DOI:10.12441/spyswjs.20250704002 [文章编号] 1673-1689(2025)09-0051-16

生物膜型乳酸菌在香肠中的发酵特性

石 洁 孙 玥 张瑞滇 何慧芬 缪腾龙 张秋勤*

(南京农业大学食品科技学院,江苏 南京 211800)

摘要:【目的】解决发酵香肠工艺中有害菌控制难题,通过优化植物乳植杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*,*L. plantarum*)JB1的生物膜形成条件,提升生物膜态植物乳植杆菌JB1在低温发酵香肠环境中的竞争力,同时系统评估生物膜态植物乳植杆菌JB1对香肠品质和安全性的调控作用,为研制高稳定性益生菌制剂提供工艺参数和理论支持。**【方法】**采用单因素试验与正交试验,研究温度、pH、碳源、氮源、金属离子及缓冲盐对生物膜态植物乳植杆菌JB1的交互作用;通过发酵香肠模型对比生物膜态菌株与游离态菌株对香肠微生物群落、生物胺、蛋白质水解度及感官指标的影响。**【结果】**植物乳植杆菌JB1生物膜形成的最佳条件为温度37 ℃、pH 6.5;最优培养基成分为麦芽糖35 g/L、胰蛋白胨5 g/L、锰离子0.2 g/L、磷酸氢二钾质量分数1.0%;在此条件下,生物膜形成能力较原MRS培养基对照组提高了43.9%(P<0.05)。香肠发酵4 d时,与游离态植物乳植杆菌JB1组相比,生物膜态植物乳植杆菌JB1组产生的乳酸质量分数增加了8.5%,肠杆菌数量减少了16.5%,总生物胺质量分数降低了7.7%;同时显著提高了蛋白质水解度,增加了小肽和游离氨基酸态氮的质量分数;香肠红度升高,亮度与黄度降低。**【结论】**多种因素的协同作用是植物乳植杆菌JB1生物膜高效形成的关键。生物膜技术可有效应对香肠发酵阶段的安全风险,为功能性发酵肉制品的开发提供了新的解决方案。

关键词:乳酸菌;生物膜;发酵香肠;植物乳植杆菌

Fermentation Characteristics of Biofilm-forming Lactic Acid Bacteria in Sausages

*SHI Jie SUN Yue ZHANG Ruidian HE Huifen MIAO Tenglong ZHANG Qiuqin**

(College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 211800, China)

Abstract: [**Objective**] To address the challenge of controlling harmful bacteria during the fermentation process of sausages, this study optimized the biofilm formation conditions of *Lactiplantibacillus plantarum* (*L. plantarum*) JB1 to enhance its competitive advantage in the low-temperature fermentation environment of sausages. Furthermore, this study systematically evaluated the regulatory role of the biofilm-forming *L. plantarum* JB1 in the quality and safety of sausages, aiming to provide process parameters and a theoretical basis for the development of high-stability probiotic formulations. [**Method**] Single-factor and orthogonal experiments were conducted to quantify the effects of the interactions between temperature, pH, carbon source, nitrogen source, metal ions, and buffer salts on the biofilm-forming *L. plantarum* JB1. A sausage fermentation model was employed to evaluate the effects of free-cell and biofilm-forming *L. plantarum* JB1 on microbial communities, biogenic amines, free protein hydrolysis, and sensory indicators of sausages. [**Result**] The optimal conditions for the biofilm formation of *L. plantarum* JB1 were a temperature of 37 ℃ and pH 6.5. The optimal culture medium was composed of 35 g/L maltose, 5 g/L peptone, 0.2 g/L Mn^{2+}, and mass fraction 1.0% K_2HPO_4. Under these conditions, the biofilm formation of *L. plantarum* JB1 increased by 43.9% compared with that in the

基金项目:国家自然科学基金面上项目(32272350)。

通信作者:张秋勤(1985—),女,博士,副教授,硕士研究生导师,主要从事微生物方面研究。E-mail:zqq@njau.edu.cn

收稿日期:2025-07-04 **修回日期:**2025-08-06

control group using the original MRS medium (P<0.05). In the 4 d fermentation of sausages, compared with the free-cell *L. plantarum* JB1, the biofilm-forming *L. plantarum* JB1 increased the lactic acid mass fraction by 8.5%, reduced the Enterobacteriaceae count by 16.5%, and decreased the total biogenic amine mass fraction by 7.7%. Moreover, it enhanced protein hydrolysis, resulting in increased mass fractions of small peptides and free amino nitrogen. In addition, the biofilm-forming *L. plantarum* JB1 increased the redness and decreased the lightness and yellowness of sausages. [**Conclusion**] Multi-factor synergistic regulation is key to the biofilm formation of *L. plantarum* JB1. Biofilm technology can specifically address safety risks during the fermentation stage, providing a new solution for the development of functional fermented meat products.

Keywords: lactic acid bacterium; biofilm; fermented sausage; *Lactiplantibacillus plantarum*

植物乳植杆菌是一种具有多重益生功效的革兰氏阳性菌[1]。研究发现，该菌可通过形成生物膜提高环境适应能力与功能稳定性，这一特性正受到研究者的广泛重视。目前关于植物乳植杆菌生物膜的研究仍存在不足，尤其是在食品工业中常见的低温、高盐、干燥等严苛条件下，其生物膜形成规律尚不清楚。在工业化生产中，益生菌需应对培养制备[2]、加工储运和肠道定植[3]三大挑战。现有增强菌株抗性的方法仍存在局限性[4]：包埋技术受成本与适用性制约[5-6]；预适应培养需与生产过程紧密结合[7-9]；基因改造技术存在安全隐患[10]。这些限制促使研究者开发更实用的抗逆新方法。

生物膜是微生物为适应环境而形成的结构，主要由多糖、蛋白质和核酸组成[11-13]。这种三维结构既能为微生物提供物理保护，又能调节其代谢活动。近年来，可形成生物膜的益生菌被称为“第四代益生菌”[14]，在工业生产中表现出明显优势。张悦等[15]研究表明，相较于浮游态细菌，*Lactiplantibacillus plantarum* RM3-1-3 生物膜态菌株在盐胁迫下的存活率更高。但目前仍难以同时提高生物膜的形成效率与功能特性[16]。生物膜的形成受多种因素影响，包括菌种特性、载体表面及培养条件等，这些因素中，培养条件尤为重要，它直接影响菌株的生长状态与酶活性，进而决定生物膜的形成能力。

发酵香肠的品质和安全性与其内部微生物平衡密切相关。但在发酵过程中，肠杆菌等有害菌的生长会导致有害物质积累，威胁食品安全[17]。传统发酵过程中微生物难以控制，目前主要通过2种方法来改善：一是采用商业发酵剂加快酸化过程；二是添加复合菌种优化风味[18]。但商业菌种在加工条件下存活率较低，复合菌种的效果又易受环境影响[19]。生物膜技术为解决这些问题提供了新方向，但该技术在肉制品尤其是在低温发酵条件下的应用仍需深入研究。

作者所在课题组前期从发酵香肠中分离出一株高效降胺菌株——植物乳植杆菌 JB1，该菌株展现出优异的生物膜形成潜力。基于此，作者围绕3个方面进行研究：一是关键环境参数（温度、pH）和营养基质（碳氮源、金属离子、缓冲盐）对植物乳植杆菌 JB1 生物膜形成的调控规律；二是建立工业可行的高效生物膜培养方案；三是验证生物膜态植物乳植杆菌 JB1 在发酵香肠中的有害菌抑制、生物胺降解及品质提升效果。通过构建多因子正交试验整合关键参数的交互作用，明确生物膜态植物乳植杆菌 JB1 在食品体系中的应用价值，旨在为发酵肉制品的质量控制提供新的技术路径。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

植物乳植杆菌 JB1：由作者所在课题组分离自干发酵香肠，保藏编号为 CCTCCM20221482；大肠杆菌（*Escherichia coli*，*E. coli*）ATCC25922：由作者所在课题组筛选所得；发酵香肠原料及辅料：南京卫岗菜市场；MRS 培养基、营养肉汤液体培养基、营养肉汤固体培养基：美国赛默飞世尔科技有限公司；结晶紫胆盐琼脂（VRBDA）培养基：青岛海博生物公司；胰蛋白胨、鱼粉蛋白胨、硫酸铵、*D*-甘露醇、麦芽糖、蔗糖：上海麦克林生化科技股份有限公司；氯化钠：国药集团化学试剂有限公司；革兰氏染色试剂盒、结晶紫、冰醋酸、氢氧化钠：上海浩赛科技有限公司；生物胺标准品：上海源叶生物科技有限公司；甲醛：阿拉丁试剂（上海）有限公司；氯化钾、磷酸钾、氯化钙、乙二胺四乙酸、酚酞指示剂：上海阿达玛斯试剂有限公司。

1.2　仪器与设备

便携式色差仪：GR-10型，日本Konicaminolta公司；电子天平：AB104-N型，上海第二天平仪器厂；医用净化工作台：YJ-875型，吴江市生化净化设备厂；生化培养箱：LRH-150型，上海益恒科学仪器有限公司；高速冷冻离心机：64RL型，美国Beckman Coulter有限公司；高效液相色谱仪：Waters-2988型，美国Waters公司；恒温恒湿发酵箱：BSC-250型，上海昂尼仪器仪表有限公司；显微镜：FCK-40C型，日本Nikon公司；酶标仪：Synergy型，美国BioTek公司。

1.3　菌株活化

取冷藏保存于甘油管的植物乳植杆菌JB1菌液1 mL，加到20 mL MRS液体培养基中，于37 ℃培养18~24 h。用接种环蘸取适量培养液涂抹在洁净的载玻片上，进行革兰氏染色。经显微镜检查确定为纯菌后，按体积分数2%的接种量进行二次活化。

1.4　植物乳植杆菌JB1生物膜培养及形成能力测定

参照张悦等[15]的方法并稍加修改，将活化后的植物乳植杆菌JB1按体积分数2%接种至改良MRS液体培养基中，按每孔200 μL接种量加入96孔细胞培养板中。培养前用封口膜缠绕孔板缝隙，随后置于不同培养条件下静置培养。基于生物膜形成4阶段理论（初始附着、微菌落形成期、成熟期、分散期），为完整监测生物膜形成各阶段的动态变化，选择12 h为间隔设置检测时间点（12、24、36、48 h）。以温度37 ℃、pH 6.5、MRS液体培养基为基础培养条件，后续单因素试验均在此基础上调整培养参数，配制相应的改良MRS液体培养基。

植物乳植杆菌JB1生物膜形成能力测定参照王嘉康等[20]的结晶紫染色法并稍加修改。将培养不同时间的96孔细胞培养板取出，弃去上清液，用无菌生理盐水清洗3~4次至洗脱液无色，于室温下自然风干。随后置于60 ℃烘箱中固定30 min，每孔加入200 μL质量分数0.1%的结晶紫溶液染色15 min。染色结束后弃去染液，用无菌生理盐水清洗3~4次并晾干，每孔加入200 μL体积分数33%的冰醋酸溶液脱色15 min。脱色完成后，吸取200 μL洗脱液于新的96孔酶标板中，于560 nm处测定吸光度，同时以无菌液体培养基为空白对照进行同步培养，按式（1）计算生物膜形成能力。

$$B = D_{560a} - D_{560b} \quad (1)$$

式中：

B——生物膜形成能力；

D_{560a}——试验组在560 nm处的吸光度；

D_{560b}——空白对照组在560 nm处的吸光度。

1.5　植物乳植杆菌JB1细胞密度和产酸性测定

将二次活化后的菌液按体积分数2%接种至改良MRS液体培养基中，分别培养12、24、36、48 h，取200 μL菌液于96孔酶标板中，用酶标仪测定其在600 nm处的吸光度（OD_{600}值），以表征细胞密度。产酸性测定：采用便携式pH计测定待测菌液的pH。

1.6　单因素试验

1.6.1　环境因素的影响

1）固定参数：接种体积分数2%，采用基础MRS培养基，检测时间点分别为12、24、36、48 h；评价指标为生物膜形成能力、菌株细胞密度及产酸性。

2）温度优化：设置25、30、37、42 ℃这4个温度梯度。

3）pH优化：用1 mol/L盐酸溶液将无菌MRS液体培养基的pH分别调至5.5、6.0、6.5、7.0、7.5。

1.6.2　培养基组分的影响

1）固定参数：接种体积分数2%，温度37 ℃，pH 6.5，检测时间点分别为12、24、36、48 h；评价指标为生物膜形成能力、菌株细胞密度及产酸性。

2）碳源优化：分别用麦芽糖、*D*-甘露醇和蔗糖替代基础碳源葡萄糖，添加质量浓度均为20 g/L。

3）氮源优化：分别用鱼粉蛋白胨、硫酸铵和胰蛋白胨替代基础氮源普通蛋白胨，添加质量浓度均为10 g/L。

4）金属离子优化：分别添加质量浓度0.2 g/L的硫酸锌（锌离子）、氯化钾（钾离子）、硫酸锰（锰离子）和硫酸镁（镁离子）。

5）缓冲盐质量分数优化：分别添加质量分数0%、0.2%、0.4%、0.6%、0.8%的磷酸氢二钾。

1.7　正交试验

在单因素试验结果的基础上，进一步规划正交试验，以生物膜形成能力为指标，设计正交试验。

1.8　发酵香肠制备

1.8.1　基础配方

用乙醇涂抹原料肉（肥肉与瘦肉质量比为

2∶8)后灼烧,再用无菌刀片剔除灼烧过的表层组织。其中肥肉用温水漂洗切丁,瘦肉绞碎。按以下质量分数(均以原料肉总质量为基准)添加调味料:盐 2.00%、蔗糖 2.00%、亚硝酸钠 0.01%、*D*-异抗坏血酸钠 0.20%、白酒 1.00%、味精 0.10%。混合均匀后于 4 ℃冷藏环境腌制 2 h。

1.8.2 发酵剂制备

1)游离态植物乳植杆菌 JB1 发酵剂:取在优化后的 MRS 液体培养基中培养至对数生长中期的植物乳植杆菌 JB1 菌液,于 8 000 r/min、4 ℃条件下离心 10 min,收集菌体。用生理盐水洗涤 2 次后重悬菌体,备用。

2)生物膜态植物乳植杆菌 JB1 发酵剂:取在优化后的 MRS 液体培养基中静置培养 36 h 形成生物膜的植物乳植杆菌 JB1,用无菌生理盐水轻柔洗涤 3 次以去除未黏附细胞。每孔加入 200 μL 无菌生理盐水重悬菌体,合并多孔重悬液,备用。

3)大肠杆菌 ATCC25922 接种物:取培养好的大肠杆菌 ATCC25922 菌液,于 8 000 r/min、4 ℃条件下离心 10 min,收集菌体。用生理盐水洗涤 2 次后重悬菌体,备用。用于人工污染阳性组接种。

将制备好的菌悬液与预处理好的原料肉按质量比 1∶100 或 1∶10 充分搅拌混合,使原料肉中植物乳植杆菌 JB1 的初始菌落浓度超过 1×10^6 CFU/g,大肠杆菌 ATCC25922 的初始菌落浓度超过 1×10^3 CFU/g(接种量参照商业发酵剂香肠生产的常规标准)。

1.8.3 发酵香肠制作工艺

参照牛雪峰[21]的方法并稍加修改。

1)灌肠:将接种后的原料肉灌入猪肠衣,擦净表面浮油,用牙签在肠衣表面戳孔以排除水分和空气。

2)发酵:将香肠挂于发酵箱中,控制发酵温度 20 ℃、相对湿度 85%~90%,发酵 4 d。该阶段通过低温环境避免初始温度过高导致的杂菌爆发性增殖,逐步建立乳酸菌生态优势,为后续主发酵奠定微生物基础。

3)取样:分别于发酵第 0、1、2、3、4 天取样,在香肠中部随机取样,均质后进行指标检测。该试验选择发酵初始阶段的低温控制期,可有效表现生物膜态菌株的环境适应优势。其中 CK 组为未接菌自然发酵组(接入无菌生理盐水),*E. coli* 组为仅接种大肠杆菌组,FL 组为仅接种游离态植物乳植杆菌 JB1 组,BL 组为仅接种生物膜态植物乳植杆菌 JB1 组,F+A 组为接种游离态植物乳植杆菌 JB1 与大肠杆菌的混菌组,B+A 组为接种生物膜态植物乳植杆菌 JB1 与大肠杆菌混菌组。

1.9 发酵香肠基本指标测定

1.9.1 pH 与乳酸质量分数

取 10 g 发酵后的样品,加入 90 mL 生理盐水,在研钵内研碎,置于 4 ℃冰箱静置 20 min。取出后上下颠倒摇匀 5~10 次,经无菌滤纸过滤后得到匀浆液,用 pH 计测定 pH。乳酸质量分数测定参照 Zhang 等[22]的方法,取样品匀浆液置于 100 mL 锥形瓶中,加入 3 滴酚酞指示液,用 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液滴定至样品出现微弱红色且 30 s 内不褪色,即为滴定终点。记录消耗的氢氧化钠体积,以无菌生理盐水为空白对照,按式(2)计算乳酸质量分数。

$$T=\frac{(V_s-V_b)\times 90.08}{V_a\times 10^6} \quad (2)$$

式中:

T——乳酸质量分数,g/kg;

V_s——试验组消耗的氢氧化钠体积,mL;

V_b——空白对照组消耗的氢氧化钠体积,mL;

V_a——滤液体积,mL;

90.08——乳酸摩尔质量,g/mol;

$1/10^6$——换算系数,mol/kg。

1.9.2 色差

将香肠样本切片,确保切面平整后覆盖聚乙烯薄膜,用色差仪测定并详细记录样本的 L^*、a^*、b^* 值。

1.9.3 乳酸菌数量

在无菌操作环境下去除肠衣,取 20 g 样品剪碎,加入 180 mL 无菌生理盐水,强烈振荡使其充分混合。按适宜梯度进行稀释,将菌悬液接种于 MRS 固体培养基中,于 37 ℃培养 48 h,对乳酸菌数量进行统计分析。

1.9.4 肠杆菌数量

按照 1.9.3 的方法对样本进行处理,将菌悬液接种于 VRBDA 培养基表面,于 30 ℃培养 48 h,计算肠杆菌数量。

1.10　发酵香肠蛋白质相关指标测定

1.10.1　可溶性蛋白质量分数

参照文献[23]的提取方法，取3 g香肠，去除肠衣后剪碎，加入30 mL提取液（100 mmol/L氯化钾、20 mmol/L磷酸钾、1 mmol/L氯化钙、1 mmol/L EDTA，pH 7.0，4 ℃保存）。在冰浴条件下用均质机均质2 min，随后于4 ℃、8 500 r/min条件下离心30 min，收集上清液，即为香肠蛋白质提取液。取20 μL蛋白质提取液，与2 mL考马斯亮蓝G-250染色液充分混匀，室温静置2 min后，用酶标仪测定其在595 nm下的吸光度（OD_{595}值）。

1.10.2　小肽质量分数

参照秦善等[17]的方法并稍加修改，取蛋白质提取液，加入等体积的三氯乙酸溶液（质量分数10%），充分混匀后反应1 h。于4 ℃、5 000 r/min离心15 min，将上清液置于Millipore超滤管（截留相对分子质量10 000以上的组分）中，于4 ℃、5 000 r/min离心15 min，收集滤液。

取50 μL滤液加入2 mL反应液，室温反应2 min后，在340 nm下测定吸光度（OD_{340}值）。以不同质量浓度的胰酪蛋白胨为横坐标、OD_{340}值为纵坐标绘制标准曲线，并计算小肽质量分数。其中反应液（50 mL）组成为100 mmol/L四硼酸钠、25 mL十二烷基硫酸钠（质量分数20%）、40 mg/mL邻苯二甲醛（溶于1 mL甲醇）、100 μL *β*-巯基乙醇。

1.10.3　氨基酸态氮质量分数

参照许惠雅等[24]的方法并稍加修改，取5 g香肠，去除肠衣后剪碎，用蒸馏水定容至100 mL，充分摇匀，于4 ℃、5 000 r/min离心10 min。量取20 mL上清液置于200 mL烧杯中，加入60 mL去离子水稀释，置于磁力搅拌器上充分混匀，向混合液中准确加入10 mL甲醛溶液，随后用0.05 mol/L氢氧化钠标准溶液进行滴定，直至溶液pH稳定在9.1~9.3，记录消耗的氢氧化钠标准溶液体积。取80 mL去离子水，按照相同操作步骤滴定，记录空白对照组消耗的氢氧化钠标准溶液体积，计算氨基酸态氮质量分数。

1.11　发酵香肠生物胺质量分数测定

参照孙霞[25]的提取方法，取5 g去衣香肠，加入20 mL 0.1 mol/L盐酸，用匀浆机匀浆。于4 ℃、4 000 r/min离心10 min，收集上清液；将离心后的沉淀重新提取1次。合并2次上清液，用0.1 mol/L的盐酸定容至50 mL，备用。

用0.4 mol/L高氯酸配制1 000 μg/mL的生物胺混合标准溶液，分别稀释为终质量浓度为40、100、200、400、600 μg/mL的混合标准溶液。参照秦善等[17]的方法，取1 mL各质量浓度的混合标准溶液进行柱前衍生，加入200 μL 2 mol/L的氢氧化钠溶液，再加入300 μL饱和碳酸氢钠溶液调节反应体系至碱性，随后加入2 mL丹黄酰氯衍生化试剂（10 mg/mL，以丙酮为溶剂），于黑暗环境、40 ℃反应30 min；反应结束后加入100 μL氨水终止反应，继续在黑暗环境中静置30 min以去除残留的丹黄酰氯；最后用乙腈定容至5 mL，经0.22 μm有机滤膜过滤后用高效液相色谱仪进行检测。

色谱条件为：采用Agilent ZORBAX SB-C18色谱柱（4.6 mm×250 mm×5 μm），进样量20 μL，流量0.8 mL/min，检测波长254 nm；流动相A为纯水，流动相B为乙腈。样品的洗脱时间为31 min，采用梯度洗脱程序，见表1。

表1　生物胺高效液相色谱梯度洗脱程序

Table 1　Gradient elution procedure of biogenic amines by high performance liquid chromatography

洗脱时间/min	流动相A体积分数/%	流动相B体积分数/%
0	45	55
2	32	68
4	30	70
10	30	70
17	10	90
20	5	95
23	1	99
27	0	100
30	0	100
31	45	55

1.12　香肠的微生物多样性分析

采用高通量测序技术分别检测发酵样品与未发酵样品的微生物多样性。通过比较样品中微生物群体在门水平、属水平上的相对丰度差异，明确发酵香肠基质中生物膜态植物乳植杆菌JB1与游离态植物乳植杆菌JB1对微生物群落的调控效果。

1.13　数据处理

所有试验均设置2次重复，每次重复包含3个平行样本。采用SPSS 16.0和Origin 2023分别进

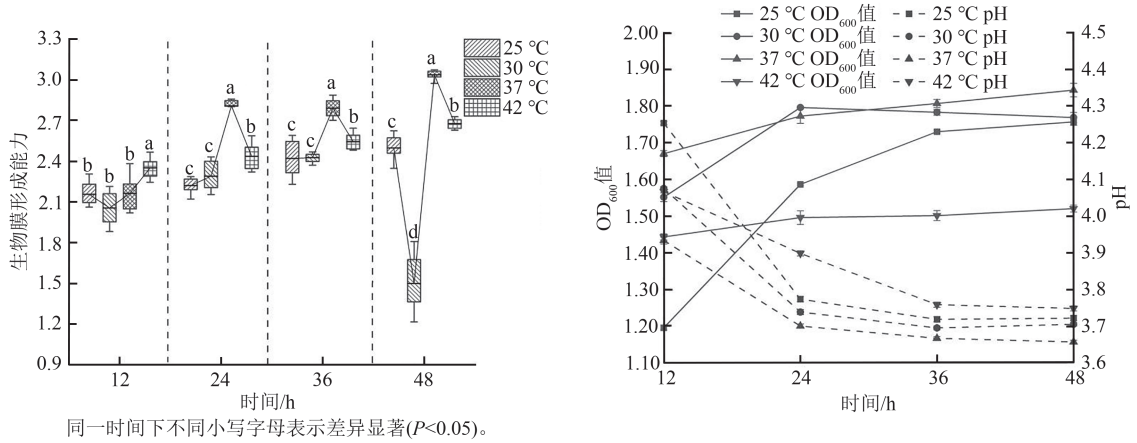
行统计学分析和图表制作，采用单因素方差分析和独立样本 t 检验进行显著性分析，$P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果与讨论

2.1 环境因素对植物乳植杆菌JB1生物膜形成能力及生长特性的影响

温度对植物乳植杆菌JB1生物膜形成能力及生长特性的影响见图1。整体来看，各温度条件下生物膜形成能力在36 h时达到峰值，其中37 ℃时表现最佳，在36 h时显著优于其他温度组（$P<0.05$）；其次为42、30、25 ℃，且25 ℃与30 ℃条件下，除48 h外，其余时间的生物膜形成能力无显著差异（$P>0.05$）。菌体生长及产酸性同样在37 ℃时最强，温度过高或过低均会对其产生抑制作用。有研究表明，温度变化可通过影响细菌生理状态，进而调节生物膜的形成[26]。植物乳植杆菌JB1在25 ℃和30 ℃时生物膜形成受到抑制，可能是由于低温降低了酶活性，减缓了代谢速率，导致菌体数量减少，最终影响生物膜的黏附与形成[27]；而当温度达到42 ℃时，生物膜形成能力降低，这可能是由于高温使细菌体内部分功能成分失活，抑制菌体的生长，使其难以形成稳定的生物膜[28]。综上，确定37 ℃为植物乳植杆菌JB1生物膜形成的最适温度。

pH对植物乳植杆菌JB1生物膜形成能力及生长特性的影响见图2。整体来看，各pH条件下生物膜形成能力在36 h时达到峰值，其中pH 6.5时表现最佳；其次为pH 7.0、6.0、7.5、5.5，且pH 6.0与pH 7.0条件下，除12 h外，其余时间的生物膜形成能力无显著差异（$P>0.05$）。表明当pH高于或低于特定范围时，生物膜形成能力会被削弱。另有研究表明，植物乳植杆菌SCP53生物膜形成能力在pH为5.5~6.8时最强，超出该范围时生物膜形成能力会受到抑制[28]。在菌体生长方面，pH 5.5时菌体生长受到显著抑制（$P<0.05$），其余pH条件下生长差异不明显。有研究表明，微生物的生长及生物膜形成与环境中的酸碱度密切相关[29]，酸碱度可通过影响电子转移过程调节菌体生长代谢[30]。随着pH升高，胞外分子的电离程度增强，胞外聚合物的絮凝作用随之增强；但当pH超过一定范围后，胞外聚合物的絮凝作用减弱，导致生物膜形成能力降低[31]。不同微生物的适宜pH范围存在差异，只有在适宜pH范围内，乳酸菌的代谢活性才会增强，进而促进其生长繁殖。综上，确定pH 6.5为植物乳植杆菌JB1生物膜形成的最适pH。



同一时间下不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

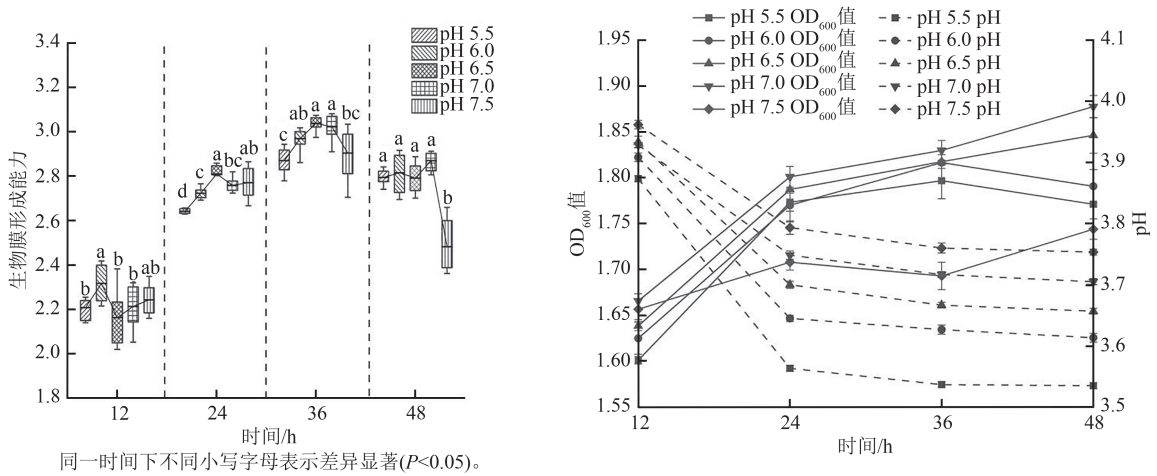
(a) 生物膜形成能力　(b) 生长特性

图1 温度对植物乳植杆菌JB1生物膜形成能力及生长特性的影响

Fig. 1 Effects of temperature on biofilm formation capacity and growth characteristics of *L. plantarum* JB1

2.2 培养基组分对植物乳植杆菌JB1生物膜形成能力及生长特性的影响

碳源对植物乳植杆菌JB1生物膜形成能力及生长特性的影响见图3。生物膜形成能力随培养时间的延长呈先增大后减小的趋势，且多数样品在36 h时达到峰值。该现象与生物膜的形成过程密切相关，初期生物膜不稳定且具有可逆性，后期随胞外物质分泌量的增加，生物膜逐渐稳定并转为不可逆状态[32]。当碳源为麦芽糖时，除12 h外，其余时间的生物膜形成能力显著优于其他3种碳源（$P<0.05$）。菌体浓度随培养时间的延长先升高后趋于稳定，产酸性趋势与其结果一致。碳源不

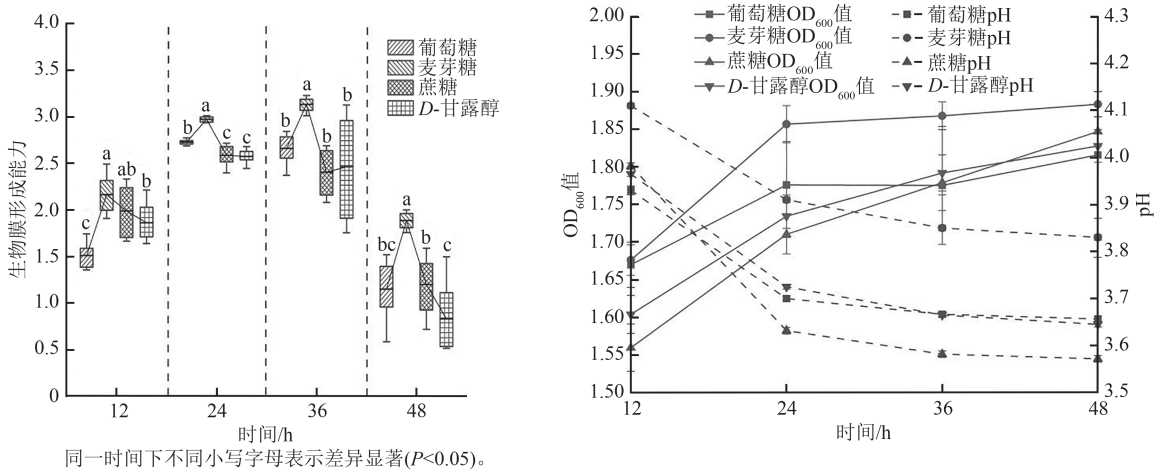


同一时间下不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

(a) 生物膜形成能力　　(b) 生长特性

图 2　pH 对植物乳植杆菌 JB1 生物膜形成能力及生长特性的影响

Fig. 2　Effects of pH on biofilm formation capacity and growth characteristics of *L. plantarum* JB1



同一时间下不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

(a) 生物膜形成能力　　(b) 生长特性

图 3　碳源对植物乳植杆菌 JB1 生物膜形成能力及生长特性的影响

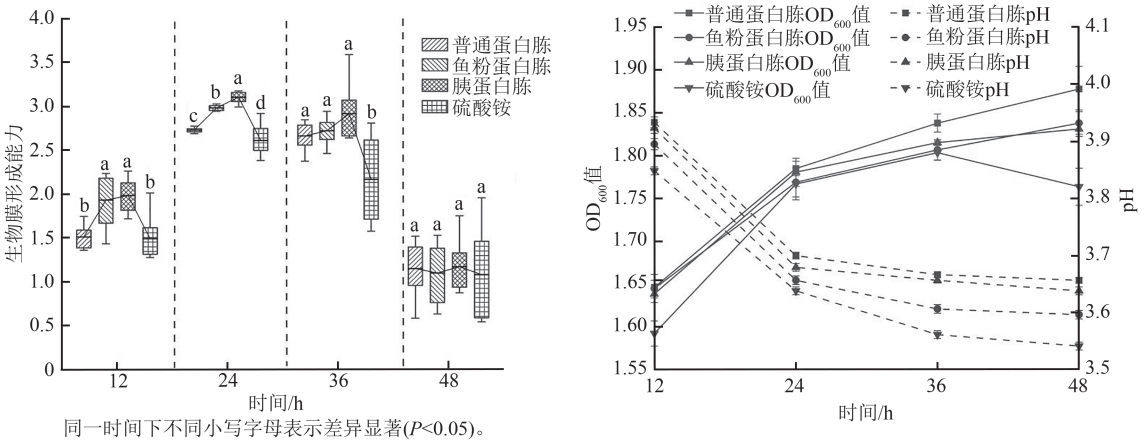
Fig. 3　Effects of carbon sources on biofilm formation capacity and growth characteristics of *L. plantarum* JB1

仅影响细菌的生长速率，还可调控黏附蛋白基因的表达，进而影响生物膜形成[33]。代妮妮等[31]发现副地衣芽孢杆菌 HMPM220325 偏好以麦芽糖为碳源，而徐文生等[34]指出长双歧杆菌 CICC6069 更适宜以葡萄糖为碳源。这说明不同菌株对碳源的偏好性及利用率存在明显差异。因此，选择适宜碳源对植物乳植杆菌 JB1 生物膜的形成至关重要。综合生物膜形成能力与生长性能结果，确定麦芽糖为植物乳植杆菌 JB1 的最佳碳源。

氮源对植物乳植杆菌 JB1 生物膜形成能力及生长特性的影响见图 4。随着培养时间的延长，生物膜形成能力呈先增大后减小的趋势，4 种氮源条件下生物膜形成能力的峰值均出现在 24 h；在 24 h 时，以胰蛋白胨为氮源的生物膜形成能力最佳，其次为鱼粉蛋白胨和普通蛋白胨，硫酸铵的效果最差。有研究表明，不同氮源的营养成分差异会影响细菌胞外物质的合成[35]，进而导致其对菌株生物膜形成能力产生不同影响。pH 随菌体浓度的增加而降低，以普通蛋白胨和胰蛋白胨为氮源时，菌体生长性能较好，该结果与刘珊娜等[36]的研究结果一致。综合试验结果，确定胰蛋白胨为植物乳植杆菌 JB1 的最佳氮源。

金属离子对植物乳植杆菌 JB1 生物膜形成能力及生长特性的影响见图 5。不同金属离子对菌株生物膜形成能力的影响存在差异，金属离子能够直接或间接地参与蛋白质与酶的合成，既有利

于增强生物膜的黏附性和稳定性[37]，也是微生物维持正常生长代谢的必需成分。4种金属离子添加组的生物膜形成能力均在36 h时达到峰值，其中锰离子对生物膜形成的促进作用最为显著，其次为镁离子、钾离子和锌离子；同时，当锰离子存在时，菌体浓度达到了最高值。程新等[38]的研究也证实，缺乏锰离子会影响乳酸菌的碳氮代谢、丙酮酸代谢及结构蛋白合成等多条代谢通路，导致乳酸菌生理状态异常、活力下降。综合试验结果，确定锰离子为植物乳植杆菌JB1的最佳金属离子。

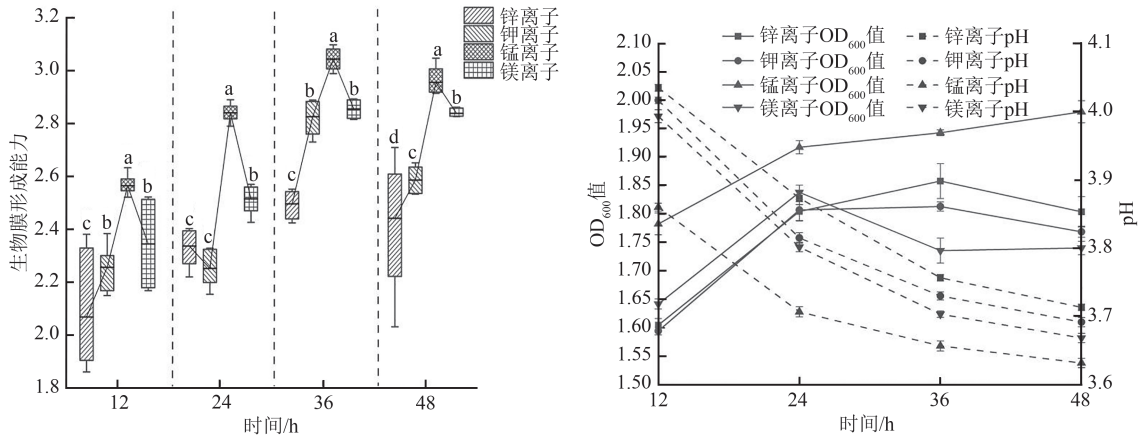


同一时间下不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

(a) 生物膜形成能力　(b) 生长特性

图4　氮源对植物乳植杆菌JB1生物膜形成能力及生长特性的影响

Fig. 4　Effects of nitrogen sources on biofilm formation capacity and growth characteristics of *L. plantarum* JB1



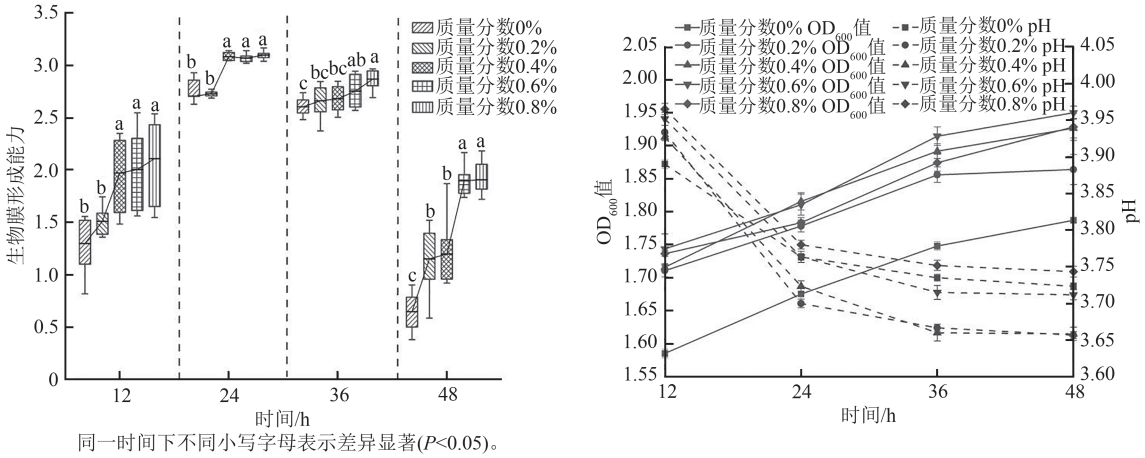
同一时间下不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

(a) 生物膜形成能力　(b) 生长特性

图5　金属离子对植物乳植杆菌JB1生物膜形成能力及生长特性的影响

Fig. 5　Effects of metal ions on biofilm formation capacity and growth characteristics of *L. plantarum* JB1

缓冲盐（磷酸氢二钾）质量分数对植物乳植杆菌JB1生物膜形成能力及生长特性的影响见图6。整体来看，各磷酸氢二钾质量分数下生物膜形成能力在培养24 h时达到峰值，在此培养时间下，随着磷酸氢二钾质量分数升高，生物膜形成能力逐渐增强；当质量分数为0.4%时，生物膜形成能力显著高于空白组和质量分数0.2%组（P<0.05），但与质量分数0.6%、0.8%组相比无显著差异（P>0.05）。这表明磷酸氢二钾对生物膜形成的促进作用存在一定质量浓度范围，超过该范围后，生物膜形成能力不再增加。由研究表明，适宜浓度的磷酸氢二钾有利于细菌群体感应中信号分子的合成，进而促进生物膜形成[39]。随着菌体浓度的升高，培养液pH呈下降趋势，各质量分数磷酸氢二钾的菌体生长特性差别较小，但均明显优于未添加磷酸氢二钾的空白组。综上，选择质量分数0.4%的磷酸氢二钾作为后续正交试验的参考条件。



同一时间下不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

(a) 生物膜形成能力　　(b) 生长特性

图 6　磷酸氢二钾质量分数对植物乳植杆菌 JB1 生物膜形成能力及生长特性的影响

Fig. 6　Effects of dipotassium hydrogen phosphate mass fraction on biofilm formation capacity and growth characteristics of *L. plantarum* JB1

2.3　热图分析

为更清晰地观察不同组别生物膜形成能力的差异，使用热图展示各时间不同变量间的数据分布情况，见图 7。可以看出，36 h 时生物膜形成能力较高，12 h 时较低。该结果符合生物膜形成规律：12 h 时细菌刚完成初始附着，胞外聚合物分泌较少，因此生物膜形成能力较差；36 h 时细菌进入稳定期，胞外聚合物大量积累并形成成熟的三维结构，使生物膜量显著增加。因此，后续正交试验以 36 h 时的生物膜形成能力为优化指标。

2.4　正交试验结果

在单因素试验的基础上，以生物膜形成能力为指标，重点考察各影响因子的交互作用，对麦芽糖质量浓度（A）、胰蛋白胨质量浓度（B）、磷酸氢二钾质量分数（C）和锰离子质量浓度（D）开展正交试验。其中，正交试验因素水平表见表 2，试验结果见表 3。在选定的水平范围内，4 个因素对生物膜形成能力的影响顺序为：A>B>C>D；最佳培养

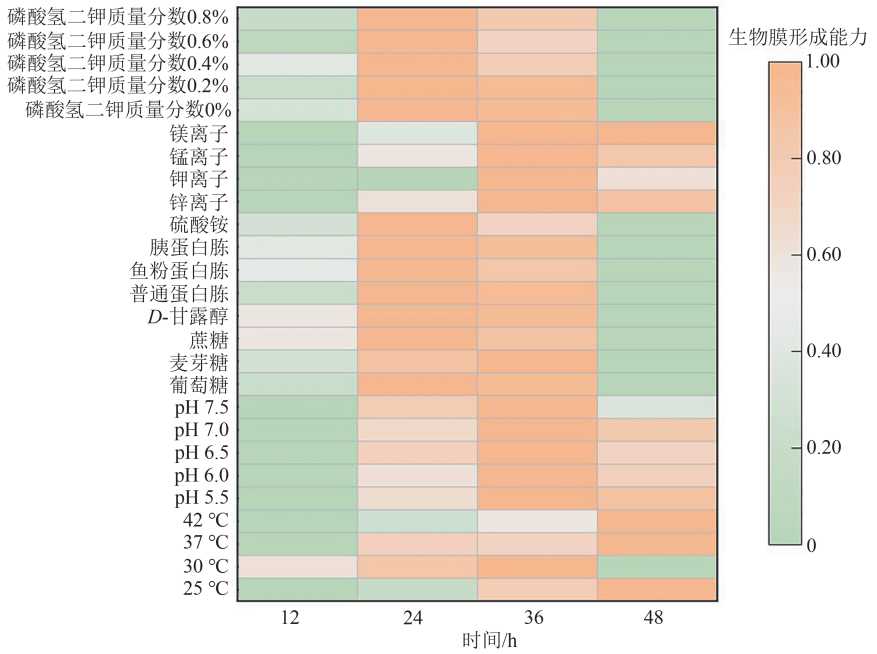


图 7　生物膜形成能力热图

Fig. 7　Heat map of biofilm formation capacity

条件为$A_3B_1C_3D_1$，即麦芽糖质量浓度35 g/L、胰蛋白胨质量浓度5 g/L、磷酸氢二钾质量分数1.0%、锰离子质量浓度0.2 g/L。

通过方差分析进一步探究各因素影响生物膜形成能力的显著性，发现麦芽糖质量浓度对植物乳植杆菌JB1生物膜形成能力具有极显著影响（P<0.01），见表4。为验证优化条件的可靠性，作者开展了验证试验。发现在最佳优化条件下，生物膜形成能力为2.95±0.12，与正交试验预测值（2.98）吻合良好，相对误差<5%，表明该优化条件可靠。对照组（原MRS培养基）的生物膜形成能力为2.05±0.09，最佳条件下生物膜形成能力较对照组显著提高了43.9%（P<0.05）。

表2 正交试验的因素与水平

Table 2 Factors and levels of orthogonal experiment

水平	因素			
	麦芽糖质量浓度/（g/L）	胰蛋白胨质量浓度/（g/L）	磷酸氢二钾质量分数/%	锰离子质量浓度/（g/L）
1	5	5	0.2	0.2
2	20	15	0.6	0.6
3	35	25	1.0	1.0

表3 正交试验结果分析

Table 3 Analysis of orthogonal experimental results

试验编号	A	B	C	D	生物膜形成能力
1	1	1	1	1	2.09
2	1	2	2	2	1.95
3	1	3	3	3	2.05
4	2	1	2	3	2.86
5	2	2	3	1	2.90
6	2	3	1	2	2.88
7	3	1	3	2	2.98
8	3	2	1	3	2.80
9	3	3	2	1	2.89
K_1	2.030	2.643	2.590	2.627	
K_2	2.880	2.550	2.567	2.603	
K_3	2.890	2.607	2.643	2.570	
R^2	0.860	0.093	0.076	0.057	
最优方案	A_3	B_1	C_3	D_1	

2.5 发酵香肠理化指标结果

不同处理组香肠发酵过程中理化指标结果见图8。在发酵阶段，微生物通过糖酵解途径分解碳水化合物，将其转化为乳酸等物质，导致香肠pH大幅下降。发酵香肠的安全性主要依赖产品的低pH与低水分质量分数，且乳酸的形成与pH降低是决定其品质的关键因素，对改善产品凝胶质构、提升产品风味有积极作用[40]。发酵时间对香肠pH和乳酸质量分数的影响见图8（a），pH和乳酸质量分数呈负相关。在整个发酵阶段，FL组、BL组、F+A组、B+A组的pH始终低于CK组，而*E. coli*组在发酵第4天时，pH高于CK组。发酵4 d时，BL组的乳酸质量分数比FL组高8.5%，且整个发酵阶段乳酸质量分数均最高；BL组pH最低，仅为4.81，说明生物膜态植物乳植杆菌JB1产酸更强、代谢更活跃，因此能更快地降低香肠的pH。

表4 正交试验结果方差分析

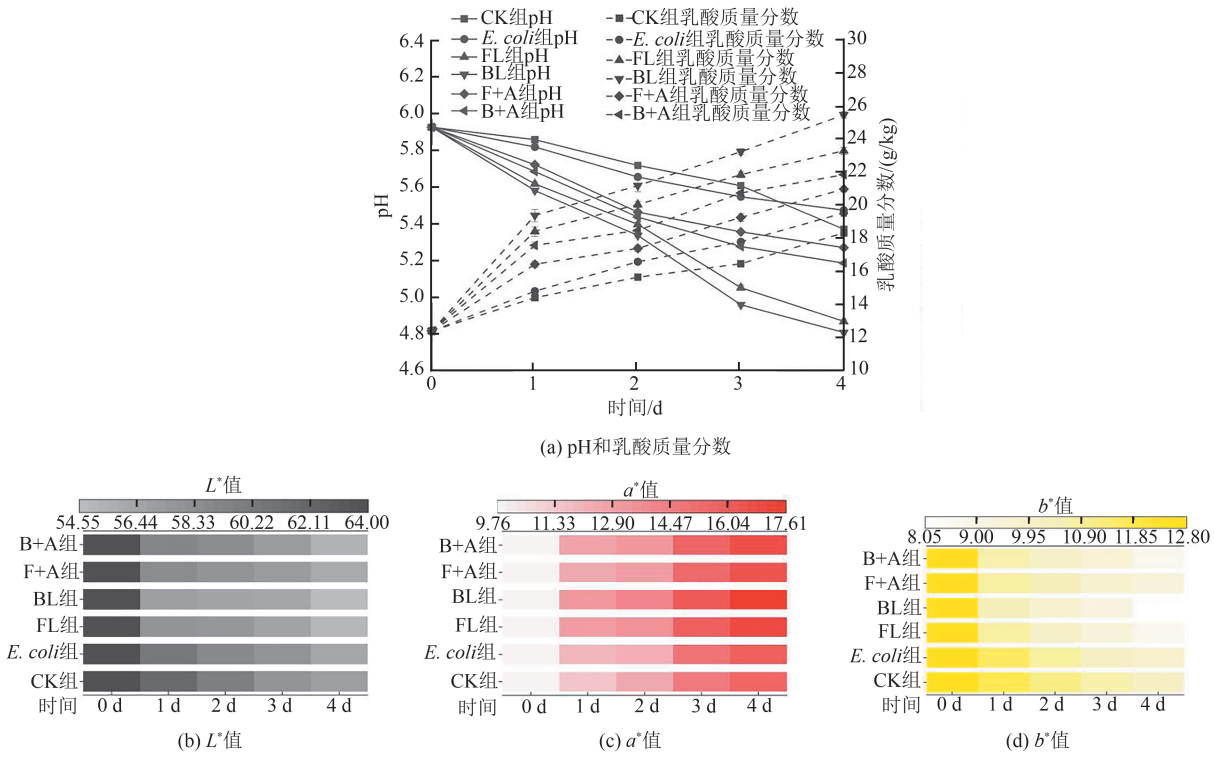
Table 4 Analysis of variance for orthogonal experimental results

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F值	P值
A	4.341	2	2.170	164.240	0.000
B	0.034	2	0.017	1.293	0.299
C	0.035	2	0.018	1.334	0.288
D	0.010	2	0.005	0.372	0.695

色泽是发酵香肠的关键感官属性，发酵香肠色差的可视化热图见图8（b）~（d）。L^*值代表亮度，反映香肠对光线的反射能力，易受水分质量分数的影响。水分减少会降低香肠表面反射光线的能力，从而造成L^*值下降[41]。随着发酵时间的延长，所有处理组香肠的L^*值均不断下降；与CK组相比，各组的L^*值均明显降低，这与其水分质量分数较低有关。a^*值代表红度，其在发酵过程中呈上升趋势，这可能与香肠中亚硝酸盐降解产生一氧化氮进而结合肌红蛋白形成红色物质有关。b^*值代表黄度，该值在发酵阶段逐渐降低，可能是脂肪氧化、蛋白质变性共同作用的结果。不同接种组的色泽状态存在差异，主要是由于发酵肉色泽的形成与稳定性受微生物生长、酶活性和化学反应的共同调控，而这些条件又受pH、温度、水分等多种因素影响[42]。

2.6 发酵香肠含氮化合物结果

不同处理组香肠发酵过程中含氮化合物结果见图9。在发酵前，香肠中总生物胺质量分数为（39.25±0.43）mg/kg，符合食品安全标准，表明原料肉新鲜度良好，且8种生物胺初始质量分数均低于（9.75±0.19）mg/kg。发酵4 d时，8种生物胺质量分数均显著增加（P<0.05），但在严格控制卫生和规范



(a) pH和乳酸质量分数　(b) L^*值　(c) a^*值　(d) b^*值

图 8　不同处理组香肠发酵过程中理化指标变化

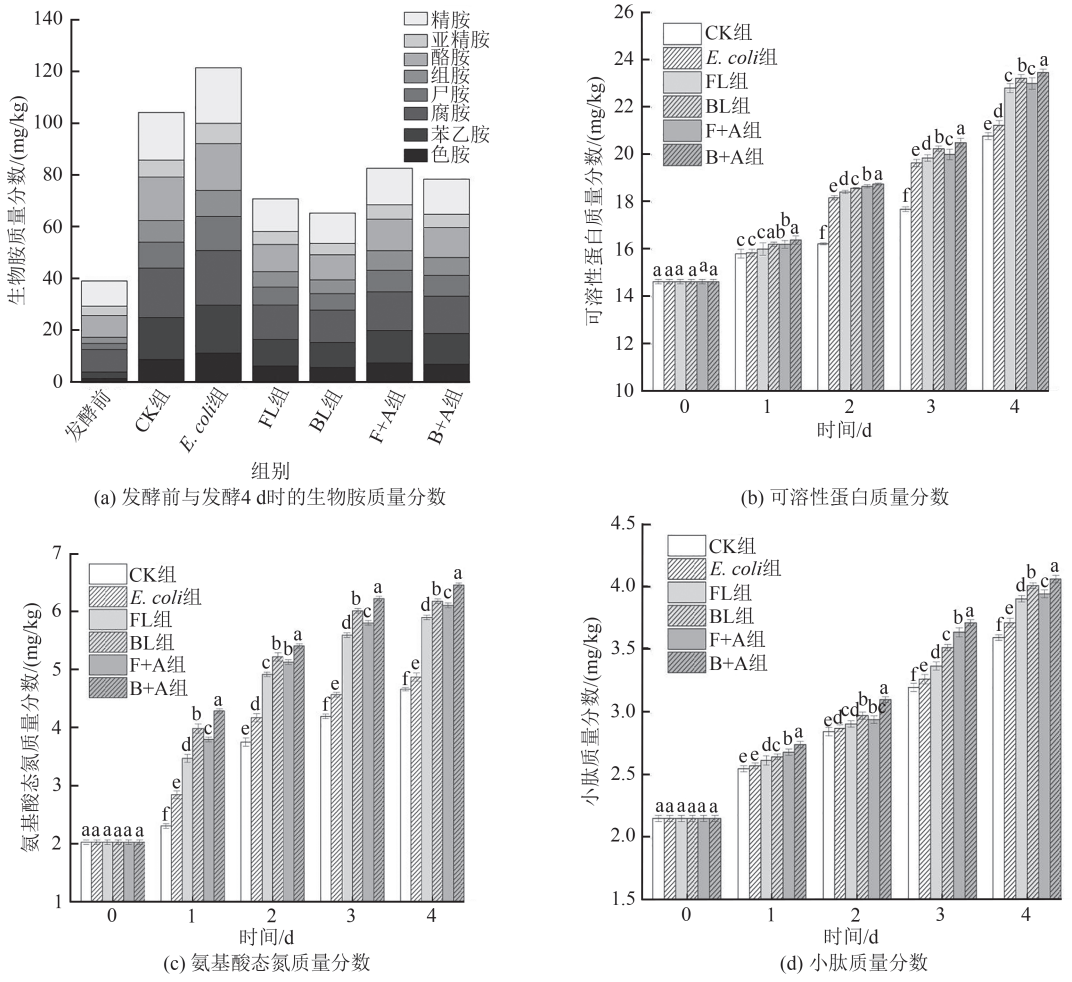
Fig. 8　Changes in physical and chemical indicators of sausages in different treatment groups during the fermentation process

操作的加工工艺下，发酵结束时各生物胺质量分数均未超过（21.44±0.20）mg/kg，见图 9（a）。在CK组中，精胺和腐胺从初始值约 10 mg/kg 分别增加到（18.45±0.21）、（19.10±0.18）mg/kg；酪胺和亚精胺质量分数分别为（16.84±0.37）mg/kg 和（6.53±0.35）mg/kg；发酵香肠中苯乙胺质量分数为（16.24±0.41）mg/kg，组胺质量分数为（8.34±0.17）mg/kg。发酵前尸胺和色胺的质量分数最低，其中尸胺是判断肉类新鲜度的可靠指标，其低质量分数进一步证明原料肉品质良好；色胺作为一种次要胺类，初始质量分数同样较低。发酵 4 d 时，BL 组总生物胺质量分数较 FL 组降低了 7.7%（P<0.05），且显著低于 CK 组和 *E. coli* 组（P<0.05），表明生物膜态植物乳植杆菌 JB1 能有效抑制发酵过程中生物胺形成。此外，在复合菌种处理中，B+A 组的总生物胺质量分数显著低于 F+A 组（P<0.05），表明生物膜态植物乳植杆菌 JB1 因代谢活性更强、生理功能更优，展现出更优异的生物胺降解能力。

香肠发酵过程中蛋白质降解情况见图 9（b）~（d）。随着发酵时间的延长，所有处理组的可溶性蛋白、小肽和氨基酸态氮质量分数均逐步提高，这是肉类自身的酶和微生物产生的蛋白酶共同作用的结果[43-44]。在这些酶的作用下，大分子蛋白质被分解成小分子多肽和氨基酸，同时使不溶性蛋白质逐渐转化为可溶性形式，这些产物是形成香肠特有风味的关键物质。结果表明，使用植物乳植杆菌 JB1 的 FL 组、BL 组和复合菌种 F+A 组、B+A 组，其可溶性蛋白、小肽和氨基酸态氮质量分数均明显高于 CK 组和 *E. coli* 组；且 BL 组的蛋白质分解效果优于 FL 组，B+A 组优于 F+A 组。这表明植物乳植杆菌 JB1 在生物膜状态下，蛋白质分解能力更强，更适应香肠发酵的特殊环境。

2.7　发酵香肠微生物结果

不同处理组香肠发酵过程中乳酸菌数量和肠杆菌数量结果见图 10。结果表明，乳酸菌初始数量为（3.07±0.45）×10^5 CFU/g，肠杆菌初始数量为（4.16±0.87）×10^3 CFU/g，与市售鲜肉的菌落水平一致[45]，这是原料肉中内源性乳酸菌和肠杆菌自然存在的结果。随着发酵时间的延长，各组的乳酸菌数量均逐渐升高，而不同组间肠杆菌数量变化有所区别。其中 CK 组肠杆菌数量逐渐升高，发酵 4 d 时已超过 1.00×10^5 CFU/g，这一现象印证了传统无接种发酵工艺的微生物污染风险；而 FL 组和 BL 组肠杆菌数量在香肠发酵过程中持续下降，显



同一时间下不同小写字母表示差异显著（P<0.05）。

图 9　不同处理组香肠发酵过程中含氮化合物结果

Fig. 9　Mass fractions of nitrogen-containing compounds of sausages in different treatment groups during the fermentation process

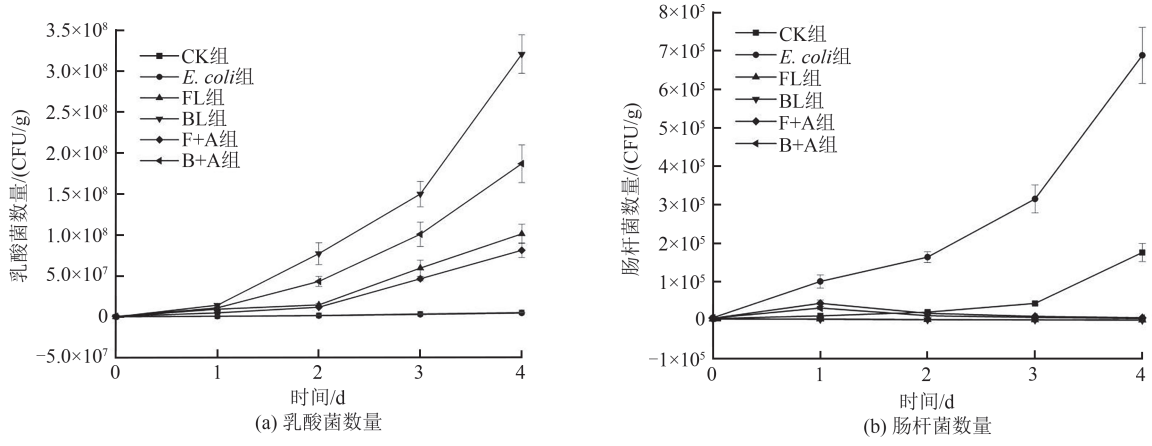


图 10　不同处理组香肠发酵过程中微生物变化

Fig. 10　Microbial changes of sausages in different treatment groups during the fermentation process

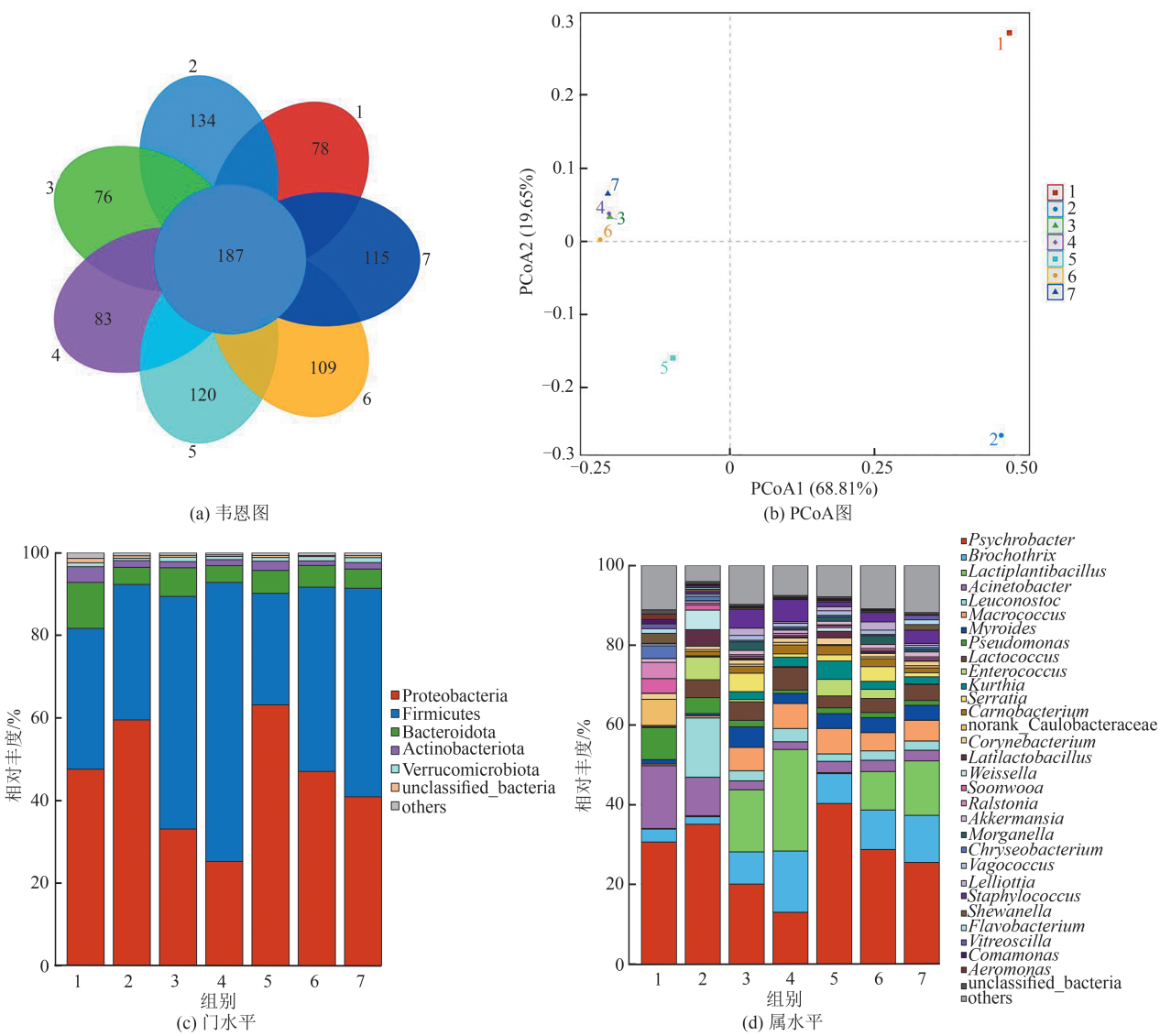
著低于CK组（P<0.05）；发酵 4 d时，BL组肠杆菌数量较FL组降低了16.5%。另外，FL组和BL组中的乳酸菌数量显著高于CK组（P<0.05），这表明乳酸菌可抑制香肠中肠杆菌的生长。F+A组和B+A组的肠杆菌数量呈先升高后降低的趋势，初期升高可能是因为接种的大肠杆菌在适宜发酵环

境中迅速繁殖；后期下降则是乳酸菌不仅抑制了香肠中内源性肠杆菌的生长繁殖，还能抑制接种大肠杆菌的生长繁殖。这一现象可能归因于植物乳植杆菌JB1在发酵过程中表现出的双重抑菌机制：一方面，其通过快速代谢产酸显著降低体系pH，营造不利于肠杆菌生长的酸性环境；另一方面，其可能会分泌细菌素等抗菌活性物质[46]。这种协同作用有效抑制了杂菌生长，进而影响最终产品的微生物群落组成[47]。

2.8　发酵香肠的微生物多样性结果

不同处理组发酵香肠的微生物多样性结果见图11。通过韦恩图评估不同组间操作分类单元（OTUs）的分布和组成相似性，见图11（a）。在香肠发酵过程中，共检测到187个共有细菌OTUs；各组特有OTUs数量存在显著差异，1~7组分别为78、134、76、83、120、109、115个。发酵4 d后，接种植物乳植杆菌JB1的组别，因菌株代谢产酸抑制了有害菌生长，因此其OTUs数量相对较少。通过主要坐标分析（PCoA）提取特征值和特征向量，从多维数据中提取出最主要的数据和结构，样本越接近，说明样本组成越相似。PCoA1为68.81%、PCoA2为19.65%，两者之和为88.46%，见图11（b），说明相关性较高，可以使用。所有接种组与CK组的距离均较远，这表明外源菌种的接入对发酵香肠微生物群落的组成影响较大。

分别从门水平和属水平揭示不同处理组微生



1—CK组（0 d）；2—CK组（4 d）；3—FL组（4 d）；4—BL组（4 d）；5—*E. coli*组（4 d）；6—F+A组（4 d）；7—B+A组（4 d）。

图11　不同处理组发酵香肠的微生物多样性分析

Fig. 11　Microbial diversity anlysisi of fermented sausages in different treatment groups

物的相对丰度，见图11(c)~(d)。不同处理组发酵香肠共检测到5个门的微生物，其中变形菌门(Proteobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes)是主要的优势菌群，这与Hu等[48]的研究结果一致。不同处理组的优势菌群存在差异，如变形菌门在第5组中相对丰度最高，在第4组中相对丰度最低；而厚壁菌门的结果则相反。该结果进一步证明，不同发酵剂对香肠微生物群落的门水平组成影响不同。不同处理组发酵香肠共检测到30个属的微生物菌群，其中嗜冷菌属(*Psychrobacter*)相对丰度最高，其次是环丝菌属(*Brochothrix*)等[49]。乳杆菌属作为发酵食品中的有益菌群，可通过酸化过程改善肉制品的口感和质地[50]。发酵过程中，细菌群落间会发生复杂的生物化学反应，在香肠内部形成复杂的微生态环境；同时，该环节还受到外部环境因素的多重影响，最终导致加工过程中细菌丰度呈现动态变化。

3 结论

该研究发现植物乳植杆菌JB1在37 ℃、pH 6.5时最易形成生物膜；最优培养基成分为麦芽糖35 g/L、胰蛋白胨5 g/L、锰离子0.2 g/L、磷酸氢二钾质量分数1.0%；在此条件下，该菌株的生物膜形成能力较原MRS培养基提高了43.9%。乳酸菌生物膜的形成不仅依赖单一环境或营养因素，更受多种因素的动态协调调控。在发酵香肠实际应用中，经生物膜培养的菌株能更好地抑制有害菌生长繁殖、降低生物胺累积，促进蛋白质分解，改善产品色泽与风味。这些发现证实，生物膜技术有利于增强益生菌的环境适应能力，进而提升发酵食品的安全性与功能性。该研究为益生菌规模化生产提供了实用参数，同时为增强菌株在食品加工环境中的耐受性开辟了新思路。未来需进一步探究生物膜形成的具体机制，以推动该技术在食品工业中的应用。

参考文献

[1] 陈峰，马微微，于雷雷，等. 植物乳杆菌CCFM8661增强小鼠免疫力的功能评价[J]. 食品与生物技术学报，2024，43(5)：37-43.
CHEN F，MA W W，YU L L，et al. Functional evaluation of *Lactiplantibacillus plantarum* CCFM8661 for enhancing immunity in mice[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2024，43(5)：37-43.(in Chinese)

[2] LI H P，ZHAO P，ZHANG S H，et al. Protective effect of polysaccharides from *Pholiota nameko* on *Lactobacillus casei* ATCC334 subjected to freeze-drying[J]. LWT-Food Science and Technology，2019，115：108463.

[3] 许本宏，石佼，袁珊，等. 植物乳杆菌 *Lactobacillus plantarum* GIM1.648生物膜的形成机理初探[J]. 现代食品科技，2024，40(11)：119-128.
XU B H，SHI J，YUAN S，et al. Preliminary study of the biofilm formation mechanism of *Lactobacillus plantarum* GIM1.648[J]. Modern Food Science and Technology，2024，40(11)：119-128.(in Chinese)

[4] LI X M，CHE L H，WU Y，et al. An effective strategy for improving the freeze-drying survival rate of *Lactobacillus curvatus* and its potential protective mechanism[J]. Food Bioscience，2024，58：103794.

[5] SUN H Y，ZHANG M H，LIU Y K，et al. Improved viability of *Lactobacillus plantarum* embedded in whey protein concentrate/pullulan/trehalose hydrogel during freeze drying[J]. Carbohydrate Polymers，2021，260：117843.

[6] GALVEZ-JIRON F，DE FREITAS PEDROSA L，LAGOS L S，et al. *Lactobacillus plantarum* in high methoxylated pectin-based encapsulation systems supports gut epithelial wound healing *in vitro*[J]. Food Hydrocolloids for Health，2025，7：100218.

[7] WU P Y，WANG Z P，ZHU Q Y，et al. Stress preadaptation and overexpression of *rpoS* and *hfq* genes increase stress resistance of *Pseudomonas fluorescens* ATCC13525[J]. Microbiological Research，2021，250：126804.

[8] YANG H，HUANG P，HAO L Y，et al. Enhancing viability of dried lactic acid bacteria prepared by freeze drying and spray drying *via* heat preadaptation[J]. Food Microbiology，2023，112：104239.

[9] WANG H M，ZHAO H，ZHU W T，et al. The impact of environmental conditions on the heat tolerance of *Acropora hyacinthus*[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology，2025，585：152096.

[10] YANG H，HE M W，WU C D. Cross protection of lactic acid bacteria during environmental stresses：stress responses and underlying mechanisms[J]. LWT-Food Science and Technology，2021，144：111203.

[11] HU M X，HE F，TU C K，et al. Edible electrospun zein nanofibrous scaffolds close the gaps in biofilm formation ability between microorganisms[J]. Food Bioscience，2023，56：103394.

[12] AL-HADIDI A，NAVARRO J，GOODMAN S D，et al. *Lactobacillus reuteri* in its biofilm state improves protection from experimental necrotizing enterocolitis[J]. Nutrients，2021，13(3)：918.

[13] 赵佳伟，敖晓琳，蔡义民，等. 金属离子对植物乳杆菌RS66CD生物膜形成及环境耐受性的影响[J]. 食品与发酵工业，2019，45(21)：46-52.
ZHAO J W，AO X L，CAI Y M，et al. Effect of metal ions

on the biofilm formation and environmental tolerance of *Lactobacillus plantarum* RS66CD [J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(21): 46-52. (in Chinese)

[14] YAO P L, MOHD ESAH E, ZHAO C P. Regulatory mechanisms and applications of *Lactobacillus* biofilms in the food industry[J]. Frontiers in Microbiology, 2024, 15: 1465373.

[15] 张悦，贺银凤，顾悦，等. 高产生物膜乳酸菌抗逆性及其抗氧化特性[J]. 农业工程学报，2021，37(6)：282-288.
ZHANG Y, HE Y F, GU Y, et al. Stress resistance and antioxidant properties of lactic acid bacteria with high biofilm production [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2021, 37(6): 282-288. (in Chinese)

[16] 周文文，聂麟杰，解婉悦，等. 细菌生物膜在农产品病害生物防治中的作用及其增强方式[J]. 食品与生物技术学报，2024，43(7)：12-21.
ZHOU W W, NIE L J, XIE W Y, et al. Biocontrol effect of bacteria biofilm on agricultural products and its enhancement approach[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2024, 43(7): 12-21. (in Chinese)

[17] 秦善，曾宪明，石洁，等. 不同发酵温度下*Lactiplantibacillus plantarum* JB1对发酵香肠的控胺效果[J]. 南京农业大学学报，2024，47(3)：539-550.
QIN S, ZENG X M, SHI J, et al. Amine-reducing effect of *Lactiplantibacillus plantarum* JB1 inoculated in fermented sausage at different temperatures[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2024, 47(3): 539-550. (in Chinese)

[18] 夏玲燕，钱敏，徐晔，等. 植物乳植杆菌IMAUJBP3和罗伊氏乳杆菌IMAUJBR3复配对发酵羊肉香肠品质及多肽抗氧化能力的影响[J]. 食品科学，2025，46(6)：80-88.
XIA L Y, QIAN M, XU Y, et al. Effect of combination of *Lactiplantibacillus plantarum* IMAUJBP3 and *Limosilactobacillus reuteri* IMAUJBR3 on the quality and peptide antioxidant capacity of fermented lamb sausages [J]. Food Science, 2025, 46(6): 80-88. (in Chinese)

[19] 马依努尔•米吉提. 低温发酵风干羊腿中发酵菌株的分离筛选及其应用研究[D]. 乌鲁木齐：新疆农业大学，2023.

[20] 王嘉康，唐浩国，陈静，等. 水飞蓟素对*S. aureus* ATCC25923生物膜及其毒力因子的影响[J]. 食品与机械，2024，40(3)：26-32，43.
WANG J K, TANG H G, CHEN J, et al. Effects of silymarin on *S. aureus* ATCC25923 biofilm and its virulence factors[J]. Food & Machinery, 2024, 40(3): 26-32, 43. (in Chinese)

[21] 牛雪峰. 发酵火腿中产香葡萄球菌的筛选及在发酵香肠中的应用[D]. 哈尔滨：哈尔滨商业大学，2020.

[22] ZHANG Q Q, ZHAO Q, LI T, et al. *Lactobacillus plantarum*-derived indole-3-lactic acid ameliorates colorectal tumorigenesis *via* epigenetic regulation of $CD8^+$ T cell immunity[J]. Cell Metabolism, 2023, 35(6): 943-960.

[23] TOLDRÁ F, RICO E, FLORES J. Activities of pork muscle proteases in model cured meat systems [J]. Biochimie, 1992, 74(3): 291-296.

[24] 许惠雅，张强，王逸鑫，等. 不同乳酸菌对发酵草鱼品质的影响[J]. 水产学报，2022，46(2)：289-297.
XU H Y, ZHANG Q, WANG Y X, et al. Effects of different lactic acid bacteria on the quality of fermented grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2022, 46(2): 289-297. (in Chinese)

[25] 孙霞. 四川香肠中生物胺降解菌的筛选鉴定及其初步应用[D]. 雅安：四川农业大学，2016.

[26] 龙冬艳，胡少平，陈新才，等. 持留菌及其对微生物膜的耐受性影响研究进展[J]. 应用生态学报，2010，21(10)：2707-2714.
LONG D Y, HU S P, CHEN X C, et al. Persisters and their effects on microbial biofilm tolerance: a review[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2010, 21(10): 2707-2714. (in Chinese)

[27] 汪晓雅，陈芳，刘思慧，等. 不同胁迫体系对植物乳杆菌zwq9生物膜形成及其产蛋白酶活力的影响[J]. 食品研究与开发，2023，44(5)：194-201.
WANG X Y, CHEN F, LIU S H, et al. Effects of different stress systems on the biofilm formation and protease-producing activity of *Lactobacillus plantarum* zwq9 [J]. Food Research and Development, 2023, 44(5): 194-201. (in Chinese)

[28] 张国丽，彭瑶，魏露，等. 植物乳杆菌SCP53生物膜的形成条件[J]. 食品与发酵工业，2017，43(4)：7-14.
ZHANG G L, PENG Y, WEI L, et al. Study on biofilm formation conditions of *Lactobacillus plantarum* SCP53 [J]. Food and Fermentation Industries, 2017, 43(4): 7-14. (in Chinese)

[29] OBAEES R, ALKHALIDI E, HAMDOON S. pH value and antibacterial effect of alkasite restorative materials [J]. Georgian Medical News, 2024, 350(5): 113-119.

[30] 武弘理. 罗伊氏粘液乳杆菌LR-20高密度发酵培养基和最适pH值的优化[D]. 呼和浩特：内蒙古农业大学，2024.

[31] 代妮妮，梁笑，闫致会，等. 潜在植物根际促生菌副地衣芽孢杆菌HMPM220325生物膜培养条件优化[J]. 微生物学报，2024，64(8)：2784-2798.
DAI N N, LIANG X, YAN Z H, et al. Optimization of culture conditions for biofilm formation of the potential plant growth-promoting rhizobacterial strain *Bacillus paralicheniformis* HMPM220325[J]. Acta Microbiologica

Sinica，2024，64(8)：2784-2798.(in Chinese)
[32] 林夫欣. 高黏附高成膜性乳杆菌的筛选及S-层蛋白黏附作用的探究[D]. 哈尔滨：哈尔滨工业大学，2023.
[33] 寇佳祥，乔建军，朱宏吉，等. 提高乳杆菌属冷冻干燥存活率研究进展[J]. 食品与发酵工业，2022，48(13)：296-303.
KOU J X，QIAO J J，ZHU H J，et al. Research progress on improving the survival rate of *Lactobacillus* in freeze-drying[J]. Food and Fermentation Industries，2022，48(13)：296-303.(in Chinese)
[34] 徐文生，张艳艳，黄漫青，等. 环境因素对长双歧杆菌CICC6069生物膜生成的影响[J]. 中国食品学报，2012，12(4)：36-42.
XU W S，ZHANG Y Y，HUANG M Q，et al. Impact of environmental factors on biofilm formation by *Bifidobacterium longium* CICC6069 [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology，2012，12(4)：36-42.(in Chinese)
[35] 刘洋，乔少婷，李嘉雯，等. 氮源对嗜热链球菌胞外多糖表型特征的影响[J]. 中国食品学报，2022，22(1)：58-66.
LIU Y，QIAO S T，LI J W，et al. Effects of nitrogen sources on the phenotypic characteristics of exopolysaccharide from *Streptococcus thermophilus*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology，2022，22(1)：58-66.(in Chinese)
[36] 刘珊娜，王聪，魏金艳，等. 酸菜汁中乳酸菌的筛选和产酸性能的优化[J]. 食品工业科技，2018，39(3)：112-116.
LIU S N，WANG C，WEI J Y，et al. Screening and acid production optimization of lactic acid bacteria from sauerkraut juice[J]. Science and Technology of Food Industry，2018，39(3)：112-116.(in Chinese)
[37] 朱寒剑，李雷兵，郑心，等. 乳酸菌生物膜形成调控及在食品中的应用研究进展[J]. 食品科学，2021，42(5)：296-304.
ZHU H J，LI L B，ZHENG X，et al. Recent progress in understanding the formation and regulation of lactic acid bacteria biofilm and its application in foods[J]. Food Science，2021，42(5)：296-304.(in Chinese)
[38] 程新，赵延胜，董英，等. Mn^{2+}对植物乳杆菌影响的代谢组学分析[J]. 中国食品学报，2019，19(2)：258-265.
CHENG X，ZHAO Y S，DONG Y，et al. Metabolomics analysis of Mn^{2+} effect on the metabolic pathways in *Lactobacillus plantarum*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology，2019，19(2)：258-265.(in Chinese)
[39] E. J J，MA R Z，CHEN Z C，et al. Improving the freeze-drying survival rate of *Lactobacillus plantarum* LIP-1 by increasing biofilm formation based on adjusting the composition of buffer salts in medium [J]. Food Chemistry，2021，338：128134.
[40] SIRINI N，MUNEKATA P E S，LORENZO J M，et al. Development of healthier and functional dry fermented sausages：present and future[J]. Foods，2022，11(8)：1128.
[41] 董颖颖，刘莹，栗晓东，等. 木糖葡萄球菌YCC3对发酵香肠品质的影响[J]. 肉类研究，2025，39(9)：35-42.
DONG Y Y，LIU Y，LI X D，et al. Effect of *Staphylococcus xylosus* YCC3 on the quality of fermented sausage[J]. Meat Research，2025，39(9)：35-42.(in Chinese)
[42] 陈亚杰，张香美，卢涵，等. 有益葡萄球菌对发酵肉制品品质影响[J]. 肉类工业，2019(2)：40-43.
CHEN Y J，ZHANG X M，LU H，et al. The effect of beneficial *Staphylococcus* on the quality of fermented meat product[J]. Meat Industry，2019(2)：40-43.(in Chinese)
[43] 裴正钰. 具有抑菌活性乳酸菌的筛选及其在发酵香肠中的应用[D]. 石家庄：河北经贸大学，2022.
[44] 聂鑫，陈泓帆，毛竞竟，等. 含酱香型白酒广式香肠风干期挥发性风味物质的变化[J]. 食品与机械，2023，39(12)：2-8，17.
NIE X，CHEN H F，MAO J J，et al. Changes of volatile flavor compounds in Cantonese sausage containing sauce-flavor Baijiu during air-drying [J]. Food & Machinery，2023，39(12)：2-8，17.(in Chinese)
[45] 周亚楠. 亚硝酸盐胁迫下乳酸菌对香肠降亚硝酸盐效果及机理研究[D]. 成都：成都大学，2025.
[46] 徐冬美，刘永乐，李向红，等. 红曲鲈鱼中原生乳酸菌菌株筛选及发酵工艺优化[J]. 食品与机械，2023，39(8)：175-185.
XU D M，LIU Y L，LI X H，et al. Screening of autochthonouslactic acid bacteria and optimization of fermentation process in low-salt Zhayu of red rice[J]. Food & Machinery，2023，39(8)：175-185.(in Chinese)
[47] HAMAD R M，ALNORI H M. Effect of adding different levels of *Lactobacillus plantarum* and kefir milk to stored pastrami at different temperatures on antibacterial properties [J]. IOP Conference Series：Earth and Environmental Science，2025，1449(1)：012035.
[48] HU X B，LIN R，WEI J Y，et al. Effects of internal diameter size of carriers on biofilm characteristics in wastewater treatment [J]. Environmental Engineering Science，2020，37(10)：679-688.
[49] 康峻. 浅发酵香肠制作过程中品质特性与微生物多样性的相关性研究[D]. 成都：成都大学，2021.
[50] 王玥. 乳酸链球菌素/植物乳杆菌复合物对发酵香肠生物胺及微生物多样性的影响[D]. 雅安：四川农业大学，2023.

（责任编辑：刘冬梅）