DOI:10.12441/spyswjs.20260121002 [文章编号] 1673-1689(2026)03-0099-12

植物乳植杆菌的高密度培养工艺优化与发酵特性研究

段明秀[1] 李雪瑞[2] 安美玲[3] 黄丽丽[2,3] 张瑞瑞[4] 张天龙[5] 倪永清[1,2,3] 孙海龙[2,3*]

(1. 石河子大学生命科学学院,新疆 石河子 832003; 2. 石河子大学食品学院,新疆 石河子 832003; 3. 新疆天润生物科技股份有限公司兵团乳制品产业创新研究院,新疆 乌鲁木齐 830013; 4. 新疆石河子花园乳业有限公司兵团特色乳制品加工技术创新中心,新疆 石河子 832003; 5. 乌苏高泉天天乳业有限责任公司,新疆 乌苏 834700)

摘要:【目的】针对益生菌传统培养技术发酵密度低、周期长、抗逆性弱等问题,优化益生菌发酵工艺、提升菌体密度并增强菌株抗逆性。**【方法】**利用植物乳植杆菌 FMBL L23251 FJX 进行高密度发酵,在采用单因素试验与响应面法优化发酵工艺的基础上,进一步探究其代谢特性与菌粉制备的抗逆性。**【结果】**在麦芽汁料液比 250 g∶1 L、酵母提取物添加量 40 g/L、无水乙酸钠添加量 6 g/L、低聚半乳糖添加量 14 g/L、接种体积分数 6%、转速 100 r/min、pH 6.5 条件下,于 37 ℃发酵 24 h 后,发酵液中植物乳植杆菌 FMBL L23251 FJX 的活菌数高达 2.33×10^{12} CFU/mL,冻干菌粉活菌数高达 3.56×10^{13} CFU/g,其在模拟胃肠液消化后的存活率为 76.75%。相较于 MRS 培养基,植物乳植杆菌 FMBL L23251 FJX 在大麦芽汁培养基中的 $ABTS^{+}$ 自由基、DPPH 自由基、羟自由基和超氧阴离子自由基清除率分别提升了 19.93%、29.26%、25.19%、29.32%;总酚和总黄酮质量浓度分别增加了 51.96% 和 30.66%;有机酸、短链脂肪酸及氨基酸的总质量浓度分别提高了 99%、89%、48%。**【结论】**该研究可为本土来源益生菌在食品加工和生物医药等领域的规模化应用提供数据支撑。

关键词:植物乳植杆菌;麦芽汁;培养基优化;高密度发酵;功能特性

Optimization of High-density Cultivation Process and Investigation of Fermentation Characteristics of *Lactiplantibacillus plantarum*

DUAN Mingxiu[1] *LI Xuerui*[2] *AN Meiling*[3] *HUANG Lili*[2,3] *ZHANG Ruirui*[4] *ZHANG Tianlong*[5] *NI Yongqing*[1,2,3] *SUN Hailong*[2,3*]

(1. College of Life Sciences, Shihezi University, Shihezi 832003, China; 2. School of Food Science and Technology, Shihezi University, Shihezi 832003, China; 3. Xinjiang Production and Construction Corps Industrial Innovation Institute for Dairy Products, Xinjiang Tianrun Biotechnology Co., Ltd., Urumchi 830013, China; 4. Xinjiang Production and Construction Corps Innovation Center for Specialty Dairy Products and Processing Technology, Xinjiang Shihezi Huayuan Dairy Co., Ltd., Shihezi 832003, China; 5. Wusu Gaoquan Tiantian Dairy Co. Ltd., Wusu 834700, China)

Abstract: [**Objective**] The conventional probiotic cultivation techniques suffer from problems such as low fermentation density, long cycles, and weak stress resistance, this study aimed to optimize the probiotic fermentation process, increase bacterial density, and enhance strain stress resistance. [**Method**] *Lactiplantibacillus plantarum* (*L. plantarum*) FMBL L23251 FJX was used for high-density fermentation. The fermentation process was optimized

基金项目:新疆生产建设兵团科技计划项目(2026YD017,2024AB050,2023AB050);第八师重点领域科技攻关项目(2024GY02);第七师-石河子大学科技创新专项项目(QS2023014)。

通信作者:孙海龙(1989—),男,博士,副教授,硕士研究生导师,主要从事食品微生物与生物技术研究。E-mail:sunhl610@shzu.edu.cn

收稿日期:2026-01-21 **修回日期:**2026-02-27

through single-factor experiments combined with response surface methodology. On this basis, the metabolic characteristics and the stress resistance of the prepared bacterial powder were further characterized. [**Result**] Under the malt extract-liquid ratio of 250 g∶1 L, yeast extract addition of 40 g/L, anhydrous sodium acetate addition of 6 g/L, galactooligosaccharide addition of 14 g/L, inoculum volume fraction of 6%, rotation speed of 100 r/min, pH 6.5, and fermentation at 37 ℃ for 24 h, the viable cell counts of *L. plantarum* FMBL L23251 FJX in the fermentation broth and freeze-dried powder reached 2.33×10^{12} CFU/mL and 3.56×10^{13} CFU/g, respectively. The survival rate of *L. plantarum* FMBL L23251 FJX in the simulated gastrointestinal fluid was 76.75%. Compared with that in the MRS medium, *L. plantarum* FMBL L23251 FJX in barley malt wort medium showed increases of 19.93%, 29.26%, 25.19%, and 29.32% in scavenging rates against $ABTS^{+}$, DPPH, hydroxyl, and superoxide anion free radicals, respectively. In addition, the mass concentration of total phenols and total flavonoids increased by 51.96% and 30.66%, respectively, while the total mass concentration of organic acids, short-chain fatty acids, and amino acids increased by 99%, 89%, and 48%, respectively. [**Conclusion**] This study provides data support for the large-scale application of locally sourced probiotics in food processing, biomedicine, and other fields.

Keywords: *Lactiplantibacillus plantarum*; malt extract; medium optimization; high-density fermentation; functional property

乳酸菌是当前食品加工、动物养殖及医药健康等领域应用最广泛的微生物资源之一。乳酸菌在调节宿主肠道微生态平衡、促进机体营养吸收与免疫调节、提升健康水平以及改善食品风味与功能等方面展现出的独特价值，因此成为相关行业关注与竞相争夺的核心资源[1]。我国尽管在益生菌领域已实现部分本土菌株的开发与产业化，如江南大学开发的植物乳植杆菌CCFM8610和短双歧杆菌CCFM1025以及内蒙古农业大学开发的瑞士乳杆菌H11和动物双歧杆菌乳亚种V9已逐步应用于乳品加工等领域[2-5]，但整体仍落后于国外先进水平，依然面临自主知识产权菌株缺乏、产品同质化严重、基础研究薄弱等挑战[6]。

益生菌的高密度培养是提升其工业化价值的关键，通过优化培养基和培养条件等方法可实现益生菌发酵的精准调控，提高菌体密度与生产效率[7]。当前国内相关研究多集中于培养基的优化，主要通过改良通用培养基的碳氮源以及添加多种提取物（如番茄汁、胡萝卜汁、海带汁、麦芽汁、玉米浆等）作为增殖因子以提升菌体密度[8]。这些增殖因子因富含天然糖类、维生素、膳食纤维及抗氧化物质等活性成分，也成为乳酸菌发酵中颇具潜力的基质[9]。然而，在实际生产应用中仍面临菌体密度不足、生产成本偏高、菌株稳定性较差等问题，难以满足国内日益增长的益生菌市场需求[10]。

为实现益生菌产业化生产中培养基绿色优质、成本低与营养适配的共性需求，作者以团队前期筛选的一株能通过发酵显著改善食品风味与功能的本土人源植物乳植杆菌FMBL L23251 FJX为研究对象[11]，通过优化培养基基质及氮源、无机盐、生长因子等条件，在优化其高密度发酵工艺的基础上，进一步表征了植物乳植杆菌FMBL L23251 FJX在优化培养基中的抗氧化能力、代谢产物变化等发酵特性，以期为本土人源益生菌在发酵食品与生物医药等领域的应用提供理论支持，为推动本土益生菌高密度培养技术的发展提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

1.1.1 试验菌株

植物乳植杆菌（*Lactiplantibacillus plantarum*）FMBL L23251 FJX由石河子大学食品微生物与生物技术研究中心团队分离自武威地区汉族人群肠道，现保存于中国典型培养物保藏中心（CCTCC NO∶M 20231100）。

1.1.2 试剂

麦芽粉：当地农贸市场；海藻糖、麦芽糖、葡萄糖、乳糖、果糖、甘露糖、蔗糖、蛋白胨、大豆蛋白胨、牛肉膏、胰蛋白胨：生工生物工程（上海）股份有限公司；酵母提取物、胃蛋白酶、胰蛋白酶、低聚半乳糖、低聚果糖、低聚木糖、低聚异麦芽糖、菊粉、大豆低聚糖、猪胆盐：上海源叶生物科技有限公司；柠檬酸氢二铵、磷酸氢二钾、无水乙酸钠、碳酸钠：北京奥博星生物技术有限责任公司；硫酸镁、硫酸锰、氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化钙、氢氧

化铵：西陇化工股份有限公司；DPPH、ABTS、没食子酸、甲醇、三氯乙酸、铁氰化钾、氯化铁、福林酚试剂、亚硝酸钠、硫酸亚铁、水杨酸、无水乙醇、过氧化氢、盐酸、硫酸铜、酒石酸钾钠、亚铁氰化钾：国药集团化学试剂有限公司；琼脂粉、纤维素酶：广东先康达生物科技有限公司。

1.1.3 仪器与设备

5 L发酵罐：GS-F3005D型，上海顾信生物科技有限公司；高速冷冻离心机：Fresco 21型，赛默飞世尔科技（中国）有限公司；酶标仪：Multiskan FC型，赛默飞世尔科技（中国）有限公司；厌氧培养箱：E500A型，英国DWS公司；pH计：PHS-3D型，上海仪电科学仪器股份有限公司；离心机：DL-6MB型，长沙湘智离心机仪器有限公司；全自动凯氏定氮仪：K-375型，上海祎鸿分析仪器有限公司。

1.2 植物乳植杆菌FMBL L23251 FJX高密度培养

1.2.1 菌株活化与种子液制备

取-80 ℃保藏的植物乳植杆菌FMBL L23251 FJX（后文简写为：L23251）在MRS固体培养基上37 ℃恒温培养36 h后，挑取单菌落接入新鲜MRS液体培养基并连续活化2代。发酵液在4 ℃、8 000 r/min条件下离心10 min，弃上清液，用质量分数0.9%生理盐水洗涤菌泥后，将其配制成浓度为1.0×10^9 CFU/mL的菌悬液，备用。

1.2.2 培养基成分单因素试验

1）碳源：选择6种碳源（海藻糖、麦芽糖、甘露糖、乳糖、蔗糖、果糖），以20 g/L的添加量替换MRS培养基中的葡萄糖，在接种体积分数2%、37 ℃条件下发酵24 h，根据发酵液活菌数确定最优碳源，再根据最优的碳源确定最优培养基底物及料液比。

2）氮源：选择6种氮源（蛋白胨、酵母提取物、牛肉膏、大豆蛋白胨、胰蛋白胨、酪蛋白胨），以20 g/L的添加量筛选最优氮源并确定最佳添加量。

3）无机盐：添加4 g/L无机盐（无水乙酸钠、磷酸氢二钾、柠檬酸氢二铵），筛选影响显著的无机盐并优化其添加量。

4）生长因子：添加5 g/L生长因子（低聚半乳糖、低聚果糖、低聚木糖、低聚异麦芽糖、菊粉、大豆低聚糖），筛选最优生长因子并优化其添加量。

1.2.3 麦芽汁的制备

称取适量麦芽粉与水混合，加入1 g/L纤维素酶，在70 ℃水浴锅中糖化分解1 h，于50 ℃、40 kHz条件下超声处理30 min，冷却至室温，将糖化液用2层纱布粗滤，8 000 r/min离心10 min得到澄清的麦芽汁。

1.2.4 响应面优化培养基组分试验设计

在保持其他条件一致的情况下，以活菌数为评价指标，选取碳源、氮源、无机盐和生长因子的添加量作为考察变量，开展四因素三水平正交试验，用Design-Expert 13软件对L23251的培养基成分进行响应面优化。

1.2.5 高密度培养条件的优化

在确定最优培养基成分的基础上，分别考察恒定pH（5.0、5.5、6.0、6.5、7.0）、接种体积分数（2%、4%、6%、8%、10%）、转速（0、50、100、150、200 r/min）和质量分数20%的中和剂（氨水、氢氧化钠、氢氧化钾、碳酸钠、氢氧化钙）对L23251生长的影响。利用5 L发酵罐进行高密度培养，并测定活菌数。发酵结束后将发酵液在4 ℃、8 000 r/min条件下离心10 min，弃去上清液，用无菌生理盐水洗涤3次，将收集的菌泥与冷冻保护剂以质量比1∶2混合后置于真空冷冻干燥机中冷冻干燥35 h，得到L23251冻干菌粉，并计算冻干菌粉的活菌数。

1.3 发酵液成分分析

1.3.1 总酸、pH、总糖、还原糖及蛋白质的测定

参照GB 12456—2021《食品安全国家标准 食品中总酸的测定》测定发酵液中总酸质量浓度；使用pH计测定发酵液的pH；发酵液中总糖与还原糖的质量浓度分别通过苯酚-硫酸法和3,5-二硝基水杨酸法进行测定[12-13]；蛋白质质量浓度依据GB 5009.5—2025《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》中的凯氏定氮法进行测定。

1.3.2 总酚、总黄酮水平及体外抗氧化活性的测定

分别采用福林酚比色法和氯化铝比色法测定发酵液的总酚和总黄酮的质量浓度[14-15]。参照覃超等[16]的方法测定发酵液的DPPH自由基清除率和$ABTS^+$自由基清除率；根据吴思妙等[17]的方法测定发酵液的超氧阴离子自由基清除率；依据张宏志等[18]的方法测定发酵液的羟自由基清除率。

1.3.3 有机酸、短链脂肪酸和氨基酸水平的测定

发酵液中有机酸质量浓度的测定参照GB 5009.157—2016《食品安全国家标准 食品中有机酸的测定》；短链脂肪酸质量浓度的测定参照GB 5009.168—2016《食品安全国家标准 食品中脂

肪酸的测定》；氨基酸质量浓度的测定参照GB 5009.124—2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定》。

1.3.4 L23251体外模拟胃肠液消化

称取1.0 g/L的L23251冻干菌粉于20 mL模拟胃液（质量分数0.3%胃蛋白酶，pH 2.5）中，于37 ℃厌氧条件下模拟胃消化2 h，测定活菌数。随后加入80 mL模拟肠液（质量分数0.3%胆盐及质量分数0.1%胰蛋白酶，pH 7.4），于37 ℃厌氧孵育2 h，模拟肠消化过程，测定活菌数。按照式（1）计算存活率，评估其胃肠液耐受性[19]。

$$R=\frac{\lg N_i}{\lg N_0}\times 100\% \quad (1)$$

式中：

R——存活率，%；

N_i——消化 i h后的活菌数，CFU/mL；

N_0——初始活菌数，CFU/mL。

1.4 数据分析

所有试验均进行3次生物学重复，使用Origin 2018进行绘图，采用单因素方差分析（ANOVA）进行显著性差异检验，采用Design-Expert 13软件进行响应面优化分析。

2 结果与讨论

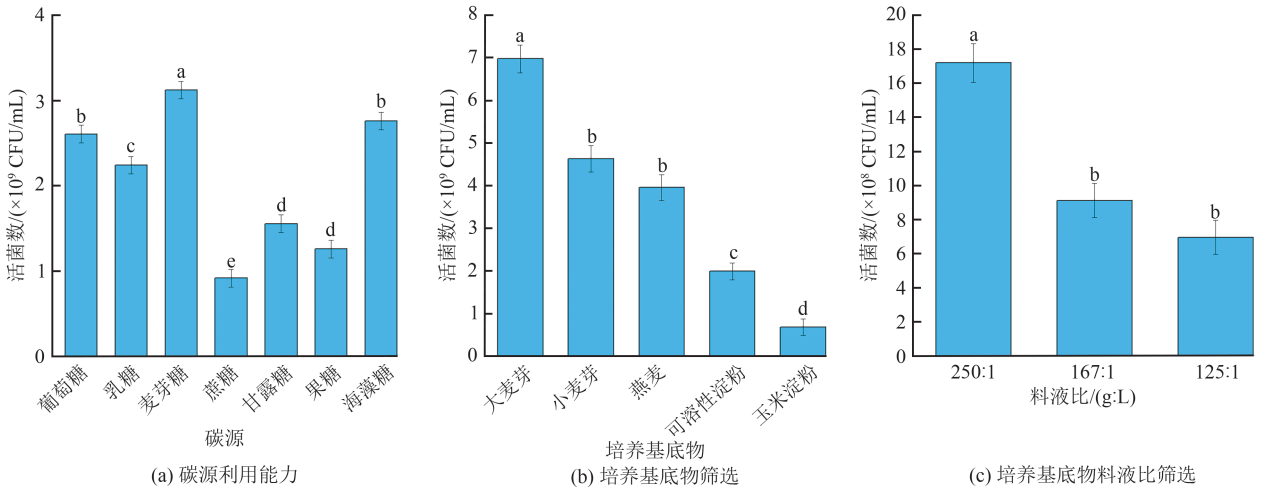
2.1 单因素试验优化培养基组分

2.1.1 碳源对L23251生长的影响

碳水化合物是微生物能量供给与生长代谢的关键物质，适宜碳源可促进微生物增殖、缩短发酵周期并降低工业化成本[20]。本研究以不添加碳源的MRS培养基为基础，探究不同碳源对L23251增殖的影响。如图1（a）所示，L23251在以麦芽糖为碳源的培养基中的活菌数最高。在此基础上，考察几种麦芽糖浓度较高的低成本食品原料对L23251生长的影响。如图1（b）所示，L23251在大麦芽汁中的生长效果最好。麦芽汁源于谷物加工副产物，原料成本较MRS合成培养基降低了40%以上，且来源广泛，可实现资源化利用，契合工业化生产的经济性需求。此外，相较于其他天然基质，麦芽汁中天然含有较多多糖、氨基酸等成分，其培养出的L23251活菌数提升了20%~35%，能够突破传统合成培养基依赖度高、成本高昂的应用瓶颈，有利于构建天然谷物基质替代合成培养基的益生菌高密度发酵工业化新路径。大麦芽汁料液比优化结果见图1（c）。当料液比为250 g∶1 L时，L23251的活菌数达1.72×10^9 CFU/mL。综上，选取料液比为250 g∶1 L的大麦芽汁作为L23251高密度培养基基质，开展后续试验。

2.1.2 补充氮源、无机盐和生长因子对L23251生长的影响

为实现L23251在以麦芽汁为主要碳源的培养基质中的高密度培养，进一步优化了氮源、无机盐以及生长因子的添加量。不同氮源对L23251的促生长效果结果见图2（a）~（b）。酵母提取物对L23251的促生长作用最佳，当其添加量为40 g/L时，L23251活菌数为3.99×10^9 CFU/mL，促生长效果最显著。无机盐作为乳酸菌生长必需的微量元



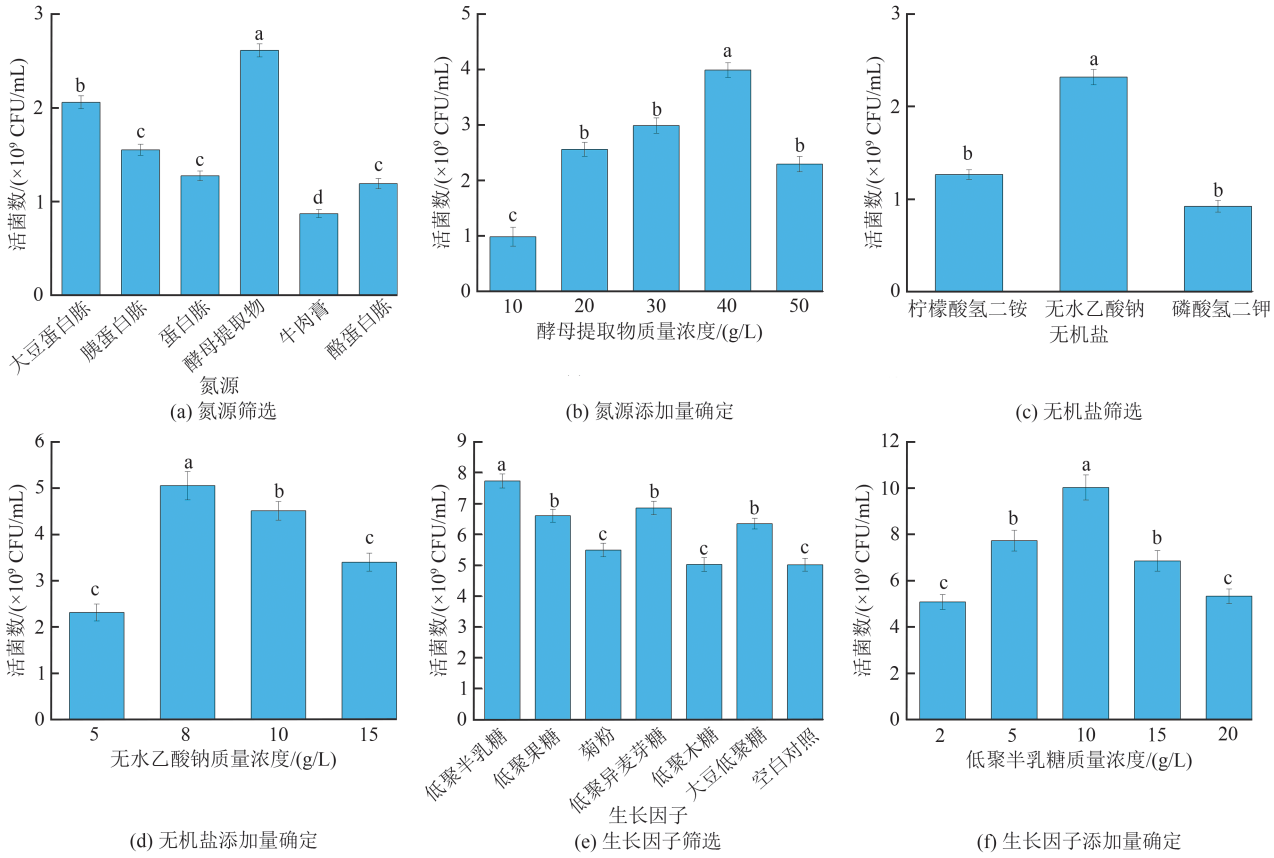
(a) 碳源利用能力　(b) 培养基底物筛选　(c) 培养基底物料液比筛选

不同小写字母表示组间具有显著性差异（P<0.05）。

图1 碳源筛选

Fig. 1 Carbon source screening

素，在菌体生长代谢调控、细胞膜物质运输及胞内信号传递过程中发挥了关键作用[21]。3种无机盐对L23251生长的影响见图2(c)~(d)。无水乙酸钠对L23251的促生长作用最显著，且当添加量为8 g/L时，培养基缓冲能力与L23251的生长需求实现了最优匹配，L23251活菌数可达5.06×10^9 CFU/mL。已有研究证实，生长因子可通过提供碳源或调节代谢环境等方式促进乳酸菌生长[22]。因此，本研究考察了6种常见生长因子对L23251生长的促进作用。如图2(e)~(f)所示，培养基中加入生长因子均能促进L23251生长，但促生长作用存在差异，其中低聚半乳糖对L23251的促生长作用最显著，且当低聚半乳糖添加量为10 g/L时，活菌数达到最大值(1.00×10^{10}CFU/mL)。



不同小写字母表示组间具有显著性差异(P<0.05)。

图2　补充营养成分筛选

Fig. 2　Supplement nutrient screening

2.2　响应面优化试验设计

根据单因素试验结果，对L23251发酵工艺进行四因素三水平响应面优化试验，见表1。利用Design Expert 13对数据进行多元回归分析，得到响应值(L)与大麦芽汁料液比(A)、酵母提取物添加量(B)、无水乙酸钠添加量(C)、低聚半乳糖添加量(D)的预测回归模型。二次回归方程为：L=59.40+9.97A−0.953 3B−4.5C+2.89D−4.44AB+3.13AC−8.82AD+9.04BC−12.97BD+4.91CD−25.37A^2−13.34B^2−14.21C^2−7.38D^2。方差分析结果见表2，失拟项0.088 8(>0.05)，模型R^2=0.986 8，R_{adj}^2=0.973 6，说明选择的自变量合适，该模型可以很好地拟合实际情况，具有较高的可靠性。该模型变异系数(CV)为8.11%，说明该模型的重复性较好，试验精确度较高。

进一步分析发现，一次项系数A、C、D和二次项系数均显著影响活菌数，交互项AD、BC、BD影响极显著，AB、AC、CD影响显著。根据响应面回归分析结果得到各因素的交互作用图。如图3所示，图中大麦芽汁料液比与酵母提取物添加量、大麦芽汁料液比与无水乙酸钠添加量的等高线图呈椭圆形，且有极值点，进一步验证了它们的交互作

表1 响应面试验设计的因素与水平

Table 1 Factors and levels of response surface design

水平	大麦芽汁料液比/(g∶L)	酵母提取物添加量/(g/L)	无水乙酸钠添加量/(g/L)	低聚半乳糖添加量/(g/L)
−1	200∶1	30	6	5
0	250∶1	40	8	10
1	300∶1	50	10	15

表2 方差分析及显著性检验

Table 2 Analysis of variance and significance tests

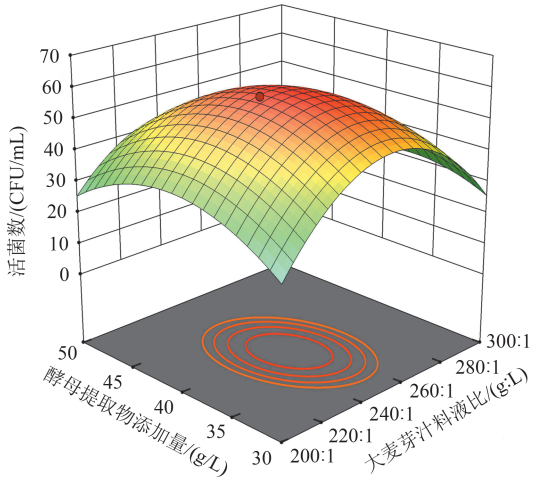
来源	平方和	自由度	均方	*F*	*P*	显著性
模型	8 185.16	14	584.65	74.85	<0.000 1	极显著
A	1 149.01	1	1 194.01	152.87	<0.000 1	极显著
B	10.91	1	10.91	1.40	0.257 0	不显著
C	242.55	1	242.55	31.05	<0.000 1	极显著
D	100.28	1	100.28	12.84	0.003 0	显著
AB	78.85	1	78.85	10.10	0.006 7	显著
AC	39.25	1	39.25	5.03	0.041 7	显著
AD	311.35	1	311.35	39.86	<0.000 1	极显著
BC	326.52	1	326.52	41.81	<0.000 1	极显著
BD	672.88	1	672.88	86.15	<0.000 1	极显著
CD	96.63	1	96.63	12.37	0.003 4	显著
A^2	4 173.57	1	4 173.57	543.35	<0.000 1	极显著
B^2	1 154.88	1	1 154.88	147.86	<0.000 1	极显著
C^2	1 309.24	1	1 309.24	167.63	<0.000 1	极显著
D^2	353.00	1	353.00	45.20	<0.000 1	极显著
残差	109.35	14	7.81			
缺乏拟合	99.89	10	9.99	4.22	0.088 8	不显著
纯误差	9.46	4	2.37			
总相关性	8 294.51	28				

用显著。模拟预测最优组合为:大麦芽汁料液比258 g∶1 L、酵母提取物添加量42 g/L、无水乙酸钠添加量6 g/L、低聚半乳糖添加量14 g/L,对应预测的最大活菌数为2.63×10^{10} CFU/mL。为兼顾试验操作便捷性与后续生产可行性,基于前期响应面优化结果,对影响因素的添加量进行微调,确定实际配方为:大麦芽汁料液比250 g∶1 L、酵母提取物添加量40 g/L、无水乙酸钠添加量6 g/L、低聚半乳糖添加量14 g/L。L23251活菌数实际测量值可达2.55×10^{10} CFU/mL,为模型预测值的96.96%,进一步证实前期构建的回归模型具有良好的可靠性。

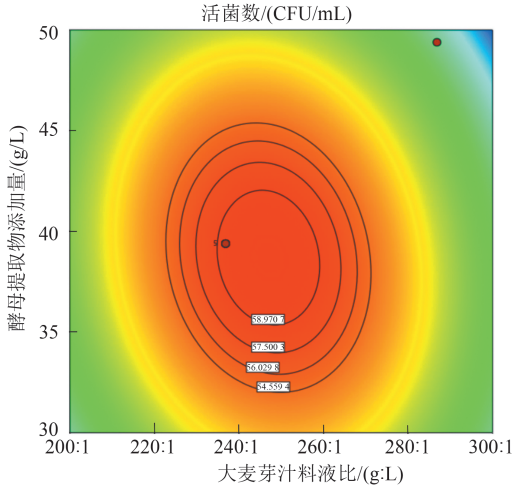
2.3 L23251高密度发酵条件的优化

如图4(a)所示,随着L23251接种体积分数的增加,活菌数呈先上升后下降的趋势,当接种体积分数为6%时,活菌数最高(9.53×10^9 CFU/mL)。搅拌可以使菌体与培养液中的营养物质和缓冲剂充分接触,避免菌体沉降聚集,保证菌体有足够的生长空间及营养供给[23]。如图4(b)所示,当转速为100 r/min时,发酵液中L23251的活菌数可达1.45×10^{10} CFU/mL。维持适宜pH是消除乳酸菌自身代谢产酸引起的反馈抑制并促进生长的关键[24]。如图4(c)所示,L23251的活菌数随pH的升高呈先上升后下降的趋势,pH为6.5时的活菌数达到最高,因此确定发酵的恒定pH为6.5。研究表明,通过流加碱液能消除乳酸菌培养过程中产生的酸性物质对其增殖的反馈抑制。如图4(d)所示,当添加质量分数20%的氢氧化钠时,不仅能使L23251活菌数达2.22×10^{10} CFU/mL,还可快速回调因菌株大量产酸而导致的pH下降[25]。

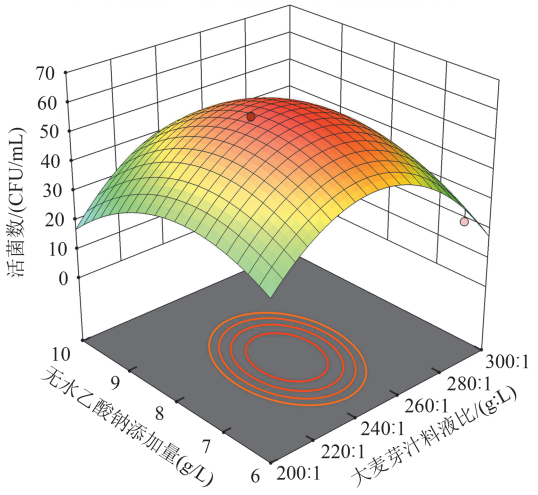
在优化培养基和培养条件的基础上,利用5 L发酵罐对L23251进行高密度发酵。设置发酵罐罐体温度37 ℃、转速100 r/min,以质量分数为20%的氢氧化钠为中和剂,参考崔树茂[26]的自动反馈补料工艺,进行恒定pH(6.5)的分批补料发酵,在此工艺下发酵10 h左右后开始每隔1 h进行分批补料(补料液为质量分数15%葡萄糖、质量分数15%



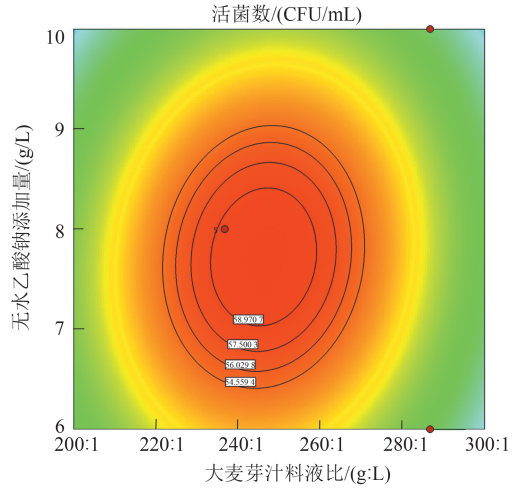
(a) 大麦芽汁料液比和酵母提取物添加量交互作用的响应面图



(b) 大麦芽汁料液比和酵母提取物添加量交互作用的等高线图



(c) 大麦芽汁料液比和无水乙酸钠添加量交互作用的响应面图



(d) 大麦芽汁料液比和无水乙酸钠添加量交互作用的等高线图

图 3　各影响因素交互作用响应面图和等高线图

Fig. 3　Response surface and contour plots of the interactions between various influencing factors

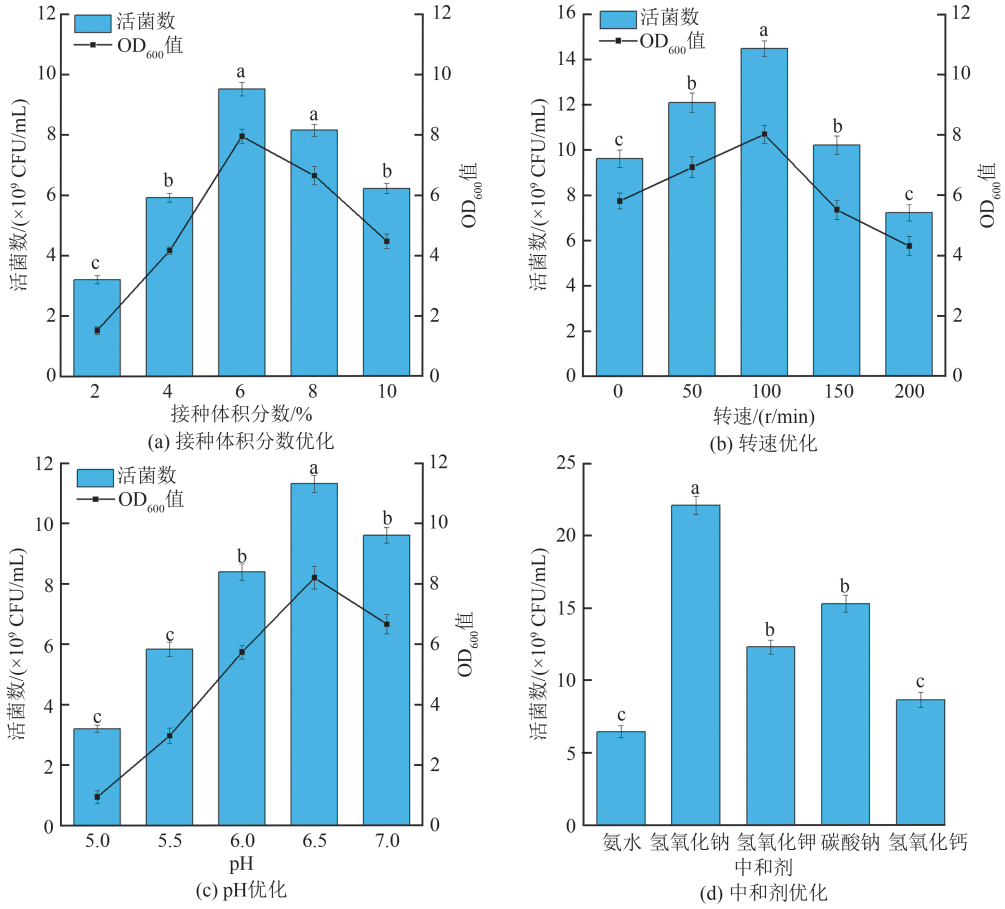
麦芽糖和质量分数 25% 蛋白胨）。补料完成后，当发酵液 OD_{600} 值不再变化时结束发酵，此时发酵液中 L23251 的活菌数高达 2.33×10^{12} CFU/mL，是 MRS 培养基高密度发酵活菌数（2.63×10^{11} CFU/mL）的 8.9 倍，L23251 在不同培养基中的生长曲线见图 5。本研究的高密度发酵效果显著优于已报道的植物乳植杆菌发酵效果[27-28]，且优化后的培养基具有发酵时间更短、活菌数更高的优势。

2.4　L23251 在大麦芽汁培养基中的发酵性能变化

发酵液中总酸、pH、总糖和还原糖的变化趋势是表征菌株生长和发酵程度的重要指标。如图 6 所示，L23251 发酵结束后的 pH 为 3.5±0.1，总酸质量浓度呈上升趋势，从初始的 0.22 g/100 mL 上升到 2.28 g/100 mL。发酵液中总糖质量浓度由发酵前的 35.23 g/L 下降至 4.86 g/L，还原糖质量浓度由发酵前的 12.65 g/L 下降至 0.85 g/L。发酵前，大麦芽汁培养基发酵液蛋白质质量浓度为 2 687.30 mg/100 mL，MRS 培养基发酵液蛋白质质量浓度为 1 856.70 mg/100 mL；发酵后，大麦芽汁培养基发酵液蛋白质质量浓度为 3 593.80 mg/100 mL，显著高于 MRS 培养基发酵液（2 316.40 mg/100 mL）。

2.5　L23251 在发酵过程中的总酚和总黄酮水平及抗氧化活性变化

乳酸菌能在生长过程中产生和利用多种酶类，如酯酶、葡萄糖苷酶和脱羧酶等，并可将结合酚酸分解为游离酚酸，通过这些酶的转化作用提高生物利用度和发酵原料中酚类化合物的抗氧化性[29-30]。如图 7（a）所示，L23251 在大麦芽汁培养基中发酵 24 h 后，发酵液中总酚和总黄酮的质量浓度分别为 0.66 mg/mL 和 0.47 mg/mL，较 MRS 培养



不同小写字母表示组间具有显著性差异(P<0.05)。

图 4　培养条件优化

Fig. 4　Optimization of cultivation conditions

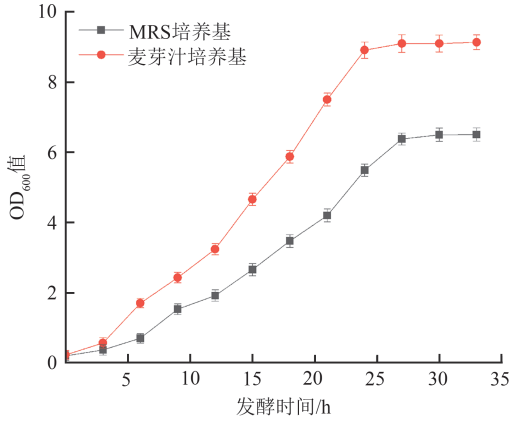


图 5　L23251 在不同培养基中的生长曲线

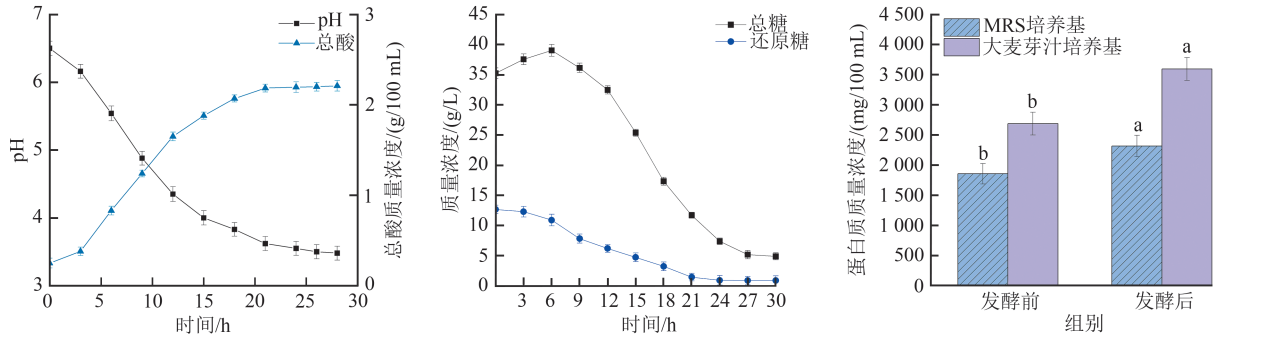
Fig. 5　Growth curves of L23251 in different media

基分别增加了 51.96% 和 30.66%。如图 7(b)所示，发酵液的抗氧化活性与酚类物质的转化趋势一致，L23251 在大麦芽汁培养基中的 $ABTS^{+}$ 自由基、DPPH 自由基、羟自由基和超氧阴离子自由基清除率分别高达 86.31%、92.53%、73.77%、84.53%，比在 MRS 培养基中分别显著提高了 19.93%、29.26%、25.19%、29.32%。

2.6　L23251 在发酵过程中的有机酸、短链脂肪酸和氨基酸水平变化

相较于 MRS 培养基，L23251 在大麦芽汁培养基中的代谢产物有机酸、短链脂肪酸及氨基酸质量浓度均显著提升。乳酸菌产生乳酸及其他具有抗菌活性的有机酸可减少有害菌的定植，为其他有益菌提供营养，维持肠道菌群的平衡[31]。L23251 在大麦芽汁培养基和 MRS 培养基中发酵前和发酵后有机酸质量浓度变化见图 8(a)。在大麦芽汁培养基中发酵后，各有机酸的积累量均显著高于 MRS 培养基，总质量浓度提高了 99%，其中乳酸、富马酸、琥珀酸、己二酸、酒石酸、苹果酸、柠檬酸质量浓度较 MRS 培养基分别提高了 81%、69%、33%、60%、30%、33%、103%。

短链脂肪酸能够促进肠道益生菌增殖、降低环境 pH，从而抑制有害菌的生长，促进免疫细胞释放

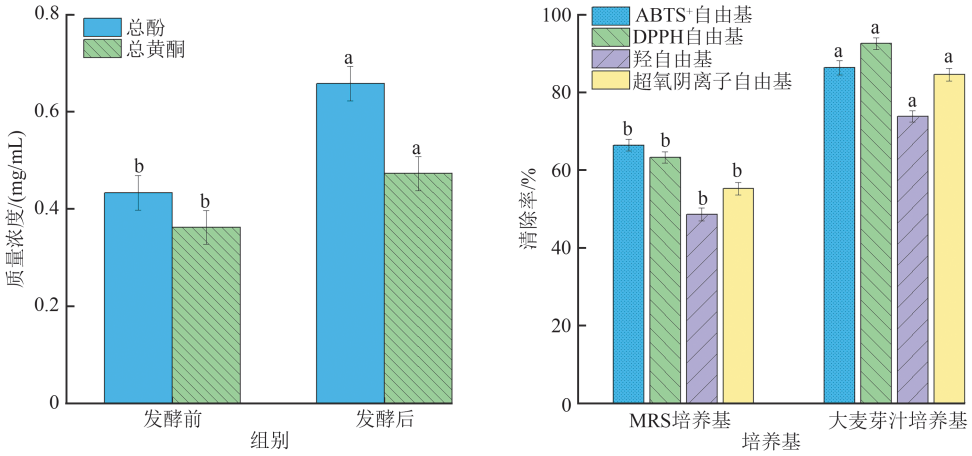


(a) pH和总酸质量浓度变化　(b) 总糖和还原糖质量浓度变化　(c) 不同培养基发酵前后蛋白质质量浓度变化

不同小写字母表示组间具有显著性差异(P<0.05)。

图 6　发酵液性能比较

Fig. 6　Comparison of properties of fermentation broths



(a) 发酵前后总酚和总黄酮质量浓度变化　(b) 不同培养基中的抗氧化能力

不同小写字母表示组间具有显著性差异(P<0.05)。

图 7　总酚、总黄酮的质量浓度和抗氧化能力

Fig. 7　Mass concentrations of total phenols and total flavonoids and antioxidant capacity

抗炎因子，提高免疫力。较高的短链脂肪酸水平还能增强菌株的抗氧化活性，调节肠道菌群平衡[32]。然而，在发酵过程中，乳酸菌的过量生长也会导致发酵环境的改变，从而间接导致丙酸水平降低[33]。如图 8(b)可知，相较于 MRS 培养基，L23251 在大麦芽汁培养基中发酵后，6 种短链脂肪酸的总质量浓度显著提升了 89%。其中，异丁酸、丁酸、异戊酸、乙酸及戊酸质量浓度分别提高了 75%、62%、61%、51% 和 46%，仅丙酸质量浓度降低了 32%。

微生物产生的蛋白酶能将大分子蛋白质分解成氨基酸，从而增加氨基酸水平，在发酵过程中氨基酸水平的变化会影响食品的营养价值和感官品质[34]。如图 8(c)所示，在大麦芽汁培养基中共检测了 16 种氨基酸，L23251 发酵后氨基酸总质量浓度达 183.75 mg/L，较 MRS 培养基显著提升了 48%，这与其在大麦芽汁培养基中总氮水平的变化趋势一致。大麦芽汁培养基发酵液中共检测到 8 种必需氨基酸(亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、苏氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、赖氨酸、精氨酸)，其质量浓度分别为 11.55、6.15、8.40、7.20、4.95、2.20、8.55、5.80 mg/L，相较于 MRS 培养基，8 种必需氨基酸的质量浓度均提升了 60% 以上。微生物在蛋白质降解过程中产生的游离氨基酸(特别是谷氨酸和天冬氨酸等呈味氨基酸)能够赋予食品突出的鲜味特征，这不仅是构成产品独特风味的核心基础，同时它们也是关键的氮源与风味前体物质，能有效促进发酵体系中微生物的生长与次级代谢产物的合成，从而整体提升发酵过程的品质[35]。结果表明，大麦芽汁培养基发酵液中甜味氨基酸(丙氨酸、甘氨酸、丝氨酸和谷氨酰胺)质量浓度较 MRS 培养基

显著提高，苦味氨基酸（组氨酸）质量浓度较发酵前略有降低，而呈味氨基酸（谷氨酸、天冬氨酸、苯丙氨酸、丙氨酸、甘氨酸和酪氨酸）质量浓度较MRS培养基显著提升了30%以上。

2.7　L23251模拟胃肠消化的耐受性

研究表明，发酵过程中氨基酸类物质（如谷氨酸、脯氨酸）以及代谢产物的增多会为微生物在冻干过程中提供较好的保护效果，保护剂的氨基能与菌体蛋白质的羧基结合，增强蛋白质结构的稳定性，进而提高其抗冻能力[36]。作者将在大麦芽汁培养基和MRS培养基高密度发酵的L23251分别制成冻干菌粉，其活菌数分别为3.56×10^{13}、6.21×10^{11} CFU/g。冻干菌粉经过模拟胃肠道消化后的存活情况见图9。用大麦芽汁培养基高密度发酵制备的L23251冻干菌粉在各消化液中的活菌数与存活率均显著高于MRS培养基。MRS培养基发酵和大麦芽汁培养基发酵后制备的L23251冻干菌粉在模拟胃液中消化2 h后的存活率分别为65.21%和

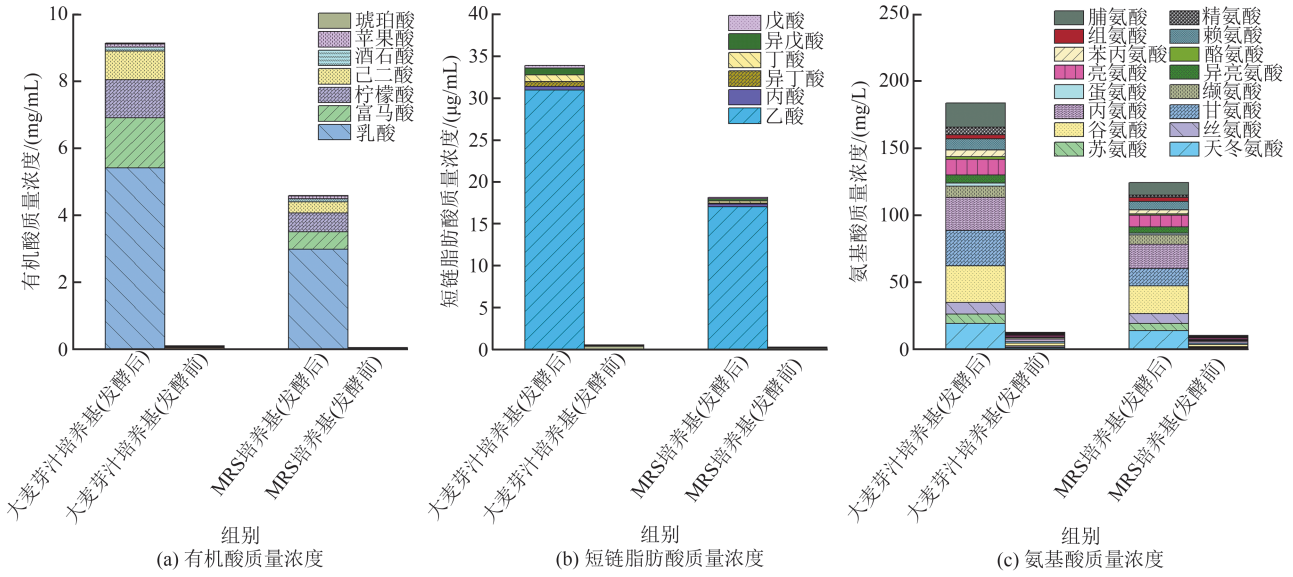
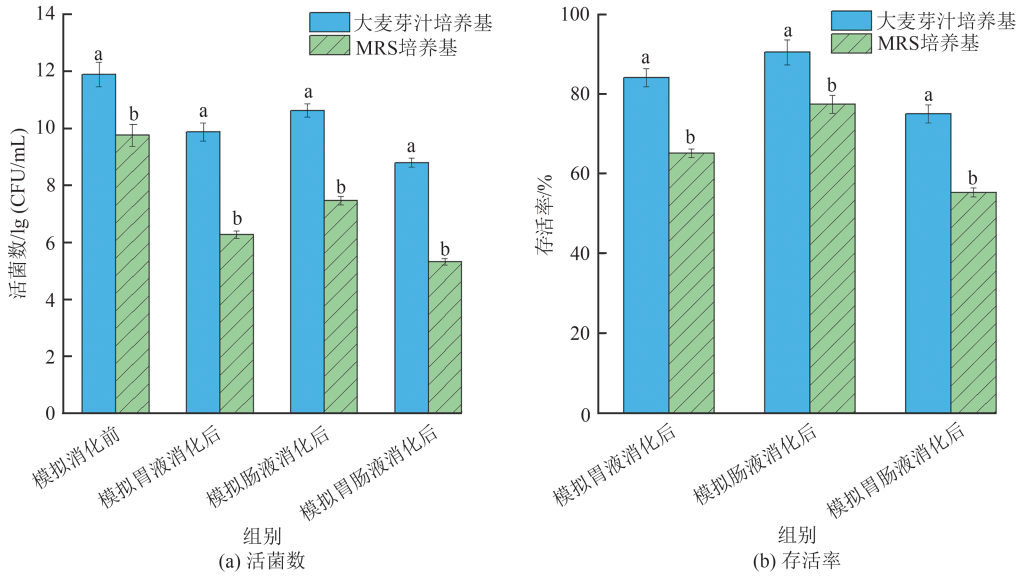


图8　L23251在不同培养基发酵前后代谢产物的变化

Fig. 8　Changes in metabolites of L23251 before and after fermentation in different media



不同小写字母表示组间具有显著性差异（$P<0.05$）。

图9　不同培养基制备的冻干菌粉的胃肠液耐受性

Fig. 9　Gastrointestinal fluid tolerance of freeze-dried bacterial powder prepared with different media

86.18%，在模拟肠液消化后的存活率分别为77.49%和92.74%，在模拟胃肠液消化后的存活率分别为55.38%和76.75%，表明L23251在大麦芽汁培养基中发酵后能提高其对外界环境的防御能力，有利于L23251在模拟消化环境中维持活性，抵抗消化道环境胁迫，从而实现肠道定植并持续发挥益生作用。

3 结论

随着消费者健康意识的不断提升，益生菌发酵食品及制剂的市场需求持续增长，这对益生菌的高密度培养技术也提出了更高的要求。当前，我国的乳酸菌产业应用不仅局限于传统发酵，更倾向于将益生菌作为关键功能成分，这使得保证最终产品具有足够且稳定的益生菌活菌数成为行业的核心挑战。因此，实现益生菌的高密度培养是产业化应用的首要前提。作者聚焦于本土人源植物乳植杆菌FMBL L23251 FJX，建立了以大麦芽汁为主要碳源的高密度发酵工艺，高密度培养后活菌数高达2.33×10^{12} CFU/mL，制备的冻干菌粉的活菌数高达3.56×10^{13} CFU/g。在大麦芽汁培养基中，植物乳植杆菌FMBL L23251 FJX的糖利用率与产酸量同步提升，蛋白质、氨基酸等营养成分以及总酚、总黄酮等功能性物质水平显著升高，抗氧化能力显著增强。本研究不仅为乳酸菌的高密度培养提供了可直接应用的技术方案，为低成本培养方案的构建提供了思路，同时也为植物乳植杆菌FMBL L23251 FJX在发酵乳饮料、辅助发酵剂以及生物医药等领域的应用提供了理论基础。

参考文献

[1] KUMARI M，KOKKILIGADDA A，DASRIYA V，et al. Functional relevance and health benefits of soymilk fermented by lactic acid bacteria[J]. Journal of Applied Microbiology，2022，133(1)：104-119.

[2] 方家龙. 植物乳杆菌CCFM8610调节衰老小鼠肠道屏障功能退化的作用研究[D]. 无锡：江南大学，2025.

[3] TIAN P J，WANG Z，QIAN X，et al. Unveiling the role of acetate in probiotic-mediated promotion of intestinal serotonin production using intestinal organoids[J]. Food Science and Human Wellness，2025，14(8)：9250314.

[4] 王竹青. 瑞士乳杆菌H11在发酵豆乳中的特性研究及其产品开发[D]. 呼和浩特：内蒙古农业大学，2023.

[5] 刘凯龙，黄天，刘晓晔，等. 动物双歧杆菌乳亚种V9连续传代过程中遗传稳定性评价[J]. 中国食品学报，2023，23(9)：12-22.
LIU K L，HUANG T，LIU X Y，et al. Evaluation of genetic stability during continuous passage of the *Bifidobacterium animals* subsp. *lactis* V9[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology，2023，23(9)：12-22.(in Chinese)

[6] HAN X，LIU Q Q，LI Y，et al. Synergizing artificial intelligence and probiotics：a comprehensive review of emerging applications in health promotion and industrial innovation[J]. Trends in Food Science & Technology，2025，159：104938.

[7] CHEN B F，GONG R，QIAO Z X，et al. Improving *Chlorella protein* production under heterotrophic high cell density fed-batch cultivation with a two-stage nitrogen nutrient supply strategy[J]. Green Carbon，2025，3(2)：208-217.

[8] CUI S M，SADIQ F A，MAO B Y，et al. High-density cultivation of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* using an automatic feedback feeding method [J]. LWT-Food Science and Technology，2019，112：108232.

[9] MANZOOR A，QAZI J I，HAQ I U，et al. Significantly enhanced biomass production of a novel bio-therapeutic strain *Lactobacillus plantarum*（AS-14）by developing low cost media cultivation strategy[J]. Journal of Biological Engineering，2017，11(1)：17.

[10] ZHU W J，BORJIHAN Q，CHEN Y F，et al. Optimizing lipid-lowering synbiotics：strain screening，synergistic consortium formulation，prebiotic modulation，and freeze-drying process engineering for enhanced stability and efficacy[J]. Food Chemistry：Molecular Sciences，2025，11：100322.

[11] FAN J X，LU Y Z，LI X，et al. Omics analysis of key pathway in flavour formation and B vitamins synthesis during chickpea milk fermentation by *Lactiplantibacillus plantarum*[J]. Food Chemistry，2025，463：141083.

[12] ZHANG W H，WU J，WENG L Y，et al. An improved phenol-sulfuric acid method for the determination of carbohydrates in the presence of persulfate [J]. Carbohydrate Polymers，2020，227：115332.

[13] HU G Y，CHEN J，DU G C，et al. Moromi mash dysbiosis trigged by salt reduction is relevant to quality and aroma changes of soy sauce[J]. Food Chemistry，2023，406：135064.

[14] MARKKINEN N，LAAKSONEN O，NAHKU R，et al. Impact of lactic acid fermentation on acids，sugars，and phenolic compounds in black chokeberry and sea buckthorn juices[J]. Food Chemistry，2019，286：204-215.

[15] KWAW E，MA Y K，TCHABO W，et al. Effect of *Lactobacillus strains* on phenolic profile，color attributes and antioxidant activities of lactic-acid-fermented mulberry juice[J]. Food Chemistry，2018，250：148-154.

[16] 覃超，唐富豪，滕建文，等. 产β-葡萄糖苷酶乳酸菌发酵对百香果皮多酚含量和功能活性的影响[J]. 食品与发酵工业，2023，49(8)：230-236.
QIN C，TANG F H，TENG J W，et al. Effect of β-glucosidase producing lactic acid bacteria fermentation

on polyphenol content and functional activity of passion fruit peel[J]. Food and Fermentation Industries,2023,49(8):230-236.(in Chinese)

[17] 吴思妙,庞海月,旦真次仁,等. 5种西藏野生植物花蕾的抗氧化作用对比研究[J]. 贵州林业科技,2025,53(1):51-54,62.
WU S M,PANG H Y,TAMDRIN T,et al. Antioxidant activity of five wild plants in Tibet of China[J]. Guizhou Forestry Science and Technology,2025,53(1):51-54,62.(in Chinese)

[18] 张宏志,马艳弘,刘小莉,等. 复合乳酸菌发酵蓝莓黑莓混合汁过程中的品质变化[J]. 现代食品科技,2019,35(10):85-91,212.
ZHANG H Z,MA Y H,LIU X L,et al. Quality changes during the fermentation of of blueberry and blackberry juice mixture by composite lactic acid bacteria[J]. Modern Food Science & Technology,2019,35(10):85-91,212.(in Chinese)

[19] 张林奇,王晓蕊,史畅,等. 益生菌粉中活菌稳定性及其耐受模拟胃肠液的研究[J]. 食品与发酵工业,2021,47(13):36-42.
ZHANG L Q,WANG X R,SHI C,et al. Stability and tolerance to simulated gastrointestinal fluids of probiotics in powder preparation[J]. Food and Fermentation Industries,2021,47(13):36-42.(in Chinese)

[20] ABDELSHAFY A M,MUSTAFA M A,HASSAN M A,. et al. Probiotic-fermentation of oat: safety, strategies for improving quality, potential food applications and biological activities[J]. Trends in Food Science & Technology,2024,151:104640.

[21] ALCÁNTARA C, COLL-MARQUÉS J M, JADÁN-PIEDRA C,et al. Polyphosphate in *Lactobacillus* and its link to stress tolerance and probiotic properties[J]. Frontiers in Microbiology,2018,9:1944.

[22] PÁZMÁNDI M,KOVÁCS Z,MARÁZ A. Potential of *Lactobacillus* strains for the production of fermented functional beverages enriched in galacto-oligosaccharides[J]. LWT-Food Science and Technology,2021,143:111097.

[23] WANG C Y,JI B,LI A J,et al. Shear-driven stirring optimization modulates microbial synergy for robust structural-metabolic performance in microalgal-bacterial granular sludge systems[J]. Bioresource Technology,2025,435:132944.

[24] 张国柱,宫俊峰,赵玉明,等. 植物乳杆菌高密度发酵[J]. 食品工业,2022,43(10):144-147.
ZHANG G Z,GONG J F,ZHAO Y M,et al. High density fermentation of *Lactobacillus plantarum*[J]. The Food Industry,2022,43(10):144-147.(in Chinese)

[25] ZHU Z L,WU M M,SHEN W G,et al. Optimization of mix design and hydration mechanism of the sodium hydroxide/sodium carbonate alkali-activated slag-fly ash cement[J]. Construction and Building Materials,2025,491:142747.

[26] 崔树茂. 乳酸菌的生长抑制和冻干存活的影响因素及规律[D]. 无锡:江南大学,2017.

[27] 李秋琴,王世杰,陆淳,等. 乳酸菌高密度培养及其在产品中保持高密度的研究[J]. 中国乳品工业,2011,39(5):21-25.
LI Q Q,WANG S J,LU C,et al. Research on high cell density cultivation and survival of lactic acid bacteria in products[J]. China Dairy Industry,2011,39(5):21-25.(in Chinese)

[28] BORJIHAN Q,YANG Z,LIU K,et al. Comparative genomics and metabolite analysis of *Lactiplantibacillus plantarum* strains in dairy and vegetable fermentation environments[J]. Food Bioscience,2025,65:106058.

[29] WU S T,MO R H,WANG R H,et al. Identification of key antioxidants of free,esterified,and bound phenolics in walnut kernel and skin[J]. Foods,2023,12(4):825.

[30] 张春花,颜学行,崔廷宏,等. 4种云南大叶种白茶主要化学成分及抗氧化活性差异分析[J]. 食品工业科技,2025,46(9):234-242.
ZHANG C H,YAN X X,CUI T H,et al. Comparative analysis on chemical components and antioxidant activity for four different varieties of Yunnan large-leaf white tea[J]. Science and Technology of Food Industry,2025,46(9):234-242.(in Chinese)

[31] ZHANG X X,ZHANG C F,GONG M L,et al. Dynamics of lactic acid bacteria dominance in sour bamboo shoot fermentation: roles of interspecies interactions and organic acid stress[J]. Foods,2025,14(20):3481.

[32] QAYYUM N, WANG S X, YANTIN Q, et al. Characterization of short-chain fatty acid-producing and cholesterol assimilation potential probiotic lactic acid bacteria from Chinese fermented rice[J]. Food Bioscience,2023,52:102404.

[33] 时伟,郑红梅,黄婷,等. 中国白酒酿造核心微生物相互作用研究进展[J]. 食品与发酵工业,2025,51(20):427-436.
SHI W,ZHENG H M,HUANG T,et al. Research progress on core microbial interactions in Chinese Baijiu fermentation[J]. Food and Fermentation Industries,2025,51(20):427-436.(in Chinese)

[34] 刘会耀,彭飞. 乳酸菌发酵酸乳理化性质及微生物代谢研究进展[J]. 乳业科学与技术,2024,47(3):49-60.
LIU H Y,PENG F. Recent progress in research on the physicochemical properties and microbial metabolism of yogurt fermented by lactic acid bacteria[J]. Journal of Dairy Science and Technology,2024,47(3):49-60.(in Chinese)

[35] ZIMMER L,CRÜSEMANN M. Amino acid tailoring strategies in peptide natural product biosynthesis[J]. Trends in Chemistry,2025,7(11):705-718.

[36] E J J,MA R Z,CHEN Z C,et al. Improving the freeze-drying survival rate of *Lactobacillus plantarum* LIP-1 by increasing biofilm formation based on adjusting the composition of buffer salts in medium[J]. Food Chemistry,2021,338:128134.