

## 植物乳杆菌 K25 的技术特性

王辑<sup>1,2</sup>, 张雪<sup>2</sup>, 李达<sup>2</sup>, 张卓丹<sup>3</sup>, 侯聚敏<sup>4</sup>, 牛春华<sup>2</sup>, 杨贞耐<sup>\*1,2,3,4</sup>

(1. 吉林农业大学 食品科学与工程学院, 吉林 长春 130018; 2. 吉林省农业科学院 农产品加工研究中心, 吉林 长春 130033; 3. 吉林大学 军需科技学院, 吉林 长春 130062; 4. 吉林大学 生物与农业工程学院, 吉林 长春 130025)

**摘要:** 对西藏灵菇来源的一株益生性植物乳杆菌 K25 进行技术特性研究。结果表明, 植物乳杆菌 K25 的凝乳活性较弱, 蛋白质水解活性一般, 自溶活性较高; 该菌株对志贺氏菌的抑制作用较强, 而对两株酸奶发酵剂菌株无抑制作用; 药敏试验表明, 该菌株对红霉素高度敏感; 丙酸钙对植物乳杆菌 K25 的生长无显著影响; 该菌株在发酵乳冷藏期间, 表现出较好的存活能力, 并且不会造成发酵乳后酸化。

**关键词:** 益生菌; 植物乳杆菌; 技术特性; 附属发酵剂

**中图分类号:** TS 252.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-1689(2012)05-0518-07

## Technological Properties of *Lactobacillus plantarum* K25

WANG Ji<sup>1</sup>, ZHANG Xue<sup>2</sup>, LI Da<sup>2</sup>, ZHANG Zhuo-dan<sup>3</sup>, HOU Ju-min<sup>4</sup>,  
NIU Chun-hua<sup>2</sup>, YANG Zhen-nai<sup>\*1,2,3,4</sup>

(1. College of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun 130018, China; 2. Center of Agro-Food Technology, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China; 3. College of Quartermaster Technology, Jilin University, Changchun 130062, China; 4. College of Biological and Agricultural Engineering, Jilin University, Changchun 130022, China)

**Abstract:** The aim of the present study was to evaluate the technological properties of a probiotic strain *Lactobacillus plantarum* K25, isolated from Tibetan kefir. The results showed that the strain displayed weak milk-coagulating activity, some proteolytic activity and strong autolytic activity. The strain also showed a strong antimicrobial activity against *Shigella*, while no inhibition was observed towards the commercial yogurt starters. Antibiotic susceptibility test found that the strain was sensitive to erythromycin. Among all the microbe inhibitory agents in the test, only calcium propionate did not significantly affect the growth of the strain. Furthermore, the strain maintained high viability in fermented milk during storage, and it did not cause post-acidifying profile to fermented milk.

**Key words:** probiotic, *Lactobacillus plantarum*, technological properties, secondary starters

近年来, 欧美及日本一些学者对益生菌的大量研究表明, 益生菌在抗变异原性、防癌抗癌和增强

机体免疫力方面有着不可低估的作用<sup>[1]</sup>。将益生菌作为附属发酵剂添加到发酵乳制品中, 不仅可以

收稿日期: 2011-07-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(31071574); 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目(nycytx-0502)。

\*通信作者: 杨贞耐(1965-), 男, 江西广丰人, 工学博士, 研究员, 博士研究生导师, 主要从事乳品科学方面的研究。

E-mail: zyang@cjaas.com

增加发酵乳制品的保健功效,而且还可以改善其品质,赋予其独特的风味<sup>[2]</sup>,深受消费者的青睐。目前国内外投入市场的益生菌发酵乳制品种类很多,如酸奶和奶酪,它们是最适宜的益生菌载体<sup>[3]</sup>。然而大多数益生菌在发酵乳制品货架期内的存活能力较差,为了合理开发应用益生菌产品,对益生菌技术特性进行研究是至关重要的。

作者所选用的菌株 K25 是从西藏灵菇中分离得到的,经表型、生理生化及 API 鉴定,确定该菌株为植物乳杆菌。经体外、体内试验表明,该菌株具有较好的调节血脂以及抗氧化功效。为了验证该菌株是否可作为附属菌添加到发酵乳制品生产中,对其技术特性进行了研究,包括菌株的凝乳活性、蛋白水解活性、自溶活性、抑菌活性、抗生素药敏试验、抑菌剂对其影响以及菌种在冷藏期间存活能力等。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

**1.1.1 试验菌株** 植物乳杆菌 K25:由作者所在实验室从西藏灵菇中分离得到;嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌:作者所在实验室保藏菌株,分离自丹尼斯克公司 YO-MIX 直投发酵剂;鼠李糖乳杆菌 LGG:作者所在实验室保藏;致病菌:购自广东微生物种质资源库。

**1.1.2 培养基** MRS 琼脂培养基:大豆蛋白胨 10.0 g/L,牛肉膏 10.0 g/L,酵母粉 5.0 g/L,葡萄糖 20.0 g/L,吐温 80 1.0 g/L,磷酸氢二钾 2.0 g/L,乙酸钠 5.0 g/L,柠檬酸钠 5.0 g/L,硫酸镁 0.2 g/L,硫酸锰 0.054 g/L,蒸馏水 1 000 mL,1 mol/L 乙酸调 pH 为 6.5,121 °C 灭菌 15 min。

**1.1.3 试剂** 脱脂乳粉:新西兰进口;酪氨酸:北京鼎国生物技术有限公司;山梨酸钾:国医集团化学试剂有限公司。

### 1.2 仪器与设备

高速冷冻离心机 Sorvall Evolution RC:美国 Thermo Electron 公司;PB-10 数显 pH 计:德国 Sartorius 公司;紫外可见分光光度计(Cary300):美国 Varian 公司。

### 1.3 植物乳杆菌 K25 凝乳活性试验

配制 10 g/dL 脱脂乳(RSM),含 0.25 g/dL 酵

母粉的 10 g/dL 脱脂乳(RSM-YE),0.25 g/dL 水解酪蛋白的 10 g/dL 脱脂乳(RSM-CH),0.25 g/dL 蛋白胨的 10 g/dL 脱脂乳(RSM-P),1 g/dL 葡萄糖的 10 g/dL 脱脂乳(RSM-G)。植物乳杆菌 K25 按体积分数 2%接种于各脱脂乳中,于 42 °C 培养 16 h 后,观察是否凝乳<sup>[4]</sup>。

### 1.4 植物乳杆菌 K25 蛋白水解活性测定

采用改进的 Church 等(1983)的邻苯二甲醛(OPA)方法绘制酪氨酸标准曲线<sup>[5]</sup>,见图 1。

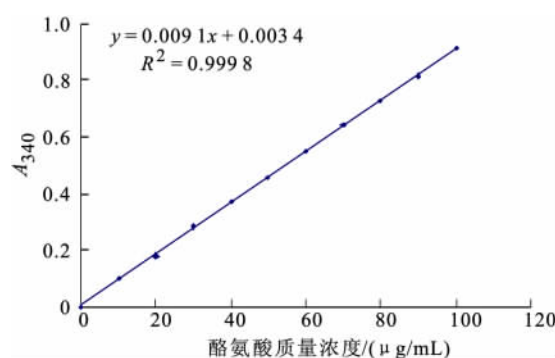


图 1 OPA 法酪氨酸标准曲线

Fig. 1 Standard curve of tyrosine by OPA method

将活化好的植物乳杆菌 K25 按体积分数 1%接种于 10 g/dL 的脱脂乳中,在 37 °C 下培养 24 h,采用未接菌的 10 g/dL 的脱脂乳作为空白。准确吸取 2.5 mL 样品,置于试管中,加入 0.5 mL 重蒸馏水混匀,然后加入 0.5 mL、0.75 mol/L 的三氯乙酸(TCA),经旋涡混合仪混匀,于室温下静置 10 min 后,3 000 r/min,4 °C 离心 5 min,取上清液备用。上清液 1 mL 加入试管中,再加入 3 mL 的 OPA 试剂,混匀后,在室温下反应 2 min,于 340 nm 处测定吸光度。对应标准曲线得出蛋白质水解活性相当于酪氨酸的量,A<sub>340</sub> 作为 OPA 指数也可直接用于对比<sup>[6]</sup>。选取一株由作者所在实验室保藏的鼠李糖乳杆菌 LGG 作为对照。

### 1.5 植物乳杆菌 K25 自溶活性测定

将植物乳杆菌 K25 按体积分数 1%接种到 MRS 液体培养基中,取对数生长期的菌液(OD<sub>600</sub> 为 0.7~0.8),经 10 000 g、4 °C 离心 10 min,收集菌泥。然后用磷酸盐缓冲液(pH 6.8)洗涤两次后悬浮,于 37 °C 下放置 48 h。分别于第 3、6、9、24、48 h 取样,在 600 nm 处测定其吸光度。自溶活性以菌液在 600 nm 处的吸光度减少量来表示。

### 1.6 植物乳杆菌 K25 抑菌活性测定

采用改进的 Hechard 等<sup>[7]</sup> (1990) 的琼脂平板扩散法。选取 4 株常见的致病菌: 金黄色葡萄球菌 CMCC26071、大肠杆菌 CMCC44825、福氏志贺氏菌 CMCC51061、鼠伤寒沙门氏菌 CMCC50115 以及 2 株发酵剂菌株嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌, 分别接种到适宜的琼脂培养基上, 无菌条件下放置 5 h。待琼脂板凝固后用直径为 8 mm 的牛津杯在琼脂培养基上打孔。将活化好的植物乳杆菌 K25 菌液, 经 10 000 g、4 °C 离心 10 min, 收集上清液备用。为了排除过氧化氢以及乳酸的干扰, 上清液应经微孔滤膜过滤后再调 pH 6.0, 同时添加无菌的过氧化氢酶 (1 000 U/mL)。取处理过的上清液 50  $\mu$ L 加入到琼脂板上的孔中, 然后放到适宜条件下培养 48 h。用直尺测量抑菌圈的直径。抑菌效果按以下标准评定: 当无抑菌圈时, 代表无抑制作用(-); 当抑菌圈直径在 0~3 mm 之间, 代表抑菌效果弱(+); 当抑菌圈直径在 3~6 mm 之间, 代表抑菌效果良好(++); 当抑菌圈直径大于 6 mm, 代表抑菌效果强(+++)<sup>[8]</sup>。

### 1.7 植物乳杆菌 K25 抗生素药敏试验

采用改进的 Charteris 等<sup>[9]</sup> (1998) 的方法。选用 10 种抗生素: 青霉素、氯霉素、赤霉素、红霉素、硫酸链霉素、硫酸庆大霉素、硫酸卡那霉素、盐酸万古霉素、头孢噻肟和利福平。将活化好的植物乳杆菌 K25 按体积分数 1% 接种到 MRS 液体培养基中, 37 °C 培养至对数期 ( $10^6 \sim 10^7$  cfu/mL)。取 200  $\mu$ L 菌液到 MRS 琼脂培养基平板上, 涂布均匀, 无菌条件下室温放置 1 h。待平板凝固后将抗生素药敏纸片放至平板上, 37 °C 培养 24 h。抗生素的药敏性参照 WHO 提供的 NCCLS 最新版本的标准进行。

### 1.8 抑菌剂对植物乳杆菌 K25 生长的影响试验

选用乳制品生产中常用的 3 种抑菌剂: 氯化钠、山梨酸钾和丙酸钙。配制含不同浓度抑菌剂的液体 MRS 培养基, 然后将植物乳杆菌 K25 按体积分数 3% 接种到各培养基中, 37 °C 培养 24 h 后, 于 590 nm 处测定吸光度, 以不添加抑菌剂的液体 MRS 培养基为空白。植物乳杆菌 K25 的相对增长率以占空白培养基吸光度的百分比表示。

### 1.9 植物乳杆菌 K25 在冷藏期间存活能力及发酵乳 pH 值变化测定

将活化好的菌种按  $10^7$  cfu/mL 的接种量接种到 10 g/dL 脱脂乳中, 于 37 °C 发酵 20 h 后, 转移至

4 °C 冰箱中冷藏 28 d。采用 MRS 琼脂培养基 (pH 6.6) 平板计数法, 测定发酵乳在 4 °C 冷藏期间第 1、7、14、21、28 天的活菌数。同时, 测定冷藏期间发酵乳的 pH 值。

## 2 结果与分析

### 2.1 植物乳杆菌 K25 凝乳活性

乳酸菌发酵时能利用牛乳中的乳糖, 产生乳酸, 导致牛乳的 pH 值逐渐降低, 达到酪蛋白的等电点时, 酪蛋白聚集沉降, 从而形成半固体状态的凝胶物质, 即凝乳现象。一般把在 16 h 之内能凝乳的乳酸菌定义为快速凝乳菌株。目前, 工业上最常用的乳酸菌有嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、干酪乳杆菌、嗜酸乳杆菌和双歧杆菌等。

作者对植物乳杆菌 K25 在脱脂乳以及补充氮源或碳源的脱脂乳中的凝乳特性进行了分析, 结果见表 1。植物乳杆菌 K25 在 16 h 之内, 并没有使脱脂乳产生凝乳, 而添加了 0.25 g/dL 酵母粉的脱脂乳产生了凝乳, 可见植物乳杆菌 K25 不属于快速凝乳菌。Nieto-Arribas 等<sup>[10]</sup> (2009) 对 10 株从 Manchego 奶酪中分离得到的植物乳杆菌进行了凝乳活性试验, 结果发现大部分植物乳杆菌的凝乳活性较差。此外, Medina 等<sup>[11]</sup> (2001) 的研究也验证了这一结论。虽然植物乳杆菌的凝乳活性较差, 但作为附属菌, 可以不参与发酵乳的产酸过程, 而在益生性方面发挥其独特的优势。

表 1 植物乳杆菌 K25 凝乳特性试验

Tab. 1 Milk coagulation activity of *L. plantarum* K25

菌种	K25
RSM	-
RSM+Y	+
RSM+P	-
RSM+G	-
RSM+CH	-

注: + 代表发酵 16 h 之内凝乳; - 代表发酵 16 h 之内不凝乳。

### 2.2 植物乳杆菌 K25 蛋白水解活性测定

乳酸菌能将牛乳中的蛋白质吸收分解成肽和氨基酸, 使其变得易于消化、吸收。作者采用的 OPA 方法是一种迅速、敏感、方便的测定牛乳蛋白

水解的方法。通过与邻苯二甲醛和  $\beta$ -巯基乙醇的水解反应, $\alpha$ -氨基酸被释放出来,并形成在 340 nm 有强吸收的混合物。

由图 2 可以看出,植物乳杆菌 K25 对乳蛋白水解活性与对照组 LGG 相似。随着发酵时间的延长,植物乳杆菌 K25 的  $A_{340}$  在 4~8 h 有急速下降的过程,8~16 h 之间保持平稳,在第 20 小时达到最低,随后有所增长,24 h 时的吸光度值为 0.227 3,对应游离氨基酸质量浓度为 25.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,与对照组 LGG 在 24 h 后的对应的游离氨基酸质量浓度相比差异不显著 ( $P > 0.05$ )。据 Georgieva 等<sup>[12]</sup> (2009)报道,分离自保加利亚奶酪中的 8 株植物乳杆菌水解乳蛋白后形成的游离氨基酸浓度为 0.170~0.609 mmol/L。吕加平等<sup>[13]</sup>测得保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌水解乳蛋白后游离氨基酸质量浓度为 61.0~144.6 mg/L 和 2.4~14.8 mg/L。

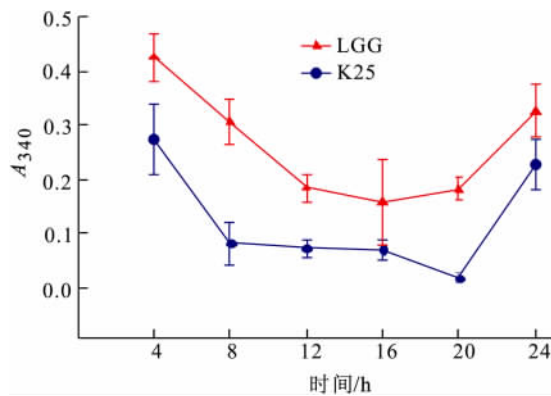


图 2 植物乳杆菌 K25 在脱脂乳 (10 g/dL), 37 °C 条件下发酵过程中蛋白水解活性变化曲线

Fig. 2 Curves of the proteolytic activity of *L. plantarum* K25 in reconstituted skim milk (10 g/dL) at 37 °C

### 2.3 植物乳杆菌 K25 自溶活性

乳酸菌在干酪成熟过程中,往往会发生自身溶解从而释放出胞内酶,对干酪成熟过程中感官质量和质构特性的形成有一定影响。图 3 显示了植物乳杆菌 K25 的自溶活性试验结果。随着放置时间的延长,植物乳杆菌 K25 的自溶活性逐渐增强。在 48 h 时,其自溶活性达到最高,OD<sub>600</sub> 减少量为 0.707±0.034。Franciosi 等<sup>[14]</sup> (2009)用相同的方法测得嗜热链球菌和乳酸链球菌的自溶活性,在 48 h 后 OD<sub>600</sub> 减少量分别为 0.142±0.030 和 0.178±0.019。植物乳杆菌 K25 的自溶活性明显高于嗜热链球菌和乳酸链球菌,可作为附属菌株应用于干酪

生产中。

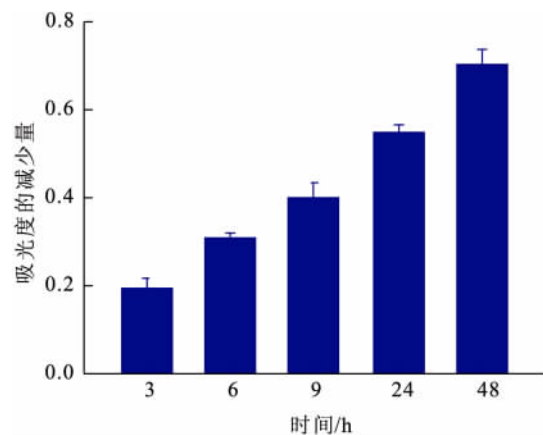


图 3 植物乳杆菌 K25 自溶活性试验

Fig. 3 Autolytic activity of *L. plantarum* K25

### 2.4 植物乳杆菌 K25 抑菌活性

从表 2 可知,植物乳杆菌 K25 对 4 株致病菌表现出了不同程度的抑制作用,对福氏志贺氏菌的抑制作用强,对沙门氏菌的抑制作用良好,对金黄色葡萄菌和大肠杆菌的抑制作用较弱,而对两株发酵剂菌株没有抑制作用。

表 2 植物乳杆菌 K25 抑菌活性试验

Tab. 2 Antimicrobial activity of *L. plantarum* K25

菌株	抑菌活性
福氏志贺氏菌	+++
鼠伤寒沙门氏菌	++
金黄色葡萄球菌	+
大肠杆菌	+
嗜热链球菌	-
保加利亚乳杆菌	-

注: -, 无抑制; +, 抑菌圈直径在 0~3 mm (弱); ++, 抑菌圈直径在 3~6 mm (良); +++, 抑菌圈直径在 6 mm 以上 (强)。

抑菌活性是益生菌得一项重要特性。通过本试验分析了植物乳杆菌 K25 的抑菌活性,结果表明植物乳杆菌 K25 在生长过程中可能会产生细菌素,从而来抑制致病菌。据相关文献报道,乳酸菌能产生细菌素是很普遍的现象,这种特性有助于它们的定植以及在与其它菌株竞争时占据优势。乳酸菌的抑菌活性取决于很多因素,其中包括发酵乳制品 pH 的降低,乳酸菌产生的有机酸、过氧化氢以及细

菌素等<sup>[15]</sup>。实际上,发酵乳制品的 pH 降低能抑制一些致病菌生长,这是因为未分解的乳酸能降低细胞内部的 pH,引起细胞膜电荷的变化,从而影响微生物对营养物质的吸收。近年来,产细菌素乳酸菌已被广泛应用于干酪发酵剂的生产中,以提高干酪的安全性及品质<sup>[16]</sup>。

## 2.5 植物乳杆菌 K25 抗生素药敏试验

抗生素药敏性一般分为耐药(R)、中度敏感(MS)以及高度敏感(S)3个级别。从表3可知,植物乳杆菌 K25 对红霉素高度敏感,而对头孢噻肟和氯霉素中度敏感,对青霉素、氯霉素、赤霉素、利福平、硫酸链霉素、硫酸卡那霉素、硫酸庆大霉素以及盐酸万古霉素均耐药。Rönkö 等<sup>[17]</sup>(2003)发现短乳杆菌 ATCC 8287 和 ATCC 14869T 对万古霉素有耐药性。Essid 等<sup>[18]</sup>(2009)采用琼脂片扩散法对分离自腌肉中的 17 株植物乳杆菌进行了药敏性分析,发现所有菌株均对诺氟沙星、庆大霉素、卡那霉素、头孢呋辛以及硫酸链霉素敏感,而对四环素有耐药性,88.2%的菌株对红霉素和利福平有耐药性,70.5%的菌株对青霉素有耐药性。

表3 植物乳杆菌 K25 抗生素药敏试验

Tab.3 Antibiotic susceptibility of *L. plantarum* K25

抗生素种类	抑菌圈直径/mm	药敏性
青霉素	18.4±1.0	R
氯霉素	13.4±0.2	MS
赤霉素	0	R
红霉素	22.8±0.3	S
利福平	12.0±0.5	R
头孢噻肟	22.0±0.1	MS
硫酸链霉素	2.6±0.6	R
硫酸卡那霉素	0	R
硫酸庆大霉素	0	R
盐酸万古霉素	0	R

注:R为耐药;MS为中度敏感;S为高度敏感; $n=3, \bar{x} \pm s$ 。

## 2.6 抑菌剂对植物乳杆菌 K25 生长的影响

从表4可以看出,3种抑菌剂对植物乳杆菌 K25 的生长均有不同程度的影响。丙酸钙对植物乳杆菌 K25 的生长无显著影响。当氯化钠质量浓度在 3 g/dL 和 6 g/dL,山梨酸钾质量浓度在 0.1

g/dL 和 0.2 g/dL 时,其对植物乳杆菌 K25 的生长无显著影响,植物乳杆菌 K25 表现出很好的适应性,相对增长率在 80%~90%之间。而当氯化钠质量浓度在 8 g/dL 以上,山梨酸钾质量浓度在 0.5 g/dL 以上时,植物乳杆菌 K25 的生长受到抑制,相对增长率在 15%~54%之间。

抑菌剂的应用已成为影响乳酸菌生长的重要因素。抑菌剂能有效抑制食品中有害微生物的生长,同时也会影响食品中发酵菌株或其他益生菌的生长。在天然干酪中,氯化钠的质量浓度一般在 0.7~6 g/dL 之间,对不同干酪的品质、质地以及风味的形成有重要作用。高质量浓度氯化钠能影响干酪中发酵剂菌株和有害微生物的生长<sup>[19]</sup>。山梨酸钾和丙酸钙能有效地抑制食品中酵母菌、霉菌及细菌的生长,被广泛应用于干酪生产。通常在新鲜干酪生产中,山梨酸钾的质量浓度为 0.05~0.1 g/dL。本研究中,植物乳杆菌 K25 只对高质量浓度的氯化钠和山梨酸钾敏感,因此,通常应用于干酪生产中的抑菌剂浓度,不会影响植物乳杆菌 K25 的生长。

表4 抑菌剂对植物乳杆菌 K25 生长的影响试验

Tab.4 Effect of microbe inhibitory agents on growth of *L. plantarum* K25

抑菌剂	质量浓度/(g/dL)	相对增长率/%
氯化钠	3	90
	6	80
	8	45
	10	15
山梨酸钾	0.1	85
	0.2	80
	0.5	54
	1	39
丙酸钙	0.3	92
	0.6	81

注:植物乳杆菌 K25 的相对增长率以占空白培养基吸光度的百分比表示。

## 2.7 植物乳杆菌 K25 在冷藏期间存活能力及发酵乳 pH 值变化

植物乳杆菌 K25 初始菌数为  $7.58 \pm 0.11$  lg cfu/mL,发酵 20 h 后,活菌数达到  $9.22 \pm 0.04$

lg cfu/mL。从图 4 可以看出,4 °C 冷藏期间,植物乳杆菌 K25 的活菌数随着天数的增加而逐渐减少,在第 28 天时,活菌数为  $8.74 \pm 0.08$  lg cfu/mL,与冷藏期第 1 天的活菌数相比差异不显著 ( $P < 0.05$ )。这表明植物乳杆菌 K25 在冷藏期间的存活能力较好。据 Nighswonger 等<sup>[20]</sup>(1996)研究发现,把嗜酸乳杆菌和干酪乳杆菌以附属菌的形式添加到酸奶中,其在冷藏期间的活菌数发生明显下降,在货架期末,活菌数降至 5~7 lg cfu/mL 之间。Shah 等<sup>[21]</sup>(1995)报道,有些益生菌发酵乳制品中的活菌数甚至降至 5 lg cfu/mL 以下。

随着益生菌概念的深入推广,针对如何提高发酵乳制品在货架期内益生菌的活菌数,已成为目前重要的研究课题。虽然目前对益生菌在货架期末活菌数含量还没有标准,但是一般认为益生菌的活菌数至少在 6 lg cfu/mL 以上,才能发挥其益生作用<sup>[22]</sup>。本试验的植物乳杆菌 K25 符合这一要求。

发酵乳在整个冷藏期间,pH 的变化不显著 ( $P > 0.05$ ),表明植物乳杆菌 K25 对发酵乳冷藏期间的 pH 值影响不大。François 等<sup>[23]</sup>(2004)研究也表明了添加植物乳杆菌不会造成酸奶的后酸化。

### 3 结 语

对益生性植物乳杆菌 K25 技术特性的研究,结

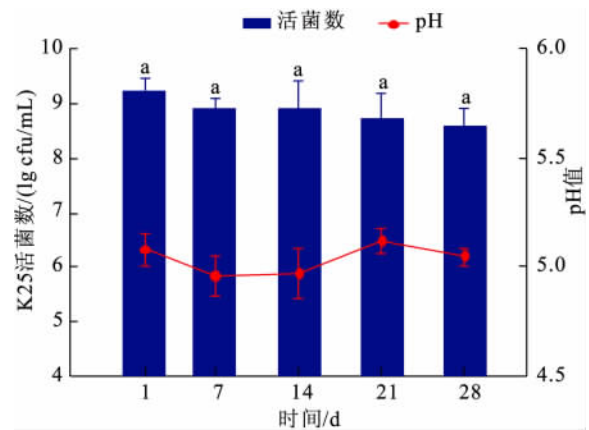


图 4 植物乳杆菌 K25 在 4 °C 冷藏期间存活能力及发酵乳 pH 值变化

Fig. 4 Viability of *L. plantarum* K25 and pH change of fermented milk during cold storage

果表明该菌株凝乳活性较低,蛋白质水解活性一般,而自溶活性较高。该菌株对致病菌有较好的抑制作用,而对发酵剂菌株无抑制作用。药敏试验确定了该菌株对常见抗生素的敏感性,其中对红霉素高度敏感。将该菌株添加到发酵乳中,4 °C 冷藏期 28 d,表现出了很好的存活能力,活菌数仍保持在 8 lg cfu/mL 以上,并能够经受住乳制品生产中常用抑菌剂的影响。此外,该菌株应用于发酵乳中不会产生后酸化现象。本研究结果为植物乳杆菌 K25 应用于功能性乳制品的开发提供了理论依据。

### 参考文献(References):

- [1] 陈若雯,李里,段家彩,等. 乳酸乳杆菌胞外多糖的发酵条件优化[J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29(5):771-776.  
CHEN Ruo-wen, LI Li, DUAN Jia-cai, et al. Optimization of fermentation conditions for exopolysaccharid production from *Lactobacillus lactis*[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2010, 29(5):771-776. (in Chinese)
- [2] 郭壮,王记成,闫丽雅,等. 益生菌 *Lactobacillus casei* Zhang 对酸奶风味、质地及感官特性的影响[J]. 中国乳品工业, 2009, 37(1):14-20.  
GUO Zhuang, WANG Ji-cheng, YAN Li-ya, et al. Influence of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang on aroma generation, texture and sensory characteristics of yogurt[J]. *China Dairy Industry*, 2009, 37(1):14-20. (in Chinese)
- [3] 董成. 益生菌 *L. casei* Zhang 在干酪中的应用研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2008.
- [4] Hébert E M, Raya R R, Tailliez P, et al. Characterization of natural isolates of *Lactobacillus* strains to be used as starter cultures in dairy fermentation[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2000, 59:19-27. (in Chinese)
- [5] Church F C, Swasgood H E, Porter D H, et al. Spectrophotometric assay using  $\alpha$ -phthaldialdehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk[J]. *Journal Dairy Science*, 1983, 66:1219-1227.
- [6] 陈帅. 促进植物乳杆菌 ST-III 在脱脂乳中生长营养因子的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2009.
- [7] Hechard Y, Dherbomez M, Cenatiempo Y, et al. Antagonism of lactic acid bacteria from goats' milk against pathogenic strains assessed by the 'sandwich method' [J]. *Letters in Applied Microbiology*, 1990, 11:185-188.

- [ 8 ]Pan Xiaodong, Chen Fenqin, Wu Tianxing, et al. The acid, bile tolerance and antimicrobial property of *Lactobacillus acidophilus* NIT[J]. **Food Control**, 2009, 20:598–602.
- [ 9 ]Charteris W P, Kelly P M, Morelli L, et al. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus species*[J]. **J Food Prot**, 1998, 61 (12):1636–1643.
- [10]Nieto-Arribas P, Poveda J M, Seseña S, et al. Technological characterization of *Lactobacillus* isolates from traditional Manchego cheese for potential use as adjunct starter cultures[J]. **Food Control**, 2009, 20:1092–1098.
- [11]Medina R, Katz M, Gonzalez S, et al. Characterization of the lactic acid bacteria in ewe's milk and cheese from northwest argentina[J]. **International Association for Food Protection**, 2001, 64:559–563.
- [12]Georgieva R, Haertlé T, Chobert J M, et al. Technological properties of candidate probiotic *Lactobacillus plantarum* strains[J]. **International Dairy Journal**, 2009, 19:696–702.
- [13]吕加平, 承庠, 刘凤民. 乳酸菌蛋白水解力的测定及研究[J]. 东北农业大学学报, 1999, 30(1):68–74.  
LU Jia-ping, LUO Cheng-xiang, LIU Feng-min. Studies on the proteolytic activity of various lactic acid bacteria fermented milk[J]. **Journal of Northeast Agricultural University**, 1999, 30(1):68–74. (in Chinese)
- [14]Franciosi E, Settanni L, Cavazza A, et al. Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk[J]. **International Dairy Journal**, 2009, 19:3–11.
- [15]Garriga M, Hugas M, Aymerich T, et al. Bacteriocinogenic activity of lactobacilli from fermented sausages[J]. **Journal of Applied Bacteriology**, 1993, 75:14–148.
- [16]Delves-Broughton J, Blackburn P, Evans R J, et al. Applications of the bacteriocin, nisin[J]. **Antonie van Leeuwenhoek**, 1996, 69:193–202.
- [17]Rönkö E, Malinen E, Saarela M, et al. Probiotic and milk technological properties of *Lactobacillus brevis*[J]. **International Journal of Food Microbiology**, 2003, 83:63–74.
- [18]Essid I, Medini M, Hassouna M. Technological and safety properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from a Tunisian traditional salted meat[J]. **Meat Science**, 2009, 81:203–208.
- [19]Doyle M E, Glass K A. Sodium reduction and its effects on food safety, food quality, and human health[J]. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 2010, 9(1):44–56.
- [20]Nighswonger B G, Brashears M M, Gilliland S E. Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in fermented milk products during refrigerated storage[J]. **Journal of Dairy Science**, 1996, 79(2):212–219.
- [21]Shah N P, Lankaputhra W E V, Britz M L, et al. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage[J]. **International Dairy Journal**, 1995, 5:515–521.
- [22]Maragkoudakis P A, Miaris C, Rojez P, et al. Production of traditional Greek yoghurt using *Lactobacillus strains* with probiotic potential as starter adjuncts[J]. **International Dairy Journal**, 2006, 16:52–60.
- [23]François Z N, Ahmed N E, Félicité M T, et al. Effect of ropy and capsular exopolysaccharides producing strain of *Lactobacillus plantarum* 162RM on characteristics and functionality of fermented milk and soft Kareish type cheese[J]. **African Journal of Biotechnology**, 2004, 10:512–518.