

植物乳植杆菌 HCS03-001 冻干粉制备工艺优化及抗幽门螺杆菌的功效

汪海涛^{1,2}, 宋佳^{1,2}, 余萍^{1,2*}, 陈雪娇^{1,2}

1.江西仁仁健康微生态科技有限公司, 江西 樟树 331200;

2.仁仁微生物科技研究(沈阳)有限公司, 沈阳 110170

摘要: 为优化植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)HCS03-001 的冻干粉制备工艺,探究其抗幽门螺杆菌的功能效果,通过单因素试验、主因素分析和响应面试验优化植物乳植杆菌 HCS03-001 冻干粉的制备工艺,采用体外抑菌试验验证该益生菌的抗幽门螺杆菌功效。结果发现,优化后制备冻干粉的最佳工艺条件为:发酵温度 37 °C,发酵时间 16 h,接种量 5.2%,冻干时间 44 h,在此条件下活菌数达到 5.85×10^{11} CFU·g⁻¹。体外抑菌试验结果表明植物乳植杆菌 HCS03-001 的发酵上清液和菌悬液均能有效抑制幽门螺杆菌的生长,抑制率达到 69.55%~78.78%。研究结果表明植物乳植杆菌 HCS03-001 具备抗幽门螺杆菌的功能。

关键词: 植物乳植杆菌;冻干粉;响应面;幽门螺杆菌

DOI:10.19586/j.2095-2341.2023.0125

中图分类号:Q815, TS201.3

文献标志码:A

Optimization of Preparation Technology of *Lactiplantibacillus plantarum* HCS03-001 Freeze-dried Powder and its Anti-*Helicobacter pylori* Function

WANG Haitao^{1,2}, SONG Jia^{1,2}, YU Ping^{1,2*}, CHEN Xuejiao^{1,2}

1.Jiangxi Renren Health Microecological Technology Co., Ltd., Jiangxi Zhangshu 331200, China;

2.Renren Microbial Technology Research (Shenyang) Co., Ltd., Shenyang 110170, China

Abstract: The aim of the study is to optimize the preparation technology of freeze-dried powder of *Lactiplantibacillus plantarum* HCS03-001 and explore its functional effect of anti-*Helicobacter pylori*. In this study, the preparation technology of freeze-dried powder of *Lactiplantibacillus plantarum* HCS03-001 was optimized by single factor test, principal factor analysis and response surface test, and then the anti-*Helicobacter pylori* effect of the probiotics was verified by bacteriostatic test *in vitro*. The results showed that the optimum conditions for preparing freeze-dried powder were fermentation temperature 37 °C, fermentation time 16 h, inoculum 5.2% and freeze-drying time 44 h. Under these conditions, the number of live bacteria was 5.85×10^{11} CFU·g⁻¹. These results of bacteriostatic test *in vitro* showed that the fermentation supernatant and bacterial suspension of *Lactiplantibacillus plantarum* HCS03-001 could effectively inhibit the growth of *Helicobacter pylori*, and the inhibition rate was 69.55%~78.78%, which showed that *Lactiplantibacillus plantarum* HCS03-001 have the function of anti-*Helicobacter pylori*.

Key words: *Lactiplantibacillus plantarum*; freeze-dried powder; response surface; *Helicobacter pylori*

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)是一种微需氧微生物,栖息在人胃中,引起长期胃部炎症,导致胃炎,诱发胃癌^[1-4]。幽门螺杆菌感染是人类最常见的慢性细菌性疾病之一,影响着全球约 44 亿人的

身体健康,其中发展中国家受影响最深^[5],2012—2022 年我国幽门螺杆菌的感染率达 42.26%^[6]。因此,如何更有效地拮抗幽门螺杆菌受到广泛关注。目前,对于幽门螺杆菌的治疗主要采用的方法是

收稿日期:2023-10-17; 接受日期:2024-02-04

联系方式:汪海涛 E-mail: 724312941@qq.com; *通信作者 余萍 E-mail: yuping18809871495@163.com

大剂量、多种抗生素同时服用,如由奥美拉唑、阿莫西林和克拉霉素组成的三联疗法,但是此种方法有多种弊端,如在杀灭幽门螺杆菌的同时也会造成体内有益菌的损伤,增加了幽门螺杆菌的耐药性风险,进而降低抗生素的治疗效果,增加了患者的治疗难度和成本等^[7]。

益生菌补充疗法是治疗幽门螺杆菌感染的一种新兴疗法^[8]。一方面,益生菌可以竞争性抑制幽门螺杆菌,同时改善肠道微生物组成^[9];另一方面,当益生菌进入人体后,会产生乳酸、过氧化氢和细菌素等抗菌物质,从而抑制幽门螺杆菌的脲酶活性^[10]。此外,益生菌产生的活性氧还会损坏细菌细胞壁及其细胞膜^[11]。目前研究表明,乳杆菌、双歧杆菌、酵母菌等可有效控制与幽门螺杆菌相关的胃肠道症状^[12]。植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)是乳杆菌的一种,具有多种生理功能,且安全性高。本研究组前期从健康婴儿肠道获得了1株植物乳植杆菌 HCS03-001,具有抑制肠道致病菌和口腔致病菌、通便等功效^[13-16]。为了进一步研究植物乳植杆菌 HCS03-001 在抗幽门螺杆菌中的功能效果,本试验通过单因素试验、主因素分析和响应面优化的方法优化植物乳植杆菌 HCS03-001 冻干粉制备工艺,然后通过体外抑菌试验验证该益生菌对幽门螺杆菌的抑菌效果,以期开发出用以干预和治疗幽门螺杆菌感染的益生菌。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

植物乳植杆菌 HCS03-001 保存于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏编号为 CGMCC NO.16258。

植物乳植杆菌 HCS03-001 培养基:酵母蛋白胨 18.0 g·L⁻¹、葡萄糖 32.0 g·L⁻¹、酵母浸出物 12.0 g·L⁻¹、乙酸钠 10.0 g·L⁻¹、硫酸镁 0.1 g·L⁻¹、吐温 80 0.5 g·L⁻¹、磷酸二氢钾 3.0 g·L⁻¹、余量为无菌水, pH 6.2, 115 °C 下灭菌 30 min。

冻干保护剂:脱脂乳粉 75.0 g·L⁻¹、麦芽糊精 25.0 g·L⁻¹、海藻糖 150.0 g·L⁻¹、吐温 80 0.6 g·L⁻¹、甘油 10.0 g·L⁻¹、谷氨酸钠 1.2 g·L⁻¹、抗坏血酸钠 1.2 g·L⁻¹, 余量为无菌水,于 115 °C 灭菌 30 min,待温度降至室温后,冷藏于-4 °C 冰箱内备用。

改良 MRS 培养基:蛋白胨 10.0 g·L⁻¹、牛肉粉

3.0 g·L⁻¹、酵母粉 4.0 g·L⁻¹、磷酸氢二钾 2.0 g·L⁻¹、柠檬酸 2.0 g·L⁻¹、乙酸钠 5.0 g·L⁻¹、葡萄糖 20.0 g·L⁻¹、七水合硫酸镁 0.58 g·L⁻¹、四水合硫酸锰 0.25 g·L⁻¹、吐温-80 0.60 g·L⁻¹,调 pH 至 6.5, 115 °C 下灭菌 30 min。

1.2 植物乳植杆菌 HCS03-001 冻干粉制备工艺优化

1.2.1 植物乳植杆菌 HCS03-001 冻干粉制备工艺 冻存菌种经过常温复苏、活化、发酵培养后离心收集菌泥,向菌泥中添加一定量的冻干保护剂并混合均匀,随后将混合物分装到冻干机托盘中,在真空度 0~1.0 Pa,温度-25 °C 的条件下冷冻干燥,最后收集冻干粉并进行粉碎和分装。

1.2.2 单因素试验 以活菌数为考察指标,按照冻干粉的生产工艺进行单因素试验,其中发酵温度分别设置为 35、36、37、38、39 °C;发酵时间分别设置为 8、12、16、20、24 h;初始 pH 分别设置为 6.0、6.3、6.6、6.9、7.2;接种量分别设置为 1%、3%、5%、7%、9%;冻干保护剂添加比例分别设置为菌泥(kg):冻干保护剂(L)=1:1、1:2、1:3、1:4、1:5;冻干时间分别设置为 40、42、44、46、48 h,试验结束后采用平板稀释法测定冻干粉的活菌数。

1.2.3 主因素筛选试验 参考周宇朦^[17]的试验方法,利用 Plackett-Burman(PB)试验设计,对上述生产工艺中的影响因素进行筛选。选择发酵温度(°C)、发酵时间(h)、初始 pH、接种量(%),冻干保护剂添加比例、冻干时间(h)共 6 个因素为对象,用 Minitab 17 软件设计试验,筛选出对活菌数影响比较显著的 4 个因素,试验设计如表 1 所示。

表 1 PB 试验因素及水平设计

Table 1 Factors and level design of Plackett-Burman test

因素	水平	
	-1	1
发酵温度/°C	35	36
发酵时间/h	8	12
初始 pH	6.0	6.3
接种量/%	1	3
冻干保护剂添加比例	1:1	1:2
冻干时间/h	40	42

1.2.4 响应面试验 参考张立华等^[18]的试验方法,运用 Design-Expert 软件进行 4 因素 3 水平响应面试验,以冻干粉的活菌数为响应值,对发酵温度(°C)、发酵时间(h)、接种量(%),冻干时间(h)4 个工艺参数进行优化,确定最优冻干粉制备工艺,试

验设计见表2。

表2 Box-Behnken设计因素水平编码表

Table 2 Horizontal coding table of Box-Behnken design factors

因素	水平		
	-1	0	1
发酵温度/℃	36	37	38
发酵时间/h	12	16	24
接种量/%	3	5	7
冻干时间/h	42	44	46

1.3 植物乳植杆菌 HCS03-001 体外抗幽门螺杆菌试验

1.3.1 植物乳植杆菌 HCS03-001 发酵上清液与菌悬液的制备 将植物乳植杆菌 HCS03-001 按优化后的条件发酵,发酵液于 $8\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 离心 15 min ,分别收集上清液和菌体沉淀。上清液采用 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤2次除菌,菌体沉淀用无菌 PBS 洗涤2次并重悬,使菌体活菌数达到 $1\times 10^8\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

1.3.2 幽门螺杆菌的制备 取 $100\text{ }\mu\text{L}$ 幽门螺杆菌菌液涂布于哥伦比亚血琼脂培养基中,微需氧环境中 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h ,挑取纯化后的单菌落接入幽门螺杆菌液体培养基中培养。

1.3.3 对幽门螺杆菌抑菌率的测定 采用琼脂扩散法,分别测量植物乳植杆菌 HCS03-001 发酵上

清液、植物乳植杆菌 HCS03-001 菌悬液对幽门螺杆菌的抑菌活性,以浓度为 $0.05\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的甲硝唑溶液为阳性对照,MRS 改良液体培养基作为空白对照。取 $100\text{ }\mu\text{L}$ 幽门螺杆菌的菌悬液均匀涂布于含抗生素的哥伦比亚血琼脂平板上,每孔加入待测液体 $100\text{ }\mu\text{L}$ 。将接好发酵液的平板置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$,微需氧环境下培养 48 h ,培养结束后,用游标卡尺测量抑菌圈直径。按公式(1)计算幽门螺杆菌抑菌率。

$$\text{幽门螺杆菌抑制率}(\%)=(R_x/R_y)\times 100\% \quad (1)$$

其中, R_x 表示待测液体对幽门螺杆菌的抑菌圈直径(mm); R_y 表示阳性对照对幽门螺杆菌的抑菌圈直径(mm)。

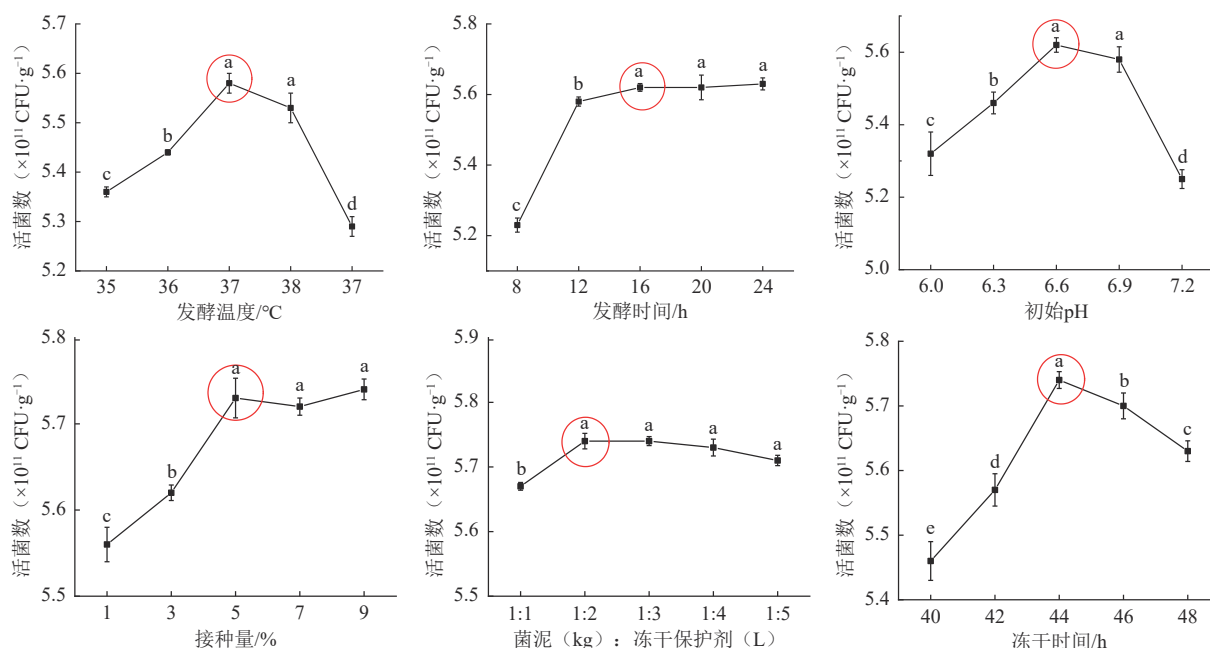
1.4 数据分析

采用 SPSS17.0 统计学软件进行数据处理和分析,每个试验重复3次平行测定,采用单因素方差分析(one-way ANOVA),利用 Duncan's 法进行多重比较,结果以平均值 $\pm$ 标准差表示, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 不同因素对冻干粉活菌数的影响

冻干粉制备工艺的单因素结果如图1所示,



注:不同字母表示处理间差异在 $P<0.05$ 水平上具有统计学意义,圆圈中为最优处理。

图1 不同因素对冻干粉活菌数的影响

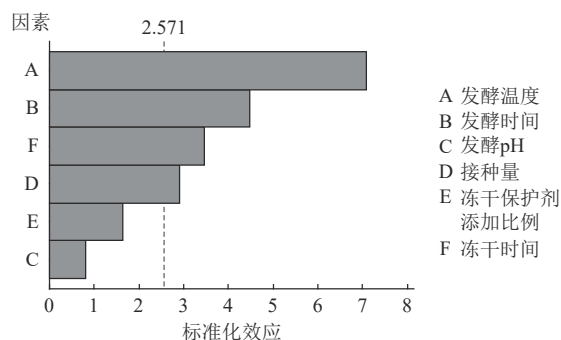
Fig. 1 The influence of different factors on the number of live bacteria in freeze-dried powder

活菌数随发酵温度、初始 pH 和冻干时间的增加而增加,到达峰值后又开始降低;而随发酵时间、接种量以及冻干保护剂的增加而增加,但到峰值后便无显著变化。结果表明乳酸菌发酵过程中的温度、时间、初始 pH、接种量,冻干过程中的菌泥与冻干保护剂的比例、冻干时间均对冻干粉活菌数有着显著的影响($P<0.05$)。

2.2 影响冻干粉活菌数的主因素分析

影响冻干粉活菌数的因素过多,为了筛选出对活菌数影响最大的因素,我们进行了 PB 试验。通过 Minitab 设计的实验方案进行实验,获得结果如表 3 所示,根据该结果绘制标准化效应的 Pareto 图(图 2),结果发现在显著性水平 α 为 0.05 时,统计显著性的参考线为 2.571,跨参考线的

因素包括发酵温度($^{\circ}\text{C}$)、发酵时间(h)、接种量(%) 和冻干时间(h)4 项,即为影响产品活菌数的主因素。



注:响应为“活菌数”, $\alpha = 0.05$ 。

图2 标准化效应的 Pareto 图

Fig. 2 Pareto diagram of standardization effect

表3 Plackett-Burman 试验设计与结果

Table 3 Design and results of Plackett-Burman experiment

实验编号	发酵温度/ $^{\circ}\text{C}$	发酵时间/h	初始 pH	接种量/%	冻干保护剂	冻干时间/h	活菌数/ $(\times 10^{11} \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1})$
1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	5.46
2	-1	1	-1	-1	-1	1	5.31
3	1	-1	1	1	-1	1	5.18
4	1	1	1	-1	1	1	5.11
5	1	1	-1	1	1	-1	5.06
6	-1	-1	-1	1	1	1	4.87
7	1	1	-1	1	-1	-1	5.25
8	1	-1	1	-1	-1	-1	5.29
9	-1	-1	1	1	1	-1	5.33
10	-1	1	1	-1	1	-1	5.02
11	1	-1	-1	-1	1	1	5.33
12	-1	1	1	1	-1	1	5.26

2.3 响应面试验结果

2.3.1 植物乳植杆菌 HCS03-001 冻干粉的响应面设计结果 根据 PB 因素筛选试验结果,选择发酵温度($^{\circ}\text{C}$)、发酵时间(h)、接种量(%)、冻干时间(h)4 个因素,以活菌数作为响应值,应用 Box-Behnken 设计方案进行 4 因素 3 水平响应面设计,试验设计及结果见表 4。应用 Design-Expert V 8.0.6 软件对表 4 的试验结果进行多元回归拟合,从而得到回归方程 $Y=5.822+0.160A+0.111B+0.026C+0.097D-0.032AB+0.018AC-0.005AD+0.005BD-0.53A^2-0.195B^2-0.070C^2-0.89D^2$ 。

2.3.2 植物乳植杆菌 HCS03-001 冻干粉响应面试验结果分析 对模型方程进行显著性分析结果见

表 5。由表 5 可知,影响植物乳植杆菌 HCS03-001 冻干粉活菌数的顺序为:发酵温度>发酵时间>冻干时间>接种量。回归方程模型 $P<0.0001$,失拟项 $P=0.7296$ 不显著,证明该方程模型具有极显著意义,且未知因素对实验干扰性小。模型相关系数 R^2 为 0.9993,接近于 1,表明模型数据的拟合程度较高,能够较好地描述各因素与响应值活菌数之间的真实关系,模型的校正决定系数 R_{adj}^2 为 0.9985,表明该模型能够解释 99.85% 的响应值活菌数变化。

2.3.3 响应面两两因素交互作用 图 3 为各响应面图,图中清楚地显示了活菌数在一定范围内随

表4 响应面试验结果

Table 4 Response surface test results

序号	A:发酵温度/°C	B:发酵时间/h	C:接种量/%	D:冻干时间/h	活菌数/($\times 10^{11}$ CFU $\cdot$ g $^{-1}$)
1	0	1	1	0	5.68
2	0	0	0	0	5.79
3	0	-1	1	0	5.48
4	0	-1	-1	0	5.44
5	0	0	0	0	5.81
6	0	0	-1	-1	4.74
7	0	0	-1	1	4.94
8	-1	1	0	0	5.09
9	0	-1	0	-1	4.52
10	1	-1	0	0	5.17
11	0	0	1	1	4.98
12	0	0	0	0	5.83
13	0	1	0	-1	4.75
14	1	0	0	-1	4.49
15	0	0	1	-1	4.78
16	0	1	-1	0	5.64
17	1	0	1	0	5.45
18	-1	0	1	0	5.08
19	1	1	0	0	5.33
20	1	0	-1	0	5.34
21	-1	0	0	1	4.34
22	0	0	0	0	5.84
23	0	-1	0	1	4.72
24	0	0	0	0	5.84
25	0	1	0	1	4.97
26	1	0	0	1	4.65
27	-1	0	0	-1	4.16
28	-1	-1	0	0	4.80
29	-1	0	-1	0	5.04

着发酵温度、发酵时间、接种量和冻干时间的升高而呈非线性地增加趋势,达到峰值后随着其增高而降低。其中发酵温度与发酵时间存在显著的交互作用($P<0.05$),发酵温度与接种量、发酵温度与冻干时间、发酵时间与冻干时间之间互相影响但不显著($P>0.05$),而其他因素之间没有互作关系($P=1$),这表明发酵温度是整个体系中影响最深的因素,与其他所有因素均存在互作关系。此外,发酵阶段与后续冻干阶段彼此之间也有互作关系,应放到一个体系中进行研究。根据 Design Expert

软件分析预测,最优工艺条件为发酵温度 37.15 °C,发酵时间 16.27 h,接种量 5.20%,冻干时间 44.05 h,预测冻干粉活菌数为 5.854×10^{11} CFU $\cdot$ g $^{-1}$ 。

2.3.4 模型验证试验 验证试验选取发酵温度为 37°C,发酵时间为 16 h,接种量为 5.2%,冻干时间为 44 h,在此条件下进行 3 次平行试验,其活菌数分别为 5.846×10^{11} CFU $\cdot$ g $^{-1}$ 、 5.852×10^{11} CFU $\cdot$ g $^{-1}$ 、 5.855×10^{11} CFU $\cdot$ g $^{-1}$,均值为 5.851×10^{11} CFU $\cdot$ g $^{-1}$,与预测值 (5.854×10^{11} CFU $\cdot$ g $^{-1}$) 接近,表明该模型可靠。

表5 回归模型方差分析

Table 5 Analysis of variance of regression model

项目	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	6.73	14	0.48	1 344.61	<0.000 1
A-发酵温度	0.31	1	0.31	859.3	<0.000 1
B-发酵时间	0.15	1	0.15	412.33	<0.000 1
C-接种量	8.01×10^{-3}	1	8.01×10^{-4}	22.4	0.000 3
D-冻干时间	0.11	1	0.11	313.66	<0.000 1
AB	4.23×10^{-3}	1	4.23×10^{-4}	11.82	0.004
AC	1.23×10^{-3}	1	1.23×10^{-4}	3.43	0.085 4
AD	1.00×10^{-4}	1	1.00×10^{-4}	0.28	0.605 2
BC	0	1	0	0	1
BD	1.00×10^{-4}	1	1.00×10^{-4}	0.28	0.605 2
CD	0	1	0	0	1
A ²	1.79	1	1.79	5 020.01	<0.000 1
B ²	0.25	1	0.25	688.16	<0.000 1
C ²	0.032	1	0.032	88.27	<0.000 1
D ²	5.12	1	5.12	14 323.47	<0.000 1
残差	5.01×10^{-3}	14	3.58×10^{-4}	—	—
失拟项	3.13×10^{-3}	10	3.13×10^{-4}	0.66	0.726 9
纯误差	1.88×10^{-3}	4	4.70×10^{-4}	—	—
总离差	6.73	28	—	—	—

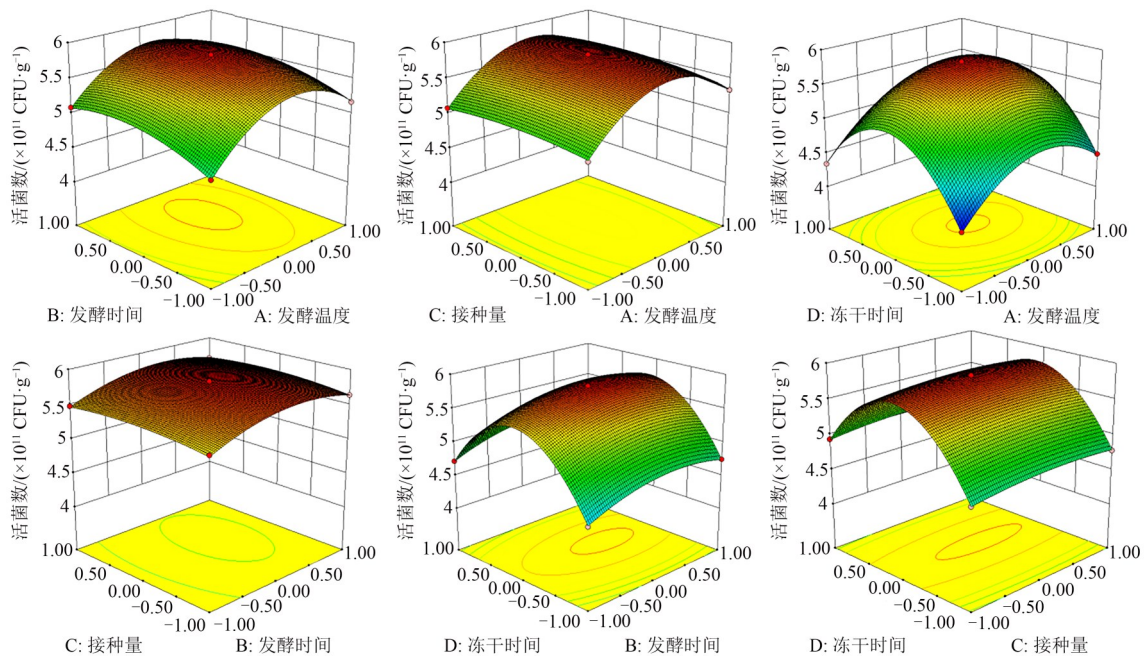


图3 不同因素的交互作用

Fig. 3 Interaction of different factors

2.4 植物乳植杆菌 HCS03-001 对幽门螺杆菌的抑菌作用

由表 6 和图 4 可知,空白对照组无抑菌圈,阳性对照组抑菌圈直径最大,表明利用本实验方法

验证样品抗幽门螺杆菌功能是可行的。阳性对照组抑菌圈直径约为 20.92 mm,幽门螺杆菌抑菌率经计算为 100%;植物乳植杆菌 HCS03-001 发酵后菌悬液的抑菌圈直径约为 16.84 mm,经计算其幽

表6 植物乳植杆菌HCS03-001发酵上清液和菌悬液的抑菌率

组别	OD ₆₀₀	抑菌圈直径/mm	幽门螺杆菌抑制率/%
空白对照	—	0	0
阳性对照	—	20.92±1.02**	100.00**
菌悬液	1.911	16.48±2.14**	78.78**
发酵上清液	0.253	14.55±0.84**	69.55**

注:**表示与空白对照组相比差异在P<0.01水平上具有统计学意义。



图4 植物乳植杆菌HCS03-001发酵上清液和菌悬液的抑菌效果

Fig. 4 Bacteriostatic effect of fermentation supernatant and bacterial suspension of *Lactiplantibacillus plantarum* HCS03-001

门螺杆菌抑制率为78.78%;植物乳植杆菌HCS03-001发酵上清液的抑菌圈直径约为14.55 mm,经计算其幽门螺杆菌抑制率为69.55%,均显著高于空白对照组($P<0.01$)。

3 讨论

植物乳植杆菌HCS03-001冻干粉的品质与发酵过程中的发酵温度、时间、初始pH、接种量,以及冻干过程中的冻干保护剂添加比例、冻干时间密切相关。菌株在最适的温度和pH环境下发酵可得到最高的活菌数,条件偏低或者偏高都会影响菌株的活力从而影响产物的活菌数。接种量可以影响菌株启动发酵的速度,发酵时间则取决于培养基中的养分含量。通过单因素试验可知植物乳植杆菌HCS03-001的最佳发酵条件为接种量5%、发酵温度37℃、初始pH 6.6的条件下发酵

16 h。冻干过程对产品最终的活菌数有着较大的影响,因此我们选择添加冻干保护剂,经单因素试验表明最佳冻干条件为菌泥(kg):冻干保护剂(L)=1:2,冻干时间为44 h。为了筛选出对活菌数影响最大的因素,我们进行了PB试验,分析出发酵温度、发酵时间、接种量、冻干时间这4个因素为影响产品活菌数的主因素,并以此进行响应面试验来优化工艺条件,得出最优工艺条件为发酵温度为37℃,发酵时间为16 h,接种量为5.2%,冻干时间为44 h,在此条件下活菌数为 5.851×10^{11} CFU·g⁻¹。

本研究通过体外功能试验发现植物乳植杆菌HCS03-001的发酵上清液和菌悬液均具备明显抗幽门螺杆菌效果,且菌悬液效果更优。与本研究的结果类似,管爱星等^[19]在对不同益生菌的体外抗幽门螺杆菌试验中发现,枯草芽孢杆菌、弯曲乳酸杆菌、嗜酸乳杆菌、粪肠球菌均具有抑制幽门螺杆菌的功能,其中枯草芽孢杆菌的抑制效果最好。而当枯草芽孢杆菌与嗜酸乳杆菌联合使用后发现对幽门螺杆菌抗菌效果更佳。张美怡等^[20]研究发现鼠李糖乳杆菌JS-SZ-2-1具有较强的抗幽门螺杆菌功能,其抑菌圈达到了12.92 mm,效果与阳性菌株LGG抑菌效果相似,同时鼠李糖乳杆菌JS-SZ-2-1还具有抑制幽门螺杆菌粘附能力的功能,其黏附率可下降30%。因此,猜测植物乳植杆菌HCS03-001的这种抗幽门螺杆菌功能可能与其生长代谢产物的组成,以及抑制幽门螺杆菌粘附作用的能力有关,然而具体起作用的成分及作用机理还需要进一步验证。

综上所述,植物乳植杆菌HCS03-001冻干粉最优工艺条件为发酵温度37℃,发酵时间16 h,接种量5.2%,冻干时间44 h,在此条件下活菌数为 5.851×10^{11} CFU·g⁻¹。植物乳植杆菌HCS03-001的发酵上清液和菌悬液能抑制69.55%~78.78%的幽门螺杆菌的生长。结果提示植物乳植杆菌HCS03-

001 具备抗幽门螺杆菌功能。

参 考 文 献

- [1] SAVOLDI A, CARRARA E, GRAHAM D Y, *et al.* Prevalence of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*: a systematic review and meta-analysis in World Health Organization regions[J]. *Gastroenterology*, 2018, 155(5): 1372-1382.
- [2] LOSURDO G, CUBISINO R, BARONE M, *et al.* Probiotic monotherapy and *Helicobacter pylori* eradication: a systematic review with pooled-data analysis[J]. *World J. Gastroenterol.*, 2018, 24(1): 139-149.
- [3] 刘昆梅,刘宏鹏,郭乐. 幽门螺杆菌 ATCC 43504 感染 BALB/c 小鼠动物胃炎模型的建立及分析[J]. *生物技术进展*, 2015, 5(6):446-450.
LIU K M, LIU H P, GUO L. Establishment and analysis of gastritis model of *Helicobacter pylori* ATCC 43504 infection in BALB/c mice[J]. *Curr. Biotechnol.*, 2015, 5(6): 446-450.
- [4] 陈霞,夏晨梅,戴再友,等. 十二指肠溃疡中幽门螺杆菌定植与菌群结构的关系[J]. *生物技术进展*, 2019, 9(5):536-542.
CHEN X, XIA C M, DAI Z Y, *et al.* The relationship between *Helicobacter pylori* colonization and duodenal flora structure in duodenal ulcer[J]. *Curr. Biotechnol.*, 2019, 9(5): 536-542.
- [5] MESTRE A, SATHIYA N R, RIVAS D, *et al.* Role of probiotics in the management of *Helicobacter pylori*[J/OL]. *Cureus*, 2022, 14(6): e26463 [2023-09-21]. <https://doi.org/10.7759/cureus.26463>.
- [6] 朱红梅,刘颖初,薛元,等. 2012-2022 年中国幽门螺杆菌流行病学 Meta 分析[J]. *预防医学情报杂志*, 2023, 39(9):1124-1137.
ZHU H M, LIU Y C, XUE Y, *et al.* Meta-analysis of epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in China from 2012 to 2022[J]. *J. Prev. Med. Inf.*, 2023, 39(9): 1124-1137.
- [7] PENUMETCHA S S, AHLUWALIA S, IRFAN R, *et al.* The efficacy of probiotics in the management of *Helicobacter pylori*: a systematic review[J/OL]. *Cureus*, 2021, 13(12): e20483 [2023-09-22]. <https://doi.org/10.7759/cureus.20483>.
- [8] CHEY W D, LEONTIADIS G I, HOWDEN C W, *et al.* ACG clinical guideline: treatment of *Helicobacter pylori* infection[J]. *Am. J. Gastroenterol.*, 2017, 112(2): 212-239.
- [9] JI J, YANG H. Using probiotics as supplementation for *Helicobacter pylori* antibiotic therapy[J/OL]. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, 21(3): 1136[2023-09-21]. <https://doi.org/10.3390/ijms21031136>.
- [10] QURESHI N, LI P, GU Q. Probiotic therapy in *Helicobacter pylori* infection: a potential strategy against a serious pathogen?[J]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2019, 103(4): 1573-1588.
- [11] BATDORJ B, TRINETTA V, DALGALARRONDO M, *et al.* Isolation, taxonomic identification and hydrogen peroxide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* T31, isolated from Mongolian yogurt: inhibitory activity on food-borne pathogens food-borne pathogens[J]. *J. Appl. Microbiol.*, 2007, 103(3): 584-593.
- [12] BAI X, ZHU M, HE Y, *et al.* The impacts of probiotics in eradication therapy of *Helicobacter pylori*[J/OL]. *Arch. Microbiol.*, 2022, 204(12): 692[2023-09-22]. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03314-w>.
- [13] 汪海涛,汤纯,闵祥博,等. 植物乳杆菌 HCS03-001 对龋病防治作用研究[J]. *中国乳品工业*, 2023, 51(8):20-24.
WANG H T, TANG C, MIN X B, *et al.* Prevention and treatment effect on dental caries of *Lactobacillus plantarum* HCS03-001[J]. *China Dairy Ind.*, 2023, 51(8): 20-24.
- [14] 宋佳,余萍,矫艳平,等. 具有缓解口臭效果的植物乳杆菌 HCS03-001 对食品防腐剂的耐受性研究[J]. *中国食品添加剂*, 2022, 33(11):113-117.
SONG J, YU P, JIAO Y P, *et al.* Tolerance to food preservatives of *Lactobacillus plantarum* HCS03-001 with halitosis relieving effect[J]. *China Food Addit.*, 2022, 33(11): 113-117.
- [15] 陈雪,矫艳平,余萍,等. 植物乳杆菌 HCS03-001 对小鼠功能性便秘及肠道菌群的影响[J]. *中国酿造*, 2022, 41(1):55-58.
CHEN X, JIAO Y P, YU P, *et al.* Effect of *Lactobacillus plantarum* HCS03-001 on functional constipation and intestinal flora in mice[J]. *China Brew.*, 2022, 41(1): 55-58.
- [16] 矫艳平,余萍,赵迪,等. 植物乳杆菌 HCS03-001 安全性评价及其益生特性分析[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(5):165-171.
JIAO Y P, YU P, ZHAO D, *et al.* Safety evaluation and probiotic characteristics analysis of *Lactobacillus plantarum* HCS03-001[J]. *Sci. Technol. Food Ind.*, 2022, 43(5): 165-171.
- [17] 周宇曦. 维生素 K2 菌株的选育及高效发酵技术的研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学, 2020.
- [18] 张立华,王一樊,张旭阳,等. 响应面分析法优化酶法提取红景天苷的工艺研究[J]. *生物技术进展*, 2023, 3(3):441-448.
ZHANG L H, WANG Y F, ZHANG X Y, *et al.* Optimization of enzymatic extraction process of salidroside by response surface analysis[J]. *Curr. Biotechnol.* 2023, 13(3): 441-448.
- [19] 管爱星,黄玉存,黄干荣,等. 益生菌的不同组合体外抗幽门螺杆菌作用的实验研究[J]. *右江民族医学院学报*, 2023, 45(2):208-212+217.
GUAN A X, HUANG Y C, HUANG G R, *et al.* Experimental study on anti-helicobacter pylori effect of different combinations of probiotics in vitro[J]. *J. Youjiang Med. Univ. Natl.*, 2023, 45(2): 208-212+217.
- [20] 张美怡,翟齐啸,赵建新,等. 鼠李糖乳杆菌 JS-SZ-2-1 抗幽门螺杆菌感染的临床效果评价[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(23):29-34.
ZHANG M Y, ZHAI Q X, ZHAO J X, *et al.* Clinical efficacy evaluation of *Lactobacillus rhamnosus* JS-SZ-2-1 against *Helicobacter pylori* infection[J]. *Food Ferment. Ind.*, 2020, 46(23): 29-34.