

发酵食品中具有潜在降尿酸功能乳酸菌的筛选及特性分析

李杰¹, 李霜², 张鹏霞³, 祝丽玲¹, 周健¹, 孙雪微¹, 宋丽新^{4*}

(1. 佳木斯大学 公共卫生学院 黑龙江省痛风研究重点实验室, 黑龙江 佳木斯 154000; 2. 佳木斯大学附属第一医院 急诊科, 黑龙江 佳木斯 154000; 3. 佳木斯大学 基础医学院 黑龙江省微生态-免疫调控网络与相关疾病重点实验室, 黑龙江 佳木斯 154000; 4. 包头市疾病预防控制中心, 内蒙古 包头 014030)

摘要: 从传统发酵食品中筛选具有潜在降尿酸功能的乳酸菌, 利用高效液相色谱法分析该菌株的核苷降解能力, 并检测菌株对黄嘌呤氧化酶抑制作用、消化道环境耐受性及抗生素敏感性。结果表明: 大豆中的植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*) TY-S8 对核苷的降解率可达 99.33%, 对黄嘌呤氧化酶的抑制率可达 16.73%, 此外, 在经 pH2.0~4.0、3.0 g/L 胆盐以及人工胃肠条件处理下, 其活菌数均可高达 6.00 lg (CFU/mL) 以上, 且菌株对氨苄西林、红霉素以及头孢曲松具有较强敏感性。综上, 植物乳杆菌 TY-S8 具有潜在降尿酸功能以及良好的益生特性, 可以应用于高尿酸血症预防和辅助治疗中。

关键词: 高尿酸血症; 核苷; 乳酸菌; 植物乳杆菌; 尿酸

Screening and Characteristics Analysis of Lactic Acid Bacteria with Potential Function of Reducing Uric Acid from Fermented Foods

LI Jie¹, LI Shuang², ZHANG Pengxia³, ZHU Liling¹, ZHOU Jian¹, SUN Xuewei¹, SONG Lixin^{4*}

(1. Heilongjiang Key Laboratory of Gout Research, School of Public Health, Jiamusi University, Jiamusi 154000, Heilongjiang, China; 2. Department of Emergency, The First Affiliated Hospital of Jiamusi University, Jiamusi 154000, Heilongjiang, China; 3. Heilongjiang Key Laboratory of Microecology-Immune Regulatory Network and Related Diseases, School of Basic Medical Sciences, Jiamusi University, Jiamusi 154000, Heilongjiang, China; 4. Baotou Disease Prevention and Control Center, Baotou 014030, Inner Mongolia, China)

Abstract: This paper isolated lactic acid bacteria capable of lowering uric acid from traditional fermented foods. The nucleoside degradation ability of the screened strains was analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC), and their inhibition against xanthine oxidase, environmental tolerance *in vitro* and antibiotic susceptibility were also tested. The results showed that *Lactobacillus plantarum* TY-S8 from soybean paste was able to efficiently degrade nucleosides, with the degradation rate reaching as high as 99.33%, and the inhibition rate for xanthine oxidase could be as high as 16.73%. Additionally, *L. plantarum* TY-S8 treated with 3.0 g/L bile salts and artificial gastrointestinal conditions at pH2.0-4.0 had viable bacterial counts over 6.00 lg (CFU/mL), and the strain was sensitive to some antibiotics such as ampicillin, erythromycin and ceftriaxone. In conclusion, *L. plantarum* TY-S8 had the potential function of reducing uric acid as well as desirable probiotic characteristics, which could be applied to the prevention and adjuvant treatment of hyperuricemia.

Key words: hyperuricemia; nucleosides; lactic acid bacteria; *Lactobacillus plantarum*; uric acid

引文格式:

李杰, 李霜, 张鹏霞, 等. 发酵食品中具有潜在降尿酸功能乳酸菌的筛选及特性分析[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(7): 174-180.

基金项目: 黑龙江省省属高等学校基本科研业务费科研项目(2022-KYYWF-0649)

作者简介: 李杰(1989—), 女(汉), 实验师, 硕士, 研究方向: 功能性乳酸菌的挖掘。

*通信作者: 宋丽新(1989—), 女(汉), 主管检验师, 硕士, 研究方向: 微生物及人群健康。

LI Jie, LI Shuang, ZHANG Pengxia, et al. Screening and Characteristics Analysis of Lactic Acid Bacteria with Potential Function of Reducing Uric Acid from Fermented Foods[J]. Food Research and Development, 2024, 45(7): 174-180.

随着经济的快速发展和人们生活方式的改变,高蛋白和高嘌呤食物的摄入量不断增加,致使世界范围内高尿酸血症的人群患病率逐年攀升^[1]。高尿酸血症是一种因嘌呤代谢紊乱和尿酸形成与分泌失衡引发的代谢性疾病,也是导致痛风、动脉硬化和心血管等疾病发生的重要危险因素之一^[2-3]。目前,针对该病的治疗方法主要包括饮食干预和药物治疗,但由于人群饮食控制难度较大,且药物所产生的副作用偏多^[4-5],因此,寻找温和、无毒副作用的方式有效降低高尿酸血症患者的血清尿酸水平已成为目前该领域研究的热点问题。

近几年相关研究发现益生菌对高尿酸血症和痛风具有积极的调控作用^[6],乳酸菌作为一类重要的益生菌其对高尿酸血症的作用功效及途径被陆续报道。麻菊美等^[7]从泡菜中分离筛选出一株能够高效降解嘌呤核苷的弯曲乳杆菌,该菌株对肌苷和鸟苷的降解率均在89%以上,且在人工胃肠液中表现出一定的耐受性,具有良好的益生特性。Wu等^[8]从浆水中分离了一株发酵乳杆菌JL-3,发现该菌株可以有效降低小鼠血清中尿酸水平,并且对小鼠体内因高尿酸血症诱导所引发的氧化胁迫应答、炎症反应以及肠道菌群失衡现象等进行调节。除此之外,García-Arroyo等^[9]研究发现,乳酸菌KB27和KB79可以降低高尿酸血症大鼠血清中尿酸水平,有效改善其肾部损伤以及产生的高血压症状,对高尿酸血症起到一定预防作用。目前,有关乳酸菌在高尿酸血症中的应用研究尚不全面,且迄今所报道的对高尿酸血症有益生作用的乳酸菌种仍相对较少,更多研究亟待深入。

本研究利用高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法^[10-11]测定乳酸菌核苷降解能力,通过分析菌株对黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XOD)的抑制作用、在胃肠道中的转运能力、耐酸和耐胆盐能力以及对抗生素的敏感性等,初步判断菌株益生特性,选择出对高尿酸血症具有潜在预防和辅助治疗作用的乳酸菌,以期为今后利用益生菌对高尿酸血症进行靶向治疗提供理论基础和菌种资源。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 菌种来源

本试验所用的30株菌株分离自东北传统发酵大酱以及朝鲜族农家自制泡菜中。

1.1.2 药品及试剂

MRS培养基:青岛海博生物技术有限公司;肌苷标

准品、鸟苷标准品(色谱纯)、黄嘌呤氧化酶活性检测试剂盒、黄嘌呤氧化酶标准品(色谱纯)、胃蛋白酶(≥ 250 U/mg)、胰蛋白酶(250 N.FU/mg)、胆盐:北京索莱宝科技有限公司;药敏纸片:常德比克曼生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

高效液相色谱仪(LC-20A):日本岛津公司;高速冷冻低温离心机(multifuge X1R)、恒温振荡培养箱(BPH-9272):美国 Thermo Fisher 公司;恒温振荡水浴装置(Julabo SW22):优莱博技术(北京)有限公司;可见分光光度计(VIS-7220N):北京瑞利分析仪器公司;基质辅助电喷雾飞行时间质谱仪(MBT smart):布鲁克(北京)科技有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 菌种的分离与纯化

将25 mL 4℃保存的泡菜汤汁加入225 mL 无菌生理盐水中,并将其进行10倍浓度梯度稀释(10^{-1} ~ 10^{-7}),吸取100 μ L的样品稀释液涂布于MRS琼脂培养基上,于37℃静置培养48 h后,根据乳酸菌菌落颜色及形态学特征挑取单菌落,利用平板划线法进行分离和纯化。

1.3.2 肌苷和鸟苷标准曲线的制作

将16.90 mg 肌苷和22.88 mg 鸟苷标准品溶于1 mol/L K_3PO_4 溶液中,配制成浓度为1.26 mmol/L的肌苷-鸟苷混合标准溶液。分别吸取0.25、0.5、1.0、2.5 mL和5 mL肌苷-鸟苷混合标准溶液,加入1 mol/L K_3PO_4 溶液定容至5 mL,混匀。以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标制备肌苷-鸟苷标准曲线。

1.3.3 降解肌苷和鸟苷乳酸菌的筛选

参照 Tsuboi 等^[12]的方法筛选能够降解核苷的乳酸菌:将经充分活化的菌液以体积分数为1%的接种量接种到新鲜的MRS培养基中,37℃静置培养48 h后,取2 mL培养液,于4℃、4 000 r/min条件下离心10 min,收集菌体,并用无菌的0.9% NaCl溶液清洗2次后,重悬于750 μ L肌苷和鸟苷磷酸盐反应液中,重悬菌体后置入37℃、120 r/min孵育1 h,于4℃、4 000 r/min条件下离心10 min后取上清液,按体积比9:1加入0.1 mol/L $HClO_4$ 终止反应。用微孔滤膜过滤上清液,用HPLC法测定其中肌苷和鸟苷的含量。色谱条件为柱温30℃、流速1 mL/min、测定波长260 nm。流动相组成为水:色谱甲醇=95:5(体积比)。

按公式(1)计算菌株对肌苷和鸟苷的降解率($J, \%$)。

$$J = [(C_0 - C_1) / C_0] \times 100 \quad (1)$$

式中: C_0 为母液质量浓度, g/L; C_1 为残留液质量浓度, g/L。

1.3.4 乳酸菌对 XOD 的抑制作用

将菌体培养液以 5% (体积分数) 的接种量接种于 MRS 肉汤培养基中, 37 °C 静置培养 24 h 后, 于 4 °C、10 000 r/min 离心 10 min 收集菌体沉淀。用 pH6.8 无菌磷酸缓冲盐溶液 (phosphate buffered saline, PBS) 冲洗 2~3 次并重悬沉淀, 将菌浓度调整至 1×10^9 CFU/mL, 在超声条件 (200 W、工作 5 s 停 5 s) 下进行 10 min 的脉冲破碎, 所得液体于 10 000 r/min 离心 10 min, 取离心后的上清液得到细胞内容物。利用 XOD 活性检测试剂盒对 XOD 活性进行测定。XOD 催化次黄嘌呤产生黄嘌呤和超氧阴离子, 超氧阴离子与盐酸羟胺反应生成 NO_2^- , NO_2^- 在氨基苯磺酰胺和萘乙二胺盐酸盐的作用下, 生成紫红色的偶氮化合物, 在 530 nm 有特征吸收峰^[13], 其生成量可反映 XOD 活性大小。首先对 XOD 氧化酶活性 ($A, \text{U}/\text{mg}$) 进行测定, 之后将菌的细胞内容物与酶液进行孵育后测定 XOD 氧化酶液的活性 ($B, \text{U}/\text{mg}$)。各菌株对 XOD 抑制率 ($X, \%$) 按公式 (2) 进行计算。

$$X = \frac{1 - B}{A} \times 100 \quad (2)$$

1.3.5 乳酸菌的鉴定

将筛选得到的菌体接种于 MRS 液体培养基中活化 24 h 后, 提取菌体总基因组 DNA, 并利用通用引物对菌株 16S rDNA 序列进行扩增, 并将扩增产物送至华大基因股份有限公司 (北京) 测序, 将测序结果在美国国家生物技术信息中心 (National Center of Biotechnology Information, NCBI) 进行 BLAST 比对分析, 从而对菌株类别进行鉴定。

1.3.6 乳酸菌对酸耐受性测定

将所筛选的菌株培养液以体积分数为 5% 的接种量接种于 pH 值为 2.0、3.0 和 4.0 的 MRS 肉汤培养基中, 37 °C 下培养 4 h 后取样进行平板活菌计数和存活率计算。各菌株存活率 ($C, \%$) 按公式 (3) 进行计算。

$$C = \frac{x}{y} \times 100 \quad (3)$$

式中: x 为处理后活菌数, CFU/mL; y 为对照组活菌数, CFU/mL。

1.3.7 乳酸菌对胆盐耐受性测定

将所筛选的菌株培养液以体积分数为 5% 的接种量接种于无胆盐和含 0.3% 胆盐的 MRS 肉汤培养基中, 37 °C 下培养 5 h, 并分别于 0、1、3、5 h 取样进行平板活菌计数和通过公式 (3) 计算存活率。

1.3.8 乳酸菌对人工模拟胃肠液耐受性测定

将 3 mL 活化后的菌液于 4 °C、4 000 r/min 离心 10 min, 用 0.85% 生理盐水洗涤 3 次后, 重悬于 3 mL 人工胃液 (pH3.0, 3g/L 胃蛋白酶) 中, 37 °C 培养 3 h。

取处理 3 h 后的菌液 1 mL 转移至 9 mL 人工模拟肠液 (pH6.8, 1 g/L 胃蛋白酶、0.3% 胆盐) 中, 37 °C 培养 4 h。依据 GB 4789.2—2022《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》计算菌株在胃肠液环境中的活菌数, 通过公式 (3) 计算存活率。

1.3.9 乳酸菌耐药性测定

将 200 μL 的菌液涂布于 MRS 培养基上, 在每个培养基中放置一种抗生素药敏纸片, 置于 37 °C 培养 24 h 后, 用游标卡尺测量抑菌圈直径, 并根据李艳莉^[14]的方法对乳酸菌的耐药性进行判定。

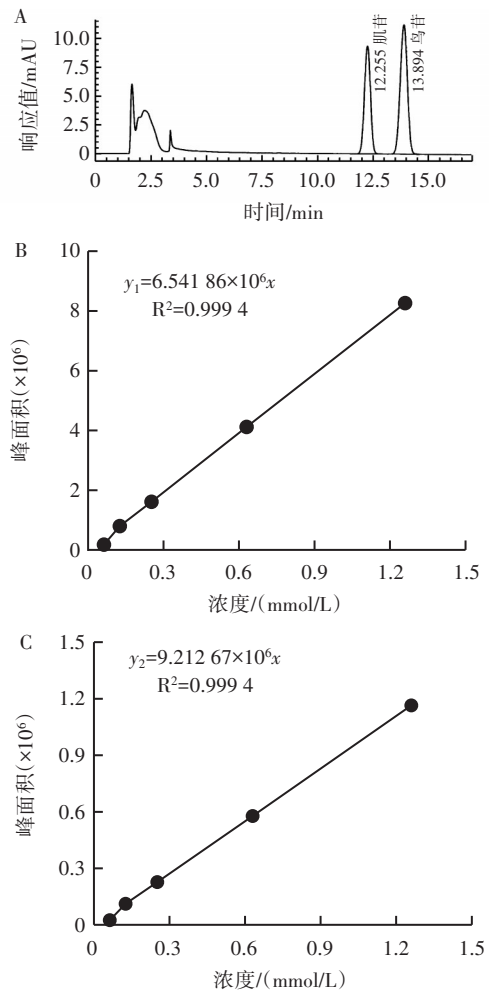
1.4 数据处理与分析

本试验数据利用 SPSS 29.0 进行统计分析, 数据以平均值 \pm 标准差表示。采用单因素方差分析和 Duncan 多重比较组间差异显著性 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 鸟苷和肌苷标准曲线的制作

鸟苷和肌苷标准品色谱图如图 1 所示。



A. 液相色谱图; B. 肌苷标准曲线; C. 鸟苷标准曲线。

图 1 鸟苷和肌苷标准品色谱图

Fig.1 Chromatogram of guanosine and inosine standards

由图 1 可知,肌苷在本色谱条件下的保留时间为 12.255 min,鸟苷的保留时间为 13.894 min。以溶液浓度 (mmol/L)为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,肌苷和鸟苷的方程分别为 $y_1=6.541\ 86\times 10^6x$, $R^2=0.999\ 4$; $y_2=9.212\ 67\times 10^6x$, $R^2=0.999\ 4$,该色谱条件可以用于肌苷和鸟苷的测定。

2.2 高效降解核苷乳酸菌的筛选

本研究从发酵大酱以及泡菜中分离到乳酸菌共计 30 株,其中有 18 株对核苷的降解率可达 50% 以上。菌株对肌苷和鸟苷的降解能力如表 1 所示。

表 1 菌株对肌苷和鸟苷的降解能力

Table 1 Degradation of inosine and guanosine by strains

菌株编号	菌株来源	肌苷降解率/%	鸟苷降解率/%
XH-9	泡菜	75.33±1.78	79.33±2.05
XH-15	泡菜	99.33±0.82	99.00±0.82
XH-16	泡菜	99.33±0.82	98.33±1.70
XH-21	泡菜	99.00±1.22	98.33±1.70
XH-23	泡菜	88.33±7.36	91.00±6.48
TY-S8	大酱	99.33±0.82	99.33±0.94
TY-J1	大酱	99.00±1.22	96.67±3.40

由表 1 可知,泡菜中共有 5 株乳酸菌株对肌苷和鸟苷的降解率达到 75% 以上,而大酱中较少,仅有 2 株菌株对核苷具有较高降解能力。其中 XH-15、XH-16、XH-21、XH-23、TY-S8 和 TY-J1 对两种核苷的降解率均能达 85% 以上,而菌株 XH-15 和 TY-S8 对核苷降解率均可高至 99%。此外,试验结果发现,对肌苷具有强降解能力的菌株同样可以高效降解鸟苷。通过比较不同菌株降解核苷的效果,选择 XH-15、XH-16、XH-21、XH-23、TY-S8 和 TY-J1 6 株菌株进行后续试验。

2.3 乳酸菌株的鉴定

不同乳酸菌鉴定结果如表 2 所示。

由表 2 可知,泡菜中所分离得到的 XH-15、XH-16 和 XH-21 菌株均为短乳杆菌 (*Levilactobacillus brevis*),仅有菌株 XH-23 为植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*),而大酱中所分离得到的 TY-S8 和 TY-J1 菌株均为植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*)。

表 3 不同乳酸菌的耐酸能力

Table 3 Acid tolerance of different lactic acid bacteria

菌株	对照组	pH2.0		pH3.0		pH4.0	
	活菌数/[lg (CFU/mL)]	活菌数/[lg (CFU/mL)]	存活率/%	活菌数/[lg (CFU/mL)]	存活率/%	活菌数/[lg (CFU/mL)]	存活率/%
XH-21	6.78±0.47	6.40±0.69	94.40	6.32±0.82	93.22	6.27±0.08	92.48
XH-23	6.56±0.81	6.28±0.94	95.73	6.36±1.10	96.95	6.03±0.61	91.92
TY-S8	9.43±0.47	9.14±0.20	96.92	9.31±0.51	98.73	9.30±0.28	98.62
TY-J1	8.32±0.98	7.82±0.73	93.99	8.10±0.26	97.36	8.08±0.82	97.12

表 2 不同乳酸菌鉴定结果

Table 2 Identification of selected lactic acid bacteria

菌株编号	菌株种类	拉丁文
XH-15	短乳杆菌	<i>Levilactobacillus brevis</i>
XH-16	短乳杆菌	<i>Levilactobacillus brevis</i>
XH-21	短乳杆菌	<i>Levilactobacillus brevis</i>
XH-23	植物乳杆菌	<i>Lactobacillus plantarum</i>
TY-S8	植物乳杆菌	<i>Lactobacillus plantarum</i>
TY-J1	植物乳杆菌	<i>Lactobacillus plantarum</i>

2.4 乳酸菌对 XOD 的抑制活性

不同乳酸菌株对 XOD 的抑制能力如图 2 所示。

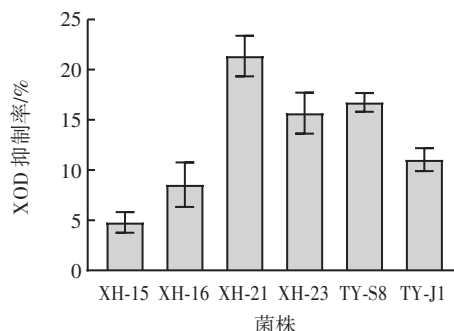


图 2 不同乳酸菌株对 XOD 的抑制能力

Fig.2 Inhibitory capacity of different lactic acid bacteria strains on xanthine oxidase

由图 2 可知,所筛选得到的 6 株菌株除对核苷具有较好的降解能力,对 XOD 同样具有一定的抑制作用。其中泡菜中短乳杆菌 XH-21 和植物乳杆菌 XH-23 两个菌株对 XOD 抑制率分别高达 21.35% 和 15.66%;大酱中植物乳杆菌 TY-S8 和 TY-J1 对 XOD 的抑制率高达 16.73% 和 11.05%,而短乳杆菌 XH-15 和 XH-16 的 XOD 抑制率相对较低,分别为 4.63% 和 8.54%。可见,虽然不同菌株内容物对 XOD 的抑制活性存在差异,但均具有一定的抑制能力。根据菌株对 XOD 抑制活性,最终选择抑制率高于 10% 的菌株即 XH-21、XH-23、TY-S8 和 TY-J1 进行后续试验。

2.5 乳酸菌的耐酸能力

乳酸菌要通过胃部至肠道发挥益生功能,首先要耐受胃部酸性条件。人体胃部 pH 值一般在 2.0~4.0 范围变化。不同乳酸菌的耐酸能力如表 3 所示。

由表3可知,pH2.0条件在一定程度上抑制了菌群的生长,但所有菌株的存活率均在90.00%以上,其中大酱中的植物乳杆菌TY-S8的存活率可达96.92%,而TY-J1存活率相对较低,为93.99%。pH值为2.0~3.0时,除短乳杆菌XH-21外,其余3个菌株活菌数随着pH值的增加,均呈现上升趋势,且存活率均在95%以上,而菌株XH-21的存活率降至93.22%。然而,在pH4.0条件下,4株菌株活菌数量均呈现不同程度下降趋势,菌株XH-21和XH-23存活率分别降至92.48%和91.92%,而大酱中的植物乳杆菌TY-S8和TY-J1存活率相对较高,分别为98.62%和97.12%。结合菌株对核苷的降解率、对XOD抑制作用以及耐酸能力,将大酱中植物乳杆菌TY-S8作为优选菌株进行后续特性分析。

2.6 植物乳杆菌TY-S8的耐胆盐能力

乳酸菌能够在肠道中发挥益生功能还依赖于其对胆盐的耐受性。植物乳杆菌TY-S8耐胆盐能力如图3所示。

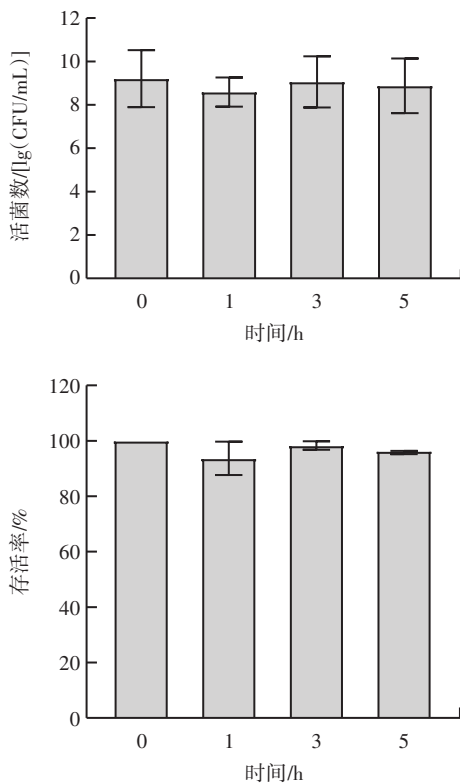


图3 植物乳杆菌TY-S8耐胆盐能力

Fig.3 Bile salt tolerance of *Lactobacillus plantarum* TY-S8

由图3可知,植物乳杆菌TY-S8在胆盐浓度为3.0 g/L的条件下培养1h后,活菌数由9.21 lg(CFU/mL)下降至8.59 lg(CFU/mL),而处理3h后活菌数增长至9.06 lg(CFU/mL),处理5h后活菌数为8.88 lg(CFU/mL)。因此,胆盐处理对菌株生长具有一定影响,但菌株TY-S8在不同的处理时间内其存活率均高于90%,处理

3h后菌株存活率可达98%。综上,植物乳杆菌TY-S8对胆盐具有一定耐受性。

2.7 植物乳杆菌TY-S8胃肠道的耐受能力

为了进一步分析乳酸菌在消化道环境中的耐受力,本研究检测了菌株在人体胃肠液模拟环境中的存活情况。植物乳杆菌TY-S8对胃肠液耐受能力如图4所示。

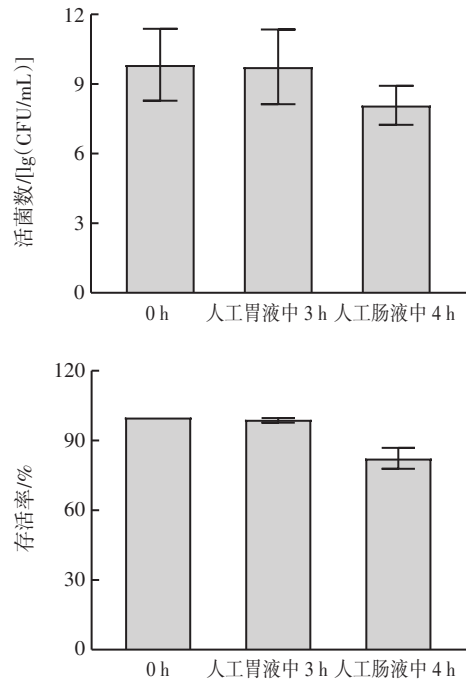


图4 植物乳杆菌TY-S8对胃肠液耐受能力

Fig.4 Tolerance of *Lactobacillus plantarum* TY-S8 in artificial gastrointestinal fluid

由图4可知,植物乳杆菌TY-S8在人工胃液中处理3h后活菌数可达到9.74 lg(CFU/mL),且菌株存活率可达99%;在人工肠液中处理4h后活菌数呈下降趋势,但仍可达到8.08 lg(CFU/mL),菌株存活率为82%。综上,植物乳杆菌TY-S8对胃肠道环境具有一定耐受性,菌株存活率较高。

2.8 植物乳杆菌TY-S8抗生素耐受能力

为保证植物乳杆菌TY-S8可以在安全范围内使用,本研究对该菌株开展了药敏性试验。植物乳杆菌TY-S8对不同抗生素的敏感性如表4所示。

表4 植物乳杆菌TY-S8对不同抗生素的敏感性

Table 4 Sensitivity of *Lactobacillus plantarum* TY-S8 to different antibiotics

抗生素名称	抑菌圈直径/mm	敏感性
氨苄西林	37.00±0.82	S
卡那霉素	9.33±0.47	R
链霉素	9.33±0.94	R
红霉素	39.00±0.82	S
头孢曲松	42.00±1.63	S

续表4 植物乳杆菌 TY-S8 对不同抗生素的敏感性
Continue table 4 Sensitivity of *Lactobacillus plantarum* TY-S8 to different antibiotics

抗生素名称	抑菌圈直径/mm	敏感性
利福平	28.67±1.25	S
青霉素	26.67±0.47	R
环丙沙星	0.00±0.00	R
庆大霉素	19.00±0.82	S
四环素	28.00±0.82	S

注:S表示敏感;R表示不敏感。

由表4可知, TY-S8对氨苄西林、红霉素以及头孢曲松具有较强敏感性, 抑菌圈直径均在35.00 mm以上, 此外, 对利福平、庆大霉素和四环素也具有一定敏感性。结果表明菌株对卡那霉素、链霉素、青霉素和环丙沙星不具有敏感性, 其中对环丙沙星具有较强抗性, 抑菌圈直径为0.00 mm。

3 讨论与结论

目前, 多项研究发现益生菌对高尿酸血症具有缓解作用^[15-17]。本研究以东北传统发酵大酱以及朝鲜族农家自制泡菜为原材料, 对其中能够高效降解核苷的乳酸菌进行筛选和鉴定, 并对其益生特性进行分析。

利用HPLC法从两种发酵食品中共分离到18株对核苷的降解率可达50%以上的乳酸菌, 经筛选发现大酱中植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*) TY-S8具有潜在的降尿酸功能及良好的益生特性。核苷是尿酸形成的前体物质, 而该菌株对两种核苷即肌苷和鸟苷的降解率均可达99.33%, 降解效果远高于Lee等^[18]从发酵食品中所分离到的植物乳杆菌MJM60389, 其对肌苷降解率仅为73%, 而对鸟苷的降解率仅为82.1%; 此外, Kuo等^[19]对两株植物乳杆菌即TSP05和L-29的核苷降解力分析发现, 菌株TSP05对肌苷和鸟苷的降解率低于60%, 而菌株L-29的降解率则低于20%。相较Cao等^[20]从发酵酸奶中分离得到的植物乳杆菌Q7对核苷的降解率虽可高达99.15%, 但仍略低于本研究分离到的植物乳杆菌TY-S8。可见, 大酱中的TY-S8菌株具有较好的核苷降解效果。

XOD是嘌呤核苷代谢途径的限速酶, 也是尿酸产生过程中的关键酶^[21]。王家彬等^[22]研究发现, 短乳杆菌LB1lac20的活菌悬液和胞内提取物对XOD具有良好的抑制活性, 抑制率分别为21.27%和19.60%; 呼静等^[23]从奶豆腐中分离一株罗伊氏乳杆菌NL02, 其细胞内容物对XOD的抑制率在28.18%以上。本课题组前期从朝鲜族农家自制泡菜中分离得到一株短乳杆菌SLlac-18, 其对核苷降解率虽可达97%以上, 但其细胞内容物对XOD的抑制率仅为4%^[24], 而本试验从大酱

中分离得到的植物乳杆菌TY-S8, 其对XOD的抑制率为16.73%, 远高于短乳杆菌SLlac-18, 进一步证实菌株TY-S8具有一定的降尿酸潜力。

为实现乳酸菌在胃肠道中存活并发挥益生功能, 首先需确保菌株对人体消化道环境具有一定耐受力。本研究所筛选的植物乳杆菌TY-S8在经pH2.0~4.0酸性条件、3.0 g/L胆盐条件以及人工胃肠液条件处理后, 其活菌数均可高达6.00 lg(CFU/mL)以上, 菌株存活率均在80%以上。任宇杰等^[25]筛选出一株发酵乳杆菌SR2-6, 在pH2.0强酸性环境下培养4 h, 活菌数降至6.48 lg(CFU/mL), 存活率仅为76.51%; 此外, 在3.0 g/L胆盐条件下培养5 h后, 其活菌数降至4.79 lg(CFU/mL), 存活率仅为54.43%, 而在饱腹肠道环境处理4 h后, 活菌数仅为6.85 lg(CFU/mL)。由此可见, 大酱中植物乳杆菌TY-S8具有较强的消化道环境耐受力。通过对该菌株进行药敏性试验发现, TY-S8对氨苄西林、红霉素以及头孢曲松具有较强敏感性, 可作为安全益生菌使用。综上, 大酱中植物乳杆菌TY-S8具有潜在的降尿酸功能和良好的益生特性, 可以应用于高尿酸血症预防和辅助治疗中, 具有一定应用价值。

参考文献:

- 孟迎平, 冯杰, 魏华, 等. 肠道菌群对饮食诱导的高尿酸血症的调控研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(18): 465-473.
MENG Yingping, FENG Jie, WEI Hua, et al. Research progress in the regulation of gut microbiota on diet-induced hyperuricemia[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(18): 465-473.
- JUNG S W, KIM S M, KIM Y G, et al. Uric acid and inflammation in kidney disease[J]. American Journal of Physiology Renal Physiology, 2020, 318(6): F1327-F1340.
- 陈柔柔, 刘煜. 高尿酸血症及痛风与肠道菌群相关性的研究进展[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2020, 40(10): 1560-1564.
CHEN Rourou, LIU Yu. Research update on the association of gut microbiota with hyperuricemia and gout[J]. Journal of Nanjing Medical University (Natural Sciences), 2020, 40(10): 1560-1564.
- WANG J, CHEN Y, ZHONG H, et al. The gut microbiota as a target to control hyperuricemia pathogenesis: Potential mechanisms and therapeutic strategies[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2022, 62(14): 3979-3989.
- PASCART T, RICHELLE P. Investigational drugs for hyperuricemia, an update on recent developments[J]. Expert Opinion on Investigational Drugs, 2018, 27(5): 437-444.
- 黄佳豪, 李先平, 赵军英, 等. 益生菌缓解高尿酸血症作用机制研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(23): 282-292.
HUANG Jiahao, LI Xianping, ZHAO Junying, et al. Progress in understanding the mechanism by which probiotics alleviate hyperuricemia[J]. Food Science, 2023, 44(23): 282-292.
- 麻菊美, 赵伟睿, 胡升, 等. 高效降解嘌呤核苷乳酸菌的筛选及特性研究[J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(4): 8-14.
MA Jumei, ZHAO Weirui, HU Sheng, et al. Isolation of a lactic acid bacterium with high ability of purine nucleoside-decomposing and evaluation of its probiotic properties[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2019, 38(4): 8-14.

- [8] WU Y, YE Z, FENG P Y, et al. *Limosilactobacillus fermentum* JL-3 isolated from "Jiangshui" ameliorates hyperuricemia by degrading uric acid[J]. Gut Microbes, 2021, 13(1):1-18.
- [9] GARCÍA-ARROYO F E, GONZAGA G, MUÑOZ-JIMÉNEZ I, et al. Probiotic supplements prevented oxonic acid-induced hyperuricemia and renal damage[J]. PLoS One, 2018, 13(8): e0202901.
- [10] LEE Y J, KIM N, WERLINGER P, et al. Probiotic characterization of *Lactobacillus brevis* MJM60390 and *in vivo* assessment of its anti-hyperuricemic activity[J]. Journal of Medicinal Food, 2022, 25(4): 367-380.
- [11] XIAO Y X, ZHANG C X, ZENG X L, et al. Microecological treatment of hyperuricemia using *Lactobacillus* from pickles[J]. BMC Microbiology, 2020, 20(1): 195.
- [12] TSUBOI H, KANEKO N, SATOU A, et al. Lactic acid bacteria having action of lowering blood uric acid level: US8460918[P]. 2013-06-11.
- [13] 刘玉兵. 光质对小型大白菜产量与品质形成的生理机制研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2021.
LIU Yubing. Research on the physiological mechanism of light quality on the formation of yield and quality of small Chinese cabbage [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2021.
- [14] 李艳莉. 酸奶及发酵剂中分离乳酸菌药物敏感性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2015.
LI Yanli. Antimicrobial susceptibilities of lactic acid bacteria isolated from yogurts and starter culture[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2015.
- [15] SHI R J, YE J, FAN H, et al. *Lactobacillus plantarum* LLY-606 supplementation ameliorates hyperuricemia via modulating intestinal homeostasis and relieving inflammation[J]. Food & Function, 2023, 14(12): 5663-5677.
- [16] CAO J Y, LIU Q Q, HAO H N, et al. *Lactobacillus paracasei* X11 ameliorates hyperuricemia and modulates gut microbiota in mice[J]. Frontiers in Immunology, 2022, 13: 940228.
- [17] CHIEN C Y, CHIEN Y J, LIN Y H, et al. Supplementation of *Lactobacillus plantarum* (TC1227) prevented potassium-oxonate-induced hyperuricemia in rats[J]. Nutrients, 2022, 14(22): 4832.
- [18] LEE Y J, WERLINGER P, SUH J W, et al. Potential probiotic *Lactocaseibacillus paracasei* MJM60396 prevents hyperuricemia in a multiple way by absorbing purine, suppressing xanthine oxidase and regulating urate excretion in mice[J]. Microorganisms, 2022, 10(5): 851.
- [19] KUO Y W, HSIEH S H, CHEN J F, et al. *Lactobacillus reuteri* TSR332 and *Lactobacillus fermentum* TSF331 stabilize serum uric acid levels and prevent hyperuricemia in rats[J]. PeerJ, 2021, 9: e11209.
- [20] CAO J Y, BU Y S, HAO H N, et al. Effect and potential mechanism of *Lactobacillus plantarum* Q7 on Hyperuricemia *in vitro* and *in vivo*[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 954545.
- [21] MANDAL A K, MOUNT D B. The molecular physiology of uric acid homeostasis[J]. Annual Review of Physiology, 2015, 77: 323-345.
- [22] 王家彬, 潘力. 降解核苷作用乳酸菌的筛选及其潜在降尿酸功能[J]. 食品科学, 2022, 43(10): 199-206.
WANG Jiabin, PAN Li. Screening and uric acid-lowering potential of nucleoside-degrading lactic acid bacteria[J]. Food Science, 2022, 43(10): 199-206.
- [23] 呼静, 崔鹏月, 双全. 高效降尿酸乳酸菌的筛选及其益生特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(16): 150-155.
HU Jing, CUI Pengyue, SHUANG Quan. Screening of lactic acid bacteria with high ability of uric acid-lowering and evaluation of its probiotic properties[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(16): 150-155.
- [24] 李杰, 张鹏霞, 周健, 等. 传统泡菜中高效降解核苷乳酸菌的筛选及其特性研究[J/OL]. 食品与发酵工业(2023-09-02)[2023-10-10]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.036916>.
LI Jie, ZHANG Pengxia, ZHOU Jian, et al. Screening and characterisation of highly efficient nucleoside-degrading lactic acid bacteria in traditional kimchi[J/OL]. Food and Fermentation Industry (2023-09-02)[2023-10-10]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.036916>.
- [25] 任宇杰, 单成俊, 王英, 等. 降解嘌呤核苷乳酸菌的筛选及益生特性探索[J]. 微生物学通报, 2023, 50(2): 541-552.
REN Yujie, SHAN Chengjun, WANG Ying, et al. Screening of purine nucleoside-degrading lactic acid bacteria and exploration of its probiotic properties[J]. Microbiology China, 2023, 50(2): 541-552.

加工编辑: 孟琬星
收稿日期: 2023-11-10