灰分含量:GB 5009.4-2016《食品安全国家标准 食品中灰分的测定》;脂肪含量:GB 5009.6-2016《食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》;总糖含量:GB/T 9695.31-2008《肉制品 总糖含量的测定》。

1.3.2 常量元素和重金属含量的测定

常量元素、砷、铅、铬、镉及甲基汞的测定均采用电感耦合等离子体发射谱法(inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, ICP-OES),对应的国家标准分别为 DBS52/019-2016《食品安全地方标准 食品中钾、镁、钙、铁、锌、磷、铜、钠的测定》、GB 5009.11-2014《食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定》、GB 5009.12-2017《食品安全国家标准 食品中铅的测定》、GB 5009.123-2014《食品安全国家标准 食品中铬的测定》、GB 5009.15-2014《食品安全国家标准 食品中镉的测定》和 GB 5009.17-2014《食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定》。

1.3.3 总氨基酸测定

称取螺旋藻渣样品 5.00 g, 根据 GB 5009.124-2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定》使用氨基酸自动分析仪进行氨基酸测定。

1.3.4 螺旋藻发酵产物的制备

将活化后的 *Bacillus subtilis* YA215、*Bacillus licheniformis* YA269、*Lactobacillus bulgaricus* YB177、*Lactobacillus reuteri* LT906 和 *Arxula adenivorans* NBRC10858 (5种菌悬液浓度均为 10^8 CFU/mL) 分别接种于螺旋藻渣液体培养基中, 200 r/min、37℃摇床培养 24 h, 8 000 r/min 离心 20 min, 分别收集发酵上清液, 冷冻干燥。

1.3.5 可溶性蛋白含量测定

参照 LOWRY OH 等^[4]和林智等^[5]的方法并稍作修改, 将 5 种菌株发酵螺旋藻渣的冻干产物分别复溶于超纯水, 使其终浓度均为 50 mg/mL, 采用福林酚法测

定发酵产物中可溶性蛋白含量, 空白对照为未进行发酵的螺旋藻渣液体培养基冻干产物。

1.3.6 多肽含量测定

参照鲁伟等^[6]的方法并稍作修改, 将 5 种菌株发酵螺旋藻渣的冻干产物分别复溶于超纯水, 使其终浓度均为 50 mg/mL, 然后各取 2 mL, 加入 10%三氯乙酸 2.0 mL, 混匀, 静置 10 min, 5 000 r/min 离心 15 min, 取 0.5 mL 上清液于另一试管中, 再加入 2 mL 双缩脲试剂, 混匀后静置 15 min, 3 000 r/min 离心 15 min 后, 取上清液于 540 nm 处测吸光度值, 以加 0.5 mL 蒸馏水和 2.0 mL 双缩脲试剂作空白。

1.3.7 体外抗氧化活性测定

1.3.7.1 DPPH 自由基清除能力的测定

参照邱现创等^[7]和 Bartolome 等^[8]的方法并稍作修改。称取 1.0 mg 的 DPPH 自由基, 以 95%乙醇为溶剂, 配制浓度为 0.127 mmol/L 的 DPPH 自由基溶液, 保存于 4℃冰箱中, 备用。在 2 mL 0.127 mmol/L DPPH 自由基溶液中加入 1 mL 50 mg/mL 的发酵冻干产物样品溶液, 摇匀, 室温 25℃下静置 30 min, 517 nm 下测定其吸光值 A_1 ; 同时测定 2 mL 0.127 mmol/L DPPH 自由基溶于 1 mL 的 95%乙醇混合液的吸光值 A_c ; 空白组为 3 mL 50 mg/mL 的发酵冻干产物样品溶液 517 nm 下吸光度 A_0 , 阳性对照为 20 mg/mL 抗坏血酸 V_c 。DPPH 自由基清除率计算公式如下:

$$\text{DPPH 自由基清除率}/\% = \frac{A_c - (A_1 - A_0)}{A_c} \times 100$$

式中: A_0 为阴性对照组, 样品本身的吸光度值; A_c 为空白对照组, 不加样品时的吸光度值; A_1 为样品组, 加入样品时的吸光度值。

1.3.7.2 ABTS⁺自由基清除能力的测定

参照 Dai Chunhua 等^[9]和 Queiroz Santos Vidiany A 等^[10]的方法并稍作修改。将 0.2 mL 7.4 mmol/L ABTS 溶液与 0.2 mL 2.6 mmol/L $K_2S_2O_8$ 混合后室温 25℃下避光静置 12 h, 用 pH 7.4 的磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS) 稀释 40~50 倍, 使其 $OD_{734\text{nm}}$ 达到 0.7 左右, 得到 ABTS 工作液。然后将 3 mL ABTS 工作液与 200 μ L 50 mg/mL 的发酵冻干产物样品溶液混合, 充分摇匀, 静置 6 min, 734 nm 处测定吸光值。空白对照为 PBS 缓冲液, 阳性对照为 20 mg/mL 水溶性维生素 E。ABTS⁺自由基清除率计算公式如下:

$$\text{ABTS}^+ \text{自由基清除率}/\% = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

式中: A_0 为空白对照在 734 nm 处的 OD 值; A_1 为样品溶液在 734 nm 处的 OD 值。

1.3.8 体外降血脂活性测定

1.3.8.1 3种胆酸盐标准曲线的绘制

参考曾桥等^[11]和钱雅雯等^[12]的方法并稍作修改,以 pH 6.3、0.1 mol/L 磷酸缓冲液配制 0.3 mmol/L 胆酸钠、0.4 mmol/L 甘氨酸胆酸钠和 0.5 mmol/L 牛磺胆酸钠溶液,分别取 3 种胆酸盐溶液 0、0.1、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 于 10 mL 具塞试管中,用 0.1 mol/L, pH 6.3 的磷酸缓冲液将胆酸盐溶液定容至 2.5 mL,然后加入 7.5 mL 质量分数 60% 的硫酸溶液,将混合溶液 70 °C 水浴 20 min,取出后冰浴冷却至室温 25 °C,374 nm 处测吸光值,绘制 3 种胆酸盐的标准曲线。经处理得到牛磺胆酸钠、甘氨酸胆酸钠、胆酸钠的线性回归方程分别为: $y=15.849x+0.6901$, $R^2=0.9993$; $y=39.856x+0.0461$, $R^2=0.9947$; $y=39.162x+0.1426$, $R^2=0.9931$ 。

1.3.8.2 胆酸盐结合试验

参照于美汇等^[13]的方法,分别移取 3 mL 50 mg/mL 不同发酵冻干产物样品溶液各 3 份于 100 mL 三角瓶中,每个三角瓶分别加入 3 mL 10 mg/mL 胃蛋白酶溶液和 1 mL 0.01 mol/L 的 HCl 溶液,37 °C 恒温振荡反应 1 h(模拟胃消化环境),0.1 mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH 值至 6.3。随后加入 4 mL 10 mg/mL 胰蛋白酶溶液,37 °C 下恒温振荡反应 1 h(模拟肠道环境)。一份样品中加入 4 mL 0.3 mmol/L 甘氨酸胆酸钠;一份样品中加入 4 mL 0.4 mmol/L 甘氨酸胆酸钠;另一份样品中加入 4 mL 0.5 mmol/L 牛磺胆酸钠。37 °C 恒温振荡反应 1 h,于 4 000 r/min 离心 20 min,取上清液,用比色法于 387 nm 处测定吸光度值,每个样品平行测定 3 次。以 10 mg/mL 考来烯胺作为阳性对照,按照标准曲线计算剩余甘氨酸胆酸钠和牛磺胆酸钠总量减去剩余量所得差值与总量的比值即为结合率,以百分比表示。计算公式如下:

$$\text{胆酸钠结合率}/\% = \frac{c_0 - c_1}{c_0} \times 100$$

式中: c_0 为胆酸钠加入量, μmol ; c_1 为胆酸钠剩余量, μmol 。

$$\text{甘氨酸胆酸钠结合率}/\% = \frac{c_2 - c_3}{c_2} \times 100$$

式中: c_2 为甘氨酸胆酸钠加入量, μmol ; c_3 为甘氨酸胆酸钠剩余量, μmol 。

$$\text{牛磺胆酸钠结合率}/\% = \frac{c_4 - c_5}{c_4} \times 100$$

式中: c_4 为牛磺胆酸钠加入量, μmol ; c_5 为牛磺胆酸钠剩余量, μmol 。

1.3.9 抑菌活性测定

1.3.9.1 指示菌菌悬液的制备

将保存于 -80 °C 冰箱内的 5 种指示菌 (*Staphylo-*

coccus aureus CGMCC14519、*Escherichia coli* CGMCC-112252、*Salmonella typhimurium* CGMCC11190、*Shigella flexneri* CGMCC110599 和 *Bacillus cereus* YA184) 菌种接种于 LB 固体培养基中,37 °C 恒温培养 24 h。再将活化好的菌种挑单菌落,接种于 100 mL LB 液体培养基中,200 r/min,37 °C 摇床培养 24 h,此时指示菌菌悬液浓度为 10^7 CFU/mL ~ 10^8 CFU/mL。

1.3.9.2 抑菌率测定

吸取 100 μL 指示菌菌悬液于 100 mL LB 培养液中,试验组添加 10 mL 50 mg/mL 不同发酵冻干产物样品溶液,空白组不添加发酵冻干产物样品溶液,进行抑菌试验。培养 12 h 后,测定菌液在 600 nm 波长下吸光度值。通过试验组与空白组的菌液浓度计算出抑菌率^[14-15]。

$$\text{抑菌率}/\% = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100$$

式中: A_1 为空白组吸光度值; A_2 为试验组吸光度值。

1.4 数据统计与分析

所有试验均进行 3 次平行试验,试验数据均采用 IBM SPSS Statistics 19 与 Origin 9.1 进行数据分析,以平均值 \pm 标准差的形式呈现。

2 结果与分析

2.1 螺旋藻渣组成成分分析

螺旋藻渣中主要成分含量见表 1。

表 1 螺旋藻渣中主要成分含量(干基)

Table 1 Contents of the basic components in spirulina residue (dry basis)

项目	含量/%	项目	含量/%
水分	6.28 \pm 0.29	蛋白质	48.08 \pm 0.11
灰分	7.41 \pm 0.56	总糖	5.37 \pm 0.21
脂肪	4.39 \pm 0.13	其他*	28.47 \pm 0.17

注:* 主要包含色素类物质,含量是通过减量法计算得出。

螺旋藻渣主要营养成分含量如表 1 所示,螺旋藻渣中水分含量为 6.28%,灰分含量为 7.41%,脂肪含量为 4.39%,粗蛋白含量达 48.08%,总糖含量为 5.37%,色素类物质含量为 28.47%。董育红等^[16]曾报道指出螺旋藻中水分含量为 4.50%,灰分含量 6.20%,粗蛋白含量为 69.30%,脂肪含量 5.36%,总糖含量 10.44%。虽然螺旋藻渣营养成分中蛋白质含量、脂肪含量和总糖含量低于螺旋藻本身,但它依然是一种蛋白质含量较高的低值副产物原料,具有一定的利用价值。

2.2 螺旋藻渣元素含量分析

螺旋藻渣中常量元素含量见表 2,螺旋藻渣中重

金属含量见表3。

表2 螺旋藻渣中常量元素含量(干基)

Table 2 Contents of major elements in spirulina residue (dry basis)

元素	含量/(mg/kg)	元素	含量/(mg/kg)
钙(Ca)	23 150	钒(V)	0.20
钾(K)	8 450	钠(Na)	3120
镁(Mg)	6 590	钴(Co)	0.13
铁(Fe)	960	铬(Cr)	0.06
锌(Zn)	56.20	硒(Se)	0.39
锰(Mn)	8.90	铜(Cu)	1.28

表3 螺旋藻渣中重金属含量(干基)

Table 3 Contents of heavy metal in spirulina residue(dry basis)

元素	限量/(mg/kg)	含量/(mg/kg)	是否超标
无机砷(As)	≤0.5	未检出	否
铅(Pb)	≤2.0	0.01	否
镉(Cd)	≤0.2	未检出	否
汞(Hg)	≤0.05	未检出	否

螺旋藻渣常量元素含量如表2所示,其中钙含量较高为23 150 mg/kg,微量元素钾、铁、锌等含量也很丰富,所以将螺旋藻渣开发为动物饲料是一种良好的元素补充剂。螺旋藻渣中重金属元素含量如表3所示,与国标GB 5009.268-2016《食品安全国家标准 食品中多元素的测定》的比较,由表可知螺旋藻渣中含有铅为0.01 mg/kg,其他重金属元素均未检出,符合国家食品安全标准。

2.3 螺旋藻渣氨基酸组成与总氨基酸含量

螺旋藻渣中氨基酸组成对其作为菌种发酵原料具有重要的参考意义,螺旋藻渣氨基酸组成如表4所示。

表4 螺旋藻渣的氨基酸组成(干基)

Table 4 Amino acids composition of spirulina residue(dry basis)

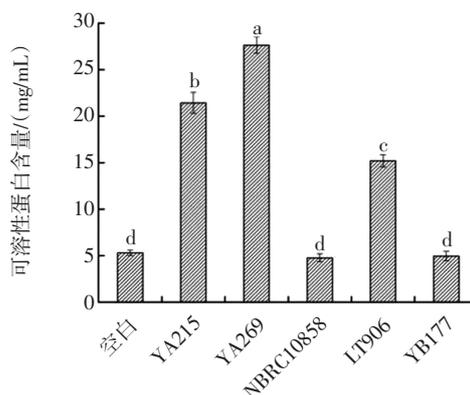
氨基酸	含量/(mg/g)	氨基酸	含量/(mg/g)
甘氨酸	18.9±0.4	缬氨酸	25.3±0.7
丙氨酸	30.4±0.5	苏氨酸	18.9±0.3
组氨酸	6.6±0.7	甲硫氨酸	5.2±0.4
酪氨酸	12.1±0.1	苯丙氨酸	17.9±1.2
丝氨酸	18.6±0.4	赖氨酸	22.8±1.3
天冬氨酸	37.3±0.3	谷氨酸	54.7±0.1
精氨酸	27.1±0.2	脯氨酸	16.6±0.4
亮氨酸	34.3±0.9	异亮氨酸	22.4±0.4
半胱氨酸	1.1±0.1	总氨基酸	370.2±0.3

由表4可见,螺旋藻渣中含有氨基酸种类齐全,总量达到370.2 mg/g。闫春宇等^[17]研究显示螺旋藻中总氨基酸含量在309.94 mg/g~505.95 mg/g;螺旋藻渣中总氨基酸含量与此研究中的报道值相近。与螺旋藻相比,螺旋藻渣中各氨基酸含量均低于螺旋藻,但氨基酸含量的总体趋势未发生变化,特别是谷氨酸、天冬

氨酸、丙氨酸、亮氨酸含量尤为突出。因此,螺旋藻渣氨基酸含量高、种类丰富,可作为培养菌种生长繁殖的良好基料。

2.4 不同发酵冻干产物中可溶性蛋白含量分析

不同发酵冻干产物中可溶性蛋白含量见图1。



字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。

图1 不同螺旋藻渣发酵冻干产物中可溶性蛋白含量

Fig.1 Soluble protein content in lyophilized products of different spirulina residue fermentation

图1表明,不同菌种发酵螺旋藻渣的上清液冻干产物中,可溶性蛋白含量最高的是地衣芽孢杆菌YA269发酵产物,含量为27.6 mg/mL,其次是枯草芽孢杆菌YA215和罗伊氏乳杆菌LT906发酵产物,含量分别为21.4 mg/mL和15.2 mg/mL,酵母菌NBRC10858和保加利亚乳杆菌YB177发酵产物与空白组没有显著性差异($P > 0.05$)。枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌分别是中性蛋白酶和碱性蛋白酶的重要生产菌株^[18-19],因此其发酵产物中可溶性蛋白的来源可能是蛋白酶和部分螺旋藻渣蛋白的混合物。万心怡等^[20]和徐海燕等^[21]研究表明罗伊氏乳杆菌生长代谢过程中产生的细菌素是一类具有蛋白特性的物质,故推测罗伊氏乳杆菌发酵产物中可溶性蛋白部分为细菌素。

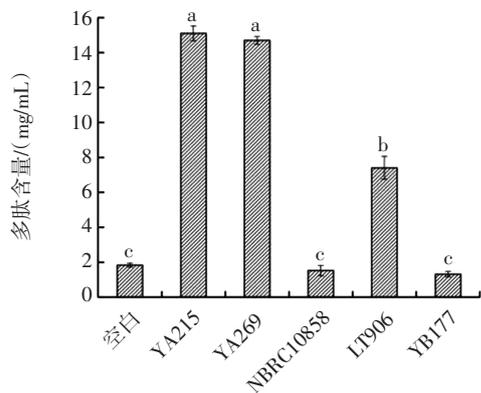
2.5 不同发酵冻干产物中多肽含量分析

不同菌种发酵螺旋藻渣的发酵产物中多肽含量见图2。

由图2可知,发酵产物中多肽含量相对较高的为枯草芽孢杆菌YA215和地衣芽孢杆菌YA269发酵液,两者并无显著性差异($P > 0.05$)。在发酵过程中,由于枯草芽孢杆菌YA215和地衣芽孢杆菌YA269自身代谢产生的蛋白酶能酶解螺旋藻渣蛋白,因而发酵产物中多肽含量比其他3种菌株发酵液偏高。

2.6 不同发酵冻干产物的抗氧化能力

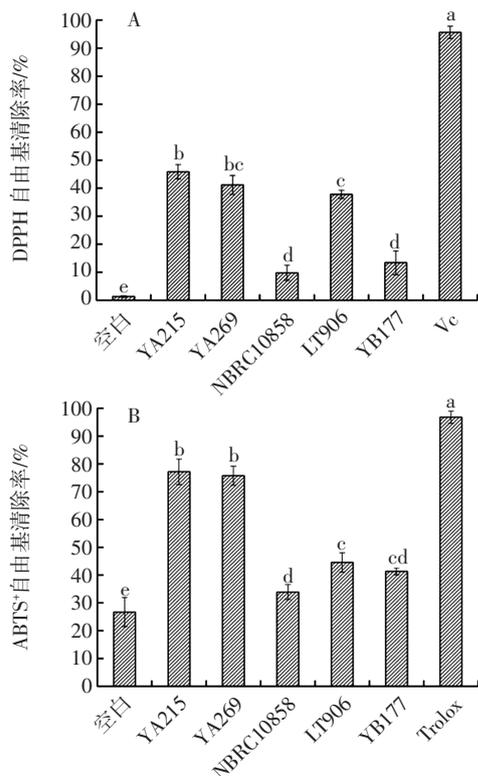
不同螺旋藻渣发酵产物对DPPH和ABTS⁺自由基清除能力如图3所示。



字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

图2 不同螺旋藻渣发酵冻干产物中多肽含量

Fig.2 Poly peptide content content in lyophilized products of different spirulina residue fermentation



Trolox 代表维生素 E;字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

图3 不同螺旋藻渣发酵冻干产物对 DPPH 和 ABTS+ 自由基清除能力

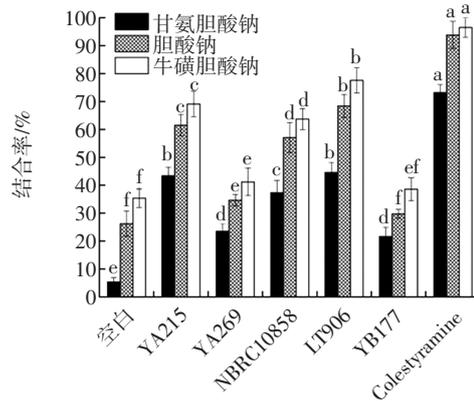
Fig.3 The free radical scavenging capacity of different spirulina residue fermentation lyophilized products to DPPH and ABTS

5 种螺旋藻渣发酵冻干产物中, 枯草芽孢杆菌 YA215、地衣芽孢杆菌 YA269 和罗伊氏乳杆菌 LT906 有较好的清除 DPPH 自由基的能力, 但三者数值较为接近, 并无太大差异性(图 3A)。在 ABTS⁺ 自由基清除能力上, 5 种菌株发酵液均有一定的清除 ABTS⁺ 自由基效果, 枯草芽孢杆菌 YA215 和地衣芽孢杆菌 YA269 发酵液清除 ABTS⁺ 自由基能力最为突出, 清除率均达

到 75% 以上(图 3B)。因此, 总体来说, 枯草芽孢杆菌 YA215 和地衣芽孢杆菌 YA269 发酵产物抗氧化能力最强, 其次为罗伊氏乳杆菌 LT906, 酵母菌 NBRC10858 和保加利亚乳杆菌 YB177 发酵产物抗氧化能力最弱。

2.7 不同发酵冻干产物的体外胆酸盐结合能力

体外胆酸盐的结合能力强弱是降血脂活性的重要体现^[2], 不同螺旋藻渣发酵冻干产物对胆酸盐结合能力见图 4。



Colestyramine 代表考来烯胺; 相同颜色柱状图字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

图4 不同螺旋藻渣发酵冻干产物对胆酸盐结合能力

Fig.4 The capacity of different spirulina residue fermentation lyophilized products to bind sodium cholate

如图 4 所示, 5 种螺旋藻渣发酵产物对不同胆酸盐的结合能力趋势保持一致性。与阳性对照考来烯胺相比, 胆酸盐结合能力相对较强的是罗伊氏乳杆菌 LT906 发酵产物, 其次为枯草芽孢杆菌 YA215 和酵母菌 NBRC10858 发酵产物, 最弱的是地衣芽孢杆菌 YA269 和保加利亚乳杆菌 YB177。有研究报道指出, 乳酸菌等益生菌在生长发酵过程中产生的胞外多糖及细菌素具有调控降血脂降血糖等功能活性^[23]。因此, 螺旋藻渣发酵产物的胆酸盐结合能力可能也与此有关。

2.8 不同发酵冻干产物的抑菌活性

不同螺旋藻渣发酵冻干产物对致病菌的抑菌率见表 5。

由表 5 可知, 酵母菌 NBRC10858 对食源性致病菌均没有抑菌效果, 抑菌效果较好的是枯草芽孢杆菌 YA215 和地衣芽孢杆菌 YA269 发酵产物, 这可能是由于其发酵产物中的可溶性蛋白和小分子多肽物质发挥了抗菌作用^[24-25]。罗伊氏乳杆菌 LT906 和保加利亚乳杆菌 YB177 对 5 种致病菌也有不同程度的抑菌效果, 这可能是由于乳酸菌生长代谢过程中产生的有机酸及细菌素起到了一定的抗菌作用。吴惠贞等^[26]研究

表5 不同螺旋藻渣发酵冻干产物对致病菌的抑菌率

Table 5 The inhibition rate of different spirulina residue fermentation lyophilized products to pathogenic bacteria

类型	YA215	YA269	NBRC10858	LT906	YB177	%
<i>Staphylococcus aureus</i> CGMCC14519	65.3±3.3 ^a	64.2±4.3 ^a	—	46.4±2.2 ^b	44.2±2.1 ^b	
<i>Escherichia coli</i> CGMCC112252	50.2±2.1 ^b	62.2±3.2 ^a	—	33.9±4.3 ^c	51.5±3.5 ^b	
<i>Salmonella typhimurium</i> CGMCC11190	42.1±2.4 ^c	47.1±1.5 ^b	—	52.8±3.6 ^a	—	
<i>Shigella flexneri</i> CGMCC110599	41.1±5.1 ^a	36.3±3.8 ^b	—	30.1±4.2 ^c	—	
<i>Bacillus cereus</i> YA184	52.5±4.5 ^a	53.7±2.4 ^a	—	—	34.6±4.2 ^b	

注:同行不同列之间标注不同字母表示差异显著($P<0.05$);—表示未检测出抑菌率。

表明罗伊氏乳杆菌发酵液对大肠杆菌具有良好抑菌效果,且分析其抑菌物质可能是由小分子肽、有机酸和过氧化氢等组成。魏薇薇等^[27]研究的保加利亚乳杆菌发酵液对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌也有不同程度的抑菌效果。

3 结论

螺旋藻渣是一种蛋白质含量高,氨基酸种类丰富的副产物原料,经枯草芽孢杆菌 YA215 和地衣芽孢杆菌 YA269 两种菌株发酵后,发酵产物中可溶性蛋白和小分子多肽含量得到显著提高,且抗氧化能力增强,对食源性致病菌具有广泛的抑菌作用。同时,螺旋藻渣经罗伊氏乳杆菌 LT906 发酵后,其发酵产物表现出良好的体外降血脂活性。因此,若将发酵后的螺旋藻渣应用于饲料配料,则可提高动物的抗病性,从而有效提高螺旋藻渣的价值。本研究为螺旋藻渣资源的开发利用提供了一条新途径。

参考文献:

- [1] Thengodkar R R M, Sivakami S. Degradation of Chlorpyrifos by an alkaline phosphatase from the cyanobacterium *Spirulina platensis* [J]. Biodegradation, 2010, 21(4): 637–644
- [2] 郑建仙. 二十一世纪的主导食品——功能性食品 [J]. 广州食品工业科技, 1995, 11(2): 15–17, 21
- [3] 刘惠芳. 螺旋藻在饲料工业中的应用 [J]. 动物科学与动物医学, 2001, 18(2): 62–65
- [4] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1951, 193(1): 265–275
- [5] 林智. 食品中蛋白质含量的测定[J]. 当代化工, 2010, 39(2): 224–226
- [6] 鲁伟, 任国谱, 宋俊梅. 蛋白水解液中多肽含量的测定方法[J]. 食品科学, 2005, 26(7): 169–171
- [7] 邱现创. 铁皮石斛多糖提取工艺优化及其抗氧化活性研究[D]. 太原: 山西大学, 2017: 23–24
- [8] Bartolomé B, Nuñez V, Monagas M, et al. *In vitro* antioxidant activity of red grape skins[J]. European Food Research and Technology, 2004, 218(2): 173–177
- [9] Dai C H, Ma H L, He R H, et al. Improvement of nutritional value

and bioactivity of soybean meal by solid-state fermentation with *Bacillus subtilis*[J]. LWT, 2017, 86: 1–7

- [10] Queiroz Santos V A, Nascimento C G, Schmidt C A P, et al. Solid-state fermentation of soybean okara: Isoflavones biotransformation, antioxidant activity and enhancement of nutritional quality[J]. LWT, 2018, 92: 509–515
- [11] 曾桥, 韦承伯, 韩国锋, 等. 桑叶茯砖茶多糖的响应面提取工艺优化及其体外抗氧化降血脂作用[J]. 食品工业科技, 2018, 39(18): 193–200
- [12] 钱雅雯, 魏佳, 张政, 等. 籽瓜多糖提取工艺的响应面优化及其体外降血脂活性[J]. 食品工业科技, 2020, 41(2): 101–107
- [13] 于美汇, 赵鑫, 尹红力, 等. 碱提醇沉黑木耳多糖体外和体内降血脂功能[J]. 食品科学, 2017, 38(1): 232–237
- [14] 张雯, 卞丹, 沈燕秋, 等. 枯草芽孢杆菌抑菌活性物质鉴定、抑菌特性及发酵条件优化[J]. 中国食品学报, 2017, 17(12): 105–115
- [15] Wang T, Liang Y F, Wu M B, et al. Natural products from *Bacillus subtilis* with antimicrobial properties[J]. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2015, 23(4): 744–754
- [16] 董育红, 封涛, 张振兰, 等. 螺旋藻的营养成分分析[J]. 食品研究与开发, 2003, 24(3): 70–71
- [17] 闫春宇, 王素英, 董世瑞. 22 株螺旋藻(节旋藻)氨基酸成分分析及营养评价[J]. 食品与机械, 2015, 31(6): 21–27
- [18] 张咪, 钱静亚. 脉冲磁场诱变结合发酵条件优化提高中性蛋白酶产量的研究[J]. 包装与食品机械, 2019, 37(3): 5–7, 18
- [19] 王兴吉, 佟新伟, 王克芬, 等. 芽孢杆菌产碱性蛋白酶的进展[J]. 食品与发酵科技, 2019, 55(1): 62–65
- [20] 万心怡. 罗伊氏乳杆菌产罗伊氏细菌素的工艺优化[D]. 无锡: 江南大学, 2017: 9–11
- [21] 徐海燕, 曹银生, 张志焱, 等. 罗伊氏乳杆菌所产细菌素的研究[J]. 饲料与畜牧, 2011(9): 27–30
- [22] 芦宇, 吕长鑫, 焦天慧, 等. 聚酰胺纯化红树莓籽黄酮及其结合胆酸盐能力评价[J]. 中国食品学报, 2019, 19(10): 172–178
- [23] 于焕. 益生菌发酵工艺、冻干保护剂优化与活性研究[D]. 沈阳: 辽宁大学, 2017: 16–17
- [24] 付云, 赵谋明, 卢美杉, 等. 枯草芽孢杆菌 YA215 发酵螺旋藻渣产抑菌活性的工艺[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(4): 146–152
- [25] 叶生梅, 严航, 程其国. 芽孢杆菌 BLy 的鉴定及抑菌活性物质特性[J]. 安徽工程大学学报, 2019, 34(5): 1–7, 18
- [26] 吴惠贞, 鲍志宁, 林伟锋. 罗伊氏乳杆菌发酵液的抑菌特性与抑菌成分性质初探[J]. 食品科技, 2019, 44(10): 8–13
- [27] 魏薇薇. 鱿鱼加工副产物的生物转化营养制品研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2017: 46–53

收稿日期: 2020-01-10