DOI:10.12441/spyswjs.20250304003 [文章编号] 1673-1689(2025)10-0122-10

# 3 株乳酸菌的益生特性及其在玉米皮发酵中的应用

翟 波[1] 舒泉先[2] 杨小雁[2] 毛 银[1] 邓 禹[1] 赵运英[1*]

(1. 江南大学生物工程学院,江苏 无锡 214122; 2. 山东渤海实业集团有限公司,山东 滨州 256500)

**摘要:【目的】**提高玉米资源的利用率并缓解饲料资源紧张。**【方法】**研究评价了副干酪乳酪杆菌 ZB-1(ZB-1)、副干酪乳酪杆菌 DY-2(DY-2)、鼠李糖乳酪杆菌 DY-4(DY-4)这 3 株乳酸菌的肠道定植能力、耐受性及抑菌能力,筛选出最适发酵玉米皮的菌株,并对其发酵工艺进行优化。**【结果】**ZB-1 在肠道定植能力和抑菌性方面优于 DY-2 和 DY-4,其抑菌机制可能是由酸性环境介导的有机酸与某些蛋白质类抗菌物质共同驱动。通过工艺优化,确定 ZB-1 最佳发酵条件为:玉米皮经体积分数 6% 纤维素酶(酶解时料液比 4 g:1 mL)酶解处理 24 h 后,再添加质量分数 2% 的 $NaHCO_3$ 进行碱处理,ZB-1 菌株的接种体积分数 5%,体积分数 3% 的糖蜜和 1 350 U/g 碱性蛋白酶,发酵原料水分质量分数控制在 50%,发酵温度为 37 ℃,发酵时间为 48 h。在此条件下,发酵后玉米皮的有机酸质量分数可达 3.23%,小肽质量分数提高至 50.2 mg/g,中性洗涤纤维(NDF)和酸性洗涤纤维(ADF)质量分数分别降低至 63.72% 和 15.82%。**【结论】**发酵玉米皮新工艺不仅能够提高小肽和有机酸质量分数,也可以降低其 NDF 和 ADF 质量分数,为玉米皮的高效生物转化及乳酸菌发酵其他饼粕类饲料原料提供了依据。

**关键词:**乳酸菌;定植能力;耐受性;抑菌能力;玉米皮;发酵工艺优化

# Probiotic Properties of Three Strains of *Lactobacillus* and Their Application in Corn Husk Fermentation

*ZHAI Bo*[1] *SHU Quanxian*[2] *YANG Xiaoyan*[2] *MAO Yin*[1] *DENG Yu*[1] *ZHAO Yunying*[1*]

(1. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Shandong Bohai Industrial Group Co., Ltd., Binzhou 256500, China)

**Abstract:** [**Objective**] This study aims to improve the utilization of maize resources and address the shortage of feed resources. [**Method**] The intestinal colonization capacity, tolerance, and antibacterial properties of three *Lactobacillus* strains, *Lactobacillus paracasei* ZB-1 (ZB-1), *L. paracasei* DY-2 (DY-2), and *L. rhamnosus* DY-4 (DY-4) were evaluated. The most suitable strain for fermenting cornhusks was identified, and its fermentation process was optimized. [**Result**] ZB-1 exhibited higher intestinal colonization ability and antibacterial properties than DY-2 and DY-4. The antibacterial mechanism of ZB-1 was likely driven by the action of organic acids in an acidic environment and certain protein-based antimicrobial substances. The fermentation conditions for ZB-1 were optimized as follows: hydrolysis of corn husks with cellulase at a volume fraction of 6% (solid-liquid ratio of 4 g∶1 mL during enzymatic hydrolysis) for 24 h, followed by an alkaline treatment with $NaHCO_3$ at a mass fraction of 2%, ZB-1 inoculation volume fraction of 5%, molasses addition at a volume fraction of 3%, alkaline protease of 1 350 U/g, moisture content of the fermentation material controlled at a mass fraction of 50%, and fermentation at 37 ℃ for 48 h. Under these conditions, the mass fraction of organic acids in the fermented corn

**基金项目:**广西壮族自治区重点研发计划项目(2021AB13022);山东省重点研发项目(2022CXPT042)。

**通信作者:**赵运英(1983—),女,博士,副教授,硕士研究生导师,主要从事酿酒酵母和大肠杆菌等微生物代谢工程和合成生物学研究。E-mail:yunyingzhao@jiangnan.edu.cn

**收稿日期:**2025-03-04 **修回日期:**2025-05-09

husks reached 3.23%, and the mass fraction of small peptides increased to 50.2 mg/g. Additionally, the mass fractions of neutral detergent fiber (NDF) and acidic detergent fiber (ADF) decreased to 63.72% and 15.82%, respectively. [**Conclusion**] This novel fermentation process for corn husks not only enhances the mass fractions of small peptides and organic acids but also decreases the mass fractions of NDF and ADF. The findings of this study offer significant reference value for the efficient biotransformation of corn husks and the fermentation of other cake and meal feed materials with *Lactobacillus*.

**Keywords:** *Lactobacillus*; colonization ability; tolerance; antibacterial ability; corn husk; fermentation process optimization

乳酸菌是一类可以将糖类发酵为乳酸的益生菌，具有维持肠道稳态、调节机体免疫以及抗肿瘤等功能[1-4]。作为食品工业中常用的益生菌株，其益生功能的发挥需要对消化道环境具备一定的耐受性且能成功黏附于肠道上皮细胞[5]。其主要代谢产物有机酸（如乳酸、乙酸等）具有天然抗菌特性，不仅可以抑制病原菌生长，还能提升发酵饲料的风味和营养价值，延长保质期。2020年我国饲料行业正式实施“禁抗令”，在此背景下，乳酸菌作为一种安全且具有抗菌作用的益生菌[6-7]，逐渐成为饲料行业的重要替代品，具有广阔的发展前景。

玉米是我国主要粮食作物之一，2024年玉米产量为2.9亿t[8]。玉米皮是玉米淀粉或乙醇生产过程中去除淀粉、胚芽及玉米醇溶蛋白后的副产物，占原料总质量的14%~20%，其化学组成丰富，葡萄糖质量分数约为32%，淀粉质量分数约为10%~20%，粗蛋白质质量分数约为11.8%，粗脂肪质量分数约为6%[9]。然而，玉米皮直接用作饲料时存在诸多限制，其纤维含量高导致适口性差，且含有非淀粉多糖、植酸等抗营养因子及真菌毒素，严重影响动物消化吸收效率及代谢健康[10]。目前，有关玉米皮发酵的研究多集中于混料和混菌发酵。例如侯亚丽等[11]将玉米皮与豆粕、米糠按一定比例混合，加入3种混合菌液连续发酵5 d，结果显示，发酵后活菌数显著增加，纤维含量下降，且产品气味醇香、色泽良好。虽然多菌种发酵可在一定程度上提高发酵玉米皮的品质，但存在菌株代谢竞争、产物抑制效应、工艺复杂度高及规模化生产成本激增等问题，限制了其工业化应用。相比之下，利用“安全”的乳酸菌联合纤维素酶进行菌酶协同发酵玉米皮，不仅能够降低玉米皮纤维含量、减少真菌毒素与抗营养因子的含量[12]，还能提高其适口性和营养价值，同时避免了混菌发酵存在的诸多问题，值得深入研究和推广。

对前期从豆粕、玉米皮中筛选获得的3株乳酸菌ZB-1、DY-2和DY-4的肠道定植能力、耐受性及抑菌能力进行了综合评价。采用优势菌株对玉米皮进行固态发酵，并对发酵工艺进行优化以提高发酵玉米皮的品质。本研究为发酵玉米皮工艺的开发提供了一种新的技术途径，也为乳酸菌在其他饼粕类饲料中的研究提供了参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

ZB-1、DY-2（CCTCC2017303）、DY-4（CCTCC2017279）：作者所在实验室保藏菌株；大肠埃希氏菌（ATCC25922）、金黄色葡萄球菌（ATCC25923）、鼠伤寒沙门氏菌（ATCC14028）：中国普通微生物菌种保藏中心；MRS培养基：海博生物技术有限公司；三氯乙酸、NaOH、$NaHCO_3$、酒石酸钾钠、硫酸铜、硫酸、乙二胺四乙酸二钠、十二烷基硫酸钠、十六烷基三甲基溴化铵等：分析纯，国药集团化学试剂有限公司；胃蛋白酶：酶活力>3 000 U/mg，上海迈瑞尔生化科技有限公司；胰蛋白酶：酶活力>3 000 U/mg，国药集团化学试剂有限公司；碱性蛋白酶：酶活力>200 000 U/g，上海仟味食品科技有限公司；纤维素酶：酶活性50 U/mg，西格玛奥德里奇（上海）贸易有限公司；饲料纤维滤袋：北京正方兴达科技发展有限公司；糖蜜：山东中德益农生物科技有限公司；玉米皮：阜丰集团有限公司。

### 1.2 仪器与设备

多功能酶标仪：Synergy H1型，美国Bio-Tek有限公司；电热恒温培养箱：DHP-9032型，上海一恒科学仪器公司；紫外-可见分光光度计：UV-1800型，皓缇仪器（上海）有限公司；旋涡振荡仪：Vortex-Genie 2型，美国Scientific Industries公司；

高效液相色谱：1260 Infinity II型，美国安捷伦公司。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 菌株培养

挑取乳酸菌单菌落，接种在装有MRS液体培养基的摇瓶中，37 ℃培养16~18 h后获得种子液。以接种体积分数2%将种子液转接到装有50 mL培养基的250 mL摇瓶中，37 ℃下培养24~48 h，获得发酵种子液。

取24 h发酵液，在5 000 r/min条件下离心15 min，用无菌PBS溶液将菌体洗涤2~3次后重悬，调整$OD_{600}$值至0.8~1.0，获得菌悬液。

#### 1.3.2 肠道定植能力检测

1）自聚能力测定：参照刘颖颖等[13]的方法。取方法1.3.1中制备的ZB-1、DY-2、DY-4菌悬液各1 mL，使用旋涡振荡器振荡10 s后于37 ℃下静置培养5 h，根据式（1）计算菌株的自聚集能力。

$$w_1=\frac{A_1-A_2}{A_1}\times 100\% \quad (1)$$

式中：

$w_1$——自聚能力，%；

$A_1$——初始菌悬液$OD_{600}$值；

$A_2$——培养5 h后上层200 μL悬液的$OD_{600}$值。

2）共聚能力测定：参照杨薇等[14]的方法。取制备的ZB-1、DY-2、DY-4菌悬液，与大肠埃希氏菌菌悬液等体积振荡混合，37 ℃静置培养5 h，根据式（2）计算共聚能力。

$$w_2=\frac{(A_m+A_n)/(2-A_0)}{A_m+(A_n/2)}\times 100\% \quad (2)$$

式中：

$w_2$——共聚能力，%；

$A_0$——混合菌悬液培养5 h后上层200 μL悬液的$OD_{600}$值；

$A_m$——ZB-1、DY-2、DY-4菌悬液单独培养5 h后的$OD_{600}$值；

$A_n$——大肠埃希氏菌菌悬液单独培养5 h后的$OD_{600}$值。

3）疏水性测定：参照刘佳等[15]的方法。在2 mL的ZB-1、DY-2、DY-4菌悬液中分别加入等体积的二甲苯，振荡混匀2 min后静置1 h，根据公式（3）计算菌株的疏水性。

$$w_3=(1-\frac{A_t}{A_1})\times 100\% \quad (3)$$

式中：

$w_3$——疏水性，%；

$A_t$——静置后水相的$OD_{600}$值；

$A_1$——初始菌悬液的$OD_{600}$值。

#### 1.3.3 消化道环境耐受性检测

消化道环境耐受性检测包括酸、盐耐受性检测、模拟胃肠液检测，测定方法参考刘颖颖等[13]、刘伊湄等[16]、崔爽等[17]。

1）耐酸能力测定：试验组pH设置为3，对照组pH设置为6；试验中ZB-1、DY-2、DY-4的接种体积分数为5%，37 ℃条件下静置培养4 h，取0 h和4 h的培养液，稀释涂布计算菌落数，并将菌落数取以10为底的对数，根据4 h和0 h的对数比值计算存活率，根据菌株的存活率判断菌株对酸耐受性的强弱。

2）耐盐能力测定：NaCl质量浓度设置为100、200 g/L；耐受性计算方法同上。

3）模拟胃液配制：参考崔爽等[17]的方法，并稍加修改。称取0.35 g胃蛋白酶溶于100 mL、2 g/L的无菌生理盐水，用1 mol/L盐酸调节pH为3，使用0.22 μm滤膜过滤除菌。取10 mL模拟胃液，接入ZB-1、DY-2、DY-4菌悬液1 mL，37 °C静置培养6 h，取0 h和6 h的培养液，用平板计数法测定活菌数，并将菌落数值取以10为底的对数，根据6 h和0 h的对数比值计算存活率。

4）模拟肠液配制：参考刘伊湄等[16]的方法，并稍加修改。称取0.68 g $KH_2PO_4$溶解于磷酸盐缓冲液（PBS）中，调整溶液pH至6.8，并加入1 g胰蛋白酶，溶解后混匀并定容至100 mL，用0.22 μm滤膜过滤除菌；取10 mL模拟肠液，加入ZB-1、DY-2、DY-4菌悬液1 mL，37 °C静置培养6 h，存活率计算方法同模拟胃液。

#### 1.3.4 抑菌能力检测及抑菌活性分析

发酵上清液抑菌能力及抑菌活性研究方法参考陆春波等[18]。

1）抑菌能力检测：以大肠埃希氏菌、鼠伤寒沙门氏菌和金黄色葡萄球菌等3种致病菌为指示菌，接种于LB培养基中，在37 °C下200 r/min培养18 h，备用。按照1.3.1的方法活化ZB-1、DY-2、DY-4并接种于MRS培养基中，于37 °C、200 r/min培养24 h。在8 000 r/min的条件下离心10 min，

得到的ZB-1、DY-2、DY-4发酵上清液用于抑菌能力检测。

取灭过菌的培养皿，将融化好的固体LB培养基（10 mL左右）倒入，冷却10 min后，再倒入约20 mL的融化好的半固体培养基，半固体培养基的菌浓度控制在$10^8$ CFU/mL。放置在水平台面上凝固后，等距离摆放牛津杯，取200 μL前期获得的乳酸菌上清液加入牛津杯。37 ℃培养24 h后，测量上清液对致病菌产生的抑菌圈，每次测定做3组平行。

2）pH对发酵上清液抑菌活性的影响：用1 mol/L的HCl/NaOH将发酵上清液pH调整为2、3、4、5、6、7，采用上述牛津杯法，测量不同pH上清液对大肠埃希氏菌产生的抑菌圈的影响。

3）有机酸对发酵上清液抑菌活性的影响：测定发酵上清液中主要有机酸质量分数，在MRS培养基中分别加入相同质量浓度的有机酸，同时配制相同质量浓度有机酸的混合酸，通过牛津杯法测定抑菌圈大小。有机酸测定方法采用高效液相色谱法，具体操作方法参照文献[19]。

4）蛋白酶对发酵上清液抑菌活性的影响：用胃蛋白酶、胰蛋白酶、过氧化氢酶、蛋白酶K、碱性蛋白酶处理发酵上清液，将酶溶液质量浓度调节至1 mg/mL并调至最适pH，与发酵上清液等体积混合并保持3 h，再调至初始pH，以未经过酶处理的上清液为对照，测量不同酶处理后发酵上清液对大肠埃希氏菌产生抑菌圈的影响。

1.3.5　原料预处理

通过对比不同预处理方法和纤维素酶添加情况下的发酵效果，分析各处理对玉米皮发酵过程中有机酸、小肽质量分数的影响。

1）水洗法：将玉米皮在流水下冲洗3次后沥干多余水分。

2）加碱法：以NaOH、$NaHCO_3$为pH调节剂，将玉米皮pH调至6.5。

对照组设置为：未进行预处理，直接发酵；试验组（Y1~Y6）酶解处理条件设置为：酶添加量质量分数6%，酶解时间24 h，酶解温度60 ℃，酶解水分质量分数25%，其余发酵条件见表1。

表1　发酵条件设置

Table 1　Fermentation conditions

| 组别 | 组别代号 | 纤维素酶 | 其余发酵条件 |
|---|---|---|---|
| 玉米皮原料 | 玉米皮原料 | − | 不发酵 |
| 玉米皮直接发酵 | 对照组 | − | 接种体积分数5%，碱性蛋白酶添加量1 350 U/g，糖蜜添加体积分数3%，总水分质量分数45%，发酵温度37 ℃，发酵时间48 h |
| 玉米皮经水洗后原料 | Y1 | + | |
| 玉米皮经水洗后发酵 | Y2 | + | |
| 玉米皮经$NaHCO_3$处理后原料 | Y3 | + | |
| 玉米皮经$NaHCO_3$处理后发酵 | Y4 | + | |
| 玉米皮经NaOH处理后原料 | Y5 | + | |
| 玉米皮经NaOH处理后发酵 | Y6 | + | |

注：“+”表示添加纤维素酶；“−”表示不添加纤维素酶。

1.3.6　玉米皮发酵菌株筛选

以ZB-1、DY-2、DY-4这3种乳酸菌为出发菌株，$NaHCO_3$为pH调节剂，按照质量分数2%添加至玉米皮中，再进行纤维素酶的酶解处理（酶解条件不变），酶解结束后按表1的条件进行发酵。发酵结束后于55 ℃烘干粉碎，测定小肽及有机酸质量分数，筛选出最适发酵玉米皮的乳酸菌菌株。

1.3.7　玉米皮发酵过程总水分质量分数优化

对发酵玉米皮总水分质量分数进行优化。各试验组前处理条件与发酵条件见表2，设置总水分质量分数分别为40%、45%、50%、55%。发酵结束后烘干粉碎，测定小肽、有机酸、NDF、ADF质量分数。

1.3.8　发酵玉米皮酶-碱方式优化

对照组为纤维素酶的酶解过程中添加质量分数2%的$NaHCO_3$，处理24 h后进行发酵。试验组设置为先酶解24 h，之后添加质量分数2%的$NaHCO_3$进行发酵。保持酶解条件不变，其余发酵条件见表3。发酵结束后烘干粉碎，测定小肽、有机酸、NDF和ADF质量分数。

1.3.9　发酵玉米皮指标测定

小肽质量分数测定：参照毛银等[20]的试验处理方法。称取1 g发酵玉米皮，加入等体积质量分

表2 发酵条件设置

Table 2 Fermentation conditions

| 组别 | 组别代号 | 前处理条件 | 发酵条件 |
|---|---|---|---|
| 玉米皮原料 | 玉米皮原料 | 不处理 | 不发酵 |
| 总水分质量分数40% | S1 | 酶添加质量分数6%，酶解时间24 h，酶解温度60 ℃，酶解水分质量分数25%，酶解时添加质量分数2%的$NaHCO_3$ | 接种体积分数5%，碱性蛋白酶添加量1 350 U/g，糖蜜体积分数3%，发酵温度37 ℃，发酵时间48 h |
| 总水分质量分数45% | S2 | | |
| 总水分质量分数50% | S3 | | |
| 总水分质量分数55% | S4 | | |

表3 发酵条件设置

Table 3 Fermentation conditions

| 组别 | 组别代号 | 其余发酵条件 |
|---|---|---|
| 玉米皮原料 | 玉米皮原料 | 不发酵 |
| 质量分数6%纤维素酶酶解+质量分数2% $NaHCO_3$同时进行处理 | 对照组 | 接种体积分数5%，碱性蛋白酶添加量1 350 U/g，糖蜜体积分数3%，总水分质量分数50%，发酵温度37 ℃，发酵时间48 h |
| 质量分数6%的纤维素酶酶解后再用质量分数2%$NaHCO_3$处理 | 试验组 | |

数15%的三氯乙酸，在200 r/min条件下振荡摇匀30 min，之后4 000 r/min离心15 min，将上清液进行稀释，采用Folin-酚法测定小肽质量分数。

乳酸质量分数测定：称取1 g发酵玉米皮，加入10 mL去离子水，在200 r/min条件下振荡摇匀30 min，之后12 000 r/min离心5 min，用10 mmol/L硫酸稀释，采用液相法测定乳酸质量分数。

NDF和ADF质量分数测定方法参照李博等[21]。

1.3.10 数据分析

每组试验设3组平行，试验结果采用平均值±标准差表示，采用SPSS 22.0进行数据分析，采用Origin绘图。

## 2 结果与讨论

### 2.1 肠道定植能力检测

乳酸菌在肠道中发挥着调节微生物菌群、抑制有害病菌生长的作用，其黏附能力和定植能力可通过自聚能力、疏水性和共聚能力进行评估[22]。Wang等[23]研究发现，干酪乳酪杆菌ZX633的自聚能力为15.32%，疏水性为33.48%，表现出良好的益生特性。根据表4数据，ZB-1的自聚能力为(31.10±0.96)%，略高于DY-2，且与DY-4相当；其疏水性为(27.92±0.45)%，与DY-2相近，但低于DY-4的(76.77±0.46)%。然而，过高的疏水性可能导致菌株无法有效定植于肠道黏膜，从而影响其益生功能。此外，与吴雨晗等[24]研究的约翰氏乳杆菌Tβ(共聚能力73.95%)相比，ZB-1、DY-2和DY-4的共聚能力表现更优，表明ZB-1和DY-2在抑制病原菌黏附和生长方面更具优势。因此，综合自聚能力、疏水性和共聚能力分析，ZB-1和DY-2在肠道定植方面可能更具优势。

表4 ZB-1、DY-2、DY-4的自聚能力、共聚能力、疏水性

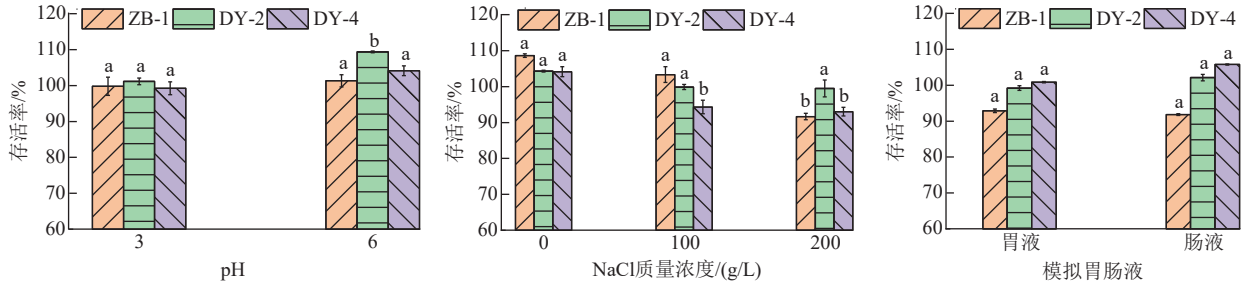
Table 4 Self-aggregation ability, co-aggregation ability, and hydrophobicity of ZB-1, DY-2, and DY-4

| 菌株 | 自聚能力/% | 共聚能力/% | 疏水性/% |
|---|---|---|---|
| ZB-1 | 31.10±0.96 | 81.16±1.22 | 27.92±0.45 |
| DY-2 | 27.80±1.12 | 90.44±0.59 | 29.09±0.98 |
| DY-4 | 31.13±2.80 | 83.87±0.85 | 76.77±0.46 |

### 2.2 消化道环境耐受性检测

对消化道环境具有一定耐受能力的乳酸菌才能发挥其益生作用。如图1(a)所示，ZB-1、DY-2和DY-4在极端酸性环境(pH 3)中培养4 h后，存活率分别为99.79%、101.15%和99.24%，显著高于张宇等[25]和余萍等[26]研究中的副干酪乳酪杆菌(存活率分别为91.80%和89.39%)，表现出更强的耐酸性。如图1(b)所示，在含200 g/L NaCl的MRS培养基中培养4 h后，ZB-1、DY-2和DY-4的存活率分别为91.66%、99.49%和93.01%，远高于已报道的副干酪乳酪杆菌L1[27]和李佳莲等[5]筛选的耐盐乳酸菌，表明这3株乳酸菌具有极强的耐高渗透压能力。如图1(c)所示，在模拟胃液中培养

6 h后，ZB-1、DY-2和DY-4的存活率分别为92.88%、99.18%和100.85%；在模拟肠液中，其存活率分别为91.81%、102.12%和105.78%，这表明它们对胃肠液具有很强的耐受能力。综上所述，ZB-1、DY-2和DY-4这3株乳酸菌均表现出较强的耐酸性、耐高渗透压能力和胃肠液耐受能力，对消化道环境具有良好的适应性，为其肠道益生功能的发挥奠定了基础。




(a) 耐酸能力　(b) 耐盐能力　(c) 耐胃肠液能力

不同字母表示组间具有显著性差异($P$<0.05)。

图1　消化道环境耐受性检测

Fig. 1　Tolerance of strains to the digestive tract environment

### 2.3　抑菌能力检测及抑菌活性分析

乳酸菌发酵代谢产物中的有机酸、细菌素等物质可以有效抑制有害微生物的生长，ZB-1、DY-2、DY-4对3种致病菌的抑菌能力通过其产生抑菌圈的大小进行评价。由表5可知，ZB-1发酵48 h上清液对大肠埃希氏菌的抑菌圈直径最大，为(16.01±0.52) mm；鼠伤寒沙门氏菌次之，为(15.75±0.01) mm；金黄色葡萄球菌最小，为(14.82±0.13) mm。ZB-1对不同致病菌的抑菌能力存在差异，这可能与其代谢产物对特定菌株的细胞膜破坏能力或代谢干扰程度有关。与DY-2和DY-4相比，ZB-1表现出更强的抑菌能力，推测主要原因如下：1)可能具有更高的有机酸产量，可降低环境pH，抑制致病菌的生长；2)分泌更多种类的细菌素，具有广谱抑菌活性；3)代谢产物协同作用更强，且稳定性和持久性更高。

以ZB-1发酵24 h的上清液为例，分析其抑菌活性。由表6可知，酸性环境对抑菌活性具有显著影响，当pH≤5时，抑菌圈直径随pH升高呈梯度递减，而在中性条件(pH 6~7)下，抑菌活性完全消失。这表明ZB-1发酵产生的酸性代谢产物是其抑菌能力的主要来源，酸性环境的中和会导致抑菌能力显著下降。HPLC定量检测发酵上清液的成分，发现其主要有机酸成分包括乳酸(质量浓度17.83 g/L)、乙酸(质量浓度4.01 g/L)和柠檬酸(质量浓度2.01 g/L)。由表7可知，低质量浓度的单一柠檬酸并无抑菌效果，单一乳酸和乙酸的抑菌效果显著弱于发酵上清液，而混合酸(乳酸+乙酸+柠檬酸，总质量浓度23.85 g/L)的抑菌效果仍未达到发酵上清液的水平，说明起抑菌作用的有机酸主要是乙酸和乳酸，此外可能还存在其他抑菌物质。结合表8试验结果，经胃蛋白酶、蛋白酶K等5种蛋白酶处理后，各菌株抑菌活性显著下降，且不同蛋白酶处理间的差异较小，这表明发酵上清液中的抑菌物质可能包含某些小分子蛋白质类抗菌物质。综合这些结果，推测ZB-1的抑菌机制应该是由酸性环境介导的有机酸与某些蛋白质类抗菌物质共同驱动，二者协同发挥广谱抑菌效应。

表5　ZB-1、DY-2、DY-4发酵48h代谢产物的抑菌能力

Table 5　Antibacterial ability of metabolites of ZB-1, DY-2, and DY-4 after fermentation for 48 h

| 菌株 | 鼠伤寒沙门氏菌抑菌圈直径/mm | 大肠埃希氏菌抑菌圈直径/mm | 金黄色葡萄球菌抑菌圈直径/mm |
|---|---|---|---|
| ZB-1 | 15.75±0.01 | 16.01±0.52 | 14.82±0.13 |
| DY-2 | 11.37±0.32 | 11.25±0.29 | 13.01±0.23 |
| DY-4 | 14.23±0.41 | 13.52±0.38 | 14.20±0.14 |

### 2.4　原料预处理

玉米加工副产物中残留的亚硫酸会形成酸性环境(pH 3.5~4.0)，抑制乳酸菌生长，而玉米皮自然pH恰好处于该区间内[28]。为了降低亚硫酸对乳酸菌生长的抑制作用，将玉米皮水洗、加碱处理($NaHCO_3$、NaOH)以调控其pH。水洗可减少亚硫

表 6 pH 对 ZB-1 发酵 24 h 上清液抑菌活性的影响

Table 6 Effects of pH on the antibacterial activity of ZB-1 supernatant after fermentation for 24 h

| pH | 抑菌圈直径/mm |
|---|---|
| 2 | 15.69±0.21 |
| 3 | 14.35±0.23 |
| 4 | 12.27±0.13 |
| 5 | 8.63±0.27 |
| 6 | – |
| 7 | – |

注:“–”表示无抑菌活性。

表 7 有机酸对 ZB-1 发酵 24 h 上清液抑菌活性的影响

Table 7 Effects of organic acids on the antibacterial activity of ZB-1 supernatant after fermentation for 24 h

| 有机酸种类 | 质量浓度/(g/L) | 抑菌圈直径/mm |
|---|---|---|
| 乳酸 | 17.83 | 11.63±0.84 |
| 乙酸 | 4.01 | 11.05±0.31 |
| 柠檬酸 | 2.01 | – |
| 混合酸 | 23.85 | 12.25±0.16 |
| 对照 | / | 14.10±0.53 |

注:“–”表示无抑菌活性;对照为发酵上清液;“/”表示发酵上清液具体有机酸质量浓度未知。

表 8 蛋白酶对 ZB-1 发酵 24 h 上清液抑菌活性的影响

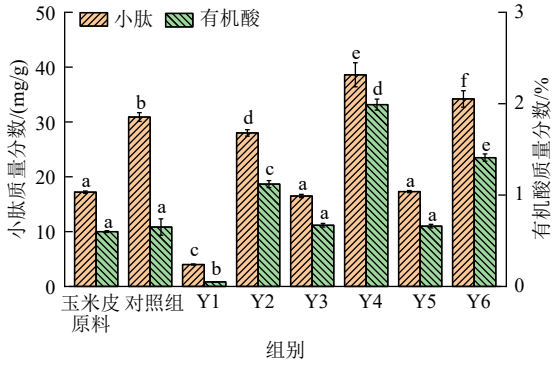
Table 8 Effects of proteases on the antibacterial activity of ZB-1 supernatant after fermentation for 24 h

| 酶的种类 | 抑菌圈直径/mm |
|---|---|
| 胃蛋白酶 | 11.54±0.17 |
| 胰蛋白酶 | 11.12±0.35 |
| 过氧化氢酶 | 12.19±0.31 |
| 蛋白酶 K | 11.69±0.20 |
| 碱性蛋白酶 | 11.27±0.11 |
| 对照(发酵上清液) | 14.07±0.41 |

酸含量,加碱则可中和酸性环境,将亚硫酸转化为亚硫酸钠,降低亚硫酸对乳酸菌的抑制作用,同时适宜浓度的亚硫酸钠也可以促进乳酸菌增长[29],从而提高发酵效率。

由图 2 可知,对照组直接进行玉米皮发酵后有机酸质量分数并无提升,说明 ZB-1 在此条件下无法正常生长,与其他文献研究结果一致。Y2 经水洗处理后,发酵玉米皮小肽质量分数提高至 28.0 mg/g,有机酸质量分数达 1.12%,其发酵效果低于 2 种碱处理法,推测原因是水洗法虽然在一定程度上改变了玉米皮环境,但对原料的有效成分造成一定的损失。此外,由于水洗处理会造成水资源的浪费以及后期污水处理成本的增加,不利于工业化生产,因此不采用该方法。

经加碱处理后,Y4 发酵玉米皮效果更加显著,小肽质量分数由 17.2 mg/g 提升至 38.6 mg/g,有机酸质量分数由 0.60% 提升至 1.99%。Y6 小肽质量分数提升至 34.2 mg/g,有机酸质量分数提升至 1.41%,由此可见 $NaHCO_3$ 作为 pH 调节剂发酵玉米皮效果更优,推测其原因在于 $NaHCO_3$ 的弱碱性具有缓冲能力,能为发酵提供更稳定的环境,更有利于微生物生长和代谢产物积累。此外,$NaHCO_3$ 无强腐蚀性,降低了操作风险,相较于 NaOH 更具优势,因此以 $NaHCO_3$ 作为 pH 调节剂对乳酸菌发酵玉米皮进行下一步探究。



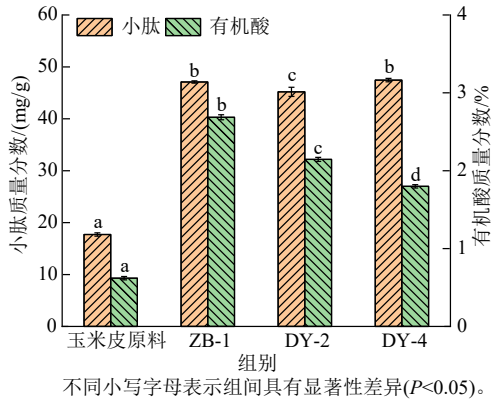

不同小写字母表示组间具有显著性差异($P$<0.05)。

图 2 pH 调节剂的筛选

Fig. 2 Screening of pH regulators

## 2.5 玉米皮发酵菌株筛选

探究 3 种乳酸菌对发酵玉米皮效果的影响,试验结果见图 3。相同发酵条件下,小肽质量分数差异不大,但以有机酸为指标,ZB-1 发酵后有机酸质量分数达 2.69%,发酵效果显著优于 DY-2 和 DY-4,表明 ZB-1 在酶处理和碱处理后的玉米皮中更具生长优势。推测原因如下:1)ZB-1 可能具有更高效的代谢酶系,能更有效地分解玉米皮中的复杂成分,从而促进有机酸积累;2)ZB-1 的抑菌能力更强,可通过产生有机酸和其他抗菌物质形成抗菌屏障,抑制其他微生物生长,进而在发酵过程中占据优势;3)ZB-1 可能对酶解和碱处理后的玉米皮发酵环境适应性更高,能够更好地利用其中的营养物质进行生长和代谢。基于其在发酵玉米皮中表现出更高的效率和优势,因此决定继续以 ZB-1 为出发




不同小写字母表示组间具有显著性差异($P$<0.05)。

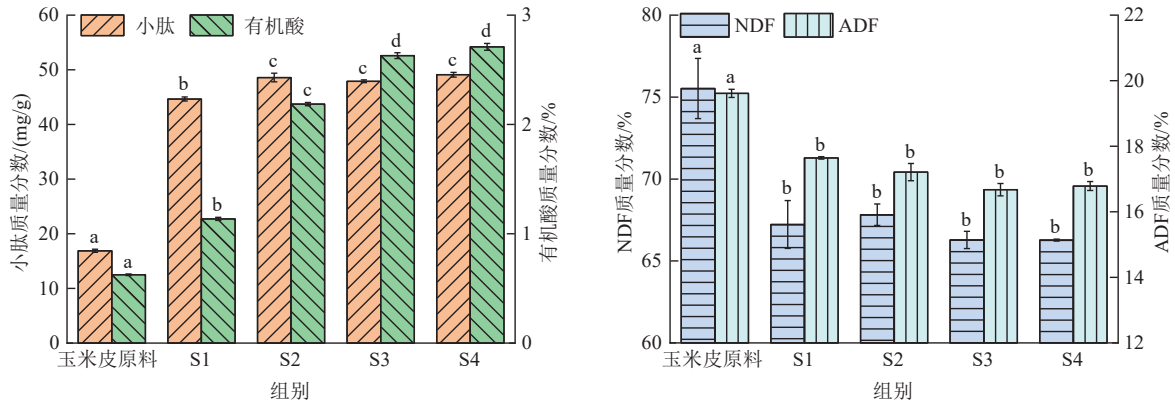
图3　玉米皮发酵菌株筛选

Fig. 3　Screening of strains for corn husk fermentation

菌株发酵玉米皮。

## 2.6　玉米皮发酵水分条件优化

在固态发酵体系中，底物含水量是调控微生物生长代谢的关键参数。适当提高初始含水量可促进营养物质溶解及代谢产物扩散，从而利于菌株生长。如图4所示，当总水分质量分数为45%时（S2），有机酸质量分数提升幅度较小，推测原因如下：1）氧气和营养物质传输受限，抑制菌株生长和代谢；2）低水分条件下微生物代谢能力减弱，发酵产物（如小肽、有机酸）产量降低；3）水分不足使基质颗粒表面水分张力增加，限制微生物附着和扩散，影响其生长繁殖。当总水分质量分数为50%时（S3），小肽质量分数由16.9 mg/g提升至47.9 mg/g，有机酸质量分数由0.63%提升至2.63%，NDF质量分数由75.52%降低至66.28%，ADF质量分数由19.61%降低至16.68%，发酵效果提升显著。然而，当总水分质量分数大于50%时（S4），发酵效果未再提升，表明质量分数50%的含水量已满足发酵需求。工业生产中需权衡生物效应与经济成本，水分过高易导致物料结块，影响发酵均匀性，增加杂菌污染风险及后期烘干成本[30]。因此，综合考虑发酵效果和生产成本，选择质量分数50%作为发酵总水分条件。




(a) 小肽、有机酸质量分数　　(b) NDF、ADF质量分数

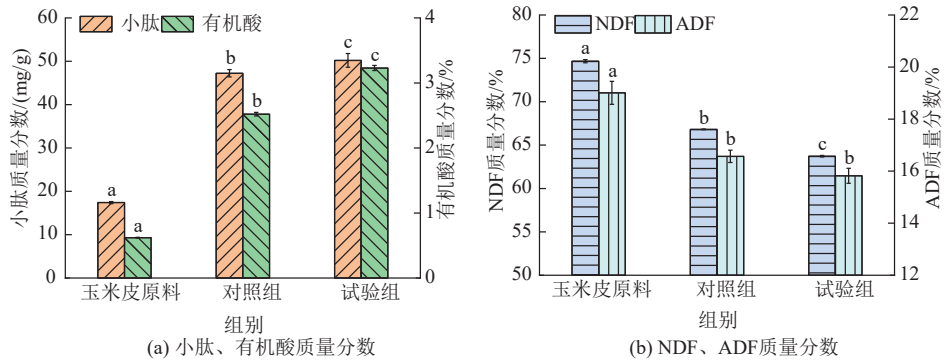
不同小写字母表示组间具有显著性差异($P$<0.05)。

图4　总水分条件优化

Fig. 4　Optimization of total moisture conditions

## 2.7　发酵玉米皮酶-碱方式优化

通过调控酶解与加碱的顺序，可在保证酶解效率的同时提高发酵效果。如图5所示，对照组小肽质量分数由17.4 mg/g提升至47.2 mg/g，有机酸质量分数由0.62%提升至2.52%，NDF质量分数由74.67%降低至66.82%，ADF质量分数由19.01%降低至16.57%；试验组小肽质量分数由17.4 mg/g提升至50.2 mg/g，有机酸质量分数由0.62%提升至3.23%，NDF质量分数由74.67%降低至63.72%，ADF质量分数由19.01%降低至15.82%。究其原因，是通过调控酶解与加碱的顺序，避免了pH波动对酶解效果的干扰，同时为后续发酵构建了中性体系，更利于ZB-1生长及有机酸合成。此外，分阶段处理对NDF和ADF的降解效果优于同步处理，表明玉米皮的初始pH更利于纤维素酶酶解。综上所述，先酶解后碱处理的发酵方式，酶解效率更高，发酵产物质量更优，是更理想的发酵方法。




(a) 小肽、有机酸质量分数 (b) NDF、ADF质量分数

不同小写字母表示组间具有显著性差异($P$<0.05)。

图 5 发酵玉米皮酶-碱方式优化

Fig. 5 Optimization of enzyme-alkali treatment for corn husk fermentation

## 3 结论

研究系统评价了3株乳酸菌(ZB-1、DY-2、DY-4)的益生特性,筛选出兼具优异肠道定植能力与广谱抑菌特性的ZB-1作为发酵菌株。针对国内乳酸菌发酵玉米皮工艺研究的空白,建立了"纤维素酶解-碱性预处理-菌酶协同发酵"的工艺体系,该工艺促使玉米皮有机酸质量分数提升至3.23%(达商品化发酵豆粕标准),小肽质量分数是原来的2.89倍,同时降低了NDF和ADF质量分数,有效改善玉米皮的适口性与消化率。新工艺具有操作简单、发酵时间短、易于规模化生产、产品营养价值高等优点,为乳酸菌固态发酵玉米皮的工业化应用提供了新方案,也为其他饼粕类饲料原料的开发利用提供了参考。然而,研究仍存在不足之处,如玉米皮蛋白质含量较低,而饲料行业对蛋白质含量依赖度较高。因此,后续研究可引入酵母等产蛋白质菌株进行协同发酵,进一步提升发酵玉米皮的品质。

## 参考文献

[1] LEE D, LEE V M Y, HUR S K. Manipulation of the diet-microbiota-brain axis in Alzheimer's disease [J]. Frontiers in Neuroscience, 2022: 16: 31.

[2] YANG T Y, FAN X N, LI D T, et al. High antioxidant capacity of *Lacticaseibacillus paracasei* TDM-2 and *Pediococcus pentosaceus* TCM-3 from Qinghai Tibetan Plateau and their function towards gut modulation [J]. Foods, 2023, 12(9): 1814.

[3] FU B, HUANG X X, MA J, et al. Characterization of an inositol-producing *Lactobacillus plantarum* strain and the assessment of its probiotic potential and antibacterial activity[J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 153: 112553.

[4] 刘思媛. 乳酸菌固态发酵枸杞皮渣工艺及其应用研究[D]. 银川:宁夏大学,2024.

[5] 李佳莲,王涛,方芳. 耐盐乳酸菌的益生特性及其在酱油发酵中的应用[J]. 食品与生物技术学报,2024,43(5):9-18.
LI J L, WANG T, FANG F. Probiotic properties of salt-tolerant lactic acid bacteria and their applications in soy sauce fermentation [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2024, 43(5): 9-18. (in Chinese)

[6] 付冠华,赵东臣,黄悦妍,等. 非常规饲料资源微生物发酵研究进展[J]. 中国饲料,2025(3):160-165.
FU G H, ZHAO D C, HUANG Y Y, et al. Research progress on microbial fermentation of unconventional feed resources [J]. China Feed, 2025(3): 160-165. (in Chinese)

[7] 龙飞跃. 发酵食品中乳酸菌的作用研究[J]. 现代食品,2022,28(24):68-70.
LONG F Y. Study the role of lactic acid bacteria in fermented food[J]. Modern Food, 2022, 28(24): 68-70. (in Chinese)

[8] 刘慧. 1.4万亿斤中国饭碗分量更足了[N]. 经济日报,2025-01-21(6).

[9] 陈雅湘. 固态发酵玉米皮工艺参数优化及其在肉鸡日粮中的应用[D]. 长沙:湖南农业大学,2020.

[10] 高俊杰,燕亚平,李永丽,等. 多菌种固态发酵玉米皮制备菌体蛋白饲料[J]. 生物学杂志,2023,40(3):91-95.
GAO J J, YAN Y P, LI Y L, et al. Cell protein feed was prepared by multi-strain solid state fermentation of corn husk [J]. Journal of Biology, 2023, 40(3): 91-95. (in Chinese)

[11] 侯亚丽,刘好静,萧犹睿,等. 不同料水比对混菌发酵玉米皮品质的影响[J]. 饲料研究,2024,47(15):108-111.
HOU Y L, LIU H J, XIAO Y R, et al. Effect of different material to water ratios on quality of mixed-culture fermentation of corn husk[J]. Feed Research, 2024, 47(15): 108-111. (in Chinese)

[12] 吕伟民,李娜,刘文丽,等. 传统酸菜发酵乳酸菌多样性及其功能特性研究进展[J]. 食品安全质量检测学报,2024,15(15):39-46.
LV W M, LI N, LIU W L, et al. Research progress on diversity and functional characteristics of traditional pickled Chinese cabbage fermented lactic acid bacteria [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(15): 39-

46.(in Chinese)
[13] 刘颖颖，卢艳波，杨小雁，等. 植物乳杆菌DY6的生理特性及代谢机制分析[J]. 食品与发酵工业，2022，48(18)：11-19.
LIU Y Y，LU Y B，YANG X Y，et al. Physiological characteristics of *Lactobacillus plantarum* DY6 and its metabolic mechanisms analysis[J]. Food and Fermentation Industries，2022，48(18)：11-19.(in Chinese)
[14] 杨薇. 满族酸茶源乳酸菌的益生特性评价[D]. 哈尔滨：黑龙江大学，2023.
[15] 刘佳，卜子晨，费苏，等. 高黏附罗伊氏乳杆菌的筛选及其益生特性评价[J]. 工业微生物，2021，51(3)：36-41.
LIU J，BU Z C，FEI S，et al. Screening of highly adherent *Lactobacillus reuteri* and evaluation of its probiotic properties[J]. Industrial Microbiology，2021，51(3)：36-41.(in Chinese)
[16] 刘伊湄，周佳莹，韩言言，等. 干酪乳杆菌YG-01株的益生特性及抑菌活性研究[J]. 中国畜牧兽医，2024，51(2)：829-836.
LIU Y M，ZHOU J Y，HAN Y Y，et al. Probiotic characteristics and antibacterial activity of *Lactobacillus casei* strain YG-01[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine，2024，51(2)：829-836.(in Chinese)
[17] 崔爽，仪垂江，孔凡军，等. 传统发酵乳制品中分离乳酸菌的益生菌特性研究[J]. 乳品与人类，2024(1)：16-22.
CUI S，YI C J，KONG F J，et al. Study on probiotic characteristics of lactic acid bacteria isolated from traditional fermented dairy products[J]. Dairy and Humankind，2024(1)：16-22.(in Chinese)
[18] 陆春波，毛银，李国辉，等. 植物乳杆菌DY6主要抑菌代谢物的分析和鉴定[J]. 微生物学通报，2019，46(9)：2258-2271.
LU C B，MAO Y，LI G H，et al. Analysis and identification of main antibacterial metabolites secreted by *Lactobacillus plantarum* DY6[J]. Microbiology China，2019，46(9)：2258-2271.(in Chinese)
[19] ZHAO M，HUANG D X，ZHANG X J，et al. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for producing adipic acid through the reverse adipate-degradation pathway[J]. Metabolic Engineering，2018，47：254-262.
[20] 毛银，陆春波，李国辉，等. 菌酶协同发酵豆粕工艺的优化[J]. 食品与发酵工业，2019，45(14)：108-114.
MAO Y，LU C B，LI G H，et al. Optimized fermentation process of soybean meal by bacteria with enzymes[J]. Food and Fermentation Industries，2019，45(14)：108-114.(in Chinese)
[21] 李博，张丹丹，程景，等. 不同方法测定饲料中的中性洗涤纤维与酸性洗涤纤维含量分析[J]. 中国畜牧杂志，2020，56(12)：187-190.
LI B，ZHANG D D，CHENG J，et al. Determination of neutral detergent fiber and acidic detergent fiber in feed by different methods[J]. Chinese Journal of Animal Science，2020，56(12)：187-190.(in Chinese)
[22] 谢琼. 植物乳杆菌ZDY2013表层蛋白及其益生特性的初步探究[D]. 南昌：南昌大学，2017.
[23] WANG X，WANG W D，LV H X，et al. Probiotic potential and wide-spectrum antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from infant feces[J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins，2021，13(1)：90-101.
[24] 吴雨晗，吴婷，涂健，等. 一株安庆六白猪源乳酸菌的分离鉴定及生物特性研究[J]. 动物营养学报，2022，34(8)：5415-5425.
WU Y H，WU T，TU J，et al. Isolation，identification and biological characteristics of a lactic acid bacteria from Anqing Liubai pigs[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition，2022，34(8)：5415-5425.(in Chinese)
[25] 张宇，赵家源，郑佳鹏，等. 一株高产胞外多糖降血糖副干酪乳杆菌JY062(TD062)的黏附性与耐受性评价[J]. 中国乳品工业，2022，50(4)：4-8，13.
ZHANG Y，ZHAO J Y，ZHENG J P，et al. Evaluation of adhesion and tolerance of a high-yield exopolysaccharide *Lactobacillus paracasei* JY062 (TD062) with hypoglycemic function[J]. China Dairy Industry，2022，50(4)：4-8，13.(in Chinese)
[26] 余萍，曹蓝，矫艳平，等. 副干酪乳杆菌HCS17-040的筛选鉴定及其益生特性[J]. 食品与机械，2021，37(11)：28-33，129.
YU P，CAO L，JIAO Y P，et al. Screening of *Lactobacillus paracasei* HCS17-040 with triglyceride tunction and study on its probiotic characteristics[J]. Food and Machinery，2021，37(11)：28-33，129.(in Chinese)
[27] 田原，季子非，郭浩南，等. 副干酪乳杆菌L1的安全性及益生性评价[J]. 食品工业科技，2019，40(12)：120-127.
TIAN Y，JI Z F，GUO H N，et al. Safety and probiotic evaluation of *Lactobacillus paracasei* L1[J]. Science and Technology of Food Industry，2019，40(12)：120-127.(in Chinese)
[28] 王馨影. 湿玉米纤维饲料发酵条件的优化及营养价值的评定[D]. 哈尔滨：东北农业大学，2018.
[29] 柴艳，张荟荟，朱昊，等. 青贮饲料添加剂的研究进展[J]. 饲料研究，2025，48(1)：223-227.
CHAI Y，ZHANG H H，ZHU H，et al. Research progress of silage additives[J]. Feed Research，2025，48(1)：223-227.(in Chinese)
[30] 梁家前，张琦敏，廖荣平，等. 澳洲坚果果皮开发新型有机肥料生产技术[J]. 农业技术与装备，2024(12)：38-39，42.
LIANG J Q，ZHANG Q M，LIAO R P，et al. Development of pericarp development new organic fertilizer production technology of *Macadamia integrifolia*[J]. Agricultural Technology & Equipment，2024(12)：38-39，42.(in Chinese)

（责任编辑：李春丽）