杨胜远, 欧阳戴莉, 陈俊宏, 等. 酸笋源 γ-氨基丁酸产生菌的筛选、生物学特性和益生潜力 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(12): 167−177. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025050141
YANG Shengyuan, OUYANG Daili, CHEN Junhong, et al. Screening, Biological Characteristics, and Probiotic Potential of γ-Aminobutyric Acid-producing Bacteria from Sour Bamboo Shoots[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(12): 167−177. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025050141

·生物工程·

酸笋源 γ-氨基丁酸产生菌的筛选、生物学特性和益生潜力

杨胜远*, 欧阳戴莉, 陈俊宏, 李双坪, 叶　晶
（岭南师范学院食品科学与工程学院, 广东湛江 524048）

摘　要: 为开发富含 γ-氨基丁酸（γ-aminobutyric acid，GABA）的复合益生菌发酵食品，本研究通过指示剂快速筛选、16S rDNA 序列分析、系统发育分析及模拟胃肠道试验等方法，系统探究了八渡酸笋中产 GABA 乳酸菌的筛选、生物学特性及益生潜力。结果表明，八渡酸笋中成功分离筛选到 1 株高产 GABA 的植物乳植杆菌（*Lactiplantibacillus plantarum*）SS5，该菌株转化 L-谷氨酸合成 GABA 的活力为 0.27 mg/(h·$g_{湿细胞}$)，在 20~40 ℃ 范围内均可生长，最适生长温度为 30 ℃，最适生长 pH 为 6.0~7.5；NaCl 对菌株 SS5 生长影响较显著，在 MRS 培养基添加 100 g/L 的 NaCl 即能强烈抑制其生长；菌株 SS5 对氧有较大耐受性，但微低氧条件更适宜菌株 SS5 生长；菌株 SS5 在单批培养 8~12 h 生长较快，36 h 达到稳定期；菌株 SS5 细胞经酸、模拟胃液、胆盐和模拟肠液处理，在模拟空腹条件下存活率分别为 44.27%±1.19%、70.61%±0.30%、99.44%±0.66% 和 93.29%±0.83%，相对比生长速率分别为 127.72%±12.32%、206.01%±5.24%、97.28%±8.45% 和 98.61%±7.17%；在以脱脂乳模拟进食条件下，存活率分别为 73.61%±0.52%、74.53%±1.09%、94.99%±0.64% 和 96.70%±0.44%，相对比生长速率分别为 150.62%±9.68%、98.01%±2.30%、95.77%±5.63% 和 89.61%±2.48%。综上，植物乳植杆菌 SS5 具有较好 GABA 合成能力、胃肠转运耐受性和生长修复能力，具备富 GABA 复合益生菌发酵食品开发应用潜力。

关键词: 酸笋, γ-氨基丁酸, 植物乳植杆菌, 生物学特性, 益生潜力, 谷氨酸脱羧酶
中图分类号: TS201.3　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)12−0167−11
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025050141
本文网刊:

Screening, Biological Characteristics, and Probiotic Potential of γ-Aminobutyric Acid-producing Bacteria from Sour Bamboo Shoots

YANG Shengyuan*, OUYANG Daili, CHEN Junhong, LI Shuangping, YE Jing
（College of Food Science and Engineering, Lingnan Normal University, Zhanjiang 524048, China）

Abstract: To develop composite probiotic fermented foods rich in γ-aminobutyric acid (GABA), this study systematically investigated the screening, biological characteristics, and probiotic potential of GABA-producing lactic acid bacteria from Badu sour bamboo shoots via methods including rapid indicator screening, 16S rDNA sequence analysis, phylogenetic analysis, and simulated gastrointestinal tract tests. Results showed that, a strain of *Lactiplantibacillus plantarum* SS5 with high GABA production capacity was successfully isolated. The strain exhibited a GABA synthesis activity of 0.27 mg/(h·$g_{wet\ cells}$) through the conversion of L-glutamic acid. The strain SS5 was capable of growing within a temperature range of 20~40 ℃, with an optimal growth temperature of 30 ℃ and an optimal pH range of 6.0~7.5. Notably, the addition of 100 g/L NaCl to the MRS medium significantly inhibited its growth. Although strain SS5 exhibited certain tolerance to oxygen, microaerophilic conditions were found to be more conducive to its growth. Batch culture experiments showed that

收稿日期: 2025−05−16
基金项目: 广东省重点建设学科科研能力提升项目（2022ZDJS079）; 广东省普通高校特色创新项目（2022KTSCX073）。
作者简介/通信作者*: 杨胜远（1972−）, 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品微生物, E-mail: yangsy1972@163.com。

strain SS5 entered a rapid growth phase between 8~12 h post-inoculation and reached the stationary phase at 36 h. After treatment with acidic solutions, simulated gastric juice, bile salts, and simulated intestinal fluid, the survival rates of strain SS5 cells under simulated fasting conditions were determined to be 44.27%±1.19%, 70.61%±0.30%, 99.44%±0.66%, and 93.29%±0.83% respectively, and the corresponding relative specific growth rates were calculated as 127.72%±12.32%, 206.01%±5.24%, 97.28%±8.45%, and 98.61%±7.17% respectively. When using skimmed milk to simulate feeding conditions, the survival rates were determined to be 73.61%±0.52%, 74.53%±1.09%, 94.99%±0.64%, and 96.70%±0.44% respectively, and the corresponding relative specific growth rates were calculated as 150.62%±9.68%, 98.01%±2.30%, 95.77%±5.63%, and 89.61%±2.48% respectively. The results indicated that *L. plantarum* SS5 possessed robust GABA synthesis capabilities, excellent tolerance to gastrointestinal transit, and remarkable growth recovery potential, thereby demonstrating promising prospects for its application in the development of GABA-enriched composite probiotic fermented foods.

Key words: sour bamboo shoots; γ-aminobutyric acid; *Lactiplantibacillus plantarum*; biological characteristics; probiotic potential; glutamate decarboxylase

γ-氨基丁酸(γ-aminobutyric acid, GABA)是一种非蛋白质氨基酸,由谷氨酸脱羧酶(glutamate decarboxylase, GAD, EC4.1.1.15)催化 L-谷氨酸(L-glutamic acid, L-Glu)及其盐发生 α-脱羧反应而生成[1]。作为中枢神经系统中重要的抑制性神经递质,GABA 主要分布于大脑中[2]。同时,GABA 及其受体也广泛存在于外周系统、内分泌系统以及多种非神经组织中,参与调控这些部位的氧化代谢过程[2]。研究表明,GABA 在维持机体健康方面具有多重生理功能:它能够通过肠脑轴调节小鼠肠道微生物群的结构和丰度,进而缓解焦虑和改善记忆障碍[3];此外,GABA 还具有抗抑郁[4]、降血压[5]、改善睡眠[6]、增强免疫[7]等作用。值得注意的是,GABA 还表现出潜在的抗肿瘤活性,可通过诱导癌细胞凋亡来抑制其增殖[8−9]。基于其广泛的安全性和功能性,GABA 已被日本、美国和中国认定为食品或公认安全物质,并作为一种重要的生物活性成分广泛应用于食品领域[10]。

肠道微生物及其代谢产物在维持机体健康方面发挥着不可替代的作用。研究表明,肠道微生物与大脑之间通过复杂的双向通讯机制[3,11]相互作用,并借此形成了菌-肠-脑轴这一重要的生理调控网络[12]。具体而言,肠道微生物的细胞组分及其分泌的生物活性物质可通过免疫、神经和内分泌等多条途径调节肠-脑轴功能,其中 GABA 的多种生理功能正是通过其对中枢神经系统的调控作用实现的[3−4,6−7]。基于这一机制,补充外源性 GABA 和产 GABA 益生菌可通过菌-肠-脑轴途径发挥协同健康效应。通过益生菌发酵技术开发富含 GABA 的复合益生菌发酵食品,不仅能够发挥 GABA 的生理功能,还可借助益生菌发挥肠道调节作用,从而实现双重健康效益。因此,分离和筛选安全、稳定且具备高效GABA 合成能力的益生菌株,对于开发功能性复合益生菌发酵食品具有重要的理论意义和应用价值。

传统发酵食品的安全性已在长期的历史实践中得到充分验证,因此从传统发酵食品中挖掘安全可靠的微生物资源是一条切实可行的途径。乳酸菌作为公认安全的微生物,其安全性已得到广泛认可[13]。基于这一优势,从传统发酵食品中分离筛选高产 GABA 的乳酸菌株,并将其应用于益生菌制剂或富 GABA 食品的发酵生产,已成为当前研究的热点方向[14−16]。研究表明,多种传统发酵食品如酸菜[17]、泡菜[18−19]、牦牛酸乳[20]和奶酪[21]等,都是高产 GABA 乳酸菌的重要来源。目前已从这些食品中成功分离出多种具有 GABA 合成能力的乳酸菌,包括植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)[17−18,21]、戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*)[17]、布氏乳杆菌(*Lactobacillus buchneri*)[17]、短乳杆菌(*Levilactobacillus brevis*)[19,21]、发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*)[20]、德氏乳杆菌保加利亚亚种(*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)[21]、乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*)[21]以及副干酪乳酪杆菌(*Lacticaseibacillus paracasei*)[21]等。这些菌株的发现为开发功能性发酵食品提供了重要的微生物资源。

酸笋是我国南方地区的传统自然发酵调味佳品。通常采用春秋两季的鲜竹笋进行腌制,只需在菜肴中加入少量酸笋,便能带来浓郁绵长的风味。八渡笋是广西壮族自治区田林县的特产,因产于田林县八渡乡山区而得名,是中国国家地理标志产品。八渡笋生长于秋季,具有肉厚肥嫩、脆嫩无渣、营养丰富、美味可口的特点,以其为原料腌制的八渡酸笋因其优良品质而备受青睐。传统八渡酸笋的腌制依赖竹笋自带的野生型乳酸菌发酵,酸笋中可能蕴藏着极具价值的微生物资源。

本试验致力于深入挖掘八渡酸笋的潜在价值,从八渡酸笋中分离、筛选及鉴定高产 GABA 的乳酸菌,并对其生长特性与益生潜力展开研究,以期为富 GABA 复合益生菌发酵食品的开发提供优质的菌种资源,进而推动相关产业的创新发展。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

八渡酸笋　广西百色市田林县农家自然发酵八渡笋酸竹笋;1 号新华滤纸　杭州沃华滤纸有限公司;L-谷氨酸钠(L-monosodium glutamate, MSG)(AR99.0%)　分析纯,广东方信生物科技有限公司;

MC 琼脂培养基　环凯微生物培养基有限公司；异硫氰酸苯酯（phenylisothiocyanate, PITC, ≥99.0%）、γ-氨基丁酸（minimum 99.0%）　试剂纯，美国 Sigma-Aldrich 公司产品；乙腈、乙酸、三乙胺　色谱纯，美国 TEDIA 公司；胃蛋白酶（1:3000, ≥3000 U/g, 猪源）、胰蛋白酶（1:250, ≥250 U/mg, 猪源）、胆盐（BR）　上海阿拉丁生化科技股份有限公司；其余试剂均为国产分析纯试剂或生化试剂。

Axiolab 5 荧光显微镜　德国 Carl ZEISS 显微镜有限公司；FE28 pH 计　梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司；P1201 高效液相色谱（high performance liquid chromatography, HPLC）仪（配有可变波长紫外检测器）　大连依利特分析仪器有限公司；AC85 可见分光光度计　上海元析仪器有限公司；AUW120 电子分析天平　日本 Shimadzu 公司；TGL16M 台式高速冷冻离心机　盐城市凯特实验仪器有限公司；VX-200涡旋混合仪 美国 Labnet 公司；HH-2 数显恒温水浴锅　常州荣华仪器制造有限公司；LRH-250F 生化培养箱　深圳市联翔电机有限公司；ZMGZ-J5 便携果汁机　西安臻米电子科技有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　培养基和混合指示剂配制　MRS（de Man, Rogosa and Sharp）培养基参照文献 [22] 的方法配制，除特别说明外，每 250 mL 三角瓶中盛装 100 mL MRS 培养基。改良查尔默斯（Modified Chalmers, MC）琼脂培养基按照产品说明书进行配制。脱脂乳（skim milk, SM）培养基：称脱脂奶粉 13 g，溶于 100 mL 蒸馏水，加热至沸腾后冷却，去除表面形成的脂膜，分装至试管 10 mL/支，加入 0.1 g $CaCO_3$ 并混匀。121 ℃ 灭菌 15 min。溴甲酚绿+甲基红混合指示剂参照文献 [23] 进行配制。

1.2.2　产 GABA 乳酸菌的分离与初筛　将八渡酸笋用已消毒果汁机制成匀浆，按质量体积比为 1∶100 将酸笋匀浆接入 pH6.5 MRS 培养基，35 ℃ 静置富集培养 48 h，富集液经 10 倍梯度稀释后，以 MC 琼脂培养基采用平板倾注法进行分离，35 ℃ 倒置培养 72 h。随机选择具有乳酸菌菌落特征的菌落，分别接入 SM 培养基和 pH6.5 MRS 培养基，35 ℃ 静置培养 48 h。根据 SM 培养基牛乳凝固情况初步判断是否为乳酸菌，并于 4 ℃ 冰箱保藏备用。将 MRS 培养液于 4 ℃、8000 r/min 离心 20 min，收集菌体，用生理盐水洗涤菌体 1 次，然后按 1∶5 加入 50 g/L 的 MSG 溶液（溶剂为蒸馏水），调节 pH 至 4.9，加入无水乙醇至乙醇终浓度为 7.5%，35 ℃ 反应 24 h，4 ℃、8000 r/min 离心 20 min，收集上清液，记为转化液。在 5 mL 转化液中加入 0.2 mL 溴甲酚绿+甲基红混合指示剂，观察颜色变化，并采用纸层析（paper chromatography, PC）对颜色变绿色的原转化液的 GABA 进行定性分析。PC 展开剂组成为正丁醇∶乙酸∶水=12∶3∶5，在展开剂中加入茚三酮至终浓度为 0.4%（m/v）。PC 展程为 16 cm，层析后晾至半干，90 ℃ 保温 5 min。

1.2.3　产 GABA 乳酸菌复筛　将 SM 培养基保藏的产 GABA 菌株接入 pH6.5 MRS 培养基，35 ℃ 静置培养 48 h，4 ℃、8000 r/min 离心 20 min，收集菌体，用生理盐水洗涤菌体 1 次，然后按 1∶5 加入生理盐水制成菌悬液，取菌悬液 1 mL 与 0.25 mol/L MSG 溶液（溶剂为 0.4 mol/L 乙酸-乙酸钠缓冲液，pH4.6）1 mL 混合，35 ℃ 反应 6 h，立即加入 4 mL 无水乙醇终止反应。4 ℃、8000 r/min 离心 20 min，收集上清液。参照文献 [24] 采用 HPLC 对上清液 GABA 进行定量分析。流动相 A 为 pH5.6、0.1 mol/L 乙酸盐缓冲液，每升缓冲液中分别含三乙胺 0.5 mL、乙酸 0.7 mL 和乙腈 5.0 mL；流动相 B 为 60%（v/v）乙腈溶液。取适当稀释待测样品液 100 μL 于锥形离心管，加入乙腈-水-三乙胺-PITC（7∶1∶1∶1, v/v）衍生试剂 50 μL，混匀后室温放置 1 h，随后加入流动相 A-流动相 B（80∶20, v/v）混合液 150 μL，漩涡振荡 1 min，再加入正己烷 600 μL，漩涡振荡 1 min，静置 10 min，吸取下层溶液，经 0.22 μm 滤膜过滤后待测。HPLC 色谱条件为：ZORBAX Eclipse XDB C_{18}（4.6 mm×250 mm, 5 μm）色谱柱；进样量 20 μL，检测波长 254 nm；柱温 25 ℃；以流动相 A-流动相 B（80∶20, v/v）按 0.6 mL/min 速率等梯度洗脱。细胞转化合成 GABA 的活力按式（1）进行计算。

$$Y = \frac{c \times v \times 103.12}{m \times t \times 1000} \qquad 式（1）$$

式中：Y 为细胞转化合成 GABA 的活力，mg/（h·$g_{湿细胞}$）；c 为细胞转化液 GABA 浓度，mmol/L；v 为细胞转化液总体积，mL；m 为湿菌体质量，g；t 为反应时间，h；103.12 为 GABA 分子量；1000 为换算系数。

1.2.4　产 GABA 乳酸菌的鉴定　菌落形态观察以 MC 琼脂培养基采用倾注法进行培养；菌体形态观察采用革兰氏染色法；16S rDNA 的扩增和核酸序列分析委托生工生物工程（上海）股份有限公司进行分析，扩增引物分别为 27F（5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'）和 1492R（5'-TACGGCTACCTTGTTACGACTT-3'）。利用 NCBI（https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi）数据库 Nucleotide BLAST 功能将待鉴定菌株的 16S rDNA 序列与其核苷酸库进行在线同源性比对分析，选择同源性大于 98% 的不同种的模式菌株 16S rDNA 核苷酸序列，利用 Clustalx v1.83 软件进行多重比对，采用 Neighbour-joining 方法构建系统发育树，并进行 bootstrap 分析，重复次数为 1000 次。

1.2.5　菌株 SS5 生长特性

1.2.5.1　种子液的制备　取 1 mL 甘油保藏的菌株 SS5 接入 pH6.5 MRS 培养基，35 ℃ 静置培养 36 h。

1.2.5.2 温度对菌株 SS5 生长的影响 按 2%(v/v)的接种量将种子液接入 MRS 培养基(pH6.5),分别于 20、25、30、35、40 ℃ 静置培养 48 h,将培养液适当稀释,于 540 nm 测定吸光值。

1.2.5.3 初始 pH 对菌株 SS5 生长的影响 按 2%(v/v)的接种量将种子液分别接入初始 pH 分别为 5.5、6.0、6.5、7.0、7.5 的 MRS 培养基,于 30 ℃ 静置培养 48 h,将培养液适当稀释,于 540 nm 测定吸光值。

1.2.5.4 NaCl 对菌株 SS5 生长的影响 按 2%(v/v)的接种量将种子液分别接入 NaCl 添加量分别为 0、20、40、60、80、100 g/L 的 MRS 培养基,于 30 ℃ 静置培养 48 h,将培养液适当稀释,于 540 nm 测定吸光值。

离子强度按式(2)计算。渗透压根据范托夫(van't Hoff)定律按式(3)计算。

$$I = \frac{1}{2}(C_i \times Z_i^2) \quad \text{式(2)}$$

式中:I 为离子强度,mol/L;C_i为离子浓度,mol/L;Z_i为离子电荷数。

$$\pi = \sum iCRT \quad \text{式(3)}$$

式中:π 为渗透压,kPa;i 为范托夫因子,即解离粒子数;C 为物质的浓度,mol/L;R 为气体常数,8.314 kPa·L/(mol·K);T 为绝对温度,K。

1.2.5.5 氧对菌株 SS5 生长的影响 按 2%(v/v)的接种量将种子液接入 pH7.0 MRS 培养基,分别于 30 ℃ 静置和 120 r/min 摇床培养 48 h,将培养液适当稀释,于 540 nm 测定吸光值。

1.2.5.6 生长量测定 将菌株 SS5 培养液用蒸馏水进行适当稀释,以按相同稀释倍数稀释的 MRS 培养基为空白,用分光光度计于波长 540 nm 处测定吸光值。以吸光值表示菌体生长量,总吸光值按式(4)计算。

$$A_{540\,nm} = A_i \times d_i \quad \text{式(4)}$$

式中:$A_{540\,nm}$ 为培养液总吸光值;A_i 为培养液稀释液的吸光值;d_i 为培养液的稀释倍数。

1.2.5.7 菌株 SS5 生长曲线的测定 采用规格为 500 mL 的三角瓶盛装 200 mL MRS 培养基进行试验。按 2%(v/v)的接种量将种子液接入 pH7.0 MRS 培养基,于 30 ℃ 静置培养,分别间隔 4 h 取样进行适当稀释,于 540 nm 处测定吸光值。

1.2.6 菌株 SS5 益生潜力 本试验根据人体胃肠道生理条件测试菌株 SS5 对酸、模拟胃液、胆汁和肠液的耐受情况。以生理盐水与菌悬液混合模拟空腹条件下菌株 SS5 的耐受性,以脱脂牛乳与菌悬液混合模拟存在食物条件下菌株 SS5 的耐受性。根据生长曲线选择 MRS 培养基培养 4~7 h 的比生长速率和相对比生长速率评价菌株 SS5 的生长修复能力。

1.2.6.1 菌悬液制备 按 2%(v/v)的接种量将种子液接入 MRS 培养基(pH7.5),于 30 ℃ 静置培养 24 h,在无菌操作下于 4 ℃、8000 r/min 离心 20 min,收集菌体,然后按 1∶200 加入生理盐水,加入无菌玻璃珠 10 粒,80 r/min 振荡 10 min 制成均匀的菌悬液(5 g/L)。

1.2.6.2 耐酸能力 在无菌操作下分别取菌悬液 1 mL 与 pH2.2 的 0.05 mol/L 无菌甘氨酸-盐酸缓冲液(glycine-HCl buffer, GHB)4 mL 混合,37 ℃ 静置保温 4 h,称为处理液。测定处理液菌落总数,并同时取 100 μL 处理液接入 5 mL MRS 培养基(pH7.0),37 ℃ 静置培养,分别于 9 h 和 12 h 取样测定培养液菌落总数。以无菌生理盐水代替 GHB 按相同操作作为对照,计算存活率(survival rate, SR)、比生长速率(specific growth rate, SGR)和相对比生长速率(relative specific growth rate, RSGR)。

1.2.6.3 模拟胃液耐受性 以含 10 mg/L 胃蛋白酶的 pH2.2、0.05 mol/L 无菌 GHB 作为模拟胃液。无菌操作分别取菌悬液 1 mL 与模拟胃液 4 mL 混合,37 ℃ 静置保温 4 h,称为处理液。测定处理液菌落总数,并同时取 100 μL 处理液接入 5 mL MRS 培养基(pH7.0),37 ℃ 静置培养,分别于 9 h 和 12 h 取样测定培养液菌落总数。以无菌生理盐水代替模拟胃液按相同操作作为对照,计算 SR、SGR 和 RSGR。

1.2.6.4 耐胆盐能力 无菌操作取菌悬液 1 mL 与含 2.88 g/L 胆盐的无菌 pH7.4、0.05 mol/L 无菌 PBS 4 mL 混合,即胆盐终浓度为 2.3 g/L,37 ℃ 静置保温 6 h,称为处理液。测定处理液菌落总数,并同时取 100 μL 处理液接入 5 mL MRS 培养基(pH7.0),37 ℃ 静置培养,分别于 9 h 和 12 h 取样测定培养液菌落总数。以无胆盐的无菌 PBS 代替含 1.5 g/L 胆盐的无菌 PBS 按相同操作作为对照,计算存活率 SR、SGR 和 RSGR。

1.2.6.5 模拟肠液耐受性 以含 10 g/L 胰蛋白酶、2.88 g/L 胆盐的 pH7.4、0.05 mol/L 无菌 PBS 作为模拟肠液。无菌操作分别取菌悬液 1 mL 与模拟肠液 4 mL 混合,37 ℃ 静置保温 6 h,称为处理液。测定处理液菌落总数,并同时取 100 μL 处理液接入 5 mL MRS 培养基(pH7.0),37 ℃ 静置培养,分别于 9 h 和 12 h 取样测定培养液菌落总数。以无菌 PBS 代替模拟肠液按相同操作作为对照,计算 SR、SGR 和 RSGR。

1.2.6.6 存活率(survival rate, SR)测定 以 pH6.8 磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)作为稀释液,以 MRS 固体培养基为计数培养基,参照文献 [25] 进行菌落总数测定,30 ℃ 静置培养 72 h。存活率按式(5)计算。

$$SR(\%) = \frac{\lg N_i}{\lg N_0} \times 100 \quad \text{式(5)}$$

式中：SR 为存活率，%；N_i 为试验组菌落数，CFU/mL；N_0 为对照组菌落数，CFU/mL。

1.2.6.7　比生长速率和相对比生长速率　比生长速率（specific growth rate，SGR）按式（6）计算，相对比生长速率（relative specific growth rate，RSGR）按式（7）计算。

$$\mu = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1} \qquad 式（6）$$

式中：μ 为比生长速率，h^{-1}；t_1、t_2 分别为第 1 和第 2 培养时间，h；N_1、N_2 分别为 t_1、t_2 培养时间对应的菌落数，CFU/mL。

$$\mu_{rel} = \frac{\mu_i}{\mu_0} \qquad 式（7）$$

式中：μ_{rel} 为相对比生长速率，%；μ_i 试验组比生长速率，h^{-1}；μ_0 对照组比生长速率，h^{-1}。

1.3　数据处理

所有试验均进行三次重复，结果以“平均值±标准差”表示。采用 IBM SPSS Statistics 19.0 软件的独立样本 *t* 检验和单因素方差分析（ANOVA）的 Duncan（D）进行统计分析。

2　结果与分析

2.1　产 GABA 乳酸菌的分离筛选

依据乳酸菌在 MC 琼脂培养基上的菌落特征，随机选取 5 个菌落（菌株编号分别为 SS1、SS2、SS3、SS4、SS5）接种至 SM 培养基中培养，结果显示所有 SM 培养基均发生凝固（图 1），表明这 5 株菌均具备产酸能力；其中菌株 SS1、SS2、SS3 和 SS4 对应的 SM 培养基凝固程度较高，且有大量乳清析出，说明其产酸量较多。5 株菌株的细胞转化液经溴甲酚绿+甲基红混合指示剂检测，只有菌株 SS5 的转化液变绿（图 2），说明转化液 pH 升高，即存在 L-Glu 发生脱羧反应。经对菌株 SS5 的转化液进行纸层析检验，结果存在与 GABA 标准品迁移距离一致的氨基酸斑点（图 3），证明转化液具有 GABA。经采用 HPLC 对复筛的菌株 SS5 细胞转化液定量分析表明菌株 SS5 转化 L-Glu 合成 GABA 的活力为 0.27 mg/(h·$g_{湿细胞}$)。

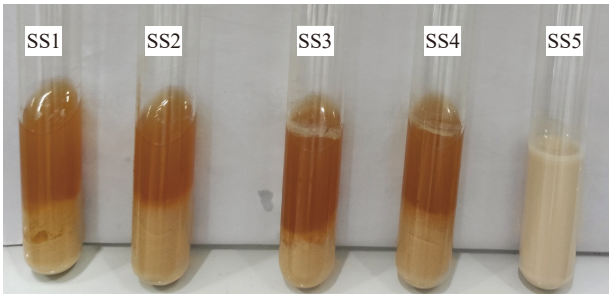


图 1　不同菌株在 SM 培养基中的培养特征

Fig.1　Cultivation characteristics of different strains in SM medium

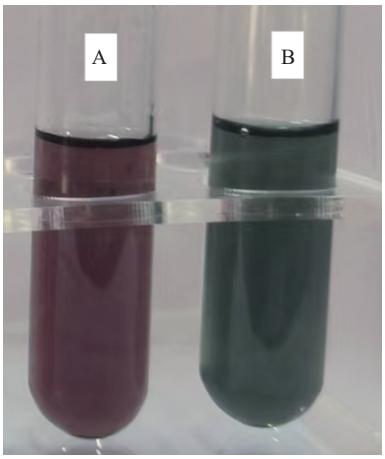


图 2　混合指示剂对不同菌株细胞转化液的颜色响应

Fig.2　Color responses of the mixed indicator to the cell transformation solutions of different strains

注：A. pH4.9 MSG 溶液；B. 菌株 SS5 细胞转化液。

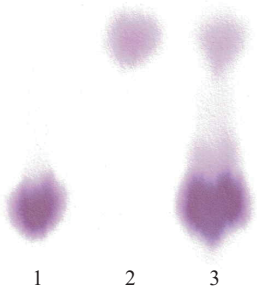


图 3　菌株 SS5 细胞转化液纸层析图谱

Fig.3　Paper chromatography of the cell transformation solution of strain SS5

注：1 为 1 mmol/L L-Glu，4 μL；2 为 1 mmol/L GABA，4 μL；3 为菌株 SS5 细胞转化液 6 μL。

GAD 催化 L-Glu 发生 α-脱羧反应生成 GABA，同时消耗 H^+，导致环境 pH 升高[1]，因此可以以全细胞在无缓冲或弱缓冲系统进行转化反应，通过酸碱指示剂检测转化液 pH 变化而间接判断微生物是否具有 GAD[26]，从而快速筛选 GABA 产生菌，称之为指示剂法。微生物 GAD 最适反应 pH 主要集中在 4.0~5.0，在 5.0~5.5 范围内仍具有一定催化活力[26]，因此本试验以 pH4.9 作为转化反应初始 pH，采用变色点为 pH5.1 的溴甲酚绿+甲基红混合指示剂检测 pH 变化，预留了 0.2 的 pH 变化空间，既避免了因偶然因素造成的 pH 微小变化产生的误检问题，又可防止因 pH 变化空间过大而造成灵敏度过低致使弱 GABA 产生菌出现漏检的问题。研究表明，7.5% 乙醇可通过提高细胞通透性而显著提高屎肠球菌全细胞 GAD 的表观活力[27]，本试验以 7.5% 乙醇作为全细胞转化反应促进剂，可显著提高指示剂法快速筛选 GABA 产生菌的灵敏度。指示剂法快速简便，以其作为 GABA 产生菌的初筛方法，可以减少 GABA 定性分析成本，省时省力，显著提高试验效率。

2.2　菌株 SS5 的鉴定

2.2.1　菌株 SS5 的形态特征　从图 4A 和图 4B 可见，菌株 SS5 菌落呈乳白色，表面菌落半透明、光滑、有黏性，在 MC 固体培养基的底部和表面的菌落呈圆形，培养基内部菌落呈菱形，菌落边沿整齐，菌落

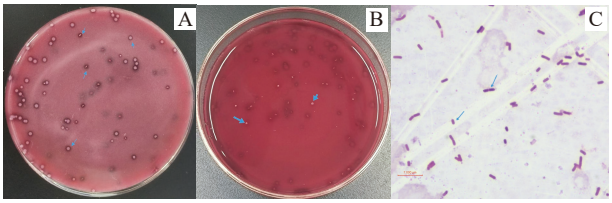


图 4 菌株 SS5 的菌落形态和细胞形态

Fig.4 Colony morphology and cell morphology of strain SS5

注: A. MC 培养基中菌落形态(背面); B. MC 培养基中菌落形态(正面); C. 革兰氏染色下的细胞形体(1000×)。

周围有明显溶钙圈, 在培养基内部和底部菌落较表面略大。图 4C 显示, 菌株 SS5 为革兰氏阳性, 无芽孢, 杆菌, 菌体两端钝圆, 细胞大小均一, 多以成对出现。菌株 SS5 的菌落形态和细胞形态与乳杆菌属的特征基本相符。

2.2.2 菌株 SS5 的 16S rDNA 序列及系统发育分析

经测序, 菌株 SS5 的 16S rDNA 大小为 1517 bp, 核苷酸序列已在 GenBank 中登记, 登录号为 PQ932500。通过在线与 NCBI 核心核苷酸数据库的 16S rDNA 进行比对, 菌株 SS5 的 16S rDNA 序列与 100 株乳酸菌的同源性大于 99.74%, 其中 93 株为植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)或植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*), 而植物乳杆菌于 2020 年已更名为植物乳植杆菌[28−29], 即该 93 株菌为同一个种。除此之外, 菌株 SS5 的 16S rDNA 序列与 *Lactiplantibacillus argentoratensis* HBUAS58068 和 *Lactiplantibacillus pentosus* SRCM103472, 同源性均大于 99.80%(表 1)。选择模式菌株的 16S rDNA 构建进化树进行系统发育分析, 结果(图 5)菌株 SS5 与 *Lactiplantibacillus plantarum* ATCC14917 处于同一分枝, 1000 次自展法(bootstrap)分析中有 984 次支持该分枝, 说明该分枝稳定。因此, 初步鉴定菌株 SS5 为植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)。

表 1 菌株 SS5 与 NCBI 核苷酸数据库 16S rDNA 序列比对分析部分结果

Table 1 Partial results of 16S rDNA sequence alignment analysis between strain SS5 and NCBI nucleotide database

菌株	登录号	登记长度(bp)	同源性(%)
Lactiplantibacillus plantarum Z10	OR016187	1509	100
Lactiplantibacillus argentoratensis HBUAS58068	ON197171	1531	99.87
Lactiplantibacillus pentosus SRCM103472	OK559514	1536	99.80

植物乳植杆菌在食品中已有长期的安全使用历史, 是一种公认的益生菌, 已列入欧洲食品安全局(EFSA)资格认定(Qualified Presumption of Safety, QPS)和美国食品药品监督管理局(FDA)公认安全物质(Generally recognized as safe, GRAS)名单[30], 在我国也被列为可用于食品的菌种名单和可用于婴幼儿食品的菌种名单[29]。植物乳植杆菌常被用于发酵食品, 赋予其特殊的营养和功能特性。例如, Zhang 等[31] 发现摄入由植物乳植杆菌 GSLP-7V 发酵生产的富含叶酸的酸奶 10 d, 即可恢复由叶酸缺乏引起的大鼠肠道微生物群混乱, 并将血清叶酸和同型半胱氨酸恢复到正常水平。本研究从八渡酸笋中分离筛选出的植物乳植杆菌 SS5 不仅具备较高的安全性, 还拥有 GABA 合成能力。鉴于这些优良特性, 该菌株在基于 GABA 保健功能的益生菌和发酵食品开发方面将具有广阔的应用前景。

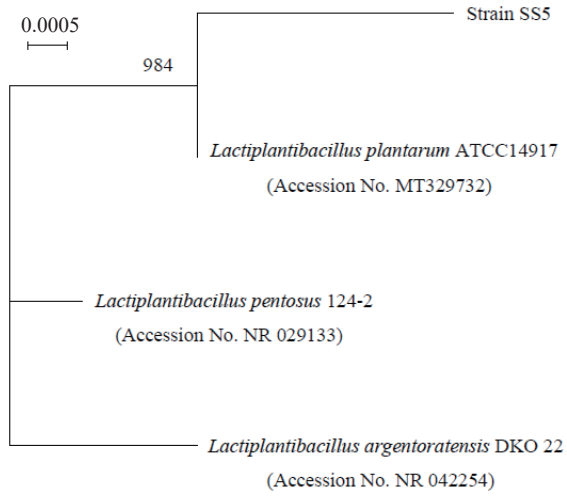


图 5 以同源性较高的乳酸菌 16S rDNA 序列为基础的系统发育树

Fig.5 Phylogenetic tree based on the 16S rDNA sequences of lactic acid bacteria with relatively high homology

注: 分枝节点数值表示 1000 次 bootstrap 分析所支持次数; 线段(0.0005)表示分枝长度的比例。

2.3 植物乳植杆菌 SS5 生长特性

2.3.1 温度对菌株 SS5 生长的影响 图 6 显示, 在 20~30 ℃ 范围内, 菌株 SS5 的生长量随温度升高而增加(P<0.05), 而当温度超过 30 ℃ 时, 生长量则显著下降(P<0.05), 最适生长温度为 30 ℃。结果表明, 温度对菌株 SS5 生长有一定影响, 但在 20~40 ℃ 范围内均能良好生长。由此可见, 菌株 SS5 具备作为益生菌在人体正常体温(37 ℃)下生长的温度特性。

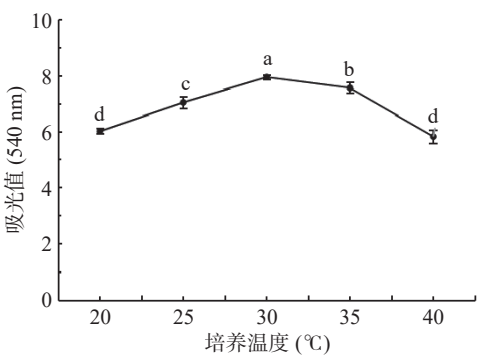


图 6 温度对菌株 SS5 生长的影响

Fig.6 Effects of temperature on the growth of strain SS5

注: 不同字母表示差异显著(P<0.05), 图 7~图 10 同。

2.3.2　初始 pH 对菌株 SS5 生长的影响　由图 7 可见，菌株 SS5 在初始 pH5.5~7.5 范围内均能生长。当初始 pH<6.0 时，其生长受到抑制（P<0.05）；而在初始 pH6.0~7.5 范围内，生长量无显著差异（P>0.05）。结果表明，该菌株的最适生长 pH 为 6.0~7.5。MRS 培养基含 K_2HPO_4、CH_3COONa 和柠檬酸铵 3 种缓冲盐[22]，可形成磷酸盐缓冲液（缓冲范围 pH5.8~8.0）、乙酸盐缓冲液（缓冲范围 pH3.6~5.8）和柠檬酸盐缓冲液（缓冲范围 pH3.0~6.6）。当初始 pH<6.0 时，体系接近磷酸盐缓冲液的缓冲下限，缓冲能力较弱。由于菌株 SS5 为乳酸菌，其生长过程中会代谢产生乳酸，若培养基缓冲调控能力不足，pH 将快速下降，进而抑制菌株生长。

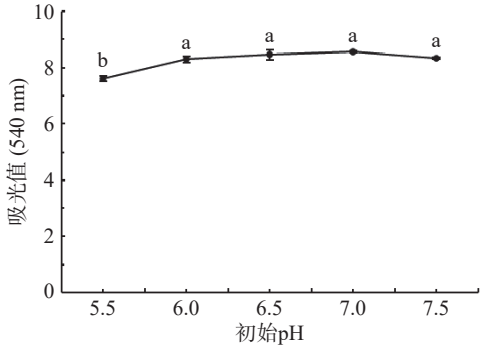


图 7　初始 pH 对菌株 SS5 生长的影响

Fig.7　Effects of initial pH on the growth of strain SS5

人体结肠平均 pH 为 7.0±0.7[32]，而菌株 SS5 的最适生长 pH 为 6.0~7.5，二者范围吻合。由此可见，菌株 SS5 具备作为益生菌所需的生长 pH 特性。

2.3.3　NaCl 对菌株 SS5 生长的影响　由图 8 可见，随着 NaCl 添加量增加，菌株 SS5 生长量显著下降（P<0.05），当 NaCl 添加量为 100 g/L 时，30 ℃ 静置培养 48 h，菌株 SS5 的培养液的吸光值仅为 0.153±0.05，显著低于不添加 NaCl 的对照组（P<0.05）。结果表明，NaCl 对菌株 SS5 的生长具有显著影响。

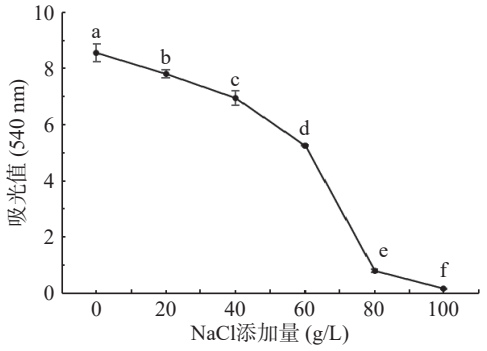


图 8　NaCl 对菌株 SS5 生长的影响

Fig.8　Effects of NaCl on the growth of strain SS5

MRS 培养基含多种高浓度成分，尤其是 K_2HPO_4、CH_3COONa、柠檬酸铵、$MgSO_4$、$MnSO_4$ 等盐类物质[22]。经按式（2）计算，MRS 培养基的离子强度约为 0.11 mol/L；当将蛋白胨、牛肉膏和酵母膏等复杂混合物按平均分子量 1000 计，经按式（3）计算，MRS 培养基的渗透压约为 670 kPa，接近多数乳酸菌的生理渗透压范围。当在 MRS 培养基中分别添加 20、40、60、80 和 100 g/L 的 NaCl，则 30 ℃ 培养基的离子强度分别增加了 0.34、0.68、1.03、1.37 和 1.71 mol/L，培养基的渗透压分别增加了 1719.06、3438.12、5157.18、6876.24 和 8595.30 kPa。由此可见，添加 NaCl 显著增加了培养基的离子强度和渗透压，这可能是菌株 SS5 的生长受到抑制的主要原因。正常生理条件下，人体结肠渗透压和离子强度与血液相当，约为 720~770 kPa，离子强度约为 0.12~0.15 mol/L[33]，远低于添加 20 g/L NaCl 的 MRS 培养基的渗透压和离子强度，而与 MRS 培养基接近。推测结肠环境的渗透压和离子强度适宜菌株 SS5 的生长。

2.3.4　氧对菌株 SS5 生长的影响　摇床转速与培养基溶氧量存在正相关。摇床转速加快能使培养容器内的液体培养基形成更大的表面波动和漩涡，从而增加气液接触面积，有助于将溶解在液体表面的氧气快速传递到液体内部，减少氧气在液体中的扩散阻力，使整个培养基中的溶氧量更加均匀且提高整体溶氧量。由图 9 可见，在静置（0 r/min）和 120 r/min 摇床培养条件下，菌株 SS5 均生长良好，但菌株 SS5 在静置培养条件下生长更好（P<0.05）。结果表明，氧对菌株 SS5 没有毒害作用，但低氧条件更适宜菌株 SS5 生长，菌株 SS5 为兼性厌氧菌。人体结肠氧分压较低[32]，结肠氧分压条件适宜菌株 SS5 生长。

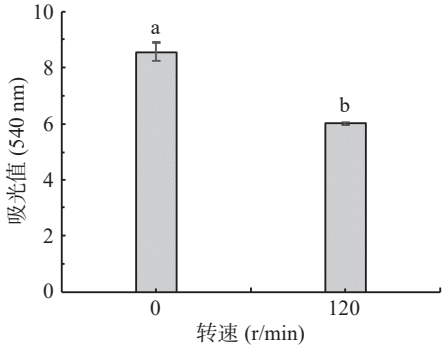


图 9　氧对菌株 SS5 生长的影响

Fig.9　Effects of oxygen on the growth of strain SS5

2.3.5　菌株 SS5 生长曲线　图 10 显示，菌株 SS5 生长量随培养时间延长而显著增加（P<0.05），菌株 SS5 在 8~12 h 生长较快，12~36 h 生长速率变小，大于 36 h 则生长量趋于稳定（P>0.05）；在 0~36 h，菌株 SS5 并未出现典型的指数生长趋势，总体呈现混合级生长，其原因可能是菌株 SS5 生长过程中代谢产生的乳酸，改变培养基 pH，条件逐渐不适宜菌株 SS5 生长。菌株 SS5 在 4 h 以后已经快速生长，而大肠排空时间约为 35 h[34]，因此菌株 SS5 具备在大肠大量生长繁殖的时间，满足益生菌对生长时间的要求。

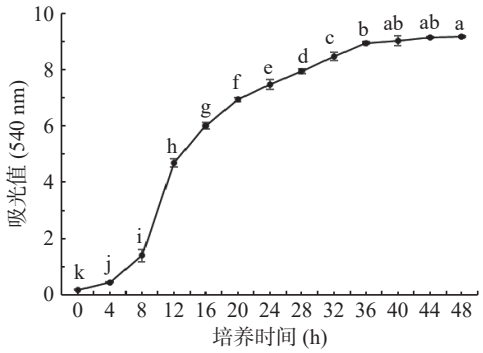


图 10 菌株 SS5 生长曲线

Fig.10 Growth curve of strain SS5

2.4 植物乳植杆菌 SS5 益生潜力

益生菌改善动物和人类的健康状况的作用机制是影响肠道内微生物的平衡,益生菌必须以一定活菌到达肠道并定植才能发挥作用[35]。胃液、胆汁和肠液是影响益生菌在胃肠道转运过程的主要因素[36]。研究表明,人体胃内 pH 为 2~6[37],胃完全排空时间达 4 h[38];十二指肠 pH 为 6~7,空肠和回肠 pH 为 7~7.4[37],分泌到十二指肠的胆汁浓度为 2.6 mmol/L(禁食)~11.2 mmol/L(喂食)[37],即胆盐(胆汁 50% 计)浓度约为 0.5~2.3 g/L;食物在小肠内停留时间一般为 3~8 h[39];盲肠平均 pH 为 6.4±0.4,结肠平均 pH 为 7.0±0.7[32]。因此,为了充分反映菌株 SS5 作为益生菌的应用潜力,本试验根据上述人体胃肠道生理条件测试菌株 SS5 对酸、模拟胃液、胆汁和肠液的耐受情况。

益生菌经过胃肠道转运过程经过酸、胆盐及消化酶的作用会受到一定损伤,到达结肠后应能尽快修复损伤快速生长并定植才能充分发挥益生作用,比生长速率(μ)是直观评价益生菌生长情况的重要指标,而相对比生长速率(μ_{rel})则可更直接地比较胃肠道转运前后益生菌的生长修复能力。本试验根据图 10 生长曲线菌株 SS5 培养 4 h 已进入快速生长,选择 MRS 培养基培养 4~7 h 的μ和μ_{rel}评价菌株 SS5 的生长修复能力。

2.4.1 耐酸能力 从表 2 可见,经 pH2.2 GHB 缓冲液于 37 ℃ 孵育 4 h,在模拟空腹条件(生理盐水组)和模拟进食条件(脱脂乳组)下,菌株 SS5 的存活率分别为 44.27%±1.19% 和 73.61%±0.52%,脱脂乳组存活率显著高于生理盐水组(P<0.05),说明脱脂乳对菌株 SS5 细胞具有一定保护作用,即胃中食物对菌株 SS5 细胞的包埋可以增强细胞的耐酸能力。

生理盐水组和脱脂乳组的比生长速率分别为 0.80±0.08 h^{-1} 和 0.94±0.06 h^{-1},均高于未经酸处理的对照组的比生长速率,相对比生长速率分别提高了 27.72% 和 50.62%,差异显著(P<0.05)。结果表明,经过酸处理后,菌株 SS5 的存活细胞在适宜条件下能够快速恢复生长繁殖,并且可能受酸的胁迫而产生应激性反应,比生长速率显著提高。

表 2 植物乳植杆菌 SS5 对模拟胃肠道成分的耐受性

Table 2 Tolerance of *L. plantarum* SS5 to simulated gastrointestinal components

测试指标	组别	存活率 (%)	比生长速率 (h^{-1})	相对比生长速率 (%)
酸耐受性	对照组	100±0.35^{a}	0.62±0.04^{c}	100±6.81^{c}
	生理盐水	44.27±1.19^{c}	0.80±0.08^{b}	127.72±12.32^{b}
	脱脂乳	73.61±0.52^{b}	0.94±0.06^{a}	150.62±9.68^{a}
模拟胃液耐受性	对照组	100±0.33^{a}	0.62±0.02^{b}	100±6.81^{b}
	生理盐水	70.61±0.30^{c}	1.28±0.03^{a}	206.01±5.24^{a}
	脱脂乳	74.53±1.09^{b}	0.61±0.01^{b}	98.01±2.30^{b}
胆盐耐受性	对照组	100±0.43^{a}	0.71±0.05^{a}	100±6.74^{a}
	生理盐水	99.44±0.66^{a}	0.69±0.06^{a}	97.28±8.45^{a}
	脱脂乳	94.99±0.64^{b}	0.68±0.04^{a}	95.77±5.63^{a}
模拟肠液耐受性	对照组	100±0.93^{a}	0.73±0.03^{a}	100±3.56^{a}
	生理盐水	93.29±0.83^{c}	0.72±0.05^{ab}	98.61±7.17^{ab}
	脱脂乳	96.70±0.44^{b}	0.65±0.02^{b}	89.61±2.48^{b}

注:同列不同字母表示差异显著(P<0.05)。

2.4.2 模拟胃液耐受性 表 2 显示,在模拟空腹条件(生理盐水组)和模拟进食条件(脱脂乳组)下,经过模拟胃液处理,菌株 SS5 细胞的存活率分别为 70.61%±0.30% 和 74.53%±1.09%,细胞存活率均超过了 70%,说明菌株 SS5 细胞对模拟胃液耐受性较好。脱脂乳组的存活率高于生理盐水组,差异显著(P<0.05),可见脱脂乳对菌株 SS5 细胞具有保护作用,说明进食的食物包裹有利于提高菌株 SS5 对胃液的抵抗力性。

模拟胃液处理与模拟胃酸的 pH 一致,但模拟胃液增加了胃蛋白酶。由表 2 可知,经模拟胃液处理的菌株 SS5 细胞存活率(70.61%±0.30%)高于模拟胃酸处理的菌株 SS5 细胞存活率(44.27%±1.19%),结果说明模拟胃液对菌株 SS5细胞的损伤主要来自模拟胃酸的作用,胃蛋白酶不仅没有导致菌株 SS5 细胞损害,其酶对细胞反而起到了保护作用。

表 2 显示,模拟胃液组中,生理盐水组的比生长速率较对照组提高了 106.01%,差异显著(P<0.05);而脱脂牛奶组的比生长速率与对照组差异不显著(P>0.05)。结果表明,菌株 SS5 对模拟胃液所致的影响具有很好的生长修复能力。

Wang 等[40] 从传统发酵蔬菜酸水中分离到一株植物乳植杆菌 LAB19,在 pH2.5 含 MRS 培养基的模拟胃液中的存活率为 83.35%±2.20%,略高于菌株 SS5,但其测试 pH 比本试验 pH2.2 高 0.3,说明在酸度较高的条件下,酸对植物乳植杆菌细胞影响较大。

2.4.3 耐胆盐能力 从表 2 可见,在模拟空腹条件(生理盐水组)和模拟进食条件(脱脂乳组)下,经过胆盐处理,生理盐水组和脱脂乳组的菌株 SS5 细胞的存活率分别为 99.44%±0.66% 和 94.99%±0.64%,存活率均达到了对照组的 90% 以上。生理盐水组与对照组差异不显著(P>0.05)。结果表明,胆盐对菌株 SS5 细胞影响较小,菌株 SS5 具有很好的耐胆盐能力。

胆盐耐受组中，生理盐水组和脱脂乳组的比生长速率分别为 0.69±0.06 h^{-1} 和 0.68±0.04 h^{-1}，相对比生长速率均大于 95%，与对照组差异不显著（P>0.05）。结果表明，胆盐对菌株 SS5 细胞生长繁殖能力影响不显著。

Wang 等[40] 采用含胆盐的 MRS 培养基于 37 ℃ 孵育处理 12 h，以无胆盐的 MRS 培养基按相同操作作为对照，通过生长速率作为存活率评价植物乳植杆菌 LAB19 对胆盐的耐受能力，结果菌株 LAB19 的存活率为 47.85%±1.42%。单纯比较存活率而言，菌株 SS5 对胆盐的耐受能力显著高于菌株 LAB19。但是，从 Wang 等[40] 模拟测试的方法来看，试验结果所能反映的是胆盐对菌株 LAB19 生长的影响，并不能直观反映胆盐对细胞的损害情况。益生菌最终定植生长而发挥益生作用的器官是结肠，而不是小肠。小肠消化物离开小肠时，胆汁几乎已被全部重吸收，进入结肠的胆汁极少。因此，模拟分析小肠胆汁对益生菌的影响，应关注胆盐对细胞的损害作用，即益生菌能否抵抗胆盐的作用而存活，而不是生长耐受性。本试验采用将菌体直接与胆盐混合保温处理，测定存活菌数，更能模拟菌体在小肠中对胆汁的耐受情况。

2.4.4　模拟肠液耐受性　表 2 显示，经过模拟肠液处理，生理盐水组和脱脂乳组的菌株 SS5 细胞的存活率分别为 93.29%±0.83% 和 96.70%±0.44%。虽然存活率低于对照组（P<0.05），但存活率均大于 90%。结果表明，菌株 SS5 细胞对肠液具有很好的耐受能力。

生理盐水组和脱脂乳组的比生长速率分别为 0.72±0.05 h^{-1} 和 0.65±0.02 h^{-1}。生理盐水组的比生长速率与对照组无显著差异（P>0.05）；脱脂乳组的比生长速率略低于对照组（P<0.05），而与生理盐水组差异不显著（P>0.05）。生理盐水组的相对比生长速率为 98.61%，与对照组差异不显著（P>0.05）。结果表明，模拟肠液对菌株 SS5 细胞生长繁殖能力影响不大。Wang 等[40] 采用含 MRS 培养基的模拟肠液于 37 ℃ 孵育处理 12 h，植物乳植杆菌 LAB19 存活率为 50.97%±2.91%，菌株 LAB19 对模拟肠液的耐受能力低于菌株 SS5。

3　结论

指示剂法可借助颜色变化快速定性检测微生物产 GABA 能力，大幅减少 GABA 检测时间和工作量。传统发酵酸性制品是野生型乳酸菌的宝贵资源库。本试验通过指示剂法，成功从自然发酵的八渡酸笋中筛选出一株高产 GABA 的植物乳植杆菌（*Lactiplantibacillus plantarum*）SS5。该菌株的生长特性与人体生理环境基本吻合，具备在肠道定植生长的能力；同时，菌株 SS5 对酸、模拟胃液、胆盐及模拟肠液均表现出较强耐受性，且其比生长速率呈现应激性增加，说明该菌株对细胞损伤具有显著的生长修复能力。由此可见，植物乳植杆菌 SS5 在 GABA 合成能力、安全性、生长特性及益生特性方面均展现出优异的益生潜力，在富 GABA 复合益生菌发酵食品开发（如 GABA 强化酸奶、GABA 果蔬饮品等）及神经健康相关益生菌制剂研发中具有广阔的应用前景，为通过菌-肠-脑轴调控人体健康提供了新的菌种资源。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] SARASA S B, MAHENDRAN R, MUTHUSAMY G, et al. A brief review on the non-protein amino acid, gamma-amino butyric acid (GABA): Its production and role in microbes[J]. Current Microbiology, 2020, 77: 534−544.

[2] ROBERTS E, EIDELBERG E. Metabolic and neurophysiological roles of γ-aminobutyric acid[J]. International Review of Neurobiology, 1960, 2: 279−332.

[3] FAN X K, ZHOU H, SHEN Q W, et al. Gamma-aminobutyric acid-enriched yogurt alleviates anxiety and memory decline in mice with circadian rhythm disorders via the gut-brain axis[J]. Food Bioscience, 2025, 63: 105676−105676.

[4] PRÉVOT T, SIBILLE E. Altered GABA-mediated information processing and cognitive dysfunctions in depression and other brain disorders[J]. Molecular Psychiatry, 2021, 26(1): 151−167.

[5] WANG W H, YAMAGUCHI S, KOYAMA M, et al. Evaluation of the antihypertensive activity of eggplant acetylcholine and γ-aminobutyric acid in spontaneously hypertensive rats[J]. Molecules, 2023, 28(6): 2835−2835.

[6] YAMTSU A, YAMASHITA Y, PANDHARIPANDE T, et al. Effect of oral γ-aminobutyric acid (GABA) administration on sleep and its absorption in humans[J]. Food Science and Biotechnology, 2016, 25(2): 547−551.

[7] ABDOU A M, HIGASHIGUCHI S, HORIE K, et al. Relaxation and immunity enhancement effects of gamma-aminobutyric acid (GABA) administration in humans[J]. Biofactors, 2006, 26: 201−208.

[8] SONG L, DU A, XIONG Y, et al. γ-Aminobutyric acid inhibits the proliferation and increases oxaliplatin sensitivity in human colon cancer cells[J]. Tumor Biology, 2016, 37(11): 14885−14894.

[9] SCHULLER H M, Al-WADEI H A, MAJIDI M. Gamma-aminobutyric acid, a potential tumor suppressor for small airway derived lung adenocarcinoma[J]. Carcinogenesis, 2008, 29(10): 1979−1985.

[10] KIM J Y, LEE M Y, JI G E, et al. Production of γ-aminobutyric acid in black raspberry juice during fermentation by *Lactobacillus brevis* GABA100[J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 130: 12−16.

[11] STRANDWITZ P, KIM K H, TEREKHOVA D, et al. GABA-modulating bacteria of the human gut microbiota[J]. Nature Microbiology, 2019, 4(3): 396−403.

[12] ABURTO M R, CRYAN J F. Gastrointestinal and brain barriers: Unlocking gates of communication across the microbiota–gut–brain axis[J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2024, 21: 222−247.

[13] LANGA S, SANTOS S, FLORES J A, et al. Selection of

GABA-producing lactic acid bacteria strains by polymerase chain reaction using novel *gadB* and *gadC* multispecies primers for the development of new functional foods[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(24): 13696−13696.

[14] LEE X Y, TAN J S, CHENG L H. Gamma aminobutyric acid (GABA) enrichment in plant-based food-a mini review[J]. Food Reviews International, 2023, 39(8): 5864.

[15] ICER M A, SARIKAYA B, KOCYIGIT E, et al. Contributions of gamma-aminobutyric acid (GABA) produced by lactic acid bacteria on food quality and human health: current applications and future prospects[J]. Foods (Basel, Switzerland), 2024, 13(15): 2437−2437.

[16] 杨胜远, 邓宝君, 谭微珠. 戊糖片球菌发酵番茄富集 γ-氨基丁酸工艺条件优化[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(19): 113−120. [YANG S Y, DENG B J, TAN W Z. Optimization of fermentation conditions for enriching γ-aminobutyric acid in tomato by *Pediococcus pentosaceus*[J]. Food Research and Development, 2024, 45(19): 113−120.]

[17] 陈颖, 杨炫康, 王陈晨, 等. 高产 γ-氨基丁酸乳酸菌的筛选及益生特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(17): 40−46. [CHEN Y, YANG X K, WANG C C, et al. Research on screening and probiotic characteristics of lactic acid bacteria with high yield of γ-aminobutyric acid[J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(17): 40−46.]

[18] 吴剑, 南博, 李侠, 等. 高产 γ-氨基丁酸植物乳杆菌的筛选、鉴定及益生特性[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(6): 190−196. [WU J, NAN B, LI X, et al. Screening, identification, and probiotic characterization of a *Lactobacillus plantarum* strain with a high yield of γ-aminobutyric acid[J]. Food Research and Development, 2024, 45(6): 190−196.]

[19] 韩昱姝, 李永转, 胡凤山, 等. 一株高产 γ-氨基丁酸乳酸菌的筛选及应用[J]. 中国酿造, 2017, 36(12): 72−75. [HAN Y S, LI Y Z, HU F S, et al. Screening and application of lactic acid bacteria with a high yield γ-aminobutyric acid[J]. China Brewing, 2017, 36(12): 72−75.]

[20] 肖秋颖, 王翔宇, 陈炼红. 川西高原传统发酵牦牛酸乳中高产 γ-氨基丁酸乳酸菌筛选及鉴定[J]. 食品工业科技, 2021, 42(6): 111−117,124. [XIAO Q Y, WANG X Y, CHEN L H. Screening and identification of lactic acid bacteria with high yield of γ-aminobutyric acid in traditionally fermented yak yogurt in western sichuan plateau[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(6): 111−117,124.]

[21] SIRAGUSA S, DE ANGELIS M, DI CAGNO R, et al. Synthesis of gamma-aminobutyric acid by lactic acid bacteria isolated from a variety of Italian cheeses[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 1(73): 7283−7290.

[22] DIVYASHRI G, PRAPULLA S G. An insight into kinetics and thermodynamics of gamma-aminobutyric acid production by *Enterococcus faecium* CFR 3003 in batch fermentation[J]. Annals of Microbiology, 2015, 65: 1109−1118.

[23] 楼书聪. 化学试剂配制手册[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1993: 394−394. [LOU S C. Handbook of chemical reagent preparation[M]. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Press, 1993: 394−394.]

[24] 杨胜远, 林谦, 赖丽萍, 等. 屎肠球菌纤维素结合域谷氨酸脱羧酶构建及其酶学性质[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(21): 22−30. [YANG S Y, LI Q, LAI L P, et al. Construction and characteristics of recombinant cellulose-binding domain-glutamate decarboxylase of *Enterococcus faecium*[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(21): 22−30.]

[25] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理局. 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[S]. 北京: 中国标准出版社, 2022: 1−4. [National Health Commission of the People's Republic of China, National Administration for Market Regulation. GB 4789.2-2022 National food safety standard-Microbiological examination of foods-determination of total colony count[S]. Beijing: Standards Press of China, 2022: 1−4.]

[26] YANG S Y, LU Z X, LÜ F X, et al. A simple method for rapid screening of bacteria with glutamate decarboxylase activities [J]. Journal of Rapid Methods & Automation in Microbiology, 2006, 14(3): 291−298.

[27] 杨胜远, 徐小丽, 梁永祥. 乙醇对屎肠球菌全细胞谷氨酸脱羧酶表观活力的促进作用[J]. 微生物学通报, 2024, 51(3): 758−768. [YANG S Y, XU X L, LIANG Y X. Ethanol improves the apparent activity of whole-cell glutamate decarboxylase in *Enterococcus faecium*[J]. Microbiology China, 2024, 51(3): 758−768.]

[28] ZHENG J, WITTOUCK S, SALVETTI E, et al. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2020, 70(4): 2782−2858.

[29] 国家卫生健康委. 关于《可用于食品的菌种名单》和《可用于婴幼儿食品的菌种名单》更新的公告[EB/OL]. 2022-08-29 [2025-01-27]. https://zwfw.nhc.gov.cn/kzx/tzgg/sptjjxpzsp_224/202208/t20220829_2363.html. [National Health Commission of the People's Republic of China. Announcement on the update of the "list of bacterial strains available for food" and the "list of bacterial strains available for infant food"[EB/OL]. 2022-08-29 [2025-01-27]. https://zwfw.nhc.gov.cn/kzx/tzgg/sptjjxpzsp_224/202208/t20220829_2363.html.]

[30] RICCI A, ALLENDE A, BOLTON D, et al. Update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 5: suitability of taxonomic units notified to EFSA until September 2016[J]. EFSA Journal, 2017, 15(3): 24−26.

[31] ZHANG J, CAI D, YANG M, et al. Screening of folate-producing lactic acid bacteria and modulatory effects of folate-biofortified yogurt on gut dysbacteriosis of folate-deficient rats[J]. Food & Function, 2020, 11(7): 6308−6318.

[32] EVANS D F, PYE G, BRAMLEY R, et al. Measurement of gastrointestinal pH profiles in normal ambulant human subjects[J]. Gut, 1988, 29(8): 1035−1041.

[33] DO C, EVANS G J, DE AGUEROJ, et al. Dysnatremia in gastrointestinal disorders[J]. Frontiers in Medicine, 2022, 9: 892265.

[34] 杨秀伟, 徐嵬. 中药化学成分的人肠内细菌生物转化模型和标准操作规程的建立[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(1): 19−26. [YANG X W, XU W. Establishment of model and standard operation procedure for biotransformation of chemical constituents of traditional Chinese medicine by human intestinal bacteria[J]. China

Journal of Chinese Materia Medica, 2011, 36(1): 19−26.]
[35] JAN T, NEGI R, SHARMA B, et al. Probiotic formulations for human health: current research and future perspective[J]. Journal of Applied Biology & Biotechnology, 2024, 12(4): 1−16.
[36] DAMAYANTI E, HERDIAN H, ANGWA R M, et al. Lactic acid bacterial screening from gastrointestinal digestive tract of native and broiler chicken for probiotic candidate purposes[J]. Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture, 2012, 37(3): 168−175.
[37] JENSEN B A H, HEYNDRICKX M, JONKERS D, et al. Small intestine vs. colon ecology and physiology: Why it matters in probiotic administration[J]. Cell Reports Medicine, 2023, 4(9): 101190.
[38] 赵欣, 甘奕, 刘佳. 食品营养学[M]. 北京: 中国纺织出版社有限公司, 2023: 9−16. [ZHAO X, GAN Y, LIU J. Food nutrition [M]. Beijing: China Textile & Apparel Press Company Limited, 2023: 9−16.]
[39] 周才琼, 周玉林. 食品营养学[M]. 第三版. 北京: 中国质检出版社, 中国标准出版社, 2017: 15−19. [ZHOU C Q, ZHOU Y L. Food nutrition[M]. Third edition. Beijing: China Quality Inspection Press, Standards Press of China, 2017: 15−19.]
[40] WANG F, LI X, WANG Q, et al. Screening of lactic acid bacteria strains from Chinese fermented food (SuanShui) and its protective effect on acute liver injury in mice[J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2025, 17(6): 4728−4743.