

高效降胆固醇植物乳杆菌的筛选及其益生潜能初探

周海柱¹ 高云航¹ 郭玮² 勾长龙¹ 陶大鹏¹ 娄玉杰^{1*}

(1. 吉林农业大学 动物科学技术学院, 长春 130118;

2. 吉林省畜牧总站, 长春 130062)

摘要 为筛选出高效降胆固醇乳杆菌, 挖掘其潜在益生功能, 从民间自制泡菜样品中分离乳杆菌, 采用邻苯二甲醛法筛选高效降胆固醇菌株, 利用 16S rDNA 进行分子生物学鉴定, 并通过耐酸、耐胆盐及抑菌性实验, 测定菌株的益生潜能。结果表明: 1) 从分离出的 11 株乳杆菌中筛选出 PL2、PL5、PL16 和 PL194 等 4 株高效降胆固醇菌株, 其体外胆固醇降解率分别为 48.22%、51.67%、48.43% 和 48.56%; 2) 结合菌落特征、部分生理生化试验及 16S rDNA 基因序列比对鉴定 4 株乳酸菌均为植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*); 3) 该 4 株乳酸菌均可在 pH 2.0 的环境下生存 3 h, 菌株 PL2 和 PL5 可以在 0.3% 的胆盐浓度下存活 3 h; 4) 菌株 PL5 对致病性大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌和福氏志贺氏菌均有显著的抑制作用。总之, 植物乳杆菌 PL5 是具有开发前景的高效降胆固醇益生菌。

关键词 植物乳杆菌; 降胆固醇; 耐酸; 耐胆盐; 抑菌作用

中图分类号 S182

文章编号 1007-4333(2018)02-0036-07

文献标志码 A

Screening and evaluation of cholesterol-lowering *Lactobacillus plantarum* strains

ZHOU Haizhu¹, GAO Yunhang¹, GUO Wei², GOU Changlong¹, TAO Dapeng¹, LOU Yujie^{1*}

(1. Animal Science and Technology College, Jilin Agricultural University, Changchun 1301182, China;

2. Animal Husbandry General Station of Jilin Province, Changchun 130062, China)

Abstract The aim of this study was to screen the *Lactobacillus* with efficient cholesterol-lowering ability and discover its beneficial potency. Eleven *Lactobacillus* strains were isolated from homemade pickle samples and screened for high cholesterol-lowering by phthalic aldehyde method and 16S rDNA molecular biology identification. The acid tolerance, bile tolerance and antibacterial tests were then conducted to analyze their probiotic properties. The results showed that: 1) High cholesterol-lowering strains, PL2, PL5, PL16 and PL19, were obtained from the screen, and their cholesterol degradation rate were 48.22%, 51.67%, 48.43% and 48.56%, respectively. 2) The four strains were identified as *L. plantarum* by morphological observation and molecular biology identification. 3) All strains survived in pH 2.0 for three hours. Strains PL2 and PL5 survived under ambient of 0.3% bile salt concentration for three hours. 4) It was found that strain PL5 displayed significant inhibitory effect on four common pathogens. In conclusion, strain PL5 was a potential probiotics with excellent cholesterol-lowering effect.

Keywords *Lactobacillus plantarum*; cholesterol-lowering; acid tolerance; bile salt tolerance; antibacterial effect

近年来, 心脑血管疾病的发病人数不断增加, 严重威胁人类健康^[1]。现代医学认为血浆胆固醇过高是引发心脑血管疾病的主要原因之一^[2]。研究发现

血清中胆固醇含量每减少 1%, 人体心脑血管疾病的发病率会降低 2%~3%^[3]。因此, 如何降低血浆中胆固醇含量已成为了医学界和营养界的研究热

收稿日期: 2017-02-15

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFD0501409-03); 国家自然科学基金项目(NSFC:31372331); 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-38); 公益性行业(农业)科研专项(201303091)

第一作者: 周海柱, 博士, E-mail: goodhaizhu@163.com

通讯作者: 娄玉杰, 教授, 主要从事环境与微生态研究, E-mail: louyujie560305@126.com

点。Grunewald 等^[4]发现常饮酸乳能够降低人体血清中胆固醇含量;于平等^[5]用植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*) LpT1 和 LpT2 饲喂大鼠,可有效降低大鼠的高脂血症发病率;黄润庭等^[6]研究发现乳酸菌能够影响机体的多种生理功能。目前,欧美及日本市场已经出现具有辅助降胆固醇的益生乳制品,但国内的相关益生菌产品还较少。因此,筛选出降胆固醇性能优良的菌株,对于开发出功能性的发酵制品、丰富发酵品的种类都具有重要的现实意义。本研究拟从东北自制泡菜样品中分离乳酸菌,从中筛选出高效降胆固醇菌株并对其耐酸、耐胆盐、抑菌活性等进行研究,以期开发出高效的降胆固醇菌种。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品

泡菜样品采集于长春市净月开发区周边农户家。

1.1.2 培养基

MRS 培养基^[7]:牛肉膏 1.0 g,酵母粉 0.5 g,蛋白胨 1.0 g,葡萄糖 2.0 g,柠檬酸钠 0.5 g,无水乙酸钠 0.5 g,磷酸氢二钾 0.2 g,吐温-80 0.1 mL,硫酸锰 0.005 g,七水硫酸镁 0.05 g,蒸馏水 100 mL, pH 6.6, 121 °C 灭菌 15 min。

MRS-THIO 液体培养基:将 0.2 g 巯基乙酸钠加入到 100 mL MRS 培养基中, pH 6.5, 121 °C 灭菌 15 min。

1.1.3 主要试剂及仪器

水溶性胆固醇、巯基乙酸钠、牛胆盐均购自美国 Sigma 公司;细菌基因组提取试剂盒、质量小量抽提试剂盒、PMD18-T 均购自 Takara 公司;U-3900 紫外分光光度计,日本日立公司;DHP-9082 型电热恒温培养箱,上海一恒科技有限公司。

1.1.4 指示菌株

大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、福氏志贺氏菌均为本实验室保存。

1.2 试验方法

1.2.1 乳酸菌的分离纯化

称取泡菜样品 10 g,剪碎后加入到盛有 90 mL 无菌磷酸盐缓冲液(Phosphat buffered saline, PBS)的 250 mL 锥形瓶中, 37 °C 摇床振荡 2 h, 静止 10 min。取 1 mL 上清液作 10 倍梯度稀释,用无菌

水分别稀释为 10^{-1} 、 10^{-3} 和 10^{-5} , 分别取 200 μ L 均匀涂布于 MRS 平板上, 37 °C 厌氧培养 24~48 h, 挑取单个菌落纯化 2 次。利用分离所得菌株进行革兰氏染色、凝乳性试验和接触酶试验。

1.2.2 菌株体外降胆固醇能力测定

分别准确称取 1 mL 质量浓度为 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.12 mg/mL 的胆固醇溶液置于 10 mL 试管中, 加入 4 mL 邻苯二甲醛溶液(0.5 mg/mL)和 2 mL 浓硫酸, 充分混匀后, 室温下显色 10 min, 以胆固醇的质量浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标绘制标准曲线^[8]。

将活化菌株(1.5×10^8 CFU/mL)以 2 % (体积比)的接种量接种于每 100 mL 含胆固醇 0.01 g 的 MRS-THIO 液体培养基中, 37 °C 厌氧培养 24 h, 4 °C, 10 000g 离心 10 min, 收集上清液。取 1 mL 上清液于干净试管中, 分别加入 95 % 乙醇 3 mL 和 50 % 氢氧化钾 2 mL, 混匀后置于 60 °C 恒温水浴锅中水浴 10 min, 冷却后加入 5 mL 正己烷, 萃取 1~2 min 后加入 2 mL 蒸馏水, 重复振荡, 室温静置分层。准确称取 2 mL 上层正己烷, 60 °C 水浴氮气吹干, 分别加入 4 mL 邻苯二甲醛溶液和 2 mL 浓硫酸, 显色 10 min, 于 550 nm 处测定样品吸光度。根据胆固醇标准曲线计算胆固醇的质量浓度。以未接菌的 MRS-THIO 液体培养基作空白对照, 计算菌株的胆固醇降解率公式如下:

$$\text{胆固醇降解率} = \frac{C-A}{C} \times 100\%$$

式中: A 为发酵上清液在 550 nm 波长处的 OD 值; C 为空白对照的 OD 值。

1.2.3 分子生物学鉴定

提取筛选菌株的基因组 DNA, 采用通用引物^[9](上游引物为 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3', 下游引物为 5'-GGTTACCTTGTTACGA CTT-3', GenBank 登录号为 KY825218)扩增筛选菌株的 16S rDNA, PCR 回收产物与 pMD-18T 连接后转化至 *Escherichia coli* DH5 α 感受态细胞中, 筛选阳性克隆, 经 PCR 鉴定后由生工生物工程(上海)股份有限公司测序, 并与 NCBI 中现有的 16S rDNA 基因序列进行比对, 利用 MEGA6.0 构建系统进化树。

1.2.4 菌株耐酸能力测定

分别接种 2 % 活化菌株至不同 pH(2、3、4)的 MRS 液体培养基中, 37 °C 厌氧培养 3 h 后取样

100 μL ,用无菌水稀释至 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} ,每个稀释度取 100 μL 分别均匀涂布于 MRS 平板中,37 $^{\circ}\text{C}$ 厌氧培养 48 h 后进行菌落计数^[10]。

1.2.5 菌株耐胆盐能力测定

分别接种 2% 活化菌株至牛胆盐含量为 0.10%、0.20%、0.25%、0.30% 的 MRS 液体培养基中,37 $^{\circ}\text{C}$ 厌氧培养 3 h 后取样 100 μL ,用无菌水稀释至 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} ,每个稀释度取 100 μL 分别均匀涂布于 MRS 平板中,37 $^{\circ}\text{C}$ 厌氧培养 48 h 后进行菌落计数^[11]。

1.2.6 菌株发酵液的抑菌活性测定

采用牛津杯法,选用实验室保存的大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌和福氏志贺氏菌作为病原指示菌,对高效降解胆固醇菌株的发酵液进行抑菌

活性测定。根据菌株的抑菌圈直径大小,评价其抑菌效果。

1.2.7 数据分析

试验数据采用 Microsoft Excel 和 SPSS16.0 进行整理和分析,采用 DMRT 法(Duncan’s multiple range test)进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 菌株初筛结果

从 5 份泡菜样品中共分离获得 21 株细菌(PL1~PL21),从中筛选得到革兰氏染色呈阳性、接触酶试验为阴性、6 h 内产生凝乳现象的菌株 11 株,初步鉴定为乳酸菌。该 11 株菌的菌落特征、菌体形态、凝乳性及接触酶试验结果见表 1。

表 1 初筛菌株的观察鉴定结果
Table 1 Preliminary identification of lactic acid bacterial isolates

菌株 Strain	菌落特征 Colony characteristics	革兰氏染色 Gram stain	凝乳性 Curdled appearance	接触酶试验 Coagulating property
PL2	乳白色,圆形,边缘整齐,表面光滑,湿润,有光泽,不透明,中间隆起	阳性短杆菌	++	阴性
PL4	白色,圆形,边缘整齐,表面光滑,湿润,有光泽,不透明,中间微凸	阳性球菌	+	阴性
PL5	乳白色,圆形,边缘整齐,表面光滑,湿润,有光泽,不透明,中间隆起	阳性长杆菌	++	阴性
PL8	灰白色,边缘整齐,表面光滑,湿润,有光泽,不透明,低凸起	阳性球菌	+	阴性
PL9	乳白色,圆形,边缘整齐,表面光滑,湿润,略有光泽,不透明,中间隆起	阳性短杆菌	++	阴性
PL10	灰白色,圆形,边缘整齐,表面光滑,湿润,有光泽,不透明,扁平	阳性球菌	+	阴性
PL13	乳白色,圆形,边缘整齐,表面光滑,不湿润,无光泽,不透明,中间高凸起	阳性球菌	++	阴性
PL15	灰白色,圆形,边缘整齐,表面光滑,不湿润,无光泽,不透明,扁平	阳性短杆菌	+	阴性
PL16	乳白色,圆形,边缘整齐,表面光滑,湿润,有光泽,不透明,中间微凸	阳性长杆菌	++	阴性
PL19	乳白色,圆形,边缘整齐,表面光滑,湿润,有光泽,不透明,中间隆起	阳性短杆菌	++	阴性
PL20	淡黄色,圆形,边缘整齐,表面光滑,湿润,无光泽,不透明,有凸起	阳性短杆菌	+	阴性

注: + 表示凝乳效果一般; ++ 表示凝乳效果较好。
Note: + indicates general coagulating property; ++ indicates better coagulating property.

2.2 降胆固醇效果测定

2.2.1 测定标准曲线

以胆固醇质量浓度为横坐标,吸光度($\text{OD}_{550\text{nm}}$)为纵坐标绘制曲线(图 1)。得到线性方程: $y = 8.9464x - 0.0125 (R^2 = 0.999)$, 线性关系良好,可以用于降胆固醇能力的测定。

2.2.2 降胆固醇能力测定

菌株降胆固醇能力结果见图 2 菌株 PL5 的胆固醇降解率最高,达到 51.67%,显著高于其他十株菌($P < 0.05$),PL19、PL16、PL2 次之,胆固醇降解率分别为 48.56%、48.43%、48.22%,三者之间差异不显著($P > 0.05$),但显著高于其余 7 株菌($P <$

0.05)。剩余菌株胆固醇降解率均低于 40%，故选择胆固醇降解率较高的 4 株菌进行后续试验。

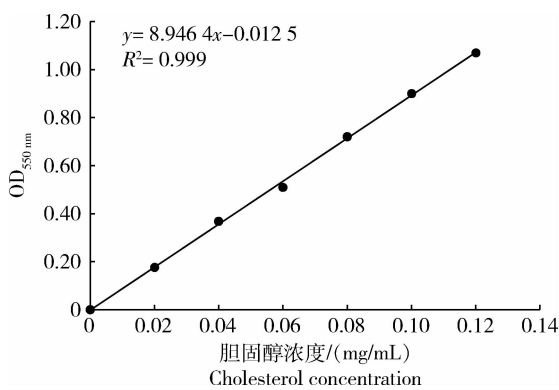
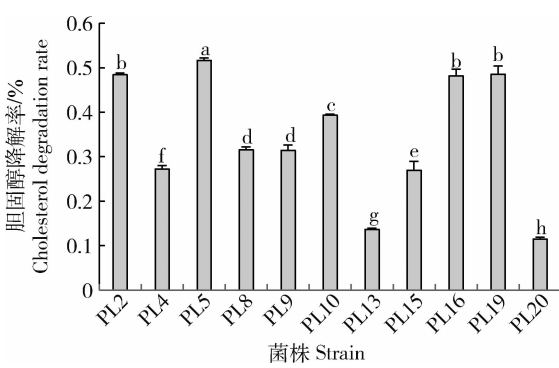


图 1 胆固醇标准曲线

Fig. 1 Standard curve of cholesterol



图中不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Values with different lowercase letters represent significantly different at $P < 0.05$.

图 2 初筛菌株降胆固醇能力

Fig. 2 Preliminary screen of strains by cholesterol-lowering ability

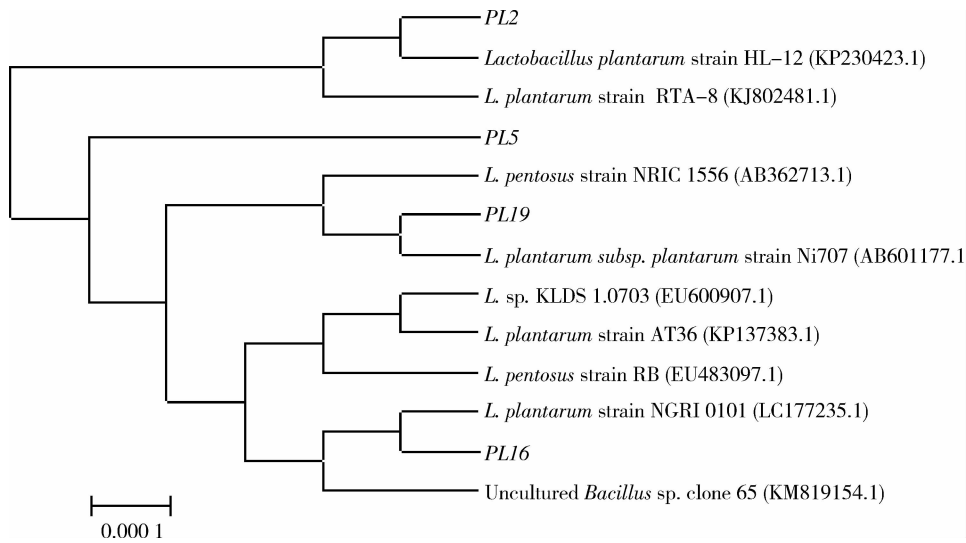
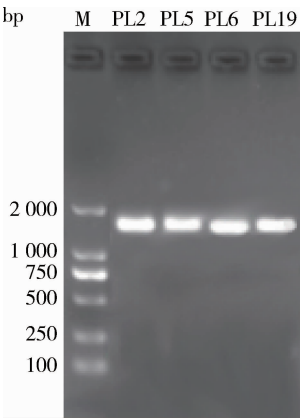


图 4 基于 16S RNA 基因序列构建的系统进化树

Fig. 4 Neighbor-joining dendrogram of partial 16S rRNA gene sequence

2.3 菌株 16S rRNA 测序及同源性分析

以菌株 PL2、PL5、PL16 和 PL19 基因组 DNA 为模板，利用 16S rDNA 细菌通用引物进行 PCR 扩增，测得 4 株菌 16S rDNA 核苷酸序列长度分别为 1 472、1 486、1 451 和 1 475 bp(如图 3 所示)，将序列通过 NCBI 比对后，选取相似序列构建系统进化树，结果表明(图 4)，菌株 PL2 与 *L. plantarum* strain HL-12 同源性达到 99%，菌株 PL5 与 *L. plantarum* strain RTA-8 同源性达到 98%，菌株 PL16 与 *L. plantarum* strain NGRI0101 同源性达到 100%，菌株 PL16 与 *L. plantarum* subsp. strain NI707 同源性达到 100%，结合菌落形态特征及部分生理生化试验结果鉴定 4 株菌均为植物乳杆菌。



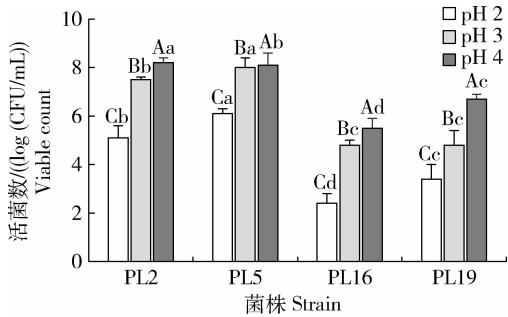
M, DNA 分子量标准 DL2 000 marker

图 3 4 株乳杆菌菌株 PCR 产物电泳结果

Fig. 3 Electrophoresis result of the PCR products of four strains

2.4 菌株耐酸性试验结果

PL2、PL5、PL16 和 PL19 株菌均能在 pH 2 的酸性环境下生存,且生存时间达到 2 h (图 5)。其中菌株 PL5 在 2 h 时活菌数依然可达到 1.25×10^6 CFU/mL,而 PL16 在 2 h 时活菌数只有 2.36×10^2 CFU/mL。随着 pH 的增长,4 株菌的活菌数均显著增加($P<0.05$)。菌株在 3 个 pH 情况下活菌数大小顺序如下:PL5>PL2>PL19>PL16,其中 PL5 的活菌数显著高于其他 3 株菌($P<0.05$)。



不同大写字母表示同一菌株生长量差异显著($P<0.05$);不同小写字母表示不同菌株在生长量差异显著($P<0.05$)。下同。

Different capital letters mean that the growths within the same strain is significantly different ($P<0.05$); Different lowercase letters mean that the growths of different strains are significantly different ($P<0.05$). The same bellow

图 5 不同酸性 pH 对筛选菌株生长的影响

Fig. 5 Effects of different acidity on the growth of isolated strains

2.5 菌株耐胆盐试验结果

菌株 PL2、PL5 在 0.30%胆盐浓度下仍然能够生长,活菌数分别为 1.01×10^5 CFU/mL, $1.03 \times$

10^5 CFU/mL,但二者的差异不显著($P>0.05$) (图 6)。4 株菌均能在 0.10%、0.20%、0.25%胆盐浓度下生长,随胆盐浓度的增长,4 株菌的活菌数显著降低($P<0.05$)。菌株 PL5 在 0.10%浓度下的活菌数最高,达到 3.46×10^9 CFU/mL,显著高于其他 3 株菌($P<0.05$);在 0.20%、0.25%胆盐浓度下,菌株 PL2 和 PL5 的活菌数接近,差异不显著($P>0.05$),但显著高于 PL16 和 PL19($P<0.05$)。

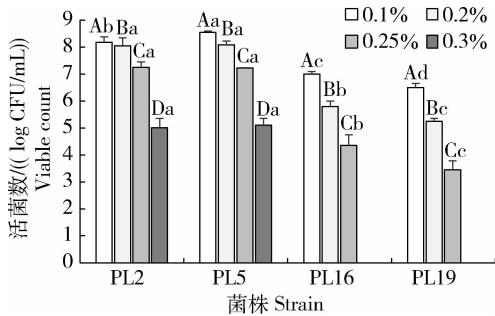


图 6 不同胆盐浓度对筛选菌株生长的影响

Fig. 6 Effects of different bile salt concentration on the growth of the isolated strains

2.6 植物乳杆菌抑菌能力

菌株抑菌活性测定结果如表 2,对除沙门氏菌外,菌株 PL2 对其他 3 种致病菌株均具有抑制作用,菌株 PL5 对 4 株致病菌均有抑制作用。菌株 PL5 对大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、福氏志贺菌的抑菌圈直径分别为 11.24 ± 0.25 、 7.54 ± 0.11 、 12.36 ± 0.21 和 6.52 ± 0.05 mm,明显高于菌株 PL2。

表 2 菌株的抑菌活性

Table 2 Antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum*

菌株编号 Strain number	抑菌圈直径/mm Inhibition zone diameter			
	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	沙门氏菌 <i>Salmonella</i>	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	福氏志贺菌 <i>Shigella flexnrei</i>
PL2	6.42±0.68	NE	8.22±0.35	5.24±0.11
PL5	11.24±0.25	7.54±0.11	12.36±0.21	6.52±0.05

注:NE 表示无抑菌性。

Note:NE indicates no antimicrobial activity.

3 讨论与结论

目前功能性益生菌的筛选成为研究热点,传统的食用性发酵产品是功能性益生菌的主要来源。Li

等^[12]从内蒙古奶豆腐中分离获得 1 株产胞外多糖 *L. plantarum* C88,发现该菌株具有良好的体外抗氧化活性;骆超超等^[13]从米酒和白酒曲中分离获得 2 株益生菌,其产生赖氨酸的量分别达到 52.33 和

46.09 g/L;于晨龙^[14]从酸驼奶及酸牛奶中分离获得30株乳酸菌,发现菌株LT和LS具有提高细胞免疫力的作用。本试验从5份民间自制泡菜样品中分离乳酸菌,最终获得4株植物乳杆菌,均具有较高的胆固醇降解率,这说明食用性发酵产品是益生菌的潜在来源。

获得的4株植物乳杆菌胆固醇降解率均超过40%,其中PL5菌株的胆固醇降解率达到51.67%,与布赫内氏乳杆菌P2^[15]、嗜酸性乳杆菌A-18^[16]及植物乳杆菌LPT1和LPT2^[3,17]相比,其胆固醇降解率更高。然而,其降解效率低于植物乳杆菌PH04^[18]。目前,国内外报道的菌株胆固醇降解率存在着较大的差异,这可能与菌株的来源、菌株的种类、菌株的生长状态及筛选条件等因素不同有关。

益生菌在人体内发挥益生功能的前提条件是保证其在胃液的酸性环境、肠道的胆盐环境中存活^[19]。食物从口腔到肠道需在胃中停留1~2 h,而胃中的酸环境随饮食结构不同而发生较大的变化^[20]。一般来说,空腹时胃液的pH为0.9~1.8,进食过程中pH为1.8~5.0,通常维持在3.0左右^[21]。本试验中的4株菌均具有一定的耐酸能力,其中PL5菌株耐酸能力最强,有利于活菌顺利到达小肠。小肠是人体吸收胆固醇的重要场所和益生菌发挥功能的主要部位,其胆盐浓度通常维持在0.3%左右^[22],本研究中PL2和PL5菌株能够耐受0.3%胆盐,保证一定数量的活菌到达小肠,从而发挥作用。抑菌试验结果表明PL2菌株对3种病原菌有抑制作用,PL5菌株对4种病原菌有抑制作用。综上所述,植物乳杆菌PL5可作为功能性益生产品的潜在菌株。

参考文献 References

- [1] Li C, Nie S P, Ding Q, Zhu, K X, Wang, Z J, Xiong T. Cholesterol-lowering effect of *Lactobacillus plantarum* NCU116 in a hyperlipidaemic rat model [J]. *Journal of Functional Foods*, 2014, 8(8): 340-347
- [2] Jones M L, Chen H, Ouyang W, Metz T, Prakash S. Microencapsulated genetically engineered *Lactobacillus plantarum* 80 (pCB1) for bile acid deconjugation and its implication in lowering cholesterol [J]. *Biomed Research International*, 2004(1): 61-69
- [3] Zhang F, Hang X M, Fan X B, Li G, Yang H. Selection and optimization procedure of synbiotic for cholesterol removal[J]. *Anaerobe*, 2007, 13(5-6): 185-192
- [4] Grunewald K K. Sera cholesterol levels in rats fed skim milk fermented by *Lactobacillus acidophilus* [J]. *Journal of Food Science*, 1982, 47(2): 2078-2079
- [5] 于平,汪晓辉. 植物乳杆菌 LPT1 和 LPT2 大鼠体内降胆固醇特性[J]. *微生物学报*, 2012, 52(1): 124-129
Yu P, Wang X H. Cholesterol-degrading in mice by *Lactobacillus plantarum* LpT1 and LpT2 *in vivo* [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2012, 52(1): 124-129 (in Chinese)
- [6] 黄润庭,李宗军,伍婧. 几种常见微生物降胆固醇机制探讨[J]. *食品工业科技*, 2015(6): 385-389
Huang R T, Li Z J, Wu J. Research progress in the mechanisms of lowering cholesterol of several common kinds of microorganisms [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2015(6): 385-389 (in Chinese)
- [7] Choi E A, Chang H C. Cholesterol-lowering effects of a putative probiotic strain *Lactobacillus plantarum* EM isolated from kimchi[J]. *Food Science and Technology*, 2015, 62(1): 210-217
- [8] 郭峰,樊磊,廖宇欣,钱丽丽,于长青. 植物乳杆菌 M1-UVs29 体外降解胆固醇的作用[J]. *中国生物制品学杂志*, 2014, 27(6): 803-806
Guo F, Fan L, Liao Y X, Qian L L, Yu C Q. Degradation of cholesterol with *Lactobacillus plantarum* M1-UVs29 *in vitro* [J]. *Chinese Journal of Biologicals*, 2014, 27(6): 803-806 (in Chinese)
- [9] 勾长龙,王雨琼,孙朋,毕彦晖,娄玉杰,高云航. 人参根腐病拮抗菌的筛选、鉴定及其抑菌活性[J]. *食品科学*, 2015, 36(19): 143-147
Gou C L, Wang Y Q, Sun P, Bi Y H, Lou Y J, Gao Y H. Screening and identification of an antagonistic strain against *Fusarium solani* and analysis of its antipathogenic activity[J]. *Food Science*, 2015, 36(19): 143-147 (in Chinese)
- [10] 段超,万翠香. 泡菜中植物乳杆菌的筛选及益生活性研究[J]. *食品工业科技*, 2015, 36(24): 201-205
Duan C, Wan C X. Probiotic activity of a strain of *Lactobacillus plantarum* isolated from local pickles [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2015, 36(24): 201-205 (in Chinese)
- [11] 于志会,李常营,张雪,李盛钰,李达,杨贞耐. 酸菜中降胆固醇功能植物乳杆菌的体外筛选[J]. *食品与生物技术学报*, 2011, 30(3): 398-402
Yu Z H, Li C Y, Zhang X, Li S C, Li D, Yang Z N. *In vitro* cholesterol-lowering activity of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* isolated from Chinese sauerkraut [J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2011, 30(3): 398-402 (in Chinese)
- [12] Li S Y, Zhao Y J, Zhang L, Zhang X, Huang L, Li D, Niu C, Yang Z, Wang Q. Antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional Chinese fermented foods[J]. *Food Chemistry*, 2012, 135(3): 1914-1919
- [13] 骆超超. 发酵谷物中产赖氨酸益生菌的筛选及其应用[D]. 哈

- 尔滨,东北农业大学,2010
- Luo C C, Screening and application of lysine-yielding probiotics in fermented cereals [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2010 (in Chinese)
- [14] 于晨龙. 传统乳制品中益生乳酸菌筛选及免疫调节功能的研究 [D]. 内蒙古自治区, 内蒙古农业大学, 2014
- Yu C L. The study on immune function by life-profitable *Lactic acid* bacteria from traditional dairy [D]. Inner Mongolia Autonomous Region: Inner Mongolia Agricultural University, 2014 (in Chinese)
- [15] Zeng X Q, PAN D D, GUO Y X. The probiotic properties of *Lactobacillus buchneri* P2[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2010, 108(6): 2059-2066
- [16] 张佳程, 骆承庠. 乳酸菌对食品中胆固醇脱除作用的研究: 乳酸菌菌种(株)的筛选[J]. 食品科学, 1998, 19(3): 20-22
- Zhang J C, Luo C X. Study on cholesterol removal by *Lactic acid* bacteria from food media[J]. *Food Science*, 1998, 19(3): 20-22 (in Chinese)
- [17] 吕秀红, 陈凯飞, 朱祺, 于平. 降胆固醇乳酸菌的筛选与鉴定 [J]. 中国食品学报, 2016, 16(3): 198-204
- Lv X H, Chen K F, Zhun Q, Yu P. Screening and identification of cholesterol-reducing *Lactic acid* bacteria [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2016, 16(3): 198-204 (in Chinese)
- [18] Nguyen T D, Kang J H, Lee M S. Characterization of *Lactobacillus plantarum* PH04, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2007, 113: 358-361
- [19] 王辑, 顾芸佳, 马文慧, 杨贞耐. 内蒙古奶豆腐中潜在益生性乳酸菌的筛选[J]. 食品科学, 2014, 35(13): 171-177
- Wang J, Gu Y J, Ma W H, Yang Z N. Screening of potential probiotic *Lactic acid* bacteria from Inner Mongolian dairy tofu [J]. *Food Science*, 2014, 35(13): 171-177 (in Chinese)
- [20] 王今雨, 满朝新, 杨相宜, 董鑫悦, 郎友, 闫天文, 姜毓君. 植物乳杆菌 NDC 75017 的降胆固醇作用[J]. 食品科学, 2013, 34(3): 243-247
- Wang J Y, Man C X, Yang X Y, Huang X Y, Lang Y, Yan T W, Jiang Y J. Cholesterol-lowering capability of probiotic *Lactobacillus plantarum* NDC75017 [J]. *Food Science*, 2013, 34(3): 243-247 (in Chinese)
- [21] Qian C L, Liu N, Yan X, Wang Q, Zhou Z, Wang Q. Engineering a high-performance, metagenomic-derived novel xylanase with improved soluble protein yield and thermostability[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2015, 70: 35-41
- [22] Huang Y, Wu F, Wang X, Sui Y, Yang L, Wang J. Characterization of *Lactobacillus plantarum* Lp27 isolated from Tibetan kefir grains: A potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects [J]. *American Dairy Science Association*, 2013, 96(5): 2816-2825

责任编辑: 杨爱东