

# 植物乳杆菌 L01 对人结肠癌细胞系 Caco-2 的黏附性能\*

吴凡,黄翠姬,刘昭明,黄群,张亚丽

(广西科技大学 生物与化学工程学院,广西 柳州,545006)

**摘 要** 了解植物乳杆菌 L01 黏附性能,为其在功能食品中的应用提供理论基础。采用体外黏附试验法对植物乳杆菌 L01 黏附于人结肠癌细胞系 Caco-2 性能进行研究。考察了菌体浓度、生长阶段、作用时间、环境 pH 值、单糖种类和金属离子对植物乳杆菌 L01 黏附性能的影响。试验结果表明:共培养 2 h 后菌体浓度达到  $1 \times 10^8$  CFU/mL,菌体数趋于饱和,稳定期的植物乳杆菌 L01 对 Caco-2 细胞的黏附效果最好;环境 pH 值对于黏附作用影响显著( $P < 0.01$ ),在弱酸范围黏附性最强;4 种单糖(D-葡萄糖、D-半乳糖、D-甘露糖、甲基- $\alpha$ -D-甘露糖苷)对植物乳杆菌 L01 黏附抑制作用中,甲基- $\alpha$ -D-甘露糖苷、D-甘露糖均有显著抑制( $P < 0.01$ )作用,另外两种单糖 D-葡萄糖、D-半乳糖无显著变化( $P > 0.05$ );金属离子  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  对植物乳杆菌 L01 黏附作用影响不显著( $P > 0.05$ )。由此得出结论,植物乳杆菌 L01 对 Caco-2 细胞的黏附特性受多种外部因素的共同影响。

**关键词** 植物乳杆菌;黏附;Caco-2

植物乳杆菌属于肠道内微生物菌群的一种,常见于蔬菜发酵制品<sup>[1]</sup>。其作为人类消化道中的重要菌群,具有抑制病原菌,修复肠道黏膜,降低血清胆固醇,提高人体免疫力等益生功能<sup>[2-3]</sup>。乳酸菌对人体发挥益生作用与其能在消化道内定植的能力有关,而黏附则是定植的先决条件<sup>[4]</sup>。研究发现,乳酸菌对细胞的黏附是由于细胞壁中黏附素与宿主表面的受体相结合的结果,其黏附性能受到一些外在因素,如周围环境的 pH 值、离子浓度、温度以及菌体生长阶段等的影响<sup>[5-6]</sup>。

近两年来国内外的研究焦点主要集中在乳酸菌黏附力的考察和黏附机理上,王丽群<sup>[7]</sup>和李清<sup>[8]</sup>根据研究菌株的黏附能力、表面疏水性和自动聚集能力三者之间关系,来判断菌株黏附性能的强弱。卢千慧<sup>[9]</sup>通过对乳杆菌的表面 S-层蛋白的研究,深入探讨了乳杆菌的黏附机理。相比之下,对乳酸菌黏附作用的过程所受到影响因素研究较少且不够全面。对影响乳酸菌黏附过程中的因素的研究不仅有助于明确乳酸菌的黏附机理,而且为其更好地黏附于肠道创造了条件。本实验在前人研究的基础上,通过考察筛选自泡菜的植物乳杆菌 L01 黏附于 Caco-2 细胞的性能,研究了不同因素对其黏附效果的影响,并对其机

理进行初步探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株和细胞

植物乳杆菌 L01,由广西科技大学生物与化学工程学院微生物实验室提供;人结肠癌腺细胞系 Caco-2 细胞株,购自南京凯基生物科技有限公司。

### 1.2 主要试剂

MRS (Man-Rogosa-Sharpe) 培养基、DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) 培养液、0.25% 胰酶-EDTA,青岛海博生物科技有限公司;类胎牛血清,上海玉博科技有限公司。其他试剂均为分析纯或化学纯。DMEM 完全培养液由 78% DMEM 培养液、20% 胎牛血清、1% 双抗(青霉素、链霉素浓度均为 100 U/mL)和 1% 谷氨酰胺组成,并加入 1 mL 的  $\text{NaHCO}_3$  作为指示剂。

### 1.3 细菌培养

将植物乳杆菌 L01 置于含 20% 甘油的 MRS 中  $-60\text{ }^\circ\text{C}$  保存,将上述菌株接种于 MRS 液体培养基,  $37\text{ }^\circ\text{C}$  培养 24 h,并活化 2 次。

### 1.4 细胞培养

采用 Caco-2 细胞作为肠上皮细胞模型,进行黏附性试验。Caco-2 细胞经复苏后加入 DMEM 完全培养液中,放置在  $\text{CO}_2$  培养箱(5%  $\text{CO}_2$  和 95% 空气)中,  $37\text{ }^\circ\text{C}$  培养,2 d 换液 1 次。待细胞生长至 70% ~ 80% 贴壁,用 0.25% 胰酶-EDTA 消化传代,传代 5 次

第一作者:硕士研究生(刘昭明教授为通讯作者,E-mail: liuzhaoming66@163.com)。

\* 2014 年广西区教育厅重点项目(课题编号:ZD2014075)

收稿日期:2015-08-04,改回日期:2015-09-07

左右,大约 20 天后,将细胞接种于 6 孔细胞培养板中,细胞浓度约为  $2 \times 10^6$  CFU/cm<sup>2</sup>,待细胞长成单层进行黏附实验。

## 1.5 黏附实验

### 1.5.1 黏附观察

将已经长成单层的 Caco-2 细胞用无菌磷酸盐缓冲液(PBS)(pH 7.4)洗涤 2 次。分别向细胞板的每个孔中加入 1 mL 细菌悬液( $1.0 \times 10^8$  CFU/mL),在 CO<sub>2</sub>培养箱(5% CO<sub>2</sub>和 95% 空气)中,37 ℃环境中孵育 2 h。然后用无菌 PBS 漂洗细胞 3 次,除去未黏附的细菌。生长在 6 孔培养板中的盖玻片经过漂洗后用 0.4% 多聚甲醛固定 0.5 h,静置干燥,革兰氏染色,在细胞成像仪下观察植物乳杆菌 L01 的黏附情况。

### 1.5.2 黏附计数

将细胞悬浮液直接滴加于六孔培养板中。经 PBS 洗涤后,一部分孔中加入含有 200 μg/mL 庆大霉素的 DMEM 不完全培养液 2 mL,孵育 1 h,之后用 PBS 漂洗 3 次,以此来杀死黏附在细胞表面的细菌,从而确定侵袭进入细胞内的细菌数。然后在所有孔中加入 0.7 mL 胰酶作用 10 min,待细胞完全脱落,再加入 0.3 mL 不完全培养液终止反应。最后加入 0.5 mL 0.1% TritonX-100(聚乙二醇辛基苯基醚),混匀后静置 10 min,以裂解细胞。将混合物转移到试管中,选取合适稀释梯度,进行平板菌落计数。做空白对照,选取长至单层的空白细胞培养板进行细胞计数。每个处理作 3 个平行,并按照公式(1)计算平均每个细胞黏附的细菌数。

$$\text{黏附的细菌数/细胞} = \frac{\text{总裂解的细菌数} - \text{侵袭的细菌数}}{\text{未加菌液空白组的细胞数}} \quad (1)$$

## 1.6 不同因素对菌株黏附性能的影响

乳酸菌的黏附定植主要是通过黏附素和细胞上的特异性受体结合完成,此过程的发生与菌体生长阶段、温度、pH、菌浓度、黏附作用时间、金属离子浓度以及环境中单糖种类等其他影响因素有关。

### 1.6.1 菌液浓度对黏附性能的影响

取培养至 12 h 的 L01 菌体,调整其浓度分别为  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$ ,  $10^9$  CFU/mL,与细胞共培养 2 h,计数黏附的细菌数。

### 1.6.2 生长阶段对黏附性能的影响

取培养至 4, 8, 12, 16, 20 h 的 L01 菌体,调整其浓度为  $1.0 \times 10^8$  CFU/mL,与细胞共培养 2 h,计数黏附的细菌数。

### 1.6.3 作用时间对黏附性能的影响

取培养至 12 h 的 L01 菌体,调整其浓度为  $1.0 \times 10^8$  CFU/mL,与细胞共培养 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 h,计数黏附的细菌数。

### 1.6.4 环境 pH 值对黏附性能的影响

取培养至 12 h 的 L01 菌体,用不同 pH 的缓冲液(3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0)调整其浓度为  $1.0 \times 10^8$  CFU/mL,与细胞共培养 2 h,计数黏附的细菌数。

### 1.6.5 单糖对黏附的抑制作用

在细菌悬浮液中分别加入 D-葡萄糖、D-半乳糖、D-甘露糖、甲基-α-D-甘露糖苷(终浓度为 100 mmol/L),与细胞共培养 2 h,考察单糖对黏附的影响。

### 1.6.6 二价金属离子对黏附作用的影响

在培养 12 h 浓度为  $1.0 \times 10^8$  CFU/mL 的 L01 菌悬液中加入 CaCl<sub>2</sub> 和 MgCl<sub>2</sub>(终浓度分别为 0, 5, 10, 15, 20 mmol/L),与细胞共培养 2 h,进行黏附试验。

## 1.7 统计学处理

采用 Origin9.1 对实验数据进行作图。数据结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 20.0 统计软件中的独立样本 T 检验进行数据分析,以  $P < 0.05$  为差异显著,  $P < 0.01$  为差异极显著,  $P > 0.05$  无显著差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌液浓度对黏附作用的影响

将菌液 L01 浓度分别调整为  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^9$  CFU/mL,然后进行黏附实验,实验结果如图 1 所示。

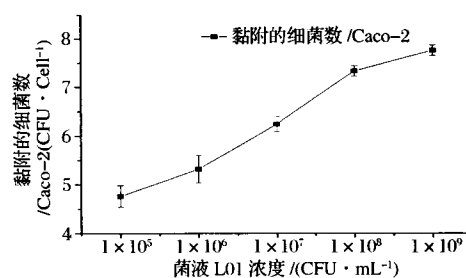


图 1 菌液浓度对 L01 黏附于 Caco-2 的影响

Fig. 1 The effect of different bacterial concentrations on the adherence of *L. plantum* L01 on Caco-2 cells

根据 T 检验分析可知,植物乳杆菌 L01 对 Caco-2 的黏附性具有一定的浓度依赖性。当浓度从  $1 \times 10^6$  CFU/mL 升高至  $1 \times 10^9$  CFU/mL 时,Caco-2 上黏附的植物乳杆菌 L01 菌数随着菌液浓度的升高而显著增加,相应值彼此间差异显著( $P < 0.05$ ),而当菌液浓度  $1 \times 10^5$  CFU/mL 升高至  $1 \times 10^6$  CFU/mL 时,其黏

附数之间无显著差异 ( $P > 0.05$ )。当达到  $1 \times 10^9$  CFU/mL 时,黏附数为  $7.76 \pm 0.11$  个/细胞,此时黏附达到稳定。参考李清的研究<sup>[8]</sup>,可以推测植物乳杆菌 L01 与细胞 Caco-2 的黏附机制主要是乳杆菌表面的黏附素与细胞表面的特异性受体结合而形成黏附力。当植物乳杆菌 L01 浓度达到  $1 \times 10^9$  CFU/mL 时,此时 Caco-2 细胞表面的受体结合位点已经达到饱和,此时 L01 的黏附达到动态平衡。

## 2.2 生长阶段对黏附作用的影响

分别取培养时间为 4, 8, 12, 16, 20 h 五个生长阶段的菌液进行黏附实验。实验结果如图 2 所示。根据 T 检验分析可知,当进行黏附实验的菌龄低于 12 h 时,黏附的细菌数随着菌龄的增长显著增加 ( $P < 0.05$ )。当细菌生长时间超过 12 h,黏附的细菌数趋于饱和 ( $P > 0.05$ )。细菌生长时间为 16 h 时,植物乳杆菌 L01 生长进入稳定后期。当菌龄达到 20 h 时,黏附的细菌数有了明显的降低 ( $P < 0.05$ )。由此可知,处于稳定期的植物乳杆菌 L01 对 Caco-2 具有更好的黏附性。由于植物乳杆菌 L01 在不同的生长阶段,其形态结构,菌体表面成分以及代谢产物有较大的不同,因而造成不同的黏附效果。由实验数据可知,处于稳定期的 L01 黏附性最稳定,这与其他研究者结果保持一致<sup>[10]</sup>。可以推测处于稳定期的细菌不管是从数量还是形态结构以及表面成分较其他生长阶段都更为稳定,可能与其分泌黏附素的性质与多少有关,这就导致了植物乳杆菌 L01 与 Caco-2 细胞受体的结合更多更稳定。

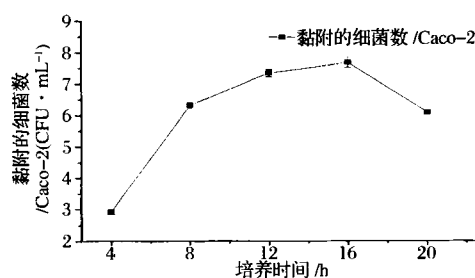


图 2 生长阶段对 L01 黏附 Caco-2 的影响

Fig. 2 The effect of different growth stage on the adherence of *L. plantum* L01 on Caco-2 cells

## 2.3 作用时间对黏附作用的影响

将植物乳杆菌 L01 浓度都调整为  $1 \times 10^8$  CFU/mL, 使其与细胞分别 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 h 共孵育后进行黏附试验。实验结果图 3 所示。根据 T 检验分析可知,在 2 h 之内,随着共孵育时间的延长,黏附细菌数有显著增加 ( $P < 0.01$ )。2 h 之后,黏附的

细菌数变化趋于平缓,彼此之间没有显著性差异 ( $P > 0.05$ )。植物乳杆菌 L01 对 Caco-2 的黏附作用在一定范围内存在着时间依附性,当孵育时间达到 2 h 时,黏附作用达到平衡。可以推测植物乳杆菌 L01 与黏附作用时间存在着时间效应关系,需要一定的作用时间黏附数才能达到动态平衡。随着黏附作用时间的延长,黏附的细菌数随之增加,2 h 达到黏附饱和。表明此时 Caco-2 细胞表面的黏附素受体数量已经达到饱和,黏附数趋于稳定。

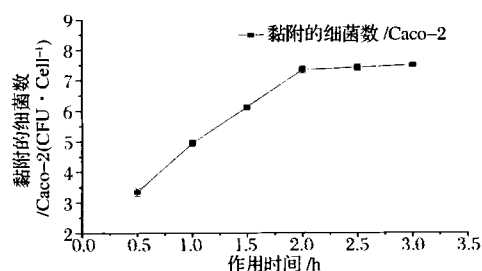


图 3 不同作用时间对 L01 黏附于 Caco-2 的影响

Fig. 3 The effect of different incubating times on the adherence of *L. plantum* L01 on Caco-2 cells

## 2.4 环境 pH 对黏附作用的影响

用 pH 分别为 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 的缓冲液将植物乳杆菌浓度调整为  $1 \times 10^8$  CFU/mL 后进行黏附实验,实验结果图 4 所示。

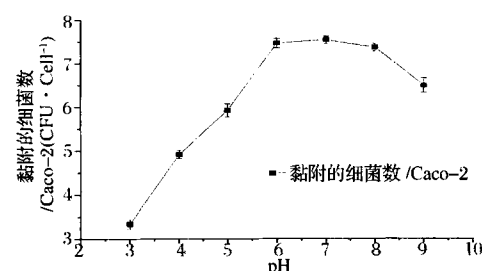


图 4 pH 对 L01 黏附于 Caco-2 的影响

Fig. 4 The effect of different environmental pH on the adherence of *L. plantum* L01 on Caco-2 cells

根据 T 检验分析可知,当培养环境 pH 处于 3~6 之间时,随着 pH 的升高黏附的细菌数有显著的增加 ( $P < 0.01$ );当培养环境 pH 达到 6.0 之后,黏附的细菌数趋于饱和,并且在培养环境 pH 为 6.0~8.0 时,细菌黏附数无显著变化 ( $P > 0.05$ )。当培养环境 pH 达到 9.0 时,此时黏附的细菌数出现显著下降趋势 ( $P < 0.01$ )。可以得出:培养环境的 pH 低于 6.0 时,黏附的细菌数对培养环境 pH 有一定的依赖性。然而当培养环境的 pH 高于 8.0 时,黏附细菌数明显下降。由此可以看出,弱酸环境更有利于植物乳杆菌

L0 的黏附过程的发生。与陈臣<sup>[11]</sup>研究得出的中性环境更利于黏附的发生有所不同,这可能是酸性环境改变 Caco-2 细胞表面的某些理化性质,导致菌体与细胞黏附作用增强,从而使更多的植物乳杆菌 L01 黏附到 Caco-2 细胞表面上,并且不易脱落;另一方面,这可能是菌体之间的差异性造成的结果,植物乳杆菌 L01 具有更好的耐酸性。

## 2.5 单糖种类对黏附性的影响

在细菌悬浮液中分别加入 D-葡萄糖、D-半乳糖、D-甘露糖、甲基- $\alpha$ -D-甘露糖苷(终浓度为 100 mmol/L),空白对照组加入等量的 PBS 缓冲液,进行黏附实验。分析实验结果图 5 可知,当加入 4 种不同的单糖时,甲基- $\alpha$ -D-甘露糖苷( $P < 0.01$ ),D-甘露糖( $P < 0.01$ )均能显著抑制植物乳杆菌 L01 对 Caco-2 的黏附作用,黏附的细菌数有了明显的减少。另外两种单糖 D-葡萄糖( $P > 0.05$ ),D-半乳糖( $P > 0.05$ )均不能抑制其黏附作用。分析 FERREIRA<sup>[12]</sup>在 2011 年研究得出的细菌的黏附能力与菌体表面性质存在较大相关性的结论,同时参考 GARCÍA-CAYUELA T<sup>[13]</sup>的关于黏附涉及蛋白质、糖脂和单糖等黏附素特异性黏附的研究,可以推测得知由于甘露糖及其衍生物与乳杆菌细胞壁中含多糖表面的糖基部分相似,代替乳杆菌与细胞发生特异性结合的,故导致了细菌的黏附数明显下降。

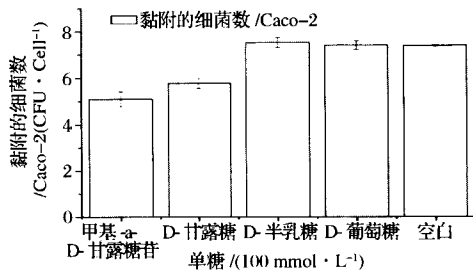


图5 单糖对植物乳杆菌 L01 黏附于 Caco-2 的影响

Fig. 5 The effect of different monosaccharide on the adherence of *L. plantum* L01 on Caco-2 cells

## 2.6 二价金属离子对黏附作用的影响

在浓度调整为  $1 \times 10^8$  CFU/mL 的 L01 菌悬液中分别加入  $\text{CaCl}_2$  和  $\text{MgCl}_2$ ,使其终浓度分别为 0, 5, 10, 15, 20 mmol/L, 然后进行黏附实验。实验结果图 6 所示。由图 6 可知,随着金属离子浓度的升高,黏附的细菌数无明显变化( $P > 0.05$ )。此结果说明  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  这两种金属离子并未参与到植物乳杆菌 L01 黏附过程。Crow 等<sup>[14]</sup>人曾研究发现,乳酸菌与细胞表面的静电相互作用是两者的初步结合,金属离子

$\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  会参与到此黏附过程。但是本实验并未得到与其一致的结论。通过统计学分析可知, $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  的加入对黏附作用无显著影响( $P > 0.05$ )。REN<sup>[15]</sup>的研究曾指出,乳酸菌的疏水性与其黏附作用存在一定的相关性,由此我们可以推测得知植物乳杆菌 L01 在与 Caco-2 的黏附过程的结合先是疏水作用,之后才是表面黏附素与受体结合<sup>[13]</sup>。故  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  并未参与植物乳杆菌 L01 的黏附。

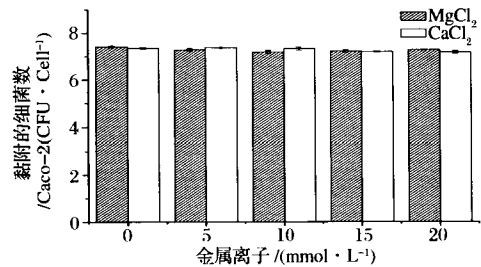


图6 二价金属离子对植物乳杆菌 L01 黏附于 Caco-2 的影响

Fig. 6 The effect of different ion concentrations on the adherence of *L. plantum* L01 on Caco-2 cells

## 3 结论

本文考察了菌体浓度、菌体生长阶段、pH、作用时间、金属离子以及单糖种类等六种因素对植物乳杆菌 L01 黏附 Caco-2 细胞的性能的影响。结果表明,当细菌浓度达到  $1 \times 10^8$  CFU/mL、孵育 2 h 时,黏附趋于饱和。稳定期的植物乳杆菌 L01 对 Caco-2 细胞的黏附效果最好。植物乳杆菌 L01 在弱酸偏中性范围黏附性最强;考察 4 种单糖对植物乳杆菌 L01 黏附抑制作用发现,甲基- $\alpha$ -D-甘露糖苷,D-甘露糖均能显著抑制植物其黏附作用,D-葡萄糖、D-半乳糖均无明显变化。同时,研究发现, $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  并未对植物乳杆菌 L01 黏附于 Caco-2 细胞造成显著影响,说明  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  并未参与植物乳杆菌 L01 的黏附过程,植物乳杆菌 L01 与 Caco-2 的初步结合并非静电相互作用导致,而是由疏水相互作用引起的。

## 参考文献

- [1] 曲冬梅,刘小杰. 植物乳杆菌及其在食品工业中的应用[J]. 中国食品添加剂,2008,S1:219-222.
- [2] Gómez G D, Balcázar J L. A review on the interactions between gut microbiota and innate immunity of fish[J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2008, 52(2): 145-154.
- [3] 陈曦. 乳杆菌属的益生菌保健功能及研究进展[J]. 中

- 国乳品工业,2011,39(7):41-43.
- [4] 白洁,李卫芬,黄琴,等. 几株益生乳酸菌对 Caco-2 细胞的黏附及其对致病菌黏附的影响[J]. 动物营养学报,2012,24(10):1992-1998.
- [5] Pelletier C, Bouley C, Cayuela C, et al. Cell surface characteristics of *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, and *Lactobacillus rhamnosus* strains[J]. Appl Environ Microbiol, 1997, 63(5):1725-1731.
- [6] 熊涛,黄巧芬,李萍. 植物乳杆菌 NCU116 的模拟人体肠道上皮细胞黏附性能[J]. 食品科学,2013,34(15):252-255.
- [7] 王丽群,张佰荣,王彦,等. 双歧杆菌体外对 Caco-2 的黏附及其表面性质分析[J]. 微生物学报,2010,50(5):606-613.
- [8] 李清,刘小莉,王英,等. 植物乳杆菌表面性质及对 Caco-2 细胞的黏附[J]. 食品科学,2015,36(9):97-101.
- [9] 卢千慧,张英春,张兰威. 乳酸杆菌 S-层蛋白性质及其益生功能研究进展[J]. 微生物学通报,2014(1):122-129.
- [10] 陈军,常山,张雅萍,等. 双歧杆菌黏附大鼠肠上皮细胞相关因素的研究[J]. 第三军医大学学报,2002,24(2):138-141.
- [11] 陈臣,郭本恒. 植物乳杆菌 ST-III 黏附肠上皮样细胞系 Caco-2 性质的研究[J]. 乳业科学与技术,2008,192(2):51-55.
- [12] Ferreira C L, Grześkowiak Ł, Collado M C, et al. In vitro evaluation of *Lactobacillus gasseri* strains of infant origin on adhesion and aggregation of specific pathogens[J]. Journal of Food Protection, 2011, 74(9):1482-1487.
- [13] García-Cayuela T, Korany A M, Bustos I, et al. Adhesion abilities of dairy *Lactobacillus plantarum* strains showing an aggregation phenotype[J]. Food Research International, 2014, 57(5):44-50.
- [14] Crow V L, Gopal P K. Cell surface differences of Lactococcal strains[J]. Int Dairy J, 1995, 5(1):45-68.
- [15] REN Da-yong, LI Chang, QIN Yan-ying, et al. Inhibition of *Staphylococcus aureus* adherence to Caco-2 cells by lactobacilli and cell surface properties that influence attachment[J]. Anaerobe, 2012, 18(5):508-515.

## Study on the adhesive properties of *Lactobacillus plantarum* L01 upon human colon cancer cell line Caco-2

WU Fan, HUANG Cui-ji, LIU Zhao-ming, HUANG Qun, ZHANG Ya-Li

(Department of Biological and Chemical Engineering, Guangxi University of Technology, Liuzhou 545006, China)

**ABSTRACT** Studying the adhesive properties of *Lactobacillus plantarum* L01, which providing theoretical basis for its application in functional food. Adhesive test was adopted to study the adhesive ability of *Lactobacillus plantarum* L01 upon colon cancer cell line Caco-2 *in vitro*. The effects of various factors on the adhesive properties were studied, including cell concentration, growth stage, time, pH, kinds of monosaccharide and metal ion. The results showed that co-cultivation after 2 hours, cell concentration was  $1 \times 10^8$  CFU/mL and reached saturation, the adhesive effect of *Lactobacillus plantarum* L01 in stationary phase was the best; the pH of the solution demonstrated effect significantly ( $P < 0.01$ ) on the adhesive ability, and which became strongest at weak acid. Around the four monosaccharides, the adhesive ability was decreased significantly ( $P < 0.01$ ) with the addition of *D*-mannose and methyl- $\alpha$ -*D*-mannopyranoside, whereas it had no significant effects ( $P > 0.05$ ) on the adhesive ability when the *D*-glucose and the *D*-galactose were added;  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  had no significant effects ( $P > 0.05$ ) on the adhesive ability of *Lactobacillus plantarum* L01 either. In conclusion, the adhesive properties of *Lactobacillus plantarum* L01 upon Caco-2 cells were affected by various factors.

**Key words** *Lactobacillus plantarum*; Caco-2; adhesion