

一株广谱抑菌活性乳酸菌的筛选及特性研究

李清^{1,2} 王英² 刘小莉² 董明盛¹ 周剑忠^{2*}

(1. 南京农业大学 食品科技学院 江苏 南京 210095)

(2. 江苏省农业科学院农产品加工研究所 江苏 南京 210014)

摘要:【目的】从贵州剑河采集的传统自然发酵豆酱中分离筛选具有广谱抑菌效果的乳酸菌, 并进行肠道益生特性的研究。【方法】通过抑菌试验分离筛选得到菌株 DJ-04, 对其进行人工胃液耐受性、胆盐耐受性和渗透压耐受性的研究, 并对其进行生理生化鉴定和 16S rRNA 鉴定。【结果】菌株 DJ-04 对大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、志贺氏菌和铜绿假单胞菌的生长有很好的抑制作用; 在 pH 值为 2.5 的人工胃液中处理 3 h 活菌数达到 10^7 CFU/mL 以上; 在人工肠液中处理 3 h 活菌数达到 10^8 CFU/mL 以上, 对人工胃肠液表现出良好的耐受性。能耐受一定浓度的牛胆盐, 在质量浓度 0.2 g/100 mL 的牛胆盐环境中活菌数可达到 10^7 CFU/mL; 具有较高的渗透压耐受能力, 在 NaCl 质量浓度为 10 g/100 mL 的液体 MRS 中培养 24 h 后, 活菌数仍在 10^7 CFU/mL 以上。经鉴定, DJ-04 为植物乳杆菌。【结论】植物乳杆菌 DJ-04 具有良好的人工胃肠液耐受性以及耐胆盐和耐渗透压能力, 具有肠道益生菌的潜能。

关键词: 抑菌, 人工胃肠液, 胆盐, 渗透压, 耐受性, 植物乳杆菌

Isolation of a broad-spectrum antibacterial lactic acid bacterium and evaluation of probiotic properties

LI Qing^{1,2} WANG Ying² LIU Xiao-Li² DONG Ming-Sheng¹ ZHOU Jian-Zhong^{2*}

(1. College of Food Science and Technology, Nanjing Agriculture University, Nanjing, Jiangsu 210095, China)

(2. The Research Institute of Agricultural Product Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing, Jiangsu 210014, China)

Abstract: [Objective] This study wanted to isolate and evaluate the probiotic properties of a broad-spectrum antibacterial lactic acid bacterium from Chinese traditional fermented soybean paste which was sampled from Jianhe country, Guizhou Province. [Methods] The strain DJ-04 was screened by antibacterial activity test, which was identified by physiological and biochemical characteristics and classification of 16S rRNA. The strain was examined for a series of assays including tolerance to artificial gastric intestinal juice, bile salt, and osmotic pressure. [Results] The strain DJ-04 was identified as *Lactobacillus plantarum*. It had an antibacterial activity against five pathogenic bacterium, including *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Shigella* sp., and *Pseudomonas aeruginosa*. DJ-04 had a strong tolerance to acid. The number of viable cells after 3 hours of incubation

基金项目: 江苏省农业自主创新项目[No. CX(13)3080]

*通讯作者: Tel: 86-25-84392177; 信箱: zjzluck@126.com

收稿日期: 2014-05-03; 接受日期: 2014-06-26; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-07-08

in pH 2.5 reached more than 10^7 CFU/mL. DJ-04 had a strong tolerance to artificial gastric intestinal juice since no significant changes were observed after 3 hours of incubation. The number of viable cells after 24 hours of incubation in 0.2 g/100 mL bile salt was above 10^8 CFU/mL. In addition, the number of viable cells after 24 hours of incubation in MRS containing 10 g/100 mL NaCl was more than 10^7 CFU/mL. **[Conclusion]** The isolated *Lactobacillus plantarum* DJ-04 had good tolerance to artificial gastric intestinal juice, bile salt, and osmotic pressure, suggesting that it could be a potential probiotics candidate for beneficial use.

Keywords: Antibacterial activity, Artificial gastric intestinal juice, Bile salt, Osmotic pressure, Tolerance, *Lactobacillus plantarum*

当今社会,随着人们生活水平的逐渐提高,对饮食关注程度的日益增加,对健康食品的要求也逐步提高。益生菌作为发酵食品和功能性食品药品的主力军,已受到国内外众多研究者的青睐。益生菌是指能够以一定数量存活并定植于宿主肠道内,通过调节肠道菌群平衡,对宿主健康发挥有益作用的活性有益微生物的总称^[1-3]。传统自然发酵豆酱主要是利用黄豆表面附着的微生物进行发酵而制成,加入食盐主要是利用高渗作用抑制大部分杂菌的生长。其中乳酸菌是促成豆酱风味物质形成的重要微生物^[4],是发酵大豆食品中重要的天然菌群^[5]。乳酸菌在发酵食品加工过程中产生的代谢物(如乳酸和乳酸菌素等)不仅影响产品的风味、色泽和品质,而且能抑制腐败微生物的生长,从而延长产品保质期^[6]。同时,某些具有益生作用的菌株,对人体具有一定的保健功能^[7]。因此,能抑制引起肠道疾病的腐败菌的生长,并能顺利通过胃肠道并在肠道环境中很好定植是益生菌的重要筛选标志。本实验从传统自然发酵豆酱中分离筛选具有广谱抑菌功能的乳酸菌,并通过人工胃肠液耐受性、耐胆盐、耐渗透压实验来研究乳酸菌的特性。

1 材料与方法

1.1 样品和菌种

自然发酵豆酱:取自贵州剑河农贸市场。

致病菌:大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、沙门氏菌(*Salmonella* sp.)、志贺氏菌(*Shigella* sp.)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)由南京市食品质量

监督与检测院提供。

MRS 培养基制备参见文献[8]。LB 培养基制备参见文献[9]。

1.2 主要试剂和仪器

1.2.1 试剂:胃蛋白酶(酶活力 1:10 000)、胰蛋白酶(酶活力 250 NFU/mg)、牛胆盐、牛肉膏、蛋白胨、酵母粉、琼脂粉均为生化试剂;乙酸钠、氢氧化钠、氯化钠、盐酸、磷酸氢二钾、氯化钠、七水硫酸镁、四水硫酸锰、柠檬酸二铵均为分析纯;吐温 80 为化学纯,以上试剂购自生工生物工程(上海)股份有限公司。

1.2.2 仪器:YXQ-LS-50S II/75S II 立式压力蒸气灭菌器,购自海博迅实业有限公司医疗设备厂;PHS-25 型数显 pH 计,购自上海精密科学仪器有限公司;净化工作台,购自上海新苗医疗器械制造有限公司;DNP-9272 型生化培养箱,购自上海精宏实验设备有限公司;101-1 型电热鼓风干燥箱,购自江苏省东台电器厂;PHS-2F 型紫外-可见分光光度计,购自上海光谱仪器有限公司。

1.3 乳酸菌的分离纯化

取自然发酵豆酱 5 g 于 45 mL 灭菌的生理盐水中,混匀后,梯度稀释,选取 1×10^{-3} 、 1×10^{-4} 、 1×10^{-5} 三个梯度进行试验。每个梯度取 200 μ L 涂布在 MRS 固体培养基(加碳酸钙)平板上,37 $^{\circ}$ C 培养 24–48 h,在溶钙圈中根据菌落的大小、颜色、光泽及透明度挑取不同形态的单菌落,进行革兰氏染色和接触酶试验。凡是属于革兰氏阳性、接触酶为阴性的菌落,继续在 MRS 平板上划线纯化,重复多次,直到为纯培养物。

1.4 抑菌试验

将分离所得乳酸菌接种于 MRS 液体培养基上活化后,以 2%的接种量接种于 10 mL MRS 液体培养基中,37 °C 培养 24 h。培养液以 1 000 r/min 离心 15 min,得无细胞发酵上清液。

将指示菌:大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、志贺氏菌和铜绿假单胞菌活化 2 次后,2%接种于 LB 液体培养基中,在 LB 琼脂培养基上,采用牛津杯法^[10]检测所得乳酸菌的抑菌活性。

1.5 人工胃肠液中耐受性试验

将在 MRS 液体培养基中活化 2 次后的乳酸菌按 10%接种量,分别接种于不同 pH 值(1.5、2.5、3.5、4.5)的预设人工胃液中以及预设人工肠液中,人工胃液和肠液按照参考文献[11]的方法配制。充分混匀后,37 °C 培养,分别于 0、1、2、3 h 取样,以无菌生理盐水按 1:10 梯度稀释,进行乳酸菌活菌计数^[12]。

1.6 耐胆盐试验

在配制的 MRS 液体培养基中加入不同质量的牛胆盐^[13],使其质量浓度分别为 0、0.03、0.10、0.20、0.30、0.50 g/100 mL,1×10⁵ Pa 高压蒸气灭菌 20 min 后,冷却至 37 °C 以下备用,将活化后的菌液以 5%的接种量接种到上述的 MRS 培养基中,37 °C 培养 24 h 后,进行乳酸菌活菌计数^[12]。

1.7 耐渗透压试验

在配制的 MRS 液体培养基中加入不同质量 NaCl 固体,使其质量浓度分别为 2、4、6、8、

10 g/100 mL,1×10⁵ Pa 高压蒸气灭菌 20 min 后,冷却至 37 °C 以下备用,将活化后的菌液以 5%的接种量接种到上述 MRS 培养基中,37 °C 培养 24 h 后,进行乳酸菌活菌计数^[12],以上试验均采用 3 个平行。

1.8 筛选菌株鉴定

1.8.1 菌落形态、细胞形态及生理生化试验:革兰氏染色后显微镜下观察细胞形态。生理生化试验^[14]包括:产 H₂S 试验、精氨酸产氨试验、淀粉水解试验、明胶液化试验、糖醇发酵试验。

1.8.2 16S rRNA 序列扩增及其系统发育分析:按照参考文献[15]的方法对所分离的乳酸菌进行 DNA 提取和 16S rRNA PCR 扩增,并将扩增产物委托上海生工生物工程有限公司进行测序。登陆 NCBI (www.ncbi.nih.gov/blast/),将所得序列与中已知序列进行比对。同时将所测得的序列与从 GenBank 中获得的相关种和属的 16S rRNA 基因序列,采用 MEGA 3.1 软件进行比对分析和系统发育分析。

1.9 数据处理

每组试验重复 3 次,结果表示为平均数 $\bar{x} \pm s$ 来表示。运用 SAS 8.1 软件,采用独立样本 *t* 检验进行差异性分析,以 *P*<0.05 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 广谱抑菌活性乳酸菌的筛选

采用 1.3 的方法从自然发酵豆酱中分离出 4 株乳酸菌:DJ-01、DJ-03、DJ-04 和 DJ-06,按 1.4 的方法进行抑菌试验,结果如表 1 所示。

表 1 不同菌株的抑菌活性
Table 1 Antibacterial activity of the different strains

供试菌株 Tested strain	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	沙门氏菌 <i>Salmonella</i> sp.	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	志贺氏菌 <i>Shigella</i> sp.	铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
DJ-01	—	—	—	+	—
DJ-03	+	++	—	—	+
DJ-04	++	+++	++	++	++
DJ-06	—	—	—	+	—

注:抑菌圈直径(mm):+++ : 19–24; ++ : 15–18; + : 10–15; — : 无抑菌效果。

Note: Inhibition zone (mm): +++ : 19–24; ++ : 15–18; + : 10–15; — : No antibacterial activity.

由表 1 可以看出, 自然发酵豆酱中分离所得的乳酸菌 DJ-01 和 DJ-06 只对志贺氏菌有抑菌作用, 菌株 DJ-03 只对大肠杆菌, 沙门氏菌和铜绿假单胞菌杆菌有抑菌作用, 只有 DJ-04 对 5 种致病菌均有良好的抑菌效果, 且对沙门氏菌抑菌效果程度最高。抑制致病菌的生长是乳酸菌作为益生菌改善人体肠道功能, 调节肠道菌群的重要指标之一。由表 1 可知, DJ-04 菌株有较广的抑菌效果, 选取 DJ-04 作为研究对象, 对其特性进行深入研究。

2.2 人工胃肠液中耐受性试验

按照 1.5 的方法进行人工胃肠液耐受性试验的研究, 菌株 DJ-04 在不同 pH 的人工胃液中处理不同时间后, 所检测到的活菌数见表 2。菌株 DJ-04 在 pH 1.5 的人工胃液中, 耐受性较差, 3 h 后活菌数远小于初始时活菌数, 这可能是因为 pH 值过低, 导致乳酸菌无法维持自身细胞内 pH 的稳定, 从而导致乳酸菌生长停滞, 甚至死亡^[16]。在 pH 值为 2.5、3.5 和 4.5 的人工胃液中均能保持很好的存活率。在 pH 为 2.5 的人工胃液中处理 3 h, 活菌数接近 10⁸ CFU/mL, 存活率达到 31.62%, 在 pH 为 3.5 和 4.5 的人工胃液中处理 3 h, 活菌数达到 10⁸ CFU/mL 以上, 存活率均达到 79.43%, 说明菌株 DJ-04 具有良好的人工胃液耐受性。

菌株 DJ-04 经过人工肠液作用不同时间后, 检测到的活菌数见表 2, 作用 3 h 后活菌数仍达到 8.31×10⁸ CFU/mL, 存活率达到 77.62%, 说明菌株 DJ-04 对人工肠液具有良好的耐受性。

2.3 耐胆盐试验

按照 1.6 的方法对菌株 DJ-04 进行胆盐耐受性的研究, 实验结果如图 1 所示。菌株 DJ-04 培养 24 h 后活菌数随牛胆盐质量浓度的增加而降低, 菌体在含质量浓度为 0.2 g/100 mL 的牛胆盐培养基中生长良好, 活菌数高于 10⁷ CFU/mL, 在 0.3–0.5 g/100 mL 的牛胆盐中活菌数明显下降, 耐受性降低, 但是在 0.3 g/100 mL 的牛胆盐环境中培养 24 h 后活菌数仍然接近 10⁵ CFU/mL, 且在 0.5 g/100 mL 的牛胆盐环境中生长 24 h 后仍有乳酸菌活菌数的存在, 说明菌株 DJ-04 对胆盐具有良好的耐受能力。

2.4 耐渗透压试验

对菌株 DJ-04 按照 1.7 的方法进行渗透压耐受性的研究, 结果见图 2。由图 2 可知, 经过 24 h 培

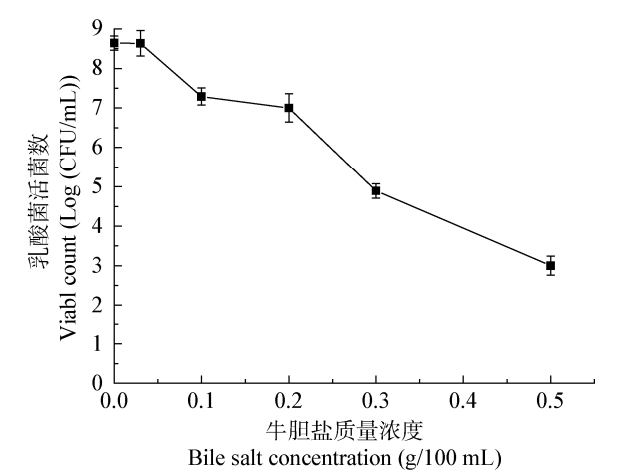


图 1 DJ-04 对不同浓度牛胆盐的耐受力
Figure 1 Survival of DJ-04 in the presence of bile salt

表 2 菌株 DJ-04 对人工胃肠液的耐受性				
Table 2 Tolerance of strain DJ-04 to artificial gastrointestinal juices (log(CFU/mL))				
pH	Time (h)			
	0	1	2	3
1.5	8.42±0.22 ^A	3.24±0.24 ^B	2.12±0.26 ^C	1.46±0.24 ^D
2.5	8.42±0.22 ^A	8.13±0.20 ^{AB}	7.98±0.32 ^{AB}	7.92±0.24 ^B
3.5	8.42±0.22 ^A	8.41±0.40 ^A	8.36±0.50 ^A	8.32±0.32 ^A
4.5	8.42±0.22 ^A	8.41±0.18 ^A	8.34±0.42 ^A	8.32±0.40 ^A
AI	8.42±0.22 ^A	8.36±0.22 ^A	8.32±0.26 ^A	8.31±0.16 ^A

注: AI: 人工肠液; ^A、^B、^C 和 ^D 表示不同处理下乳酸菌活菌数方差分析($P<0.05$)的 t 检验结果。
Note: AI: Artificial intestinal juice; ^A, ^B, ^C, and ^D represent the significance of analysis of variance ($P<0.05$).

养后,活菌数随 NaCl 质量浓度的增加先增加然后降低,质量浓度为 2 g/100 mL 和 4 g/100 mL 时的活菌数高于 0 g/100 mL 时的活菌数,说明一定低浓度的 NaCl 不影响乳酸菌的生长,这可能是因为一定浓度的盐溶液中,乳酸菌会通过自身调节作用,恢复胞内渗透压平衡^[17],从而适应环境并继续生长。不同微生物对渗透压的抵抗力是有一定限度的,超过一定限度则使微生物生长受到抑制,甚至引起微生物的死亡。图 2 说明随着 NaCl 质量浓度的继续

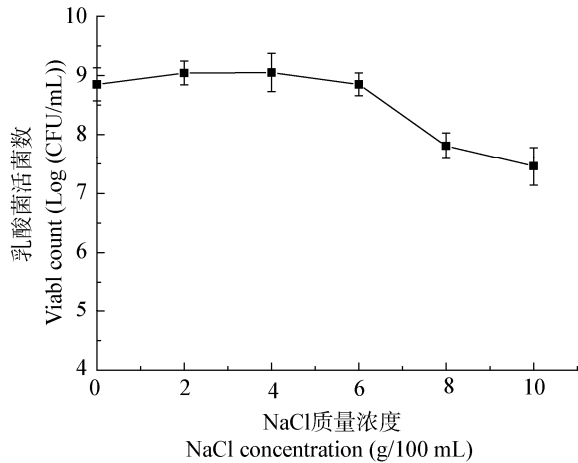


图 2 DJ-04 对不同浓度 NaCl 的耐受力
Figure 2 Survival of DJ-04 in the presence of salt

升高,乳酸菌 DJ-04 活菌数开始下降,说明高浓度的渗透压会抑制其生长,但是在 10 g/100 mL 时活菌数仍在 10^7 CFU/mL 以上,说明菌株 DJ-04 具有良好的高渗透压耐受性。

2.5 菌株 DJ-04 鉴定

2.5.1 菌落、菌体形态及菌株生理生化特性: DJ-04 在 MRS 上生长菌落呈圆形,乳白色,表面光滑,质地均匀;显微镜观察菌体呈杆状(图 3)。其生理生化特征见表 3。

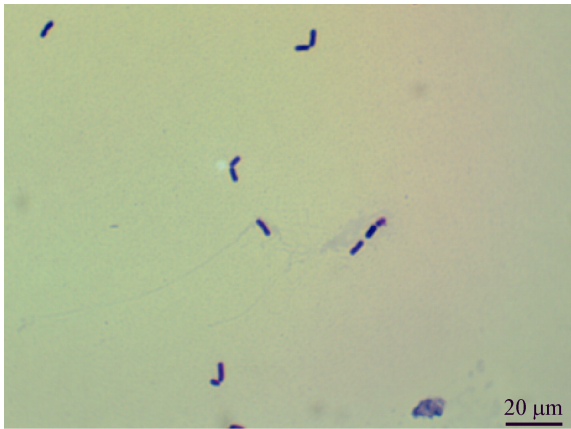


图 3 乳酸菌 DJ-04 菌体特征
Figure 3 The shape character of strain DJ-04

表 3 乳酸菌 DJ-04 的生理生化特性 Table 3 Characters of physiology and biochemistry for strain DJ-04			
试验项目 Experiment items	结果 Results	试验项目 Experiment items	结果 Results
产硫化氢试验 Hydrogen sulfide production test	—	葡萄糖 Glucose	+
精氨酸产氨试验 Arginine test	—	木糖 Xylose	+
淀粉水解试验 Starch hydrolysis test	—	麦芽糖 Maltose	+
明胶液化试验 Gelatin liquidized test	—	果糖 Fructose	+
甘露糖 Mannose	+	蔗糖 Sucrose	+
乳糖 Lactose	+	核糖 Ribose	+
半乳糖 Galactose	+	山梨醇 Sorbitol	+
鼠李糖 Rhamnose	—	纤维二糖 Cellobiose	+
阿拉伯糖 Pectinose	—	七叶苷 Aesculin	+
棉籽糖 Raffinose	+	水杨苷 Salicin	+

注: +: 阳性; -: 阴性。
Note: +: Positive; -: Negative.

从菌株的形态以及生理生化特性看, 本实验中分离筛选的菌株 DJ-04 与《伯杰氏细菌鉴定手册》(第 8 版) 中描述的植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) 基本相同, 因此将 DJ-04 初步鉴定为植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)。

2.5.2 菌株的 16S rRNA 序列分析: 为了进一步确定 DJ-04 的种属, 菌株扩增的 16S rRNA 序列在 GenBank 中比对后, 与之相似度达 99%的菌株 90% 为植物乳杆菌。图 4 是根据 DJ-04 的 16S rRNA 序列与相关种属 16S rRNA 序列构建的系统发育树。由图 4 可见, DJ-04 与 *Lactobacillus plantarum* 自然聚为一支, 经过同源性比对发现菌株 DJ-04 与 *Lactobacillus plantarum* 的 16S rRNA 序列一致性达到 99%。因此, 结合形态及生理生化特征, DJ-04 鉴定为植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)。

3 讨论

中国传统发酵食品生产历史悠久, 风味独特, 深受人们喜爱。现代科学研究表明: 发酵食品不仅具有较高的营养价值和独特的风味, 而且具有一定的保健功能。这些功能与发酵中的微生物密不可分, 如各种乳酸菌、酵母菌、霉菌、醋酸菌及其他

细菌等, 其中乳酸菌是最为重要的一类微生物^[18]。乳酸菌具有改善肠道微生态平衡、增强机体生物屏障、抑制有害微生物生长、提高免疫力的功能。发酵食品中的乳酸菌是通过口服到达肠道并发挥功效, 因此乳酸菌必须能通过消化道, 并在肠道内保持一定数量的活菌才能发挥其功效。这就要求乳酸菌能够耐受胃酸、胃蛋白酶以及肠道中胆盐和胰蛋白酶及较高渗透压的影响。本文从传统发酵豆酱中筛选得到具有广谱抑菌效果的乳酸菌 DJ-04, 对其进行人工胃肠液、胆盐、高渗透压耐受性的研究并对其进行鉴定, 判定为植物乳杆菌。

胃液是阻止大多数微生物进入肠道的天然屏障, 胃液 pH 的大小根据饮食结构不同而波动很大, 通常 pH 为 3.0 左右, 空腹或食用酸性食品可达 1.5, 食用碱性食品可达 4.0–5.0^[13]。小肠的环境偏碱性, 其 pH 值约为 7.6, 食物在小肠中的停留时间一般为 1–4 h。乳酸菌发挥其益生功能, 必须首先以活菌状态通过胃, 进而有可能在肠道存活并定殖。本研究对前期筛选分离的植物乳杆菌 DJ-04 进行人工胃肠液的耐受性研究。虽然 pH 为 1.5 的人工胃液对 DJ-04 具有一定程度的抑制作用, 但人体胃液的 pH

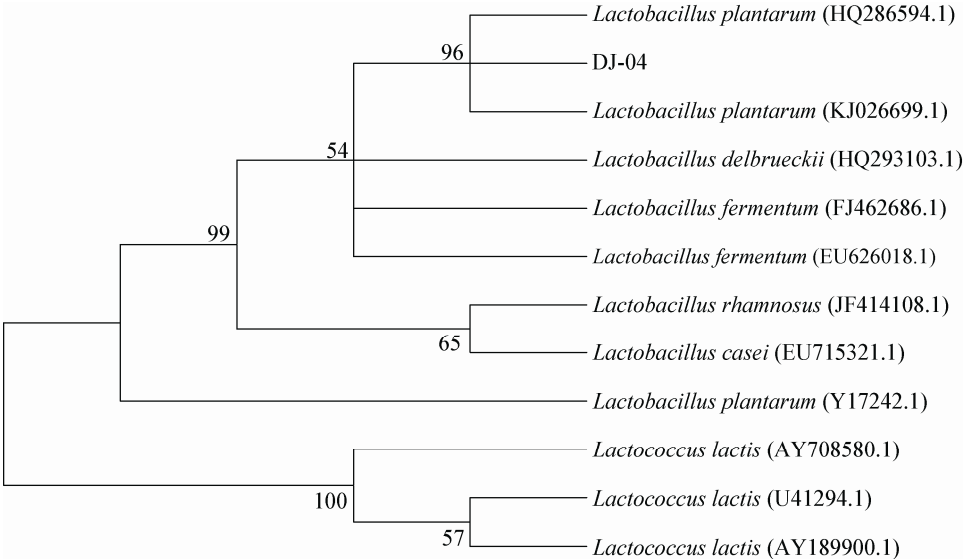


图 4 基于 16S rRNA 序列的系统发育树
Figure 4 Phylogenetic tree based on 16S rRNA sequences

值通常在 3.0 左右,且食物通过胃的时间一般为 1–2 h。植物乳杆菌 DJ-04 在 pH 为 2.5 和 3.5 的人工胃液中处理 3 h 后,活菌数仍维持在 10^7 和 10^8 CFU/mL 以上。据报道,摄入含有 1×10^6 CFU/mL 或以上的活性乳杆菌就能发挥其益生作用^[19],表明植物乳杆菌 DJ-04 对低 pH 环境和胃蛋白酶均有很强的耐受能力,能保持较高浓度的活菌数通过胃到达肠道。但由于 pH 1.5 的人工胃液对植物乳杆菌 DJ-04 的存活有明显的抑制,3 h 处理后,仅有少量存活,所以应注意不要空腹摄取,以免胃酸过强,影响益生菌的功效。益生菌发挥其改善人体肠道的功能,必须在肠道内定殖并保持一定数量的活菌数,因此要对肠液具有一定的耐受性。本研究中植物乳杆菌 DJ-04 对人工肠液有很好的耐受性,经过 3 h 处理后活菌数仍维持在 10^8 CFU/mL 以上。由此可见,植物乳杆菌 DJ-04 能良好耐受人体胃肠液,这有利于其在人体肠道内定殖并保持一定的存活量,进而改善人体肠道功能,具有肠道益生菌的潜能。

对胆盐的耐受能力也是筛选优良益生菌的重要标准之一。人体小肠中胆盐的质量浓度在 0.03–0.30 g/100 mL 的范围内波动^[20],益生菌要在小肠中发挥益生调节功能,必须耐受一定浓度的胆盐作用^[21]。本文研究发现,植物乳杆菌 DJ-04 对不同浓度的胆盐均有良好的耐受性,在 0.30 g/100 mL 的牛胆盐环境中培养 24 h 后活菌数仍然接近 10^5 CFU/mL,因此 DJ-04 能良好耐受胆盐环境并大量存活。熊涛等^[13]研究植物乳杆菌耐受性时,也发现植物乳杆菌能良好耐受 0.30 g/100 mL 的牛胆盐。

由于食糖或食盐等物质作用使人体胃肠道内存在一定渗透压,人体胃肠道中 NaCl 质量浓度在 1.00–6.00 g/100 mL 的范围波动,因此要求乳酸菌具有一定耐渗透压能力,才能在肠道保持活力并发挥有益作用。所以乳酸菌是否具有一定的耐渗透压能力也是评定其菌种优良的一个重要指标。卜永士等^[22]研究认为干酪乳杆菌 BD II 能够耐受 6.5% 的 NaCl;吕兵等^[23]研究表明嗜酸乳杆菌耐受 6.0% 的

NaCl,本文所选植物乳杆菌 DJ-04 在 10.00 g/100 mL 的 NaCl 中培养 24 h 后活菌数仍在 10^7 CFU/mL,表明 DJ-04 具有很强的耐渗透压能力,这对 DJ-04 在人体肠道定殖,进而改善人体肠道功能以及应用于工业生产提供了良好前景。因此,本文从传统发酵豆酱中分离筛选的植物乳杆菌 DJ-04 不仅具有广谱抑菌活性,可以有效抑制肠道致病菌的生长;并且能够耐受人工胃肠液、胆盐以及高渗透压,在肠道内能够大量存活,增加肠道内益生菌的数量,起到调节肠内菌群平衡、改善人体肠道功能、增强人体免疫力的作用。已有研究结果表明植物乳杆菌具有较强的胃肠液和胆盐耐受性^[13,24–25],但同时具有高渗透压耐受能力的植物乳杆菌还很少。因此,本研究筛选的植物乳杆菌 DJ-04 具有良好的肠道益生功能,在功能性食品开发及发酵食品生产方面具有应用潜力,其在发酵功能性食品等方面的应用也需要进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] Rasic JL, Kurmann JA. Bifidobacteria and Their role: Microbiological Nutritional-physiological and Technological Aspects and Bibliography[M]. Boston: Besel, 1983(2): 44-50
- [2] Wu SQ, Wang SY, Tan K, et al. Studying progress of Bifidobacteria[J]. Journal of Changchun University, 2007, 17(4): 57-61 (in Chinese)
吴淑清, 王顺余, 谭克, 等. 双歧杆菌的研究现状[J]. 长春大学学报, 2007, 17(4): 57-61
- [3] Chen SY, Li ZZ, Chen F. The current status on the physiological function and safety research of human intestinal probiotics[J]. Chinese Journal of Microecology, 2007, 19(4): 397-398 (in Chinese)
陈思羽, 李祯祯, 陈芳. 人体肠道益生菌的生理功能和安全性研究现状[J]. 中国微生态学杂志, 2007, 19(4): 397-398
- [4] Liang HY, Ma YC, Cheng JJ, et al. Isolation, identification and screening of halophilic lactic acid bacteria from naturally fermented soybean paste[J]. China Brewing, 2006, 161(8): 24-27 (in Chinese)
梁恒宇, 马莺拙, 程建军, 等. 自然发酵黄豆酱中嗜盐乳酸菌的分离、鉴定与筛选[J]. 中国酿造, 2006(8): 24-27
- [5] Liang HY, Deng LK, Lin HL. Distribution, functions and applications of lactic acid bacteria in traditional fermented soybean foods[J]. Food Science, 2013, 34(19): 381-385 (in Chinese)
梁恒宇, 邓立康, 林海龙. 传统发酵大豆食品中乳酸菌的分布、功能和应用[J]. 食品科学, 2013, 34(19): 381-385
- [6] Rhee SJ, Lee JE, Lee CH. Importance of lactic acid bacteria in Asian fermented foods[J]. Microbial Cell Factories, 2011, 10(1): 1-13
- [7] Fan JF, Li LT, Zhang YY, et al. Biofunctional activity of traditional fermented soybean foods[J]. Food Science, 2005,

- 26(1): 250-254 (in Chinese)
范俊峰, 李里特, 张艳艳, 等. 传统大豆发酵食品的生理功能[J]. 食品科学, 2005, 26(1): 250-254
- [8] D'Aimmo MR, Modesto M, Biavati B. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria and *Bifidobacterium* spp. isolated from dairy and pharmaceutical products[J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 115(1): 35-42
- [9] Li PL. Theory and Technology of Food Microbiology[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2001(2): 163-164 (in Chinese)
李平兰. 食品微生物学实验原理与技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001(2): 163-164
- [10] Dong CW, Mao DB, Bai YH, et al. Screening and identification of lactic acid bacterium producing bacteriocin with broad spectrum[J]. Science and Technology of Food Industry, 2009(4): 129-133 (in Chinese)
董彩文, 毛多斌, 白燕红, 等. 产广谱细菌素口乳杆菌菌株的筛选和鉴定[J]. 食品工业科技, 2009(4): 129-133
- [11] Xin L, Guo BH, Wu ZJ. Studies on the survival properties of three *Lactobacillus* strains in imitative gastroenteric environments[J]. China Dairy Industry, 2005, 33(5): 15-17 (in Chinese)
辛羚, 郭本恒, 吴正钧. 3株乳杆菌在模拟消化环境中存活性能的研究[J]. 中国乳品工业, 2005, 33(5): 15-17
- [12] Xiong T, Wang J, Zeng ZJ, et al. An improved method on determining the quick count of viable *Lactobacillus*[J]. Food and Fermentation Industries, 2009, 35(10): 132-134 (in Chinese)
熊涛, 王韵, 曾哲灵, 等. 一种改良的乳酸菌活菌数快速测定方法[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(10): 132-134
- [13] Xiong T, Song SH, Huang JQ, et al. Tolerance of *Lactobacillus plantarum* NCUI16 in stimulated digestive environments[J]. Food Science, 2011, 32(11): 114-117 (in Chinese)
熊涛, 宋苏华, 黄锦卿, 等. 植物乳杆菌 NCUI16在模拟人体消化环境中的耐受力[J]. 食品科学, 2011, 32(11): 114-117
- [14] Zhang G. Foundation, Technology and Application of Lactic Acid Bacteria[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2006(2): 92-93, 434-435 (in Chinese)
张刚. 乳酸细菌-基础、技术和应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006(2): 92-93, 434-435
- [15] Wang Y, Zhou JZ, Huang KH, et al. Isolation and identification of one *Lactobacillus plantarum* strain from pickles[J]. Jiangsu Journal of Agriculture and Science, 2010, 26(1): 219-221 (in Chinese)
王英, 周剑忠, 黄开红, 等. 泡菜中一株植物乳杆菌的分离筛选及鉴定[J]. 江苏农业学报, 2010, 26(1): 219-221
- [16] Zhang YG, Tian L. The mechanism of acid tolerance of lactic acid bacteria[J]. Feed Industry, 2007, 28(4): 62-64 (in Chinese)
张艳国, 田雷. 乳酸菌的耐酸性机制[J]. 饲料工业, 2007, 28(4): 62-64
- [17] Chen W, Zhao SS, Zhang QX. The mechanism of LAB to salt stress[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2010, 13(10): 1-7 (in Chinese)
陈卫, 赵山山, 张秋香. 乳酸菌的耐盐机制[J]. 中国食品学报, 2013, 13(10): 1-7
- [18] Li QQ, Chen QH, He GQ, et al. Diversity and identification of lactic acid bacteria in Chinese traditional foods[J]. Food Science, 2009, 30(23): 516-520 (in Chinese)
李青青, 陈启和, 何国庆, 等. 我国传统食品中乳酸菌资源的开发[J]. 食品科学, 2009, 30(23): 516-520
- [19] Gilliland SE. Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria[J]. FEMS Microbiology Letters, 1990, 87(1): 175-188
- [20] Wang JC, Guo Z, Yan LY, et al. Comparison of transit tolerance and fermentation properties of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang with commercial probiotic strains[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2009, 9(5): 14-23 (in Chinese)
王记成, 郭壮, 闫丽雅, 等. 益生菌 *Lactobacillus casei* Zhang 与商业益生菌对胃肠转运耐受性及发酵特性的比较[J]. 中国食品学报, 2009, 9(5): 14-23
- [21] Pan XD, Chen FQ, Wu TX, et al. The acid, bile tolerance and antimicrobial property of *Lactobacillus acidophilus* NIT[J]. Food Control, 2009, 20(6): 598-602
- [22] Bu YS, Guo BH. Studies on the biological properties of *Lactobacillus casei*[J]. Journal of Dairy Science and Technology, 2004(2): 49-51 (in Chinese)
卜永士, 郭本恒. 一株干酪乳杆菌的生物学特性研究[J]. 乳业科学与技术, 2004(2): 49-51
- [23] Lv B, Zhang GN. Studies on the biological properties of *Lactobacillus acidophilus* and its fermented milk[J]. China Dairy Industry, 2002, 30(5): 37-39 (in Chinese)
吕兵, 张国农. 嗜酸乳杆菌生物学特性及其发酵乳的研究[J]. 中国乳品工业, 2002, 30(5): 37-39
- [24] De Vries MC, Vaughan EE, Kleerebezem M, et al. *Lactobacillus plantarum*-survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract[J]. International Dairy Journal, 2006, 16(9): 1018-1028
- [25] Liu Y, Cao Y, Liu Bo, et al. Tolerance of lactic acid bacteria strains for phytoprotein yoghurt fermentation to simulated gastrointestinal environments[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2013, 28(7): 709-713 (in Chinese)
刘芸, 曹宜, 刘波, 等. 植物蛋白发酵乳酸菌对模拟胃肠道环境的耐受性研究[J]. 福建农业学报, 2013, 28(7): 709-713