

乳酸菌在各种胁迫下的应激反应研究进展

王学良¹, 韩雪^{1,*}, 王海娟¹, 井雪萍¹, 刘彩云¹, 周艳²

(1. 哈尔滨工业大学食品科学与工程学院, 黑龙江哈尔滨 150090;

2. 杜邦营养食品配料有限公司, 北京 101407)

摘要: 乳酸菌在各种不同的环境下生长存活或者发挥作用, 往往受到各种胁迫因素的影响和制约。各种胁迫包括盐、冷冻、热、干燥、酸胁迫等, 它们在乳酸菌的生长、存储、保藏等过程中不可避免的会造成乳酸菌的损伤甚至死亡。本文综述了各种胁迫对乳酸菌的损伤机理并提出相应的保护措施来减少乳酸菌生理损伤, 这也为乳酸菌直接发酵剂的制备提供了一定的理论依据。

关键词: 胁迫, 乳酸菌, 损伤, 应激反应, 相容性溶质

Studying progress of lactobacillus's responses in a variety of stress

WANG Xue-liang¹, HAN Xue^{1,*}, WANG Hai-juan¹, JING Xue-ping¹, LIU Cai-yun¹, ZHOU Yan²

(1. Food Science and Engineering College of Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China;

2. DuPont Nutrition Food Ingredients Co., Beijing 101407, China)

Abstract: Lactobacillus grew and survived, or played a role in a variety of different environments, often subjected to a variety of stress factors and constraints. Various stresses including salt stress, freezing, heat, dry, acid stress, etc., which inevitably resulted in damage to the lactobacillus in the process of growth, storage, preservation, etc., and even to death. This paper reviewing the damaging mechanism of all kinds of stress on lactobacillus was not only necessary for taking appropriately protective measures to reduce the physiological damage on lactobacillus, but also providing theoretical basis for industrial production such as the production of direct-vat-starter.

Key words: stress; lactobacillus; damage; stress response; compatible solutes

中图分类号: TS252.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)06-0365-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.06.071

乳酸菌发酵食品是我国食品的重要组成部分, 在这类食品的生产中乳酸菌起着主要作用^[1]。选育优良乳酸菌菌种与研制特色发酵剂是乳酸菌发酵食品产业化发展的关键环节^[2], 通过选育优良菌种制备高活性、高稳定性的直接发酵剂可以使工业发酵以最小的代价获得最大的产值和利润。目前根据直接发酵剂的形态及生产方法可将其分为液体发酵剂、冷冻发酵剂和干燥发酵剂3大类^[3]。在这几类发酵剂的生产和应用过程中乳酸菌往往要经受各种生长环境的突然变化引起的各种胁迫作用(如酸胁迫、盐胁迫、冷胁迫^[4]、热胁迫^[5]等)的影响, 这直接影响发酵过程和代谢产物的产生。因此深入了解和研究不同环境胁迫下乳酸菌的应激反应及其分子调控机制, 对降低乳酸菌因各种胁迫带来的损伤并提高相关产品

中乳酸菌存活率具有重要意义。研究各种胁迫对乳酸菌的损伤机理, 进而根据损伤机理提出相应的乳酸菌保护措施具有重大的实际意义^[6]。

目前的研究发现乳酸菌在各种胁迫环境下具有自我调控能力, 并通过各种生理反应来适应不利环境。主要的表现形式有以下三种: 合成应激蛋白、参与代谢的各种蛋白以及胁迫诱导的特定应激蛋白^[7], 这些蛋白往往与RNA结合, 并作为RNA的伴侣蛋白起作用, 从而对菌体在胁迫环境下的生长起到保护作用; 细胞膜脂肪酸成分改变, 进而细胞膜的通透性发生改变。许多研究表明^[8]在各种不利环境下乳酸菌细胞膜脂肪酸含量与组成都会发生调整, 从而使细胞膜能够在较差环境下保持流动性, 以提高细胞膜的抗逆性; 转运或合成抗渗透胁迫的相容性溶质。当乳

收稿日期: 2014-06-06

作者简介: 王学良(1988-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 乳品科学、食品发酵。

* 通讯作者: 韩雪(1978-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 乳品科学、食品发酵。

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金(31101317); 哈尔滨市青年创新人才基金(2013RFQXJ147); 黑龙江省博士后科研启动金(LBH-Q12108)。

酸菌在高渗环境中生长时,由于渗透压作用细胞会失水,使胞内代谢物浓度升高,胞内水分活度下降。此时在一定渗透压条件下,细胞会积累或转运抗渗透胁迫的一类小分子溶质(如海藻糖、甜菜碱、氨基酸等)从而使菌体具有一定的抗渗透压能力。

本文综述了乳酸菌在培养过程中常见的几种胁迫及其在胁迫条件下的应激反应,并根据应激反应机理提出合理化的保护措施,以期为乳酸菌的高密度培养提供理论依据。

1 乳酸菌在冷胁迫下的损伤及其相应反应机制

目前制备高效发酵剂常采用真空冷冻干燥^[4]的方法,但是在低温条件(-4℃)^[5]下菌体会大量死亡。因此冷胁迫对用真空冷冻干燥法制备直投发酵剂中乳酸菌的影响是一个研究的热点。乳酸菌在低于最佳生长温度条件下生长会造成许多生理和形态变化。如细胞膜对低温的反应,低温对相关酶活性的影响,温度引起脂肪酸组合行为的变化,低温胁迫对基因表达的影响,冷休克反应以及乳酸菌受低温影响等一些其他变化。

李宝坤等^[6]研究发现低温会造成菌体内酶活性降低和酶发挥作用的延迟,进而可能会造成代谢产物的改变;乳酸菌在较低温度下生长也可降低某些代谢调节过程的灵敏度,从而导致代谢失衡和生长停止;冷冻对己糖激酶、丙酮酸激酶影响不大而对乳酸脱氢酶具有显著性的影响。李春等指出冷冻过程中乳酸脱氢酶的失活是乳酸菌损伤的一个主要因素^[11]。

冷冻损伤的另一个重要因素是冷冻会导致乳酸菌细胞膜流动性降低、细胞膜通透性发生改变,造成胞内Ca²⁺和蛋白流失、细胞膜完整性破坏、膜蛋白(ATP酶)功能损伤,进而影响乳酸杆菌的正常生理代谢^[12]。当温度降低时一些常流体组分(如磷脂双分子层中的磷脂分子和蛋白质分子)变成胶体状,从而导致乳酸菌细胞膜出现漏洞进而破坏细胞内环境,并妨碍蛋白质发挥其物质运输及信息传递的作用。

但在人工低温诱导过程中乳酸菌内不饱和脂肪酸的比例会随温度降低而增加从而保持了细胞膜的流动性^[9],阻止了细胞内凝胶的形成进而细胞能继续生长。因此低温诱导下不饱和脂肪酸比例的增加,对细胞膜发挥正常功能至关重要。

此外菌体细胞在接受外界环境不良刺激时,会产生相应的自我保护性成分,即发生应激反应。目前已证实了乳酸菌在外界温度突然降低时,会诱导产生大量的冷诱导蛋白(Cold Induced Proteins, CIP)^[13],被称为“冷休克反应”。这个反应过程涉及到冷休克蛋白的诱导以及热休克蛋白的抑制。产生的冷诱导蛋白能调节细胞膜的流动性以及DNA的超螺旋、转录和翻译。冷诱导蛋白生理生化功能十分广泛,包括降低冰点、类脂转移、激酶调节、阻止失水等,进而能降低冷胁迫对乳酸菌的损伤。然而不同乳酸菌产生的冷诱导蛋白种类不同,如在植物乳杆菌C3.8和NC8分别为2种和3种^[14],乳酸乳球菌乳脂亚种MG1363菌株有7种^[15],嗜热链球菌CNRZ302菌株中发现6种^[16]。

它们的共同特点是:CIP无论是在核酸结构上还是在氨基酸结构上都是高度保守具有较高的同源性,其细胞定位和生理功能可能具有组织特异性。被抑制的热休克蛋白主要有DnaK、DnaJ、HrcA、GroES、GroEL、Hsp84、Hsp85、Hsp100、C1p、HtrA和FtsH^[17]等。

通过之前学者对冷胁迫下乳酸菌生理反应的一些研究,目前通常采取低温诱导(10℃/4h)^[18]目的乳酸菌产生诸如氧化还原蛋白(Ahp、OsmC、Trx)、脂肪酸合成蛋白(FabF、FabG、FabH)和能量代谢相关蛋白(GAPDH、Fba、PGK)^[19]等冷激蛋白和蛋白酶的方法来提高乳酸菌的抗冷胁迫能力,进而提高乳酸菌在冷胁迫下的存活率。

2 乳酸菌在热胁迫下的损伤及其相应反应机制

由于真空冷冻干燥^[4]制备乳酸菌直投发酵剂价格昂贵、操作复杂,而低温喷雾干燥^[20]具有低成本,产品保存时间长、运输方便等优点,因此低温喷雾干燥常用于乳酸菌发酵剂的制备。然而不管是添加保护剂或采用真空条件降低喷雾干燥温度(60~100℃),热胁迫总会给菌体存活造成极其不利的影 响。乳酸菌的适宜温度集中在30~37℃^[21],热胁迫引起的细胞死亡通常被认为是高温下蛋白质变性以及它们的聚集引起的。

乳酸菌在高温条件下通常会发生热应激。热应激是生物在高于正常生理温度环境下抵御高温环境的应激反应^[22]。乳酸菌受到热胁迫后会通过调控自身的防御系统来调节相关基因的表达和代谢途径,产生一系列热激蛋白以降低或消除热胁迫的伤害。在热应激过程中,乳酸菌主要通过诱导热激蛋白的短暂表达以及改变细胞生理结构,来增强细胞自身对环境的适应能力。目前,乳酸菌中检测到的热激蛋白和蛋白酶主要有DnaK、DnaJ、HrcA、GroES、GroEL、Hsp84、Hsp85、Hsp100、C1p、HtrA和FtsH^[17]。陈旭娇等^[23]及Jaya Prasad等^[24]通过对鼠李糖乳杆菌grx19热应激作用的研究得到如下几点结论:应用N-端序列和双向凝胶电泳技术,分析不同生长阶段和热胁迫条件下乳杆菌合成蛋白质的变化。研究发现经过热胁迫处理(52℃热激60min)后有11种蛋白质的数量增加,包括经典的热休克蛋白GroEL和DnaK及各种糖分解酶(塔格糖途径的塔格糖1,6-二磷酸醛缩酶、烯醇酶、磷酸甘油酸激酶、乳酸脱氢酶、磷酸丙糖异构酶和甘油醛-3-磷酸脱氢酶)。还发现热胁迫处理后,一种与ABC运输系统相关的蛋白的合成数量也有所增加。热胁迫乳酸菌的细胞提取物中细胞质的碳水化合物含量提高而且成分也明显不同,除了正常的单糖、二糖、三糖还生成了甘油类糖。利用扫描电镜观测经热胁迫处理的鼠李糖乳杆菌grx19,并与未经处理菌株的细胞形态结构进行比较,发现未经热胁迫处理的鼠李糖乳杆菌grx19呈现正常的乳杆菌特征:菌体表面光滑平整,两端钝圆且具有完整的膜结构;而经过热胁迫处理的菌体特征如下:菌体形态弯曲,菌体膜表面出现皱褶萎缩,且在菌体底端不完整出现溶解现象。因此在热激处理后菌株表面结构

在完整性方面及形态学方面都会发生明显变化。此外热胁迫条件下大分子物质如核糖体、RNA结构稳定性以及细胞膜的流动性都会发生变化。

目前针对菌体受热损伤机制,通常可以采取热诱导(72°C/15s)目的乳酸菌产生诸如DnaK、DnaJ、HrcA、GroES、GroEL、Hsp84、Hsp85、Hsp100、C1p、HtrA和FtsH等热激蛋白和蛋白酶的方法来提高乳酸菌的抗热胁迫能力,进而提高乳酸菌在热胁迫下的存活率。

3 乳酸菌在酸胁迫下的损伤及其相应反应机制

生产乳酸菌直投发酵剂的过程中,乳酸菌高密度培养会产生大量的乳酸使得发酵环境中乳酸大量累积,极大地抑制了乳酸菌自身的活力;此外乳酸菌经消化道进入人体肠道内需经过pH低于3.0的胃酸环境,乳酸菌要想发挥其功能性并在人体肠道内定植(发酵剂到达人体肠道时活菌数必须 $>10^6$ cfu/mL才能发挥其功能性作用),必须要耐受胃酸这种低酸环境。因此酸胁迫成为了乳酸菌胁迫研究的一个基本点。目前关于酸胁迫对乳酸菌的生理影响机制尚未完全清楚,但是一个较为人们接受的理论是由于乳酸能够通过细胞膜被动扩散进入细胞质,然后迅速解离成不能通过细胞膜的质子和相应极性基团。胞内质子的积累使得胞内pH下降,这减少了物质跨膜的质子推动力,影响了细胞多种跨膜转运机制的能量来源。与此同时内部的酸化条件也大大降低了对酸敏感酶的活力,并能对蛋白质和DNA造成永久性损害,进而对乳酸菌生理造成有害影响。陈乃用等^[7]对乳酸乳球菌亚种IL1403在酸胁迫下生长的研究发现,在该过程中乳酸菌有26个基因被阻抑,24个基因被诱导, β -葡萄糖苷磷酸转移酶系统基因的表达被阻抑100倍以上,而且酸胁迫阻抑的主要是蛋白质分解系统。

De Angelis M等^[24]以*Lactobacillus sanfranciscensis* CB1乳酸菌作为对象,研究酸胁迫对乳酸菌的影响,结果表明*Lb. sanfranciscensis* CB1在初次接触致死性酸胁迫环境后,能够耐受较低pH,且在酸诱导条件下产生了两种基本的酸耐受突变体(CB1-5R和CB1-7R)。通过双向电泳分析发现,酸胁迫适应蛋白表达水平以及酸耐受突变体与未突变体相比都发生了很大的变化。而且这两种基本酸耐受突变体之间是相互独立的,它们的肽活性也不同,但是它们的蛋白表达水平非常的相似。

因此针对酸胁迫,通常在不同条件下酸诱导乳酸菌,使其产生诸如DnaK、GroEL、GroES、GrpE、HrcA、SGP蛋白^[7,25]等酸胁迫应激蛋白和耐酸相关基因*fbh*高效表达,以提高乳酸菌的抗酸胁迫能力,进而提高乳酸菌在酸胁迫下的存活率。

4 乳酸菌在盐胁迫下的损伤及其相应反应机制

在乳酸菌的高密度培养过程中,由于乳酸菌不断代谢产生乳酸从而对菌体生长产生了反馈抑制,

因此在乳酸菌高密度培养过程中往往采用流加碱液的方式使乳酸菌生长维持在最佳生长pH,以消除酸对菌体生长的反馈抑制。然而碱液的加入在中和乳酸的同时产生大量的盐,对乳酸菌又产生了盐胁迫。李春等^[1]报导*Lactobacillus bulgaricus* ATCC 11842在MRS培养基中的最大盐胁迫耐受浓度为1.0mol/L,而高密度培养过程中生成的盐的浓度通常会超过这个水平。在这种高盐条件下会增加溶液的渗透压,使细胞内水分外流,细胞胞质分离,从而造成细胞在结构和生理上的损伤^[26-27],导致细胞停止生长甚至死亡。研究发现在人体胆汁中的胆盐也会对进入人体的有益乳酸菌产生盐胁迫,从而降低乳酸菌的活性甚至使其死亡^[28]。因此乳酸菌对生长培养基中渗透压变化的适应能力是细胞存活生长的重要基础。

盐胁迫环境下乳酸菌主要通过以下两种方式来适应高渗环境。

4.1 应激蛋白的产生

研究显示盐胁迫(如乳酸乳球菌乳酸亚种4%盐质量分数下孵育30min)下乳酸菌会调节其应激蛋白的表达^[29]。Xie等^[30]利用微阵列技术对盐胁迫下乳酸乳球菌基因表达的整体反应进行了研究,结果发现在4%氯化钠质量分数下培养30min诱导了编码赖氨酸及谷氨酸合成基因的表达;而调控柠檬酸、脂肪酸和苹果酸发酵系统的基因,调控 β -葡萄糖苷特定PTS系统的基因及调控精氨酸脱氨途径的基因在表达上都受到了一定程度的抑制。在盐胁迫条件下,通过二维电泳研究发现乳酸菌中一些基因的表达量发生改变,这些基因主要是与编码应激蛋白相关的基因[如编码热激蛋白(HSPs)、普遍应激反应蛋白(GSPs)和盐胁迫蛋白(SSPs)的基因]。其中热激蛋白通常在环境温度迅速提高时产生^[31],然而有研究发现热激蛋白在盐胁迫、酸胁迫及冷胁迫下也被诱导表达^[30-32],由此说明不同类型的胁迫下乳酸菌的应激机制存在一定程度的重叠效应。乳酸菌在不同的胁迫条件下,一定程度上采取相似的保护机制。

4.2 盐胁迫下细胞膜中脂质的变化

盐胁迫条件下乳酸菌的细胞膜和细胞壁组成和结构也会发生变化。细胞膜中膜脂组成的改变,特别是脂质头部修饰基团的改变会影响相容性溶质转运体的活性。当生长环境中渗透压升高时,细胞膜中磷脂的量也会发生变化,这种变化也是乳酸菌适应盐胁迫环境的一个关键要素^[33]。有研究发现磷脂对渗透调节蛋白ProP和MscL的活性造成影响,这种影响可能是由于磷脂数量的变化导致了蛋白与蛋白之间相互作用的变化,从而影响了这些膜蛋白的功能^[33]。此外乳酸菌还可以通过改变细胞壁的特性应对外界渗透压的变化。有研究发现当乳酸乳球菌在4%的氯化钠质量分数下孵育30min后,诱导了与肽聚糖合成相关的基因*murF*和*murG*的表达,从而影响了乳酸菌细胞壁的结构^[30]。

已有的对盐胁迫下乳酸菌的生理反应的一些研究表明,通常可以采取盐胁迫诱导(0.6mol/L NaCl, 30min)^[7]目的乳酸菌产生诸如碳代谢相关的蛋白

G3PDH、氧化损伤修复蛋白MsrA和PFK(磷酸果糖激酶)、油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、HPr(涉及糖的摄取和分解代谢物阻遏)^[9]等盐胁迫应激蛋白和蛋白酶的方法来提高乳酸菌的抗盐胁迫能力,进而提高乳酸菌在盐胁迫下的存活率。

5 渗透胁迫下相容性溶质的合成与转运

“相容性溶质”一词是1972年澳大利亚人Brown和Simpson提出的。它主要指一类极性的、易溶的、生理值条件下不带电荷并且可以在细胞内高浓度积累(1mol/kg),而不影响细胞的主要功能和蛋白质分子的正确折叠的小分子有机物质^[34-36]。

高渗环境中细菌通过直接从环境吸收和自身合成这两种方式积累相容性溶质。一般细菌可同时采用两种方式积累相容性溶质(如肠道菌及*Bacillus subtilis*)^[37],然而乳酸菌由于自身合成相容性溶质能力非常有限(很少或几乎不合成相容性溶质),需从外界环境转运相容性溶质进行渗透调节^[8,38]。

目前发现许多乳酸菌(如干酪乳杆菌^[39]、植物乳杆菌^[40-41]、乳酸乳球菌^[42]等)在渗透胁迫环境下都可以从外界吸收相容性物质。在胁迫环境下,分解代谢相容性溶质的酶活性会被抑制,从而相容性溶质能在细胞内高浓度积累,起到渗透保护乳酸菌的作用。不同的乳酸菌转运相容性溶质的种类存在差别。Molenaar等^[42]研究表明乳酸乳球菌主要通过细胞膜上的OpuA系统转运甜菜碱、肉毒碱、脯氨酸。Glaesker等^[40-41]研究表明在*L. plantarum* ATCC14917中存在着转运系统QacT,主要转运甜菜碱、肉毒碱、胆碱以及脯氨酸等。因此研究胁迫条件下乳酸菌产生的相容性溶质的机制,将会对提高菌体抗胁迫能力起着重要作用。

6 展望

乳酸菌处于一种或多种胁迫环境时,会诱导乳酸菌产生相应的应激反应(适应性反应)或引起由一种应激反应诱导的交互保护作用,这种诱导物多以蛋白质为主。虽然目前乳酸菌蛋白质组的研究仍然处于起始阶段,但近年来各种乳酸菌的基因组序列测序工作不断开展,同时结合DNA大矩阵法的应用和转录组分析,大大丰富扩充了蛋白质组和遗传学知识,使得针对乳酸菌在不同胁迫条件下应激反应的蛋白质组学研究成为了热点。但目前对应激反应机制的研究还不是很充分,只有更深入地研究清楚应激反应和交互保护作用的机理,才能在工业生产中更深入地开发利用乳酸菌,这也是未来该领域研究的难点和热点。

参考文献

[1] Kekkonen R A. Immunomodulatory effects of probiotics[J]. Dairy Industry Association of Australia, 2009, 64(1):128-132.
 [2] 孟祥晨, 杜鹏, 李艾黎. 乳酸菌与乳品发酵剂[M]. 北京: 科学出版社, 2009: 11-12.
 [3] 孙欣, 祝清俊, 王文亮, 等. 直投式酸奶发酵剂制备关键技术[J]. 中国酿造, 2011(10): 17-19.
 [4] Champagne C P, Gardner N, Brochu E, et al. The Freeze-

drying of lactic acid bacterial. A review[J]. Canadian Institute of Food Science and Technology journal, 1991, 24(3-4): 118-128.
 [5] 张勇, 段旭昌, 杨希娟, 等. UHT杀菌乳中耐热菌的分离与鉴定[J]. 中国乳品工业, 2007, 35(1): 19-22.
 [6] Leuko S, Rafter M J, Burns B P, et al. Global protein-level responses of *Halobacterium salinarum* NRC-1 to prolonged changes in external sodium chloride concentrations[J]. Journal of proteome research, 2009, 8(5): 2218-2225.
 [7] 陈乃用. 乳酸菌应激反应及其在生产中的应用[J]. 工业微生物, 2006, 36(3): 55-60.
 [8] Konings W N. The cell membrane and the struggle for life of lactic acid bacteria [M]. Egmond aan Zee: Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications, 2002: 3-27.
 [9] Marceau A, Zagorec M, Chaillou S, et al. Evidence for involvement of at least six proteins in adaptation of *Lactobacillus sakei* to cold temperatures and addition of NaCl[J]. Applied and environmental microbiology, 2004, 70(12): 7260-7268.
 [10] 李宝坤. 乳酸杆菌冷冻干燥生理损伤机制及保护策略的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2011.
 [11] Li C, Liu L B, Sun D, et al. Response of Osmotic Adjustment of *Lactobacillus bulgaricus* to NaCl Stress[J]. Journal of Northeast Agricultural University(English Edition), 2012, 19(4): 66-74.
 [12] Beales N. Adaptation of microorganisms to cold temperatures, weak acid preservatives, low pH, and osmotic stress: a review[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2004, 3(1): 1-20.
 [13] 陈霞, 杨振泉, 黄玉军, 等. 乳酸菌环境胁迫应激的分子调控机制研究进展[J]. 中国乳品工业, 2011, 39(1): 34-37.
 [14] Derzelle S, Hallet B, Francis K P, et al. Changes in cspL, cspP, and cspCmRNA Abundance as a Function of Cold Shock and Growth Phase in *Lactobacillus plantarum*[J]. Journal of bacteriology, 2000, 182(18): 5105-5113.
 [15] Wouters J A, Jeynov B, Rombouts F M, et al. Analysis of the role of 7 kDa cold-shock proteins of *Lactococcus lactis* MG1363 in cryoprotection[J]. Microbiology, 1999, 145(11): 3185-3194.
 [16] Perrin C, Guimont C, Bracquart P, et al. Expression of a new cold shock protein of 21.5 kDa and of the major cold shock protein by *Streptococcus thermophilus* after cold shock[J]. Current microbiology, 1999, 39(6): 342-347.
 [17] Serrazanetti D I, Guerzoni M E, Corsetti A, et al. Metabolic impact and potential exploitation of the stress reactions in lactobacilli[J]. Food microbiology, 2009, 26(7): 700-711.
 [18] 雷雨婷, 张英华, 霍贵成. 保加利亚乳杆菌的冷适应性及冷应激蛋白的研究[J]. 东北农业大学学报, 2008, 39(5): 101-105.
 [19] Wang Y, Delettre J, Guillot A, et al. Influence of cooling temperature and duration on cold adaptation of *Lactobacillus acidophilus* RD758[J]. Cryobiology, 2005, 50(3): 294-307.
 [20] 刘绘景, 陆海霞, 楼加佳, 等. 喷雾干燥对双歧杆菌存活影响的研究[J]. 食品与机械, 2004, 20(3): 11-12.
 [21] Prasad J, Mcjarow P, Gopal P. Heat and osmotic stress responses of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* HN001 (DR20) in relation to viability after drying[J]. Applied and environmental

microbiology, 2003, 69(2):917-925.

[22] 隋欣, 陈历俊, 任发政. 热激修饰瑞士乳杆菌对Cheddar干酪成熟的影响[J]. 农业机械学报, 2009, 40(10):135-139.

[23] 陈旭娇, 丁缪华, 顾瑞霞, 等. 热应激对鼠李糖乳杆菌 grx19 生长及耐热特性的影响研究[J]. 食品科技, 2013, 38(8): 2-5.

[24] De Angelis M, Bini L, Pallini V, et al. The acid-stress response in *Lactobacillus sanfranciscensis* CB1[J]. Microbiology, 2001, 147(7):1863-1873.

[25] Cotter P D, Hill C. Surviving the acid test: responses of gram-positive bacteria to low pH[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2003, 67(3):429-453.

[26] Tymczyszyn E E, Gomez-zavaglia A, Disalvo E A. Influence of the growth at high osmolality on the lipid composition, water permeability and osmotic response of *Lactobacillus bulgaricus*[J]. Archives of biochemistry and biophysics, 2005, 443(1):66-73.

[27] Zhang Y, Zhang Y P, Zhu Y, et al. Proteomic analyses to reveal the protective role of glutathione in resistance of *Lactococcus lactis* to osmotic stress[J]. Applied and environmental microbiology, 2010, 76(10):3177-3186.

[28] Wu R N, Sun Z H, Wu J R, et al. Effect of bile salts stress on protein synthesis of *Lactobacillus casei* Zhang revealed by 2-dimensional gel electrophoresis[J]. Journal of dairy science, 2010, 93(8):3858-3868.

[29] 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.

[30] Xie Y, Chou L S, Cutler A, et al. DNA microarray profiling of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IL1403 gene expression during environmental stresses[J]. Applied and environmental microbiology, 2004, 70(11):6738-6747.

[31] 魏巍. 苜蓿中华根瘤菌耐盐分子机制的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2005.

[32] Ouvry A, Wache Y, Tourdot-marechal R, et al. Effects of oxidoreduction potential combined with acetic acid, NaCl and temperature on the growth, acidification, and membrane properties of *Lactobacillus plantarum*[J]. FEMS microbiology letters, 2002, 214(2):257-261.

(上接第364页)

Mushroom insoluble polysaccharides prevent carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rat[J]. Food and Chemical Toxicology, 2010, 48(11):3184-3188.

[37] SAKANAKA S, TACHIBANA Y, OKADA Y. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha)[J]. Food Chemistry, 2005, 89(4):569-575.

[38] 房喻, 胡道道, 李晓军, 等. 黄芩贰及其铜(II)、锌(II)配合物对超氧自由基的清除作用[J]. 生物化学杂志, 1991, 7(6): 753-756.

[39] HEO S J, PARK E J, LEE K W, et al. Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds[J]. Bioresource Technology, 2005, 96(14):1613-1623.

[40] 任清, 王珍, 李奇, 等. 平菇多糖的提取及其抗氧化保湿功效研究[J]. 香料香精化妆品, 2008(4):23-26.

[33] Romantsov T, Guan Z, Wood J M. Cardiolipin and the osmotic stress responses of bacteria[J]. Biochimica et Biophysica Acta(BBA)-Biomembranes, 2009, 1788(10):2092-2100.

[34] Bergenholt A S, Wessman P, Wuttke A, et al. A case study on stress preconditioning of a *Lactobacillus* strain prior to freeze-drying[J]. Cryobiology, 2012, 64(3):152-159.

[35] Kempf B, Bremer E. Uptake and synthesis of compatible solutes as microbial stress responses to high-osmolality environments[J]. Archives of microbiology, 1998, 170(5):319-330.

[36] Wood J M, Bremer E, Csonka L N, et al. Osmosensing and osmoregulatory compatible solute accumulation by bacteria[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2001, 130(3):437-460.

[37] Smits S H J, Hoing M, Lecher J, et al. The compatible-solute-binding protein OpuAC from *Bacillus subtilis*: ligand binding, site-directed mutagenesis, and crystallographic studies[J]. Journal of bacteriology, 2008, 190(16):5663-5671.

[38] Vander-heide T, Poolman B. Glycine betaine transport in *Lactococcus lactis* is osmotically regulated at the level of expression and translocation activity[J]. Journal of bacteriology, 2000, 182(1):203-206.

[39] Wu R, Wang W, Yu D, et al. Proteomics analysis of *Lactobacillus casei* Zhang, a new probiotic bacterium isolated from traditional home-made koumiss in Inner Mongolia of China[J]. Molecular & Cellular Proteomics, 2009, 8(10):2321-2338.

[40] Lopez I, Ruiz J I, Saenz J, et al. High tolerance of wild *Lactobacillus plantarum* and *Oenococcus oeni* strains to lyophilisation and stress environmental conditions of acid pH and ethanol[J]. FEMS microbiology letters, 2004, 230(1):53-61.

[41] Zhao S, Zhang Q, Hao G, et al. The protective role of glycine betaine in *Lactobacillus plantarum* ST-III against salt stress[J]. Food Control, 2014, 44:208-213.

[42] Obis D, Guillot A, Mistou M Y. Tolerance to high osmolality of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and *cremoris* is related to the activity of a betaine transport system[J]. FEMS microbiology letters, 2001, 202(1):39-44.

[41] 吴丹. 富硒香菇多糖和富硒平菇多糖体外抗氧化活性研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(11):5841-5843, 5856.

[42] 申林卉, 刘丽侠, 陈冠, 等. 多糖化学结构修饰方法的研究进展[J]. 药物评价研究, 2013, 36(6):465-468.

[43] 孟艳. 小麦秸秆源平菇多糖的制备及其生物学作用的研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2011.

[44] 张超, 操海群, 陈莉, 等. 食用菌多糖对植物病毒抑制作用的初步探究[J]. 安徽农业大学学报, 2005, 32(1):15-18.

[45] 曾令福, 肖元梅, 张智倩, 等. 平菇及其提取物的抗突变作用研究[J]. 职业与健康, 2000, 16(9):1-2.

[46] 康德灿, 张光勇. 金针菇平菇菌丝体富锶水培实验[J]. 食用菌, 1998(2):11-12.

[47] 申进文, 贾身茂. 矿质元素对平菇菌丝最适量的研究[J]. 食用菌, 1991(3):18.