

國立臺灣海洋大學食品科學系碩士班
專題討論書面報告

探討不同食物乳酸菌發酵的最適發
酵菌株、抑菌活性及其發酵前後功能
性物質之變化

授課老師：宋文杰老師

黃意真老師

指導教授：林泓廷老師

報告學生：藍涓齊 (10532004)

報告日期：105 年 12 月 07日

內容	時間掌控	表達能力	投影片	書面資料
40%	10%	30%	10%	10%

指導教授簽名：

探討不同食物乳酸菌發酵的最適發酵菌株、抑菌活性及其發酵前後功能性物質之變化

藍涓齊 (5121)

2016/12/07

大綱

一、前言

二、探討乳酸菌發酵非洲芥藍菜之最適發酵條件與抑菌活性

三、利用乳酸菌作為發酵豬肉的保護性培養物防止 *Clostridium* spp. 生長

四、利用乳酸菌發酵芝麻生產芝麻木酚素並測定芝麻發酵產物之抗氧化活性

五、結論

摘要

乳酸菌發酵的菌株種類繁多，且會因發酵食物或條件的不同而產生不同的作用，例如：抑制雜菌、產生抗氧化物質等等。故本篇研究探討三種不同食物各自最適合的乳酸菌發酵菌株種類，並偵測乳酸菌在發酵過程中的抑菌活性，同時測定食物發酵前後組成份和酚類化合物等功能性物質之變化。以 *Lactobacillus plantarum* BFE 5092 和 *L. fermentum* BFE 6620 發酵非洲芥藍菜，結果顯示實驗組發酵 144 小時的最終 pH 值為 3.6、乳酸濃度為 4.0 g/L；控制組則分別為 pH 4.4 和 2.5 g/L。在乳酸菌與病原菌共同發酵的挑戰性試驗中，*Listeria monocytogenes* 和 *Salmonella* Enteritidis 的菌數在 24 小時達到最高值 4 Log CFU/mL，之後隨著發酵時間逐漸下降，至 144 小時即偵測不到活的細菌存在。以 *L. plantarum* PCS20 和 *L. delbrueckii* DSM 20074 作為保護性培養物發酵豬肉，結果顯示與乳酸菌進行液態共培養的 *Clostridium perfringens* DSM756 和 *Clostridium* sp. DSM 1985，兩者的菌數在發酵末期會降至 1.0–2.0 Log CFU/mL。此外在乳酸菌與亞硝酸鹽共同添加的情況下，發酵豬肉中的梭菌屬菌株於發酵第 9 天時會降至 1.0–1.5 Log CFU/mL。以 *L. plantarum* P8、*L. acidophilus* ATCC 4356 和 *Streptococcus thermophilus* S10 發酵芝麻，結果顯示 *L. plantarum* P8 在生長速度、產酸量和發酵食物中的芝麻木酚素含量皆為三者中最高者，後續之總酚含量、DPPH 自由基清除活性和還原力等測試結果也相同。乳酸菌發酵可以有效抑制食物中病原菌的生長，並能達到產生功能性物質芝麻木酚素及減少食品添加物使用量的效果，具有極高的商業應用潛力。

一、前言

發酵是一種可以保證食品安全的欄柵方法 (Leroy *et al.*, 2013)，能用於保存食物、最大限度減少收穫後損失，同時去除原料毒性、增加主要營養物質和微量元素攝入量 (Holzapfel, 2002)。尤其在非洲等資源較不足的地區，發酵扮演著減少食物的腐敗和食源性疾病的發生這兩項重要的作用。早在數千年前，乳酸菌便被廣泛地運用於各種食品或飲品中，如乾酪、乳酪、泡菜、酸乳等。在所有食品發酵的種類中，乳酸發酵為最古老而且簡單安全的食品保藏方式，是一種以家庭為基礎的食品製造過程 (Oyewole, 1997)，現今已經被世界各地廣泛地接受。

乳酸菌 (Lactic acid bacteria, LAB) 是指能夠代謝糖類、產生 50% 以上乳酸之細菌，常見的乳酸菌包括 *Lactobacillus*、*Streptococcus* 和 *Leuconostoc* 等三大類。乳酸菌是益生菌 (Probiotics) 中最重要的一群，益生菌的定義為某一種或複數種微生物當施以足夠的用量時能賦予宿主健康的益處。而某些特定的保護性乳酸菌在發酵的過程中可以產生抗微生物的肽，例如殺細菌素 (bacteriocin)、有機化合物和代謝化合物等，進而抑制食源性病原菌的生長 (Varsha *et al.*, 2015)。在使用保護性培養物 (protective culture) 的方面，與用於食品中的保護性培養物相關之研究中，科學家對於以乳酸菌作為對抗食品病原菌的研究展現出了極大的興趣 (Comi *et al.*, 2015; Gaggia *et al.*, 2011; Galvez *et al.*, 2010)。作為保護性培養物使用的乳酸菌以及大多數的乳酸菌對人類來說都是安全無虞的，因為它們被美國食品藥品管理局和歐洲食品安全局認定為 GRAS (Generally Recognized As Safe) 及 QPS (Qualified Presumption of Safety)。

現今常用於乳酸發酵的菌株，例如 *L. plantarum* 和 *L. fermentum*，通常都具有產酸快速和可生產殺細菌素等特點 (Cho *et al.*, 2010)。此外 *L. plantarum*、*L. acidophilus* 和 *S. thermophilus* 在發酵過程中都會產生 β -葡萄糖苷酶 (β -glucosidase)，此種酵素能夠水解葡萄糖苷鍵產生小分子的糖類或其它功能性物質。

故本篇報告的主要目的為探討三種不同食物各自最適合的乳酸菌發酵菌株種類，並偵測乳酸菌在食物發酵過程中的抑菌活性，同時測定食物發酵前後組成份和酚類化合物等功能性物質之變化。

二、探討乳酸菌發酵非洲芥藍菜之最適發酵條件與抑菌活性

將 700 g 的非洲芥藍菜葉片置於發酵缸中，加入 2.1 L 的 2.5% 食鹽水溶液，於 25°C 下進行浸沈發酵。發酵組別可分為自發發酵（控制組）、接種發酵（實驗組）及挑戰性試驗發酵三種。接種發酵為同時接種菌株 *L. plantarum* BFE 5092 和 *L. fermentum* BFE 6620 各 7 Log CFU/mL。挑戰性試驗發酵為同時接種上述兩種菌株各 7 Log CFU/mL 與 *Listeria monocytogenes* 和 *Salmonella* Enteritidis 各 4 Log CFU/mL。分別於 0、24、48、72 和 144 小時取樣並進行微生物量、pH 值、乳酸濃度和基因型分析。此外，將發酵前後的非洲芥藍菜於避光條件下凍乾並均質後，進行維生素、組成份和可溶性糖類分析。

在微生物試驗中，實驗組每個發酵階段的總好氧菌平板計數與乳酸菌平板計數結果兩者極為相似 (Fig. 1)。因此判斷在實驗組中，生長在好氧菌平板上的主要菌種可能為實驗所接種的乳酸菌。反之在控制組中，好氧菌平板和乳酸菌平板間的菌數差異較大，顯示在好氧菌平板中生長的細菌可能不是乳酸菌，而是與其數值較為相近的腸內菌平板。另外從圖中也可以看出控制組的酵母菌和黴菌菌數降低速率會較實驗組慢 (Fig. 1)。在發酵期間 pH 值變化圖中，控制組和實驗組的起始 pH 值皆在 6.0 左右，而後在發酵終點時會分別降至 pH 4.4 和 3.6 (Fig. 2a)。許多文獻指出，將 pH 值降到 4.2 以下可以有效確保發酵食品的安全性 (Leroy & De Vuyst, 2004; Motarjemi *et al.*, 1996)。由於控制組的 pH 值降低速度較緩慢，所以相應地其乳酸濃度上升的速度也會較慢。在發酵期間乳酸濃度變化圖中，控制組的乳酸濃度於 48 小時後才達到可偵測極限，且發酵終點測得的乳酸濃度為 2.5 g/L，明顯低於實驗組的 4.0 g/L (Fig. 2b)。在挑戰性試驗發酵圖中，*List. monocytogenes* 和 *Salmonella* Enteritidis 的菌數會隨時間增加而逐漸降低，且發酵 144 小時過後即偵測不到活的細菌 (Fig. 3)。另外，腸內菌平板上的菌數和沙門氏菌平板極為接近，故推斷 *Salmonella* Enteritidis 很可能是生長在腸內菌平板上的主要菌種。基因型分析會將樣品以 RAPD-PCR 擴增後進行變性梯度電泳分析。從結果可以看出，控制組的微生物生物多樣性直到發酵 48 小時後才有明顯增加；而實驗組則是在整個發酵期間都保持一致，且整個發酵期間都能明顯觀察到與乳酸菌菌株樣品相同的條帶 (Fig. 4)。

由於維生素 C、B₁ 和 B₂ 為水溶性，所以非洲芥藍菜在發酵過後維生素的含量會明顯降低 (Fig. 5a)。發酵時添加的食鹽水溶液造成了產品灰份含量的增加，而蛋白質則作為微生物的營養來源而減少，另外脂肪和總膳食纖維含量並無顯著的差異 (Fig. 5b)。測定發酵前後可溶性糖類含量後發現僅有 0.01 g/100 g 的果糖殘留，其餘幾乎都在發酵過程中被利用殆盡，因此可以確定非洲芥藍菜含有 1.5% 的發酵糖，且這些糖類足以提供足夠的營養來源以支持發酵菌的生長 (Fig. 5c)。

由上述結果可以得知，接種發酵中的兩個乳酸菌菌株可以有效抑制革蘭氏陰性細菌和病原菌的生長，並能主導發酵的進行。

三、利用乳酸菌作為發酵豬肉的保護性培養物防止 *Clostridium* spp.

生長

肉製品多會添加亞硝酸鹽用以抑制 *Clostridium* spp. 和其他病原菌的生長，但由於亞硝酸鹽具有潛在的危害，現代的研究多致力於尋找天然的替代物取代亞硝酸鹽的使用。以 Spot agar test 和液態共培養法測試乳酸菌菌株對梭菌屬菌株的抑制活性。隨後將 *L. plantarum* PCS20 和 *L. delbrueckii* DSM 20074 作為保護性培養物接種至豬絞肉中，以平板計數法、Real time RCR 和 RAPD-PCR 偵測發酵期間乳酸菌菌株的生長情形。最後進行挑戰性試驗，觀察 *L. plantarum* PCS20 和亞硝酸鹽 (NaNO_2) 對肉品中 *Clostridium perfringens* DSM756 和 *Clostridium* sp. DSM 1985 的抑制作用 (Table. 1)。

Spot agar test 所有測試組合的抑菌環直徑皆在 2.5–3.5 cm 的範圍內，代表兩種乳酸菌菌株都有抑制實驗中兩種梭菌屬菌株生長的能力 (Fig. 6)。在液態培養法中，*Clostridium* sp. DSM 1985 和 *C. perfringens* DSM756 的存在並不會影響與其共培養之 *L. plantarum* PCS20 菌株的生長 (Fig. 7)，對 *L. delbrueckii* DSM 20074 也是相同的結果 (Fig. 8)。反之，兩種梭菌屬菌株的生長皆會被與其共培養的乳酸菌菌株大幅抑制 (Fig. 7 and 8)。總結來說，*L. plantarum* PCS20 具有相對較佳的抑制活性，而 *Clostridium* sp. DSM 1985 對乳酸菌的存在相對較敏感。肉品中的乳酸菌平板計數結果顯示，在接種兩天後所有組別的乳酸菌菌數都有 1.5–2.0 Log CFU/g 的增加；而在第六天時，所有組別的乳酸菌菌數皆上升到約 9 Log CFU/g (Table. 2)。進一步以 RAPD-PCR 分析保護性培養物在豬絞肉中的存活率。可以從圖中得知 *L. plantarum* PCS20 的生長情形較佳，在第六天時仍占有 47% 的比例 (Fig. 9A)，而 *L. delbrueckii* DSM 20074 卻僅剩下 11% (Fig. 9B)。挑戰性試驗的結果顯示，同時添加 *L. plantarum* PCS20 和 NaNO_2 可使肉品中的 *C. perfringens* DSM756 在第二到五天顯著下降，第九天時降至 1.5 Log CFU/g (Fig. 10A)。上述條件對 *Clostridium* sp. DSM 1985 也有相同的趨勢，而在實驗第九天時，添加 *L. plantarum* PCS20 的組別無論 NaNO_2 存在與否，皆能使 *Clostridium* sp. DSM 1985 降至 1 Log CFU/g (Fig. 10B)。

由上述結果可以得知，使用乳酸菌作為保護性培養物的生物性防腐方式可以做為減少發酵肉製品中亞硝酸鹽含量的有效方法。

四、利用乳酸菌發酵芝麻生產芝麻木酚素並測定芝麻發酵產物之抗氧化活性

化活性

三糖基芝麻木酚素 (Sesaminol triglucoside, STG) 為芝麻中最主要之木聚糖 (lignan)，經 β -glucosidase 水解後可產生芝麻木酚素 (sesaminol) 和配糖基 (aglycone) 而展現良好的抗氧化活性。脫脂過後的芝麻經浸泡、煮沸、研磨、過濾等步驟萃取出芝麻汁，再將其以 121°C 滅菌 15 分鐘後冷藏備用。芝麻汁分別接種 1% v/v 的 *L. plantarum* P8 (LP)、*S. thermophilus* S10 (ST) 和 *L. acidophilus* ATCC 4356 (LA) 等可產生 β -glucosidase 的菌株，以 37°C 發酵 24 小時。每隔 4–6 小時取樣進行微生物平板計數、pH 值、可滴定酸、木聚糖含量、總酚類含量、DPPH 自由基清除活性和還原力測試等分析。另外，取發酵前後的芝麻汁樣品進行組成份分析。最後結果將以統計分析數據表示。

樣品的起始 pH 值為 6.44–6.52，經過 24 小時發酵後顯著地 ($p < 0.05$) 降低至 pH 4.69–5.34，其中以 LP 發酵的芝麻樣品具有最低的最終 pH 值 (Fig. 11)。樣品的起始可滴定酸度為 0.26–0.28%，經過 24 小時發酵後增加至 0.61–0.83% (Fig. 11)。從圖中可以看出，發酵芝麻的可滴定酸度會隨著發酵時間顯著地 ($p < 0.05$) 增加，其中以 LP 發酵的樣品展現出的高上升幅度。而在發酵過程中，乳酸菌的菌數會從 7.1–7.3 Log CFU/mL 逐漸增加至 8.1–8.6 Log CFU/mL (Fig. 12)。發酵產品的最低可接受微生物量為 6–9 Log CFU/mL，因此芝麻也適合乳酸菌生長。組成份分析結果顯示，發酵前後芝麻的粗脂肪和碳水化合物含量並無顯著變化，而以 LP 發酵的樣品粗蛋白含量則有顯著的增加 ($p < 0.05$) (Table. 3)。發酵芝麻樣品的木聚糖 HPLC 分析結果以 STG 和芝麻木酚素的含量變化來表示。從結果中可以看出 STG 的濃度有顯著地下降 ($p < 0.05$)，相對來說芝麻木酚素的濃度有顯著地上升 ($p < 0.05$)，尤其以 LP 發酵的芝麻其芝麻木酚素上升的含量最高，達到 35.1 mg/10 g (Table. 4)。這樣的結果顯示 *L. plantarum* 可以做為芝麻發酵產生芝麻木酚素的菌醃菌株，且有研究顯示 STG 可以做為適合腸道微生物群利用的基質 (Zhu *et al.*, 2013)。植物的抗氧化活性取決於其酚類化合物的含量 (Ferreira *et al.*, 2007)。發酵芝麻的總酚含量明顯高於未發酵者，且會隨著發酵時間增加而上升，其中以 LP 發酵的芝麻在 24 小時有最高的含量，即 14.79 mg/10 g GAE (Fig. 13)。最高的 DPPH 清除活性為 80.56%，顯示於以 LP 發酵 24 小時的芝麻樣品中 (Fig. 14)。最後，還原力與抗氧化活性有密切的相關性。最高的還原力為吸光值 (OD₇₀₀) 2.16，顯示於以 LP 發酵 24 小時的芝麻樣品中 (Fig. 14)。

由上述結果可以得知，在發酵期間 STG 可以經由微生物水解轉化成芝麻木酚素，且 *L. plantarum* P8 可以作為最有效生產功能性發酵芝麻的菌株。

五、結論

1. *L. plantarum* BFE 5092 和 *L. fermentum* BFE 6620 具有快速生長和產酸的特性，適合作為菌醃菌株發酵非洲芥藍菜。
2. *L. plantarum* PCS20 可以做為有效的保護性培養物，將發酵肉製品中的梭菌屬菌株抑制在 1.5 Log CFU/g 以下。
3. *L. plantarum* P8 的生長及芝麻木酚素產量皆優於 *S. thermophilus* S10 和 *L. acidophilus* ATCC 4356 兩株菌株，最適合作為菌醃菌株發酵芝麻並有效生產功能性的抗氧化物質。
4. 乳酸菌發酵可以有效抑制食物中革蘭氏陰性菌和病原菌的生長，並能達到產生功能性物質及減少食品添加物（例如：亞硝酸鹽）使用量的效果，具有極高的商業應用潛力。

參考文獻

- Bae, J.J., Yeon, S.J., Park, W.J., Hong, G.E., Lee, C.H. 2016. Production of sesaminol and antioxidative activity of fermented sesame with *Lactobacillus plantarum* P8, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, *Streptococcus thermophilus* S10. *Food Science and Biotechnology*, **25**, 199-204.
- Cho, G.S., Hanak, A., Huch, M., Holzapfel, W.H., Franz, C.M.A.P. 2010. Genetic analysis of the plantaricin EF locus of *Lactobacillus plantarum* PCS 20 reveals an unusual plantaricin E gene sequence as a result of mutation. *International Journal of Food Microbiology*, **141**, 117-124.
- Comi, G., Tirloni, E., Andyanto, D., Manzano, M., Iacumin, L. 2015. Use of bio-protective cultures to improve the shelf-life and the sensorial characteristics of commercial hamburgers. *Lwt-Food Science and Technology*, **62**, 1198-1202.
- Di Gioia, D., Mazzola, G., Nikodinoska, I., Aloisio, I., Langerholc, T., Rossi, M., Raimondi, S., Melero, B., Rovira, J. 2016. Lactic acid bacteria as protective cultures in fermented pork meat to prevent *Clostridium* spp. growth. *International Journal of Food Microbiology*, **235**, 53-59.
- Ferreira, I.C.F.R., Baptista, P., Vilas-Boas, M., Barros, L. 2007. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chemistry*, **100**, 1511-1516.
- Gaggia, F., Di Gioia, D., Baffoni, L., Biavati, B. 2011. The role of protective and probiotic cultures in food and feed and their impact in food safety. *Trends in Food Science and Technology*, **22**, S58-S66.
- Galvez, A., Abriouel, H., Benomar, N., Lucas, R. 2010. Microbial antagonists to food-borne pathogens and biocontrol. *Current Opinion in Biotechnology*, **21**, 142-148.
- Holzapfel, W.H. 2002. Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. *International Journal of Food Microbiology*, **75**, 197-212.
- Leroy, F., De Vuyst, L. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*, **15**, 67-78.
- Leroy, F., Geyzen, A., Janssens, M., De Vuyst, L., Scholliers, P. 2013. Meat fermentation at the crossroads of innovation and tradition: A historical outlook. *Trends in Food Science and Technology*, **31**, 130-137.
- Motarjemi, Y., Nout, M.J.R., Adams, M., Bosman, L., Fuchs, R., Harcourt, D., Hastings, J.W., vonHoly, A., Holzapfel, W.H., Kouthon, G., Lee, C.H., Liebenberg, B., Lorri, W., Marovatsanga, L., Matji, J., Mbugua, S.K., Mensah, P.,

- Merican, Z., Meyer, I., Oyewole, O.B., Quevedo, F., Reilly, A., vanRijssen, F.W.J., vandeSande, T., Sanni, M.O., Steinkraus, K.H., Svanberg, U., Tomkins, A., Webster, J., Westby, A., deWet, J., Willken, I. 1996. Food fermentation: A safety and nutritional assessment. *Bulletin of the World Health Organization*, **74**, 553-559.
- Oguntoyinbo, F.A., Cho, G.S., Trierweiler, B., Kabisch, J., Rosch, N., Neve, H., Bockelmann, W., Frommherz, L., Nielsen, D.S., Krych, L., Franz, C.M. 2016. Fermentation of African kale (*Brassica carinata*) using *L. plantarum* BFE 5092 and *L. fermentum* BFE 6620 starter strains. *International Journal of Food Microbiology* **238**, 103-112.
- Oyewole, O.B. 1997. Lactic fermented foods in Africa and their benefits. *Food Control*, **8**, 289-297.
- Varsha, K.K., Devendra, L., Shilpa, G., Priya, S., Pandey, A., Nampoothiri, K.M. 2015. 2,4-Ditert-butyl phenol as the antifungal, antioxidant bioactive purified from newly isolated *Lactococcus* sp. *International Journal of Food Microbiology*, **211**, 40-50.
- Zhu, X.L., Zhang, X., Sun, Y.K., Su, D., Sun, Y., Hu, B., Zeng, X.X. 2013. Purification and Fermentation in Vitro of Sesaminol Triglycoside from Sesame Cake by Human Intestinal Microbiota. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **61**, 1868-1877.

Table. 1. Experimental study design of the Challenge test.

Control batches	Protective culture	<i>Clostridium</i> strain	NaNO ₂ 150 mg/kg
1	—	<i>C. perfringens</i>	+
2	—	<i>C. perfringens</i>	—
3	—	<i>Clostridium</i> sp.	+
4	—	<i>Clostridium</i> sp.	—
Challenge test batches			
5	<i>L. plantarum</i>	<i>C. perfringens</i>	+
6	<i>L. plantarum</i>	<i>C. perfringens</i>	—
7	<i>L. plantarum</i>	<i>Clostridium</i> sp.	+
8	<i>L. plantarum</i>	<i>Clostridium</i> sp.	—

(Di Gioia *et al.*, 2016)

Table. 2. Microbial counts on MRS agar plates of the two meat batters considered in the work inoculated with *L. plantarum* PCS20 or with *L. delbrueckii* DSM200074 and not inoculated with any culture (Control). Counts on meat batter 2 have also been performed with real time PCR using primers targeted to the *Lactobacillus* genus.

Sampling day	Conditions	Log CFU/g		
		Meat batter 1		Meat batter 2
		Plate counts	Plate counts	Real time PCR
0	+ PCS20	6.10 $\pm$ 0.20	7.00 $\pm$ 0.35	6.70 $\pm$ 0.15
0	+ DSM 200074	6.20 $\pm$ 0.15	7.05 $\pm$ 0.20	6.80 $\pm$ 0.30
0	Control	4.00 $\pm$ 0.10	7.15 $\pm$ 0.32	6.80 $\pm$ 0.15
2	+ PCS20	8.40 $\pm$ 0.35	9.15 $\pm$ 0.10	8.80 $\pm$ 0.25
2	+ DSM 200074	8.50 $\pm$ 0.45	8.90 $\pm$ 0.25	8.45 $\pm$ 0.30
2	Control	8.60 $\pm$ 0.25	8.95 $\pm$ 0.20	8.70 $\pm$ 0.15
4	+ PCS20	8.70 $\pm$ 0.25	9.20 $\pm$ 0.25	8.50 $\pm$ 0.40
4	+ DSM 200074	8.30 $\pm$ 0.45	8.80 $\pm$ 0.35	7.50 $\pm$ 0.30
4	Control	8.40 $\pm$ 0.35	8.10 $\pm$ 0.20	8.40 $\pm$ 0.25
6	+ PCS20	8.50 $\pm$ 0.20	9.30 $\pm$ 0.35	8.45 $\pm$ 0.30
6	+ DSM 200074	8.30 $\pm$ 0.35	9.20 $\pm$ 0.35	8.80 $\pm$ 0.25
6	Control	8.40 $\pm$ 0.30	9.15 $\pm$ 0.30	9.00 $\pm$ 0.45

(Di Gioia *et al.*, 2016)

Table. 3. Proximate component of fermented and non-fermented sesame (unit: g/100 g)

Group ¹⁾	Total solid	Crude fat	Crude protein	Ash	Carbohydrate
Con	0.23±0.00 ^{AB2)}	71.93±2.52 ^A	9.95±0.15 ^{AB}	2.73±0.23 ^B	15.17±2.76 ^A
LP	0.17±0.05 ^B	72.50±3.70 ^A	10.63±0.38 ^A	3.59±0.21 ^A	13.12±3.41 ^A
ST	0.31±0.06 ^A	75.15±2.12 ^A	7.37±0.55 ^C	2.56±0.20 ^B	14.61±2.26 ^A
LA	0.15±0.05 ^B	69.12±2.73 ^A	9.11±0.14 ^B	2.48±0.51 ^B	19.15±2.33 ^A

¹⁾Con, control; non-fermented sesame; LP, fermented sesame with *Lactobacillus plantarum* P8; ST, fermented sesame with *Streptococcus thermophilus* S10; LA, fermented sesame with *Lactobacillus acidophilus* ATCC4356

²⁾Values are mean±SD (n=3); Values in the same column with different superscripts are significantly (p<0.05) different.

(Bae *et al.*, 2016)

Table. 4. Changes in lignan contents of sesame with and without fermentation with LAB (unit: mg/10 g)

Lignan	Time (h)	Strains			
		Con ¹⁾	LP	ST	LA
Sesaminol triglucosides	0	104.9±0.22 ^{ABns2)}	104.8±0.28 ^A	104.5±0.16 ^A	104.5±0.30 ^A
	4	105.1±0.02 ^{ABa}	88.3±0.10 ^{Bc}	92.9±0.09 ^{Bb}	88.3±0.71 ^{Bc}
	8	104.6±0.41 ^{Ba}	68.7±0.06 ^{Cc}	74.5±0.08 ^{Cb}	74.2±0.10 ^{Cb}
	12	104.9±0.45 ^{ABa}	58.6±0.07 ^{Dd}	64.1±0.14 ^{Dc}	65.6±0.15 ^{Db}
	18	105.3±0.23 ^{ABa}	51.8±0.12 ^{Ed}	57.4±0.19 ^{Ec}	65.6±0.11 ^{Db}
	24	105.6±0.50 ^{Aa}	51.7±0.14 ^{Ed}	57.8±0.45 ^{Ec}	65.6±0.12 ^{Db}
Sesaminol	0	ND ^{NSns}	ND ^E	ND ^E	ND ^D
	4	ND ^d	19.5±0.04 ^{Da}	17.3±0.04 ^{Db}	15.2±0.05 ^{Cc}
	8	ND ^d	25.1±0.07 ^{Ca}	22.9±0.07 ^{Cb}	22.0±0.03 ^{Bc}
	12	ND ^d	29.1±0.14 ^{Bb}	28.9±0.05 ^{Bc}	30.5±0.16 ^{Aa}
	18	ND ^d	35.1±0.04 ^{Aa}	32.9±0.20 ^{Ab}	30.6±0.52 ^{Ac}
	24	ND ^d	34.1±0.05 ^{Aa}	32.6±0.14 ^{Ab}	30.6±0.09 ^{Ac}

¹⁾Con, control; non-fermented sesame; LP, fermented sesame with *Lactobacillus plantarum* P8; ST, fermented sesame with *Streptococcus thermophilus* S10; LA, fermented sesame with *Lactobacillus acidophilus* ATCC4356

²⁾Values are mean±SD (n=3); ND, not detected; Values with different superscripts capital letters are significantly different during fermentation time ($p<0.05$). Values with different superscripts small letters are significantly different among strains ($p<0.05$); NS, not significant

(Bae *et al.*, 2016)

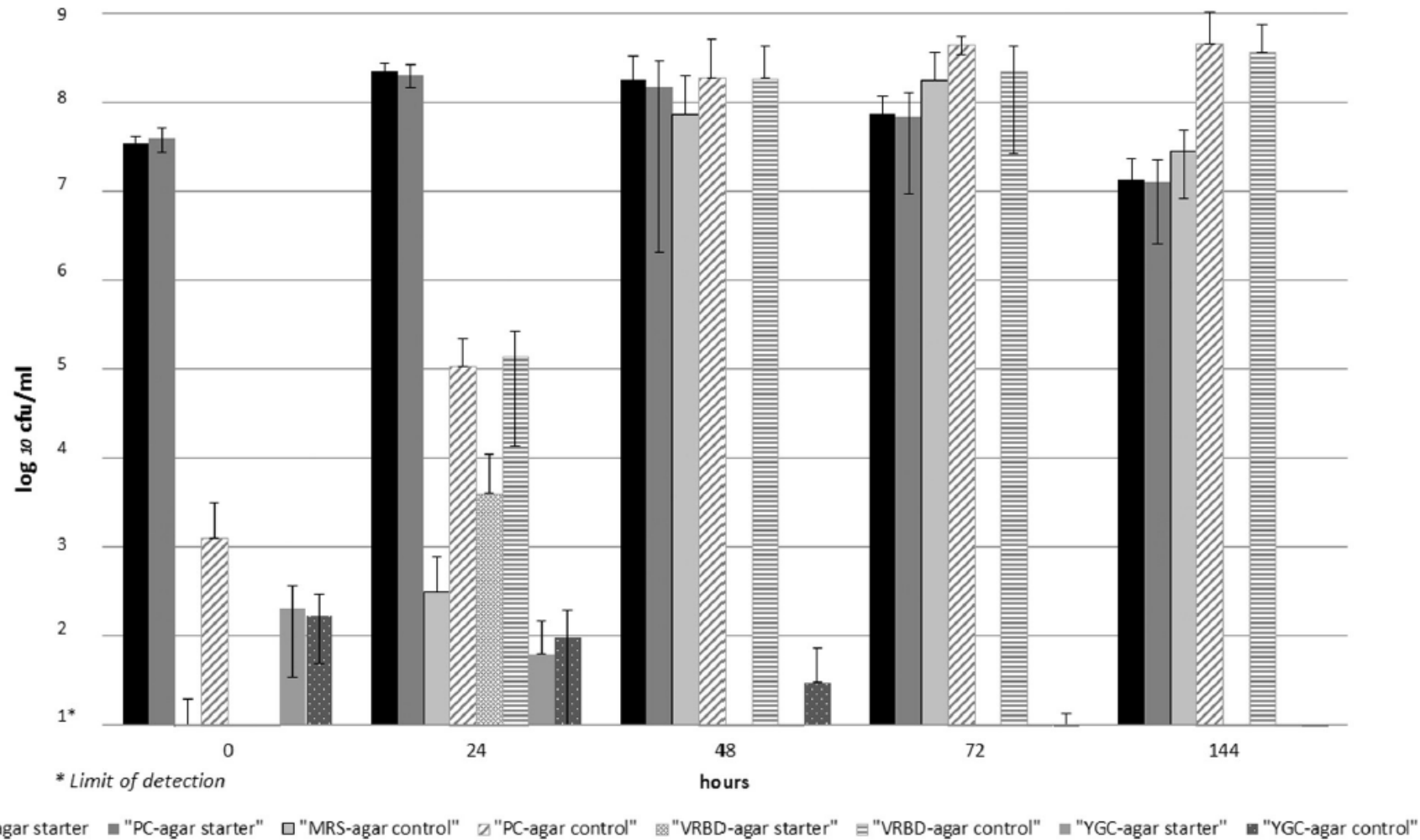
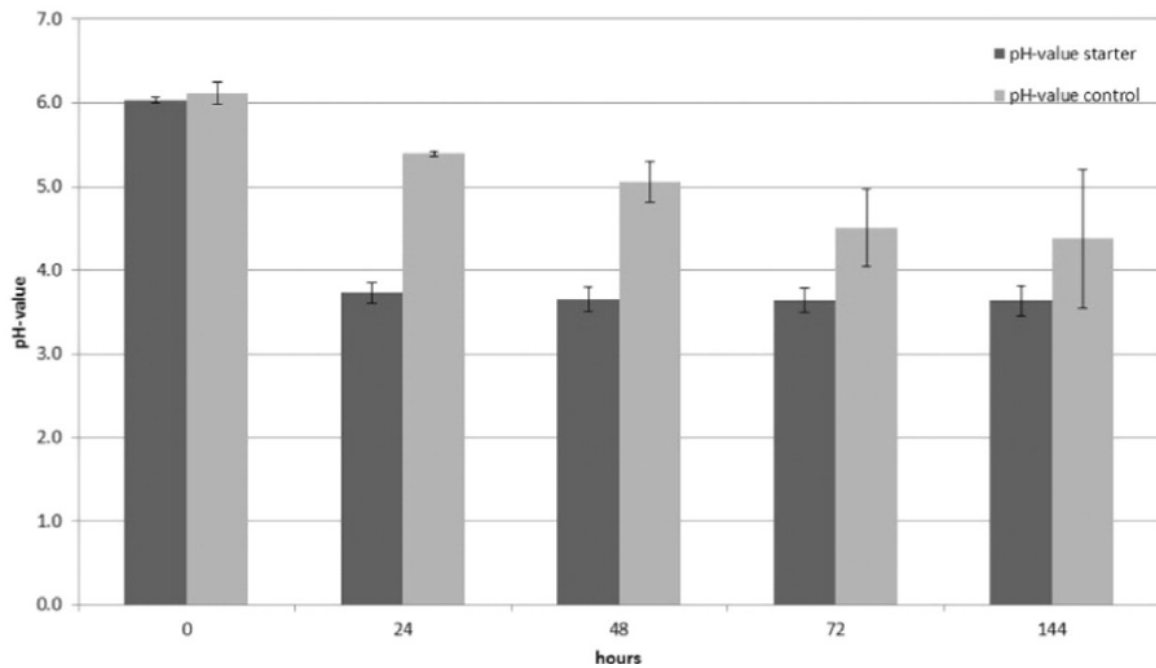


Fig. 1. Lactic acid bacteria counts, aerobic mesophilic plate counts, enterobacteria counts and yeast and mold counts of kale fermentations without starter bacteria (control) or inoculated with *L. plantarum* BFE 5092 and *L. fermentum* BFE 6620 starter bacteria (starter) for 144 h. Counts were determined in triplicate, the standard deviations are indicated.

(Oguntoyinbo *et al.*, 2016)

a)



b)

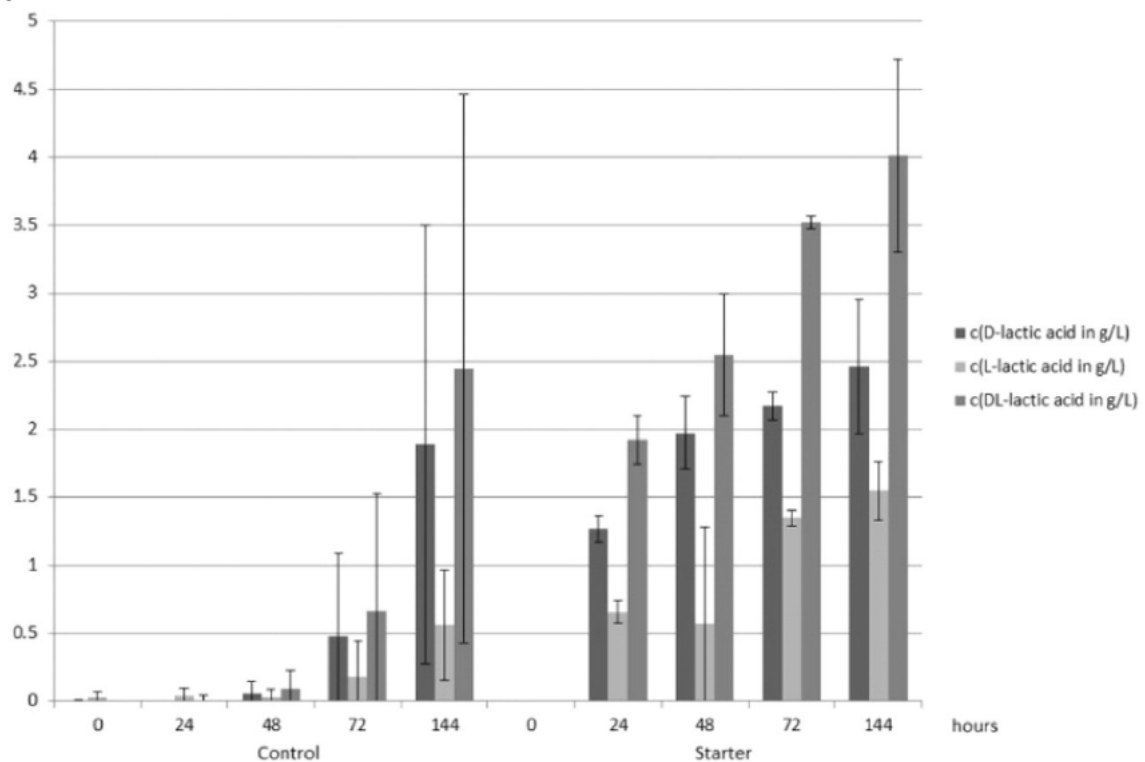


Fig. 2. Development of pH (a) and lactic acid (D and L isomers) concentration (b) during fermentation of kale without starter bacteria added (control) or with added *L. plantarum* BFE 5092 and *L. fermentum* BFE 6620 starter bacteria (starter) for 144 h. Determinations were done in triplicate, the standard deviations are indicated.

(Oguntoyinbo *et al.*, 2016)

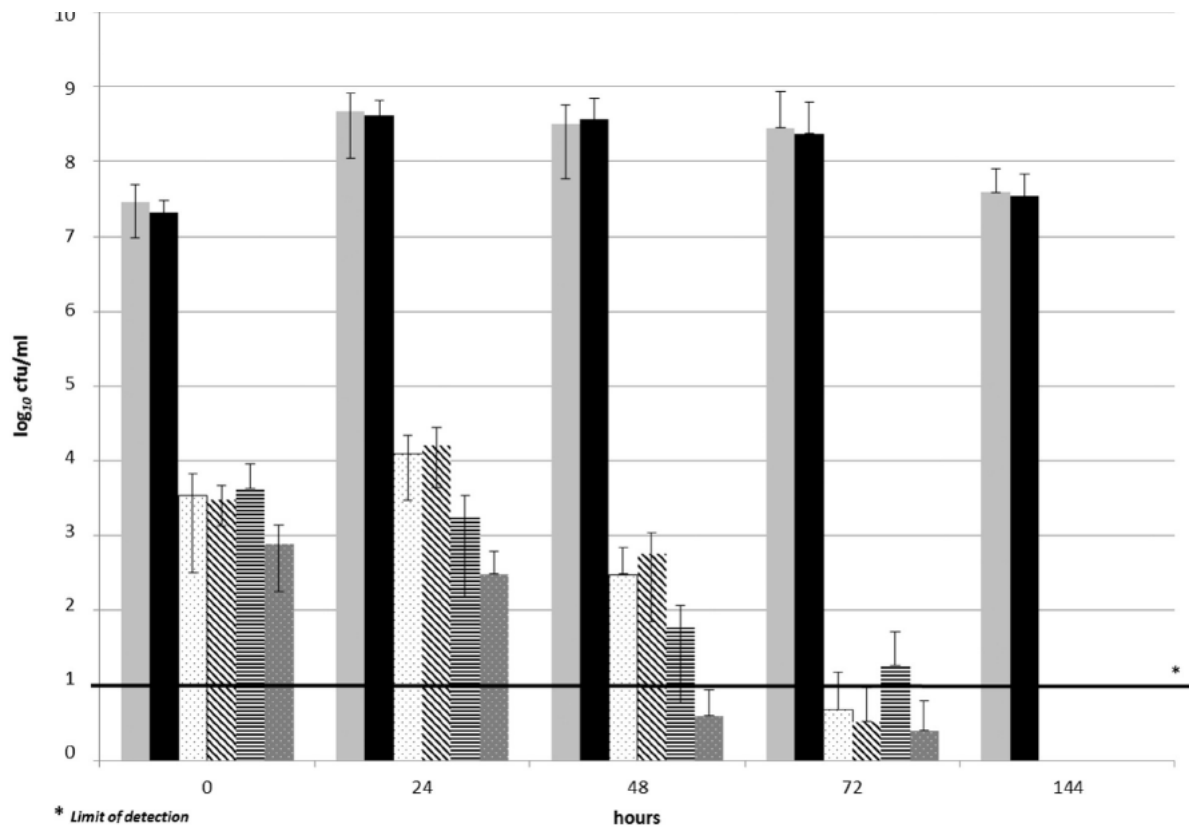


Fig. 3. Lactic acid bacteria counts, aerobic mesophilic plate counts, enterobacteria counts, *Salmonella* Enteritidis counts and *Listeria monocytogenes* counts of kale fermentations without starter bacteria (control) or inoculated with *L. plantarum* BFE 5092 and *L. fermentum* BFE 6620 starter bacteria (starter) for 144 h. Counts were determined in triplicate, the standard deviations are indicated.

(Oguntoyinbo *et al.*, 2016)

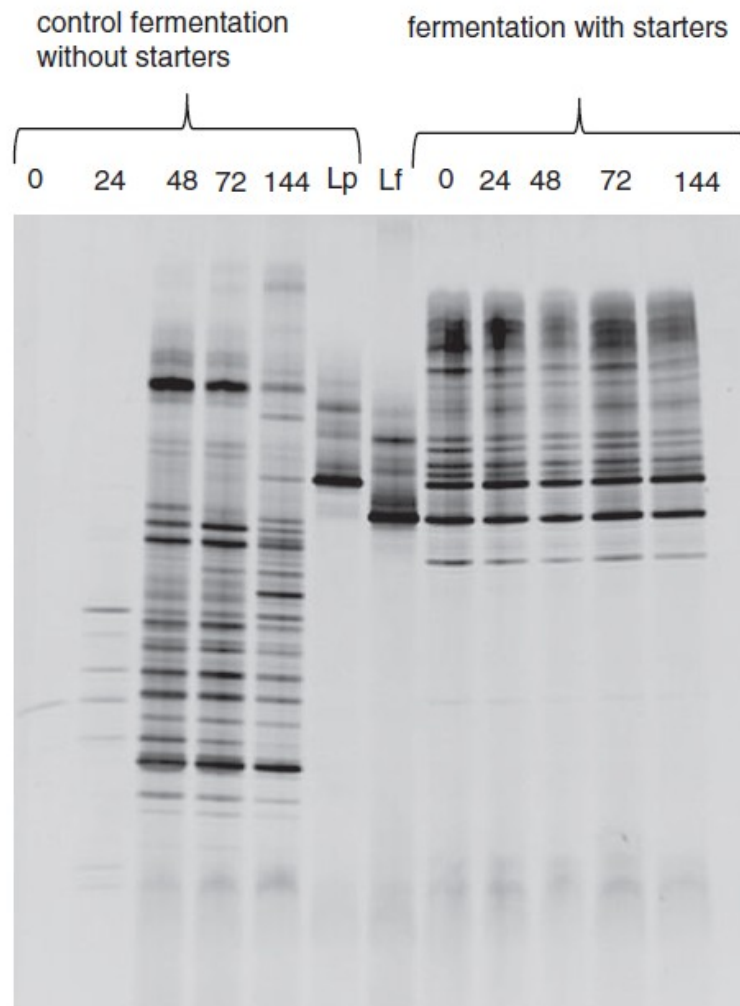


Fig. 4. DGGE profiles of PCR amplified 16S rRNA gene fragments of fermented kale samples for up to 144 h without starter bacteria or inoculated with starter bacteria showing major eubacterial amplicons. As a comparison, the DGGE profiles of PCR amplified amplicons of the starter strains *L. plantarum* BFE 5092 (Lp) and *L. fermentum* BFE 6620 (Lf) are also shown.

(Oguntoyinbo *et al.*, 2016)

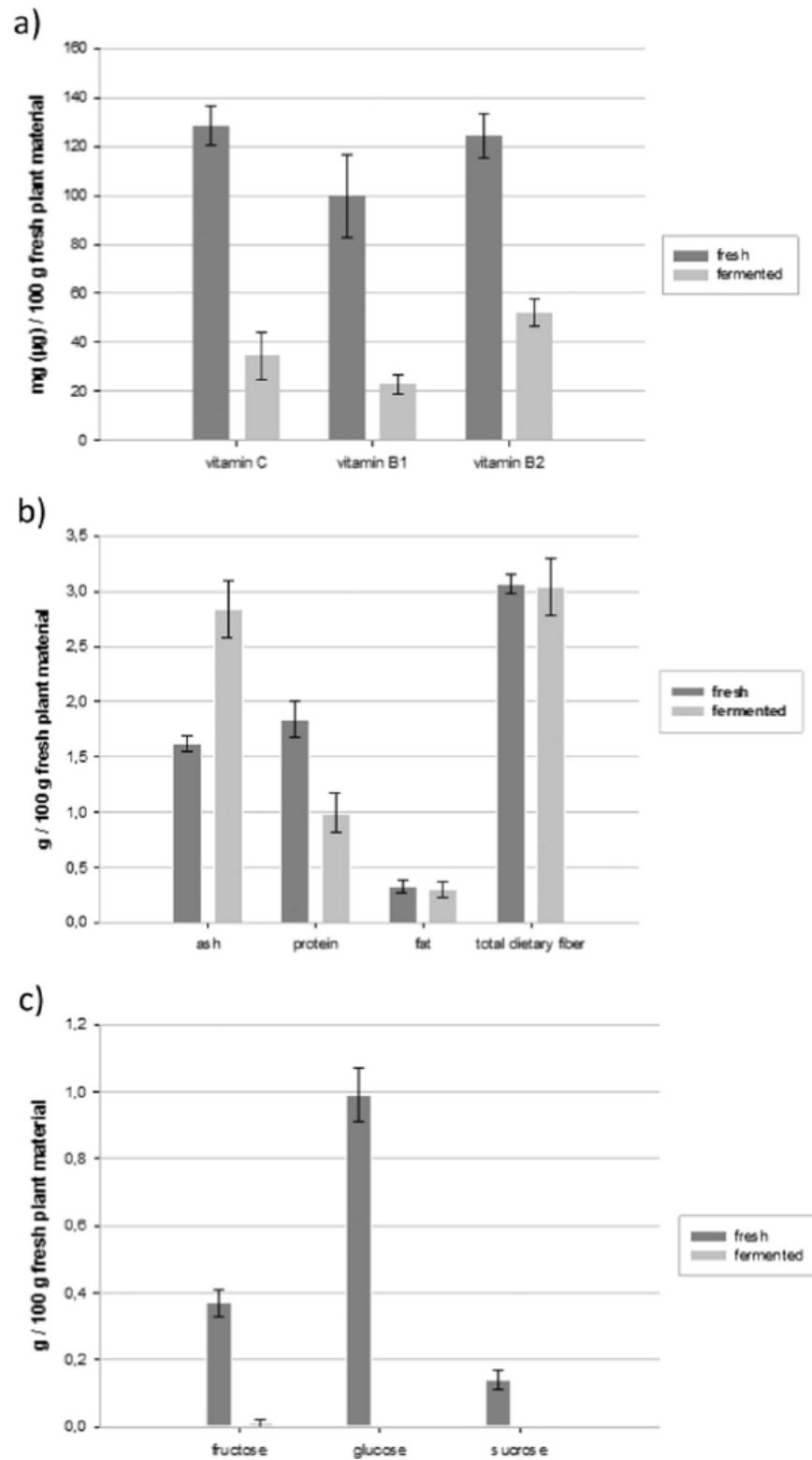


Fig. 5. Vitamin concentrations in fresh and fermented kale (a), proximate nutrient composition of fresh and fermented kale (b) and concentration of soluble sugars in fresh and fermented kale. Results of triplicate determinations are shown.

(Oguntoyinbo *et al.*, 2016)



Fig. 6. Spot agar test showing growth inhibition of *C. perfringens* DSM756 by *L. delbrueckii* DSM 20074 (left) and *L. plantarum* PCS20 (right) strains.

(Di Gioia *et al.*, 2016)

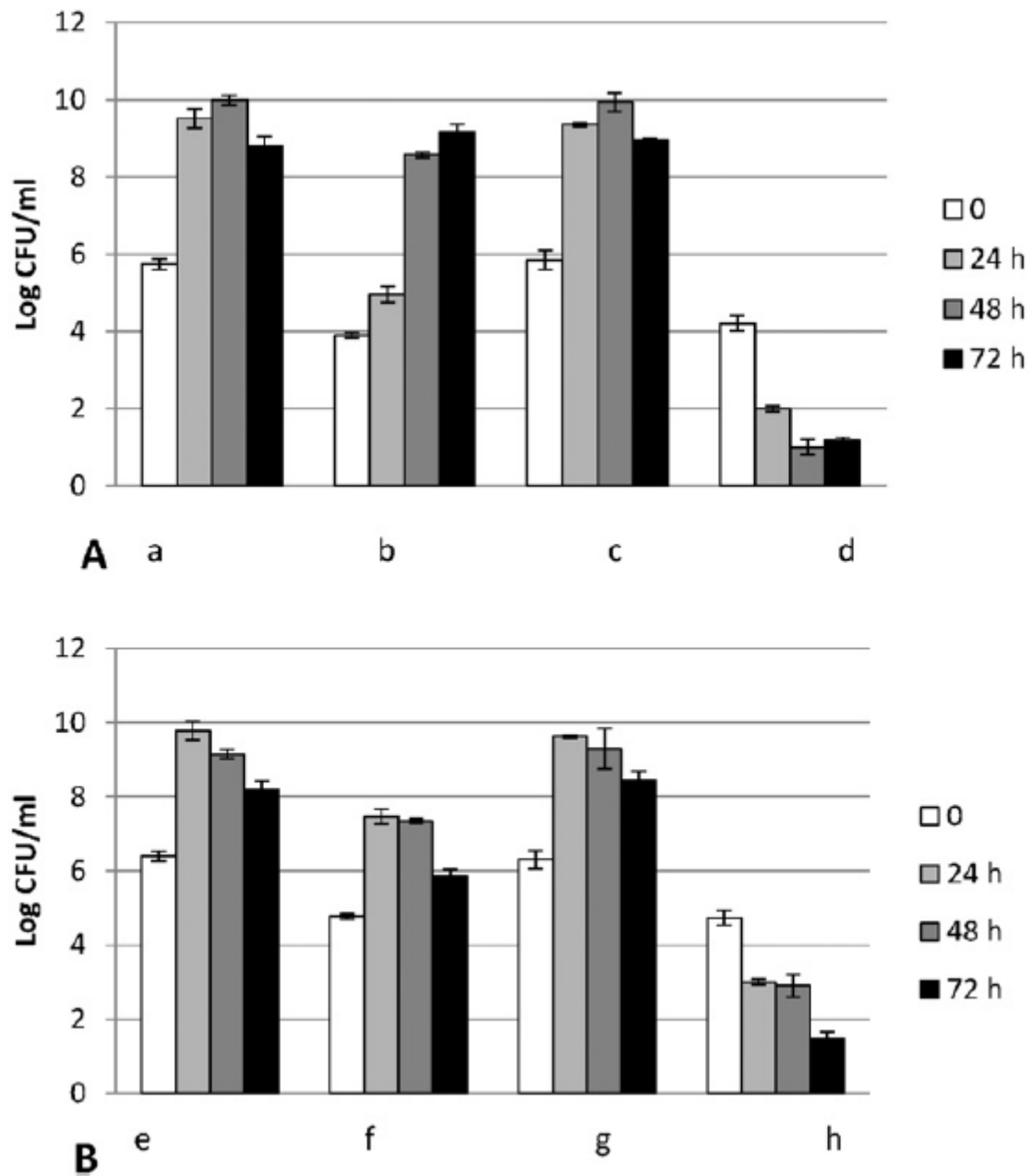


Fig. 7. Antagonistic activity of *L. plantarum* PCS20 in liquid cultures against *Clostridium* sp. DSM1985 (Fig. 2A): a) *L. plantarum* PCS20 single culture, b) *Clostridium* sp. single culture, c) *L. plantarum* PCS20 co-culture, d) *Clostridium* sp. in co-culture; and *C. perfringens* DSM 756 (Fig. 2B): e) *L. plantarum* PCS20 single culture, f) *C. perfringens* single culture, g) *L. plantarum* PCS20 co-culture, h) *C. perfringens* in co-culture.

(Di Gioia *et al.*, 2016)

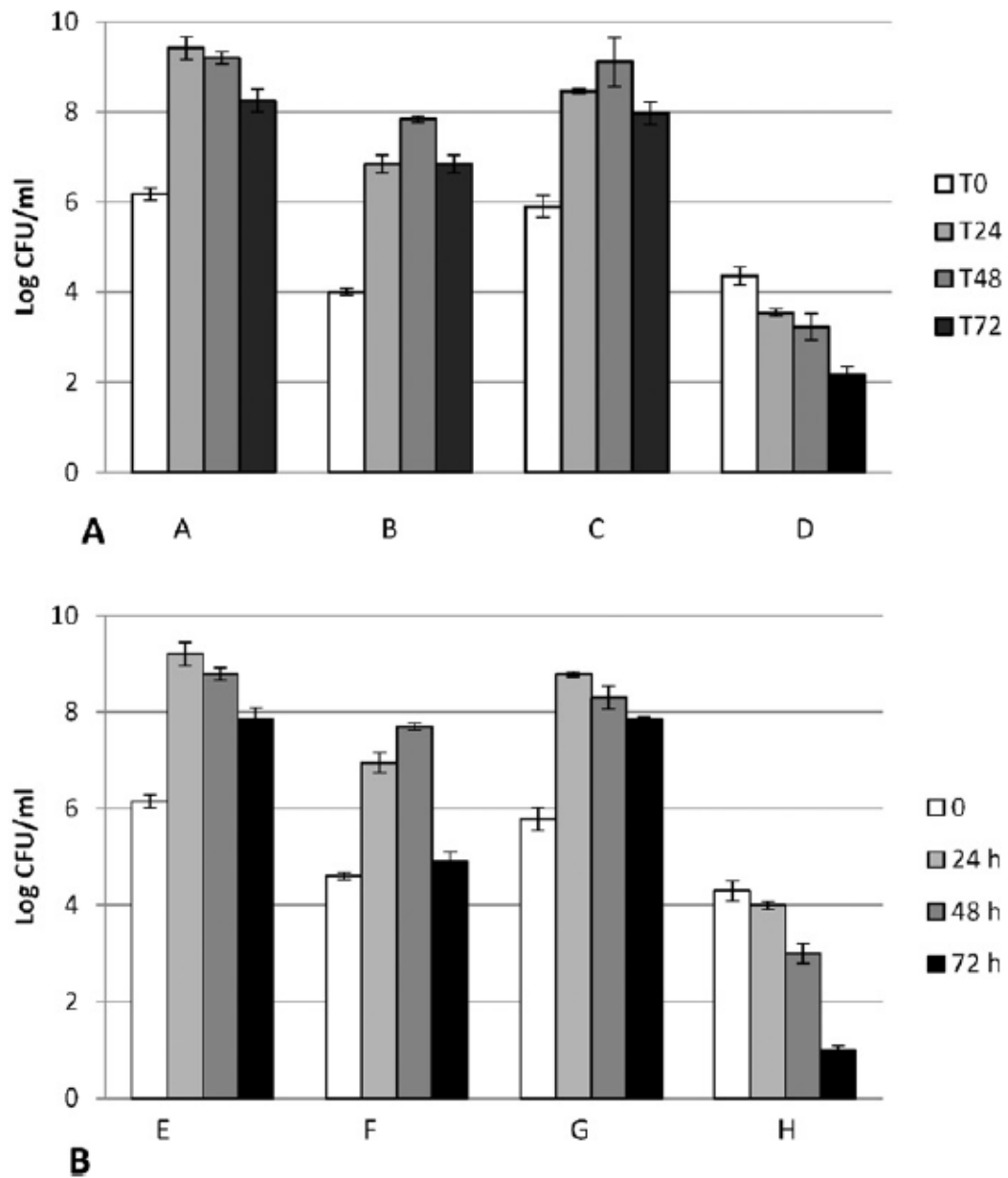
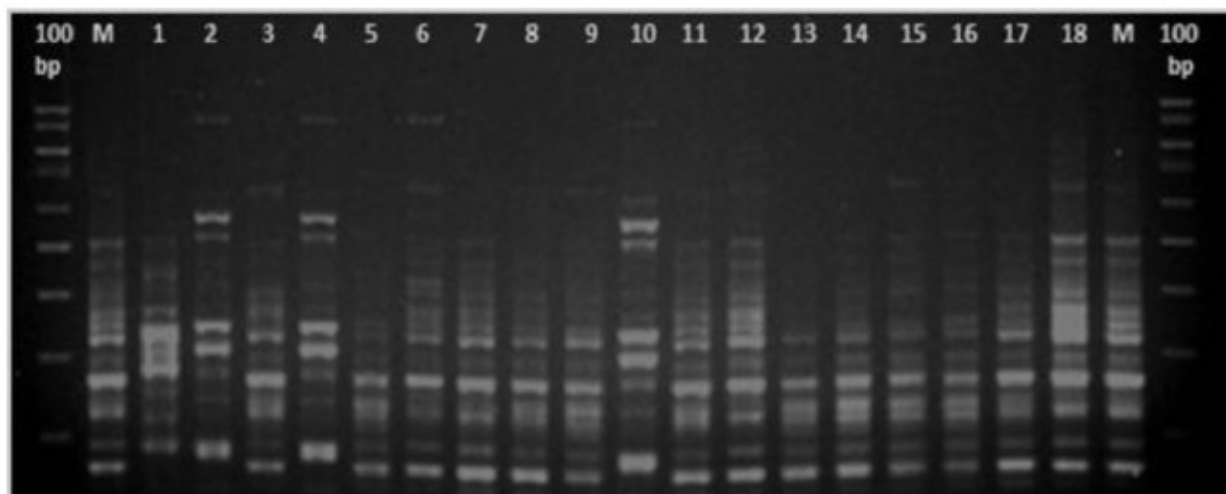
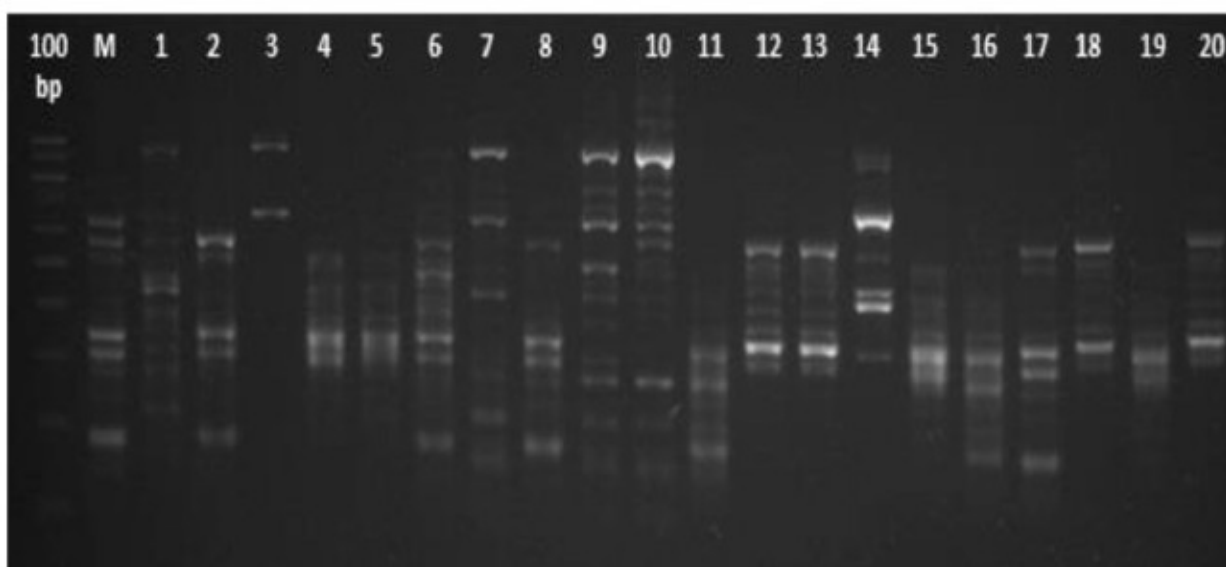


Fig. 8. Antagonistic activity of *L. delbrueckii* DSM 20074 in liquid cultures against *Clostridium* sp. DSM 1985 (Fig. 3A): A) *L. delbrueckii* DSM 20074 single culture, B) *Clostridium* sp. single culture, C) *L. delbrueckii* DSM 20074 co-culture, D) *Clostridium* sp. in co-culture; and *C. perfringens* DSM 756 (Fig. 3B): E) *L. delbrueckii* DSM 20074 single culture, F) *C. perfringens* single culture; G) *L. delbrueckii* DSM 20074 co-culture, H) *C. perfringens* in co-culture.

(Di Gioia *et al.*, 2016)



A



B

Fig. 9. RAPD profiles of the DNA obtained from 18=colonies isolated from batch inoculated with *L. plantarum* PCS20 to 20=colonies isolated from batch inoculated with *L. delbrueckii* DSM 20074 picked colonies. Colonies were obtained from plates resulting from microbial counts of the meat inoculated with protective cultures *L. plantarum* PCS 20 (Fig. 4A) and *L. delbrueckii* DSM 20074 (Fig. 4B). Molecular weight ladder (100 bp); protective culture profile (M); the other lines indicate the profile obtained from the isolated colonies.

(Di Gioia *et al.*, 2016)

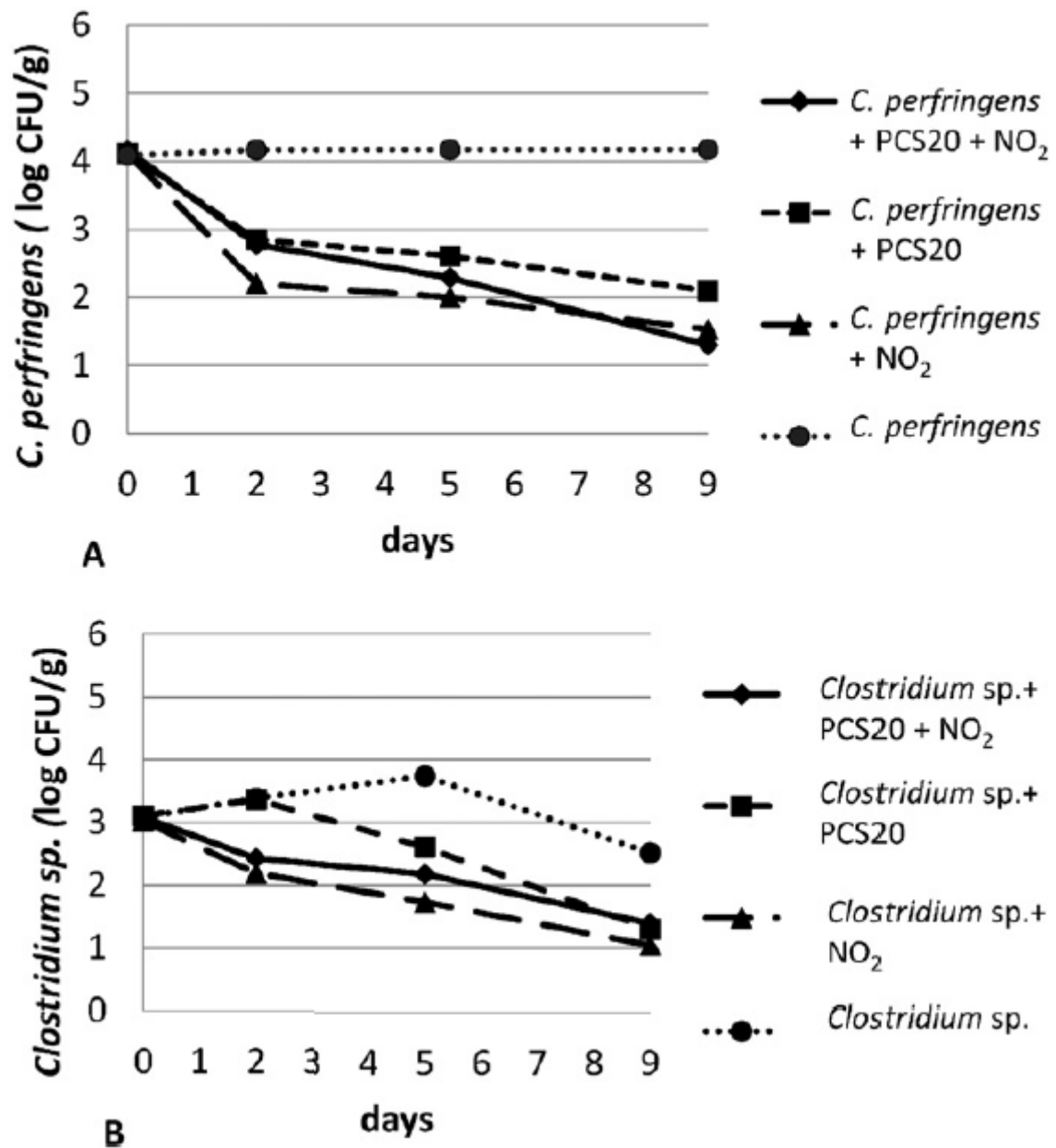


Fig. 10. Clostridium counts of pork ground meat challenged with *C. perfringens* DSM 756 (Fig. 5A) and with *Clostridium* sp. DSM 1985 (Fig. 5B) in the presence and absence of *L. plantarum* PCS20 and 150 mg/kg nitrite.

(Di Gioia *et al.*, 2016)

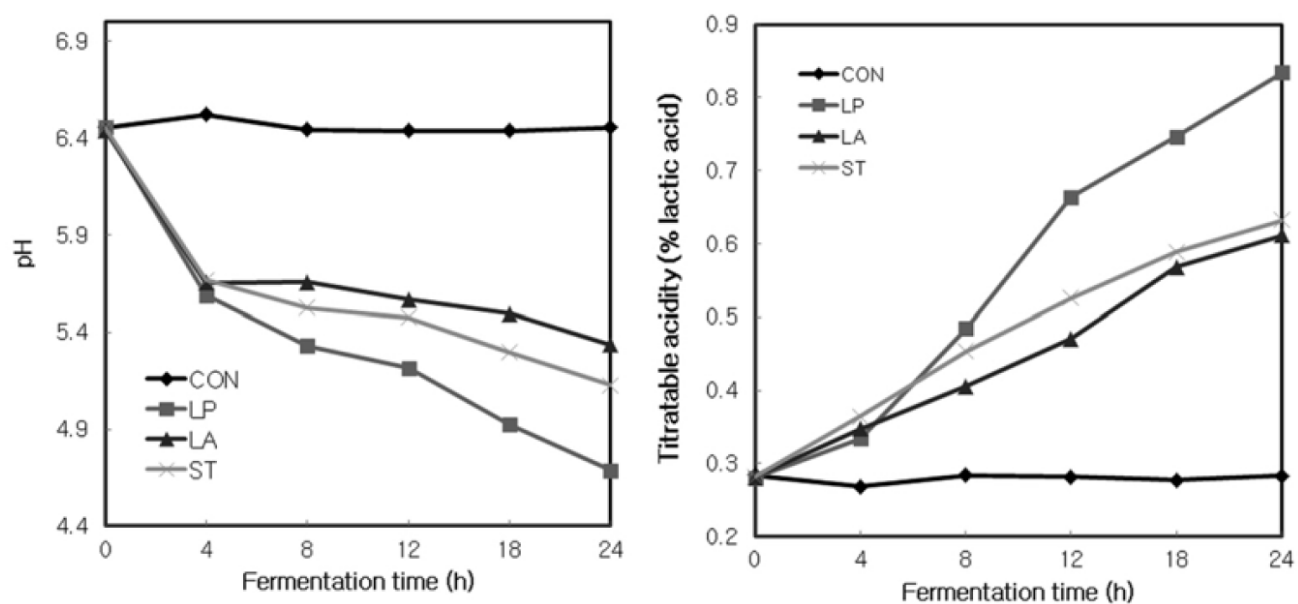


Fig. 11. Changes in acid production in fermented sesame during different fermentation time. Con, control, non-fermented sesame; LP, fermented sesame with *Lactobacillus plantarum* P8; ST, fermented sesame with *Streptococcus thermophilus* S10; LA, fermented sesame with *Lactobacillus acidophilus* ATCC4356.

(Bae *et al.*, 2016)

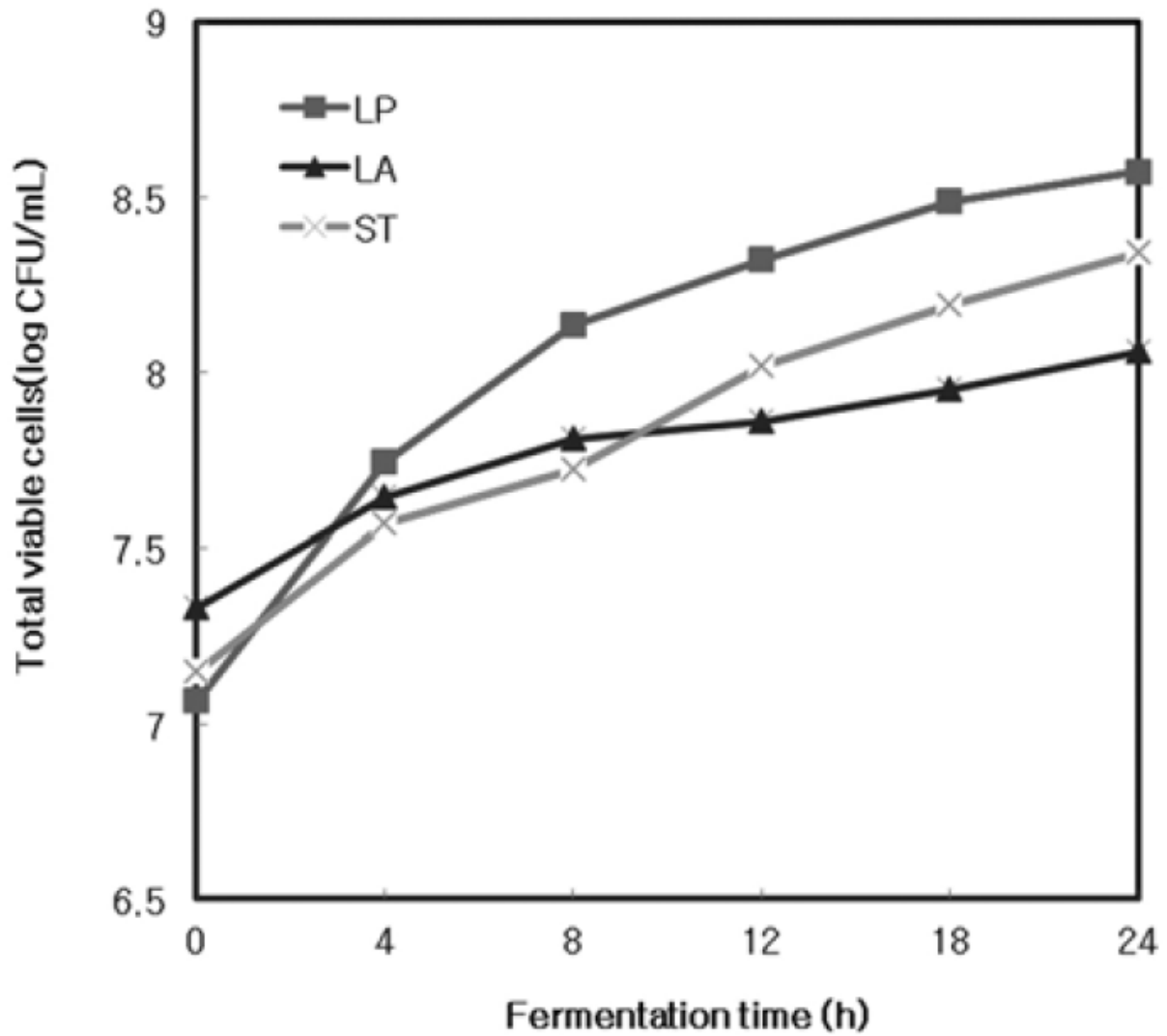


Fig. 12. Changes in cell viability of LAB in fermented sesame during different fermentation time. Con, control, non-fermented sesame; LP, fermented sesame with *Lactobacillus plantarum* P8; ST, fermented sesame with *Streptococcus thermophilus* S10; LA, fermented sesame with *Lactobacillus acidophilus* ATCC4356.

(Bae *et al.*, 2016)

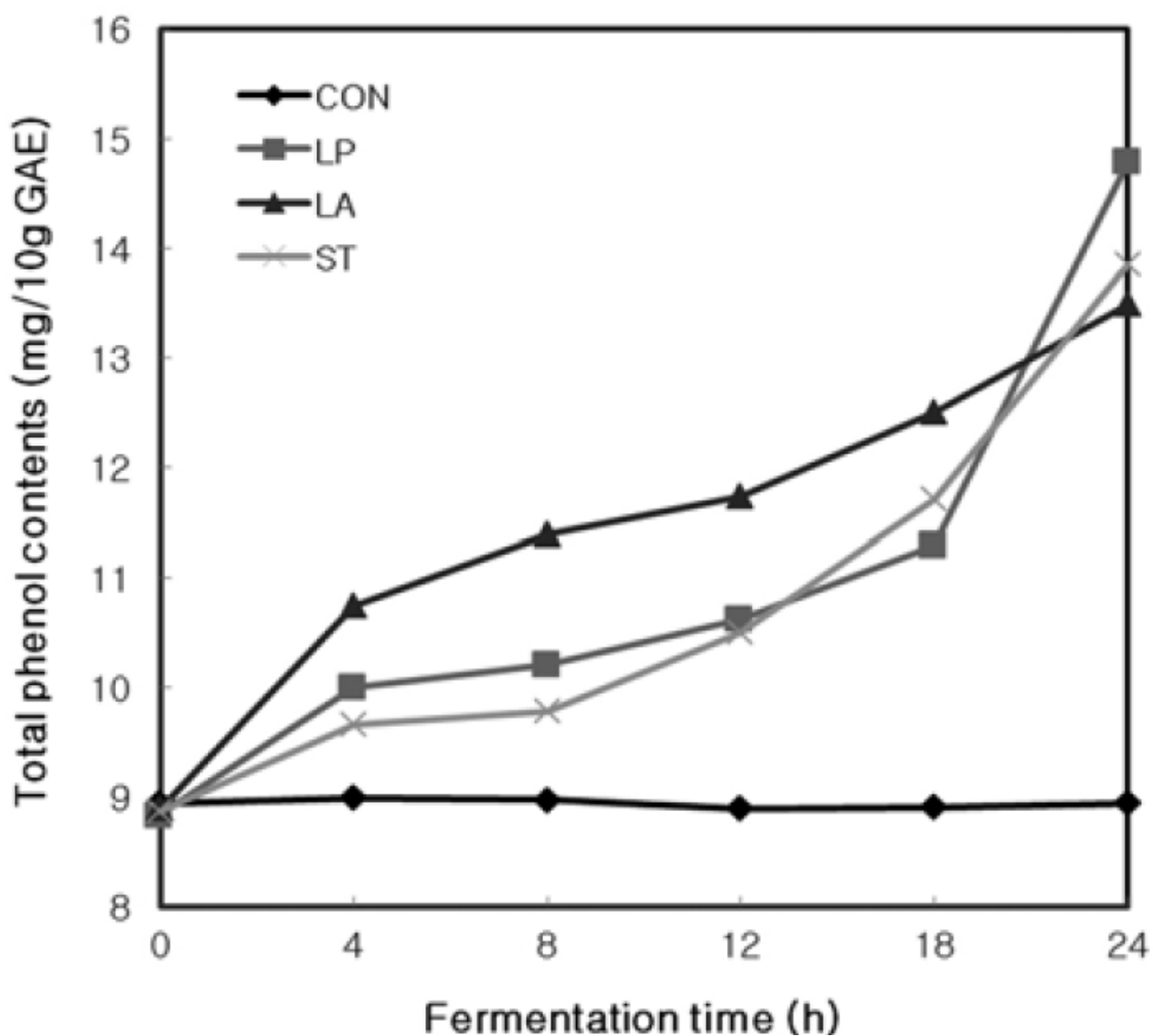


Fig. 13. Change in total phenol contents in fermented sesame during different fermentation time. Con, control, non-fermented sesame; LP, fermented sesame with *Lactobacillus plantarum* P8; ST, fermented sesame with *Streptococcus thermophilus* S10; LA, fermented sesame with *Lactobacillus acidophilus* ATCC4356.

(Bae *et al.*, 2016)

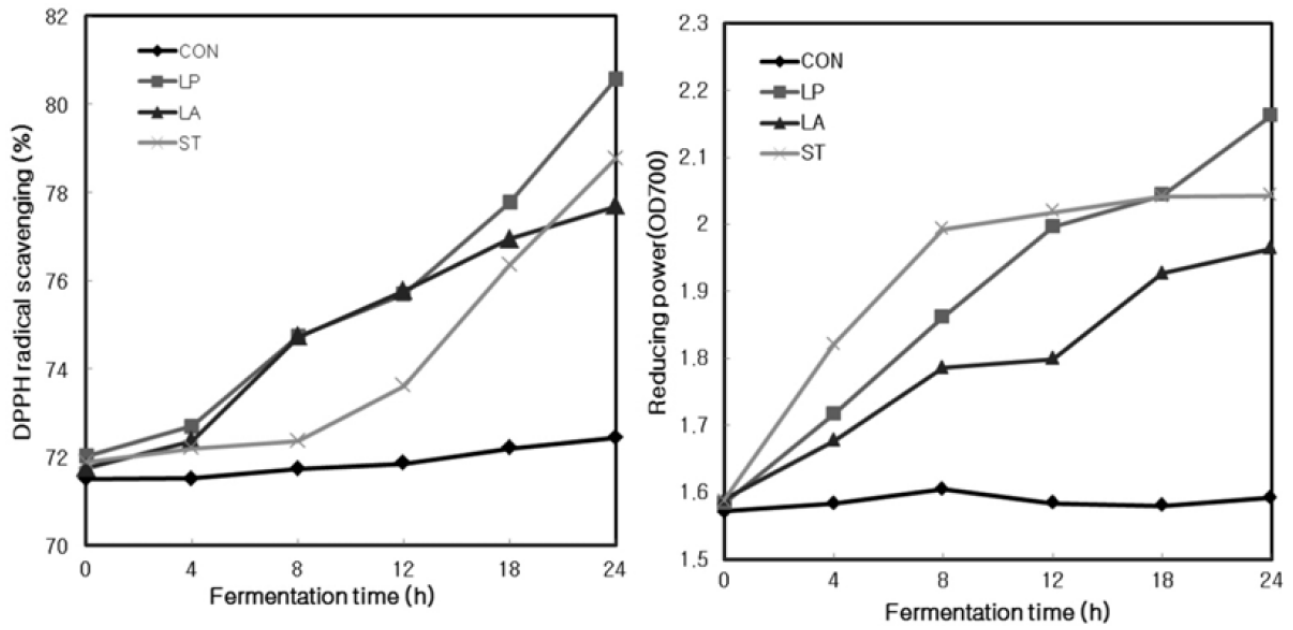


Fig. 14. Changes in antioxidant activities of fermented sesame during different fermentation time. Con, control, non-fermented sesame; LP, fermented sesame with *Lactobacillus plantarum* P8; ST, fermented sesame with *Streptococcus thermophilus* S10; LA, fermented sesame with *Lactobacillus acidophilus* ATCC4356.

(Bae *et al.*, 2016)