

乳酸菌对微囊藻毒素的清除

王松¹, 张娟^{2*}, 王森^{1,3*}, 堵国成², 陈坚^{2,3}

(江南大学,¹食品学院,²生物工程学院,³食品科学与技术国家重点实验室,无锡 214122)

摘要:【目的】研究唾液乳杆菌(*Lactobacillus salivarius* BBE09-18)、发酵乳杆菌(*L. fermentum* BBE09-29)以及干酪乳杆菌(*L. casei Zhang*)对藻毒素的清除能力以及影响乳酸菌清除藻毒素的主要因素,以期为进一步解析乳酸菌清除藻毒素的作用机制提供理论基础,并为去除食品体系中的藻毒素提供新的思路。【方法】研究乳酸菌细胞的不同生理状态(活细胞与死细胞)对藻毒素清除能力的影响,考察菌浓差异、起始藻毒素浓度差异、葡萄糖的供给等对乳酸菌清除藻毒素效能的影响。【结果】3株实验乳酸菌均具有清除藻毒素的能力,其中,*L. casei Zhang*的藻毒素清除能力最强,当藻毒素初始浓度为150 $\mu\text{g/L}$ 时,24 h后残留藻毒素浓度为85.5 $\mu\text{g/L}$,清除率可达43%。此外,研究还发现乳酸菌活细胞的清除能力显著高于热失活后的死细胞。添加外源物质葡萄糖能显著提高实验菌株清除藻毒素的效率,在初始浓度为1800 $\mu\text{g/L}$ 的藻毒素溶液中,当添加5% (w/v)葡萄糖后,*L. casei Zhang*经24 h可清除92%的藻毒素。【结论】3株乳酸菌均具有藻毒素清除能力;同时,菌体浓度以及菌体自身的生理状态对藻毒素的清除效率具有重要影响,乳酸菌对藻毒素的清除可能与菌体的代谢活性相关。

关键词: 微囊藻毒素(MC); 乳杆菌; 食品安全; 代谢活性

中图分类号: Q935 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2010) 06-0729-07

微囊藻毒素(Microcystins, MCs)是由富营养化水体中的铜绿微囊藻、水华鱼腥藻、念珠藻等蓝藻产生的一种环状七肽物质^[1],其基本结构为环D-丙氨酸-L-X-D-甲基- β -D-异天冬氨酸-L-Z-Adda-D-异谷氨酸-N-甲基脱氢丙氨酸(X,Z为两种可变氨基酸)(图1)。目前,已知由于X,Z的不同而产生的异构体有60多种。其中MC-LR,MC-RR和MC-YR为存在最普遍且毒性最大的3种类型(L,R,Y分别代表Leu,Arg和Tyr),而MC-LR的急性毒性最强^[2]。

微囊藻毒素以动物肝脏为作用靶器官,能够特异性地抑制蛋白磷酸酶活性从而诱发癌症等一系列病变^[3];一般天然水体中MCs浓度在10 $\mu\text{g/L}$ 以下,大面积严重的藻类水华发生会使水体中的毒素浓度达到mg/L水平^[1]。流行病学调查显示,饮用

水中的MCs的污染和人群中原发性肝癌的发病率有很大的相关性,上述研究结果已经引起国内外学者的广泛关注^[1,4]。由于水源以及食物中微囊藻毒素可以通过食物链的富集危害人类的健康,对水源以及食物中的MCs的清除已成为食品安全领域的重要研究课题^[5]。目前,一般采用物理^[6]、化学^[7]和生物方法^[8-9]对微囊藻毒素进行降解或吸附处理。与其他处理方式相比,生物法具有处理成本低、不易引起二次污染等特点。采用纯菌或混菌清除水体中微囊藻毒素已成为生物法清除MCs的重要研究方向,已报道有鞘氨醇单胞菌^[10]、铜绿假单胞菌^[11-12]以及一些乳酸菌^[13-14]具有清除降解MCs的能力。

乳酸菌是人类肠道中重要的生理菌,具有抗肿

基金项目:国家自然科学基金重点项目(20836003);国家自然科学基金(30800008,30900013);国家科技支撑计划项目(2007BAK36B06)

* 通信作者。Tel: +86-510-85329079, E-mail: mawang@jiangnan.edu.cn, zhangj@jiangnan.edu.cn

作者简介:王松(1984-)男,安徽滁州人,硕士研究生,主要从事食品功能微生物方面的研究。E-mail: wangsong5386@163.com

收稿日期:2009-12-24; **修回日期:**2009-03-02

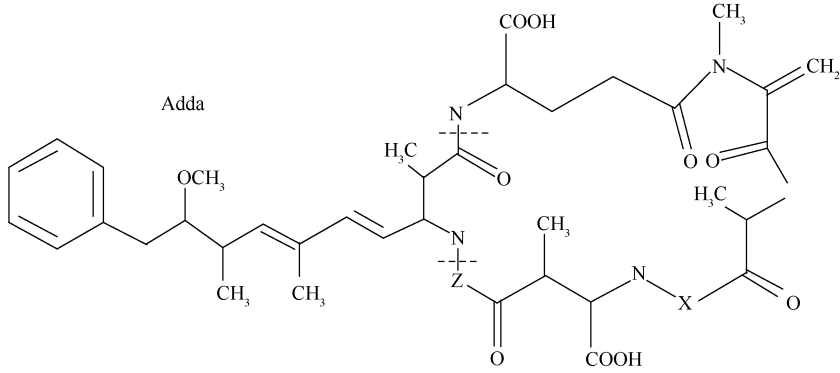


图1 微囊藻毒素的一般结构(图中X,Z为两种可变氨基酸)

Fig.1 General structure of Microcystins (X,Z stand for two kinds of amino acid).

瘤、缓解乳糖不耐症、增强免疫力、降低胆固醇、调整肠道菌群等生理作用^[15]。研究乳酸菌对藻毒素的清除能力有利于进一步拓展乳酸菌的益生功能和在食品加工中的应用空间。

本研究利用商业上广泛应用的唾液乳杆菌(*Lactobacillus salivarius* BBE09-18)、发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum* BBE09-29)和干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei* Zhang)为实验菌株,考察了它们对MC-LR的清除能力,并对影响其清除MCs的因素进行了初步研究,为后续研究乳酸菌清除藻毒素的代谢途径和清除机理做准备,另外,此研究也填补了国内在此方面研究的空白。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株:唾液乳杆菌(*Lactobacillus salivarius* BBE09-18,简称*L. salivarius* BBE09-18),由江南大学食品学院陈卫教授惠赠。干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei* Zhang,简称*Lb. casei* zhang),由内蒙古农业大学乳品生物技术与工程教育部重点实验室张和平教授惠赠。发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum* BBE09-29,简称*L. fermentum* BBE09-29)由江南大学食品学院夏雨老师惠赠。

1.1.2 菌体培养:分别取1 mL置于-70℃的实验菌甘油贮存液接种于100 mL的MRS培养基中,37℃静置培养20 h(至对数中后期)。

1.1.3 主要试剂和仪器:微囊藻毒素标准品(MC-LR),购自北京伊普瑞斯科技有限公司;MRS培养基,购自Oxiod公司;磷酸氢二钠、磷酸二氢钠(国产);乙腈(色谱纯),无水乙醇(分析纯)。高效液相色谱仪,Agilent LC1200型;无菌超净工作台,苏净集团安泰公司;手提式蒸汽高压灭菌锅,上海申安医疗器械厂;恒温恒湿培养箱SPX-150/250C,上海博

迅实业有限公司医疗设备厂;冷冻立式离心机(CF16RX),日本Hitachi公司;超低温冰箱,上海早苗有限公司;廻转式恒温调速摇瓶柜,余姚市今电仪表有限公司。

1.2 乳酸菌细胞对MC-LR的清除

取37℃静置培养20 h(对数中后期)的菌体培养液,离心10 min(3200 × g,4℃)收集菌体,再用磷酸盐缓冲液(pH 7.0)离心洗涤2次。将获得的菌体重悬于含一定MC-LR浓度的磷酸盐缓冲液(pH 7.0)中,置于37℃摇床(150 r/min)避光培养。

死菌体为活菌体经100℃水浴60 min致死处理获得。相同浓度的藻毒素纯溶液在上述实验条件下放置,检测其浓度变化情况,作为阴性对照。

间隔不同时间(20 min,4 h,8 h,12 h,24 h)取样,离心10 min(12000 × g,4℃),取上清液用HPLC检测藻毒素残存浓度。每个样品取3个平行,重复实验3次。

1.3 葡萄糖(Glc)对乳酸菌清除MC-LR的影响

按1.3.1方法收集活菌体,将获得的菌体分别重悬于添加0% Glc(w/v)、5% Glc和10% Glc的藻毒素溶液中,37℃摇床(150 r/min)避光培养。间隔不同时间(20 min,4 h,8 h,12 h,24 h)取样,离心10 min(12000 × g,4℃)取上清液,用HPLC检测上清液中藻毒素残存浓度。

藻毒素清除过程中体系中活菌变化采用MRS固体平板计数。空白对照为菌体-PBS复合体系。实验重复3次。

1.4 MC-LR的高效液相检测条件

色谱柱:Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18(4.6 × 150 mm,5.0 μm);流动相:乙腈:H₂O(0.05% TFA)=40:60(v/v);进样量:20 μL;流速:1 mL/min;柱温:40℃;检测器:DAD 238 nm;MC-LR保留时间:3.48 min。

2 结果

2.1 乳酸菌细胞对 MC-LR 的清除

本课题以干酪乳杆菌、唾液乳杆菌和发酵乳杆菌为研究菌株,进行了上述菌株对微囊藻毒素清除作用的研究。实验结果表明,藻毒素具有较好的稳定性,在相同实验条件下,无菌株干预的藻毒素溶液浓度稳定,不随时间的增加而变化(数据未列出)。实验菌株对 MC-LR 的清除效果如图 2 所示,pH 7.0 的磷酸盐缓冲体系中 3 株乳酸菌细胞对 MC-LR 均有清除效果,但不同乳酸菌对藻毒素的清除效率存在差异,不同毒素浓度下乳酸菌对藻毒素的清除能力也有所不同,低浓度毒素时乳酸菌具有高清除率,随着毒素浓度的提高其藻毒素清除能力降低。起始浓度为 150 $\mu\text{g/L}$ 的藻毒素溶液,菌体和藻毒素共培养 24 h 后,3 株实验菌株对藻毒素的清除率均达到

35% 以上,其中 *Lb. casei Zhang* 的清除效果最好,达到 43%。活细胞在前 8 h 里快速清除藻毒素,此后清除毒素效率降低,此现象可能与细胞自身受毒素胁迫导致活性降低有关。

进一步的实验结果表明(表 1),部分死细胞(如热致死细胞)对 MC 也具有一定的清除效果,但对毒素的清除率显著低于活细胞;同时,研究发现死菌体对藻毒素的清除作用在前 4 h 内逐渐趋于饱和,而在此后的过程中清除效果波动较小。热致死菌体细胞对藻毒素的清除作用可能与乳酸菌经热处理后其细胞壁肽聚糖层厚度减少,肽聚糖结构被破坏,受损的细胞壁使得菌体能够以吸附结合方式有效去除黄曲霉毒素(AFB₁)的作用机制相类似^[16]。而本研究中,活菌体对毒素的清除效果高于致死细胞,这一现象与 Nybom 等人对鼠李糖乳杆菌的研究结果一致^[17]。

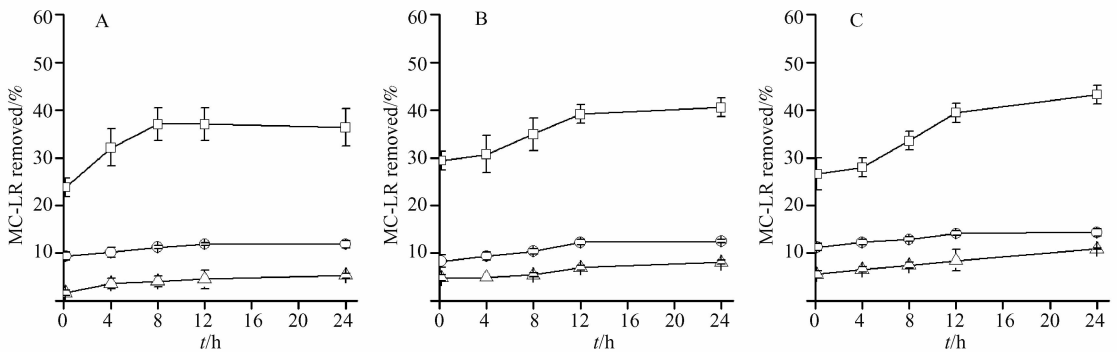


图 2 不同藻毒素浓度下乳酸菌的毒素清除情况。A: *L. fermentum* BBE09-29, B: *L. salivarius* BBE09-18, C: *Lb. casei zhang*

Fig. 2 Percentage of MC-LR removed from solution \pm SD by LAB under different toxin concentrations (A: *L. fermentum* BBE09-29, B: *L. salivarius* BBE09-18, C: *Lb. casei Zhang*; \square : Initial toxin concentration: 150 $\mu\text{g/L}$, \circ : 1000 $\mu\text{g/L}$, \triangle : 1800 $\mu\text{g/L}$; 37 $^{\circ}\text{C}$; pH 7.0; Bacterial concentration: 10^9 CFU/mL; 150 r/min; average \pm SD, n = 3).

表 1 乳酸菌对 MC-LR 的清除百分率

Table 1 Percentage of MC-LR removed by LAB

Time	<i>L. fermentum</i> BBE09-29%		<i>L. salivarius</i> BBE09-18/%		<i>Lb. casei zhang</i> /%	
	EG	CK	EG	CK	EG	CK
20 min	23.71 \pm 1.98	24.41 \pm 2.21	29.30 \pm 1.98	24.41 \pm 6.29	26.51 \pm 3.42	26.51 \pm 4.43
4 h	32.10 \pm 3.95	24.41 \pm 2.21	30.70 \pm 3.95	26.51 \pm 4.19	27.90 \pm 1.98	26.45 \pm 0.50
8 h	36.99 \pm 3.42	26.51 \pm 0.00	32.80 \pm 3.42	24.41 \pm 2.21	33.50 \pm 2.09	26.37 \pm 0.00
12 h	36.99 \pm 3.62	28.60 \pm 2.21	36.29 \pm 1.98	24.41 \pm 2.21	37.69 \pm 1.98	24.41 \pm 2.21
24 h	36.29 \pm 3.95	30.70 \pm 4.19	40.48 \pm 2.09	24.58 \pm 2.21	44.68 \pm 2.09	24.15 \pm 2.21

* Initial MC-LR concentration: 150 $\mu\text{g/L}$; Bacterial concentration: 10^9 CFU/mL; pH 7.0; 37 $^{\circ}\text{C}$; 150 r/min; Cells of the control group were prepared by heat treatment for 60 min at 100 $^{\circ}\text{C}$; EG: experimental group, CK: control group; average \pm SD, n = 3.

2.2 菌体浓度对乳酸菌清除 MC-LR 的影响

上述研究结果表明,乳酸菌对藻毒素的清除作用主要与菌体活性相关,菌体的生理状态对其清除藻毒素的能力具有重要的影响作用。乳酸菌菌体浓

度的差异对其清除藻毒素的影响情况如图 3 所示。结果表明,菌体浓度为 10^{10} CFU/mL 时,3 株实验菌经 24 h 对藻毒素(起始毒素浓度 150 $\mu\text{g/L}$)的清除率均达到 45% 以上,其中 *Lb. casei Zhang* 可达

71%,而菌浓为 10^8 CFU/mL时三株实验菌株对藻毒素的清除率均低于15%。随着*L. fermentum* BBE09-29和*L. salivarius* BBE09-18菌浓从 10^8 CFU/mL增加到 10^9 CFU/mL,其对藻毒素的清除率增加了约25%,远高于菌浓从 10^9 CFU/mL增加到 10^{10} CFU/mL时的10%。而*Lb. casei* Zhang菌浓从 10^9 CFU/mL增加到 10^{10} CFU/mL,其对藻毒素

的清除率与菌浓从 10^8 CFU/mL增加到 10^9 CFU/mL时的增加幅度相似,均提高了约30%。可见,菌体浓度对乳酸菌清除MC-LR具有显著的影响作用,3株实验菌株的高浓度菌液对藻毒素的清除效果均高于低浓度菌液,表明菌体浓度与毒素清除率之间具有一定的正相关性,但是不同的菌,其藻毒素清除率随菌浓增加而提高的幅度有所不同。

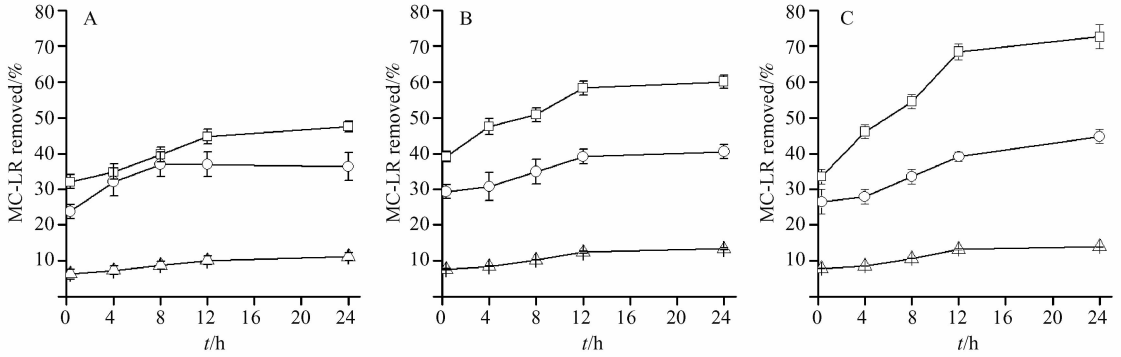


图3 乳酸菌菌浓对MC-LR清除效果的影响。A: *L. fermentum* BBE09-29, B: *L. salivarius* BBE09-18, C: *Lb. casei* Zhang

Fig. 3 Effect of bacterial concentration on removal of MC-LR. (A: *L. fermentum* BBE09-29, B: *L. salivarius* BBE09-18, C: *Lb. casei* Zhang. □: 10^{10} CFU/mL, ○: 10^9 CFU/mL; △: 10^8 CFU/mL; 37°C; pH 7.0; 150 r/min; Initial MC-LR concentration 150 μg/L; average ± SD, n = 3).

2.3 葡萄糖对乳酸菌清除MC-LR的影响

为了提高目标菌株的生理活性以进一步促进其对藻毒素的清除效率,通过外源能量物质—葡萄糖的添加提高菌体的代谢活性,并考察其对藻毒素的清除效率。

葡萄糖对3株乳酸菌清除藻毒素的影响如下图4、5所示,结果表明添加葡萄糖对乳酸菌清除藻毒素具有显著的促进作用,葡萄糖的添加量会影响乳

酸菌对藻毒素的清除率和清除量,*Lb. casei* Zhang经30 h可完全清除浓度为150 μg/L的毒素溶液(数据未列出)。菌浓较低时,葡萄糖的添加量显著影响乳酸菌对藻毒素的清除效果,如图4所示,初始浓度1800 μg/L的MCs溶液,经菌浓为 10^9 CFU/mL的*Lb. casei* Zhang在添加10%葡萄糖后处理30 h,对MC的清除率可达64%,高于添加5%葡萄糖时的54%。

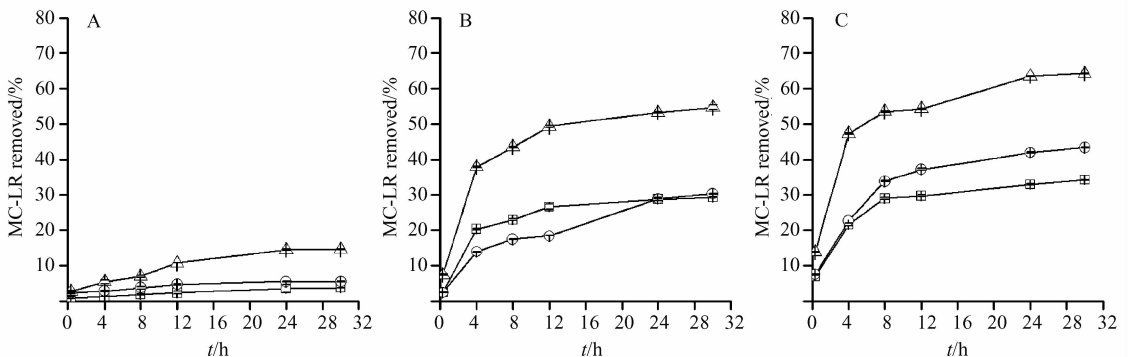


图4 葡萄糖对3株乳酸菌清除微囊藻毒素的影响。A: 0% Glc, B: 5% Glc, C: 10% Glc

Fig. 4 Effect of glucose on removal of MC-LR by LAB. (A: 0% Glc, B: 5% Glc, C: 10% Glc; □: *L. fermentum* BBE09-29, ○: *L. salivarius* BBE09-18, △: *Lb. casei* Zhang; Initial MC-LR concentration: 1800 μg/L; Bacterial concentration: 10^9 CFU/mL; pH 7.0; 37°C; 150 r/min; average ± SD, n = 3).

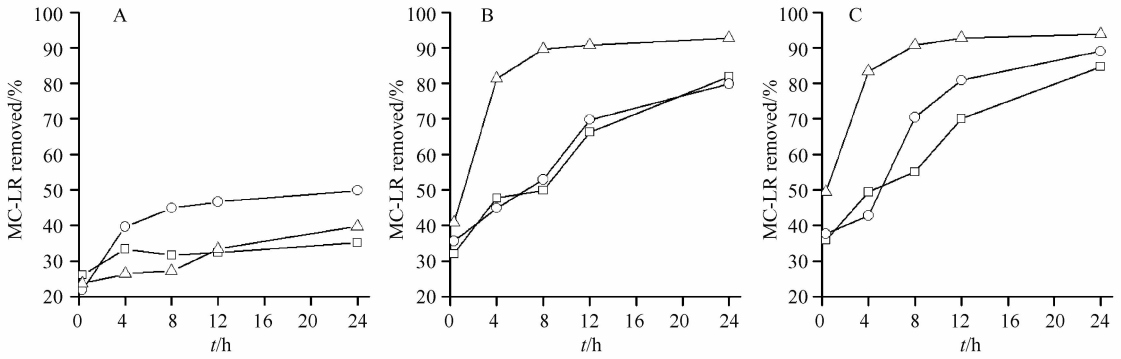


图5 葡萄糖对三株乳酸菌清除微囊藻毒素的影响。A:0% Glc,B:5% Glc,C:10% Glc

Fig. 5 Effect of glucose on removal of MC-LR by LAB. (A:0% Glc,B:5% Glc,C:10% Glc; □: *L. salivarius* BBE09-18, ○: *L. fermentum* BBE09-29, △: *Lb. casei* Zhang; Initial MC-LR concentration: 1800 μg/L; Bacterial concentration: 10¹⁰ CFU/mL; pH 7.0; 37°C; 150 r/min).

以 *Lb. casei* Zhang 菌株为例,在菌体浓度为 10¹⁰ CFU/mL 时,添加 5% 葡萄糖经 24 h 处理后对初始浓度为 1800 μg/L 的 MC 溶液的清除率可达 92%。然而,通过对不同菌体浓度下外源葡萄糖浓度对菌体清除藻毒素效率影响的方差分析可见,虽

然较低菌浓下提高葡萄糖浓度可作为增强毒素清除能力的有效手段,但在较高菌体浓度时,当添加量超过 5% 后葡萄糖对乳酸菌清除藻毒素的效果影响并不显著(表 2)。

表 2 葡萄糖添加量对不同菌浓下乳酸菌清除 MC-LR 的作用显著性分析

Table 2 Significance analysis of effect of glucose on the MC-LR removal with different LAB concentration

	P(<i>L. fermentum</i> BE09-29)	P(<i>L. salivarius</i> BBE09-18)	P (<i>Lb. casei</i> zhang)
Lower cell concentration (10 ⁹ CFU/mL)	0.009	0.007	0.001
Higher cell concentration (10 ¹⁰ CFU/mL)	0.093	0.004	0.107

进一步的研究结果显示,受高浓度毒素胁迫时,未添加葡萄糖的三株实验菌对毒素的清除率和绝对清除量都较低,而添加外源葡萄糖后实验菌对藻毒

素的清除效率均显著高于未添加组,尤其是前 8 h 内三株实验菌均能够快速清除藻毒素。同时,当菌体-毒素复合体系中添加葡萄糖后,处理 24 h 的过

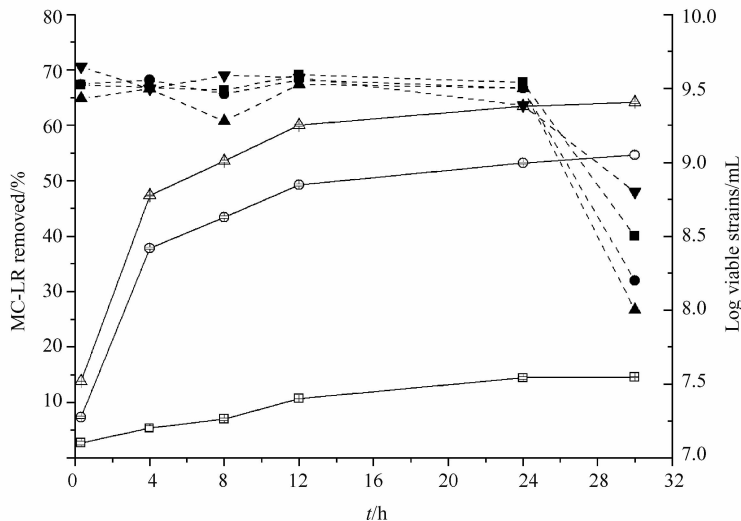


图 6 葡萄糖对 *Lb. casie zhang* 清除藻毒素的影响以及在藻毒素清除过程中活菌变化情况

Fig. 6 MC-LR removed and log viable strains/ml of *Lb. casie zhang* at different glucose concentration during incubation at 37°C. Empty symbols stand for MC-LR removed, and filled symbols for log viable strains. (△, ▲): add 10% of glucose, (○, ●): add 5% of glucose, (□, ■): add 0% of glucose, ▼: blank control; strain without toxin and glucose; (Initial MC-LR concentration: 1800 μg/L; Bacterial concentration: 10⁹ CFU/mL; pH 7.0; 150 r/min).

程中空白对照、实验组中活菌数均无明显变化(图6),证实了在该过程中外源葡萄糖并未通过扩增菌体促进其对藻毒素的清除效率,而可能与提高乳酸菌菌体活性及其相关代谢能力从而促进菌体细胞对藻毒素的清除作用有关。而24 h之后,复合体系中的活菌数明显下降,且葡萄糖添加量与菌死亡速率成正相关。

3 讨论

目前关于生物降解藻毒素的研究中,已报道的具有高效降解藻毒素能力的菌株主要为铜绿假单胞菌^[11]和鞘氨醇单胞菌^[18]。国内有学者从受污染水源中筛选获得藻毒素高效降解菌株,经鉴定为食酸戴尔福特菌,其日均降解 MC-LR 能力达到 45.1 mg/L,是目前国内外报道降解 MCs 速率最高的纯菌株^[19]。与上述菌株相比,乳酸菌在该领域的应用在安全性和实用性方面具有较大的优势,但目前有关乳酸菌清除生物毒素的研究主要集中于黄曲霉毒素,而乳酸菌清除藻毒素的研究尚处于起步阶段,国内还鲜有此方面的研究报道,在食物体系中利用乳酸菌进行藻毒素的清除也尚属空白。但是,与部分已报道的藻毒素降解菌相比,乳酸菌对藻毒素的清除效率还有待进一步的提高。目前,关于乳酸菌对 MC-LR 的清除机理尚不明确,究竟是菌体的吸附作用还是代谢降解的功效尚需要在接下来的研究中进一步考证^[13-14,20]。

本课题研究表明,发酵乳杆菌、唾液乳杆菌和干酪乳杆菌三株实验菌株均具有清除藻毒素的能力,其中 *Lb. casei* Zhang 的藻毒素清除能力最强,其单个 CFU(菌落形成单位)的毒素清除率可达 $2.7 \times 10^{-18} \text{ g}/(\text{CFU} \cdot \text{h})$,在目前乳酸菌清除藻毒素的报道中属较高水平(国内外已有研究中藻毒素清除效果较好的乳酸菌如 *Lactobacillus rhamnosus* GG 的清除率为 $2.4 \times 10^{-18} \text{ g}/(\text{CFU} \cdot \text{h})$ ^[14])。研究发现,乳酸菌菌体的生理活性以及菌体浓度等因素均影响其对藻毒素的清除效果,外源能量物质葡萄糖的供给能够促进乳酸菌对藻毒素的清除;从菌体的不同生理状态对藻毒素清除能力的差异分析可知,在乳酸菌对藻毒素的清除过程中,其代谢活性发挥了重要的作用。上述研究结果显示,采用食品级微生物特别是部分益生菌干预藻毒素具有可行性,为降低藻毒素对人体的危害提供了新的方法思路。上述研究结果也为进一步探寻乳酸菌清除藻毒素的作用机理提供了一定的研究基础。本研究填补了国内

在乳酸菌清除藻类毒素研究方面的空白。

参考文献

- [1] Chorus I, Bartram J. Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring, and management; Sponpress, 1999.
- [2] Rinehart KL, Namikoshi M, Choi BW. Structure and biosynthesis of toxins from blue-green algae (cyanobacteria). *Journal of applied phycology*, 1994, 6 (2):159-176.
- [3] Falconer IR, Humpage AR. Tumour promotion by cyanobacterial toxins, *Phycologia*, 1996, 35 (6):74-79.
- [4] Falconer IR. Toxic cyanobacterial bloom problems in Australian waters: risks and impacts on human health. *Phycologia*, 2001, 40(3):228-233.
- [5] Codd GA, Morrison LF, Metcalf JS. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2005, 203(3):264-272.
- [6] Lambert TW, Holmes CFB, Hruddy SE. Adsorption of microcystin-LR by activated carbon and removal in full scale water treatment. *Water Research*, 1996, 30 (6):1411-1422.
- [7] Shi HX, Qu JH, Wang AM, Ge JT. Degradation of microcystins in aqueous solution with in situ electrogenerated active chlorine. *Chemosphere*, 2005, 60 (3):326-333.
- [8] Imanishi S, Kato H, Mizuno M, et al. Bacterial degradation of microcystins and nodularin. *Chemical Research in Toxicology*, 2005, 18(3):591-598.
- [9] Lam AKY, Fedorak PM, Prepas EE. Biotransformation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin-LR, as determined by HPLC and protein phosphatase bioassay. *Environmental Science & Technology*, 1995, 29 (1):242-246.
- [10] Bourne DG, Blakeley RL, Riddles P, et al. Biodegradation of the cyanobacterial toxin microcystin LR in natural water and biologically active slow sand filters. *Water Research*, 2006, 40(6):1294-1302.
- [11] Takenaka S, Watanabe MF. Microcystin LR degradation by *Pseudomonas aeruginosa* alkaline protease. *Chemosphere*, 1997, 34(4):749-757.
- [12] Park HD, Sasaki Y, Maruyama T, et al. Degradation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by a new bacterium isolated from a hypertrophic lake. *Environmental Toxicology*, 2001, 16:337-343.
- [13] Meriluoto J, Gueimonde M, Haskard CA, et al. Removal of the cyanobacterial toxin microcystin-LR by human probiotics. *Toxicon*, 2005, 46(1):111-114.

- [14] Nybom SMK, Salminen SJ, Meriluoto JAO. Removal of microcystin-LR by strains of metabolically active probiotic bacteria. *Fems Microbiology Letters*, 2007, 270(1): 27-33.
- [15] Rolfe RD. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *Journal of Nutrition*, 2000, 130(2): 396.
- [16] Haskard CA, El-Nezami HS, Kankaanpaa PE, et al. Surface binding of aflatoxin B1 by lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(7): 3086-3091.
- [17] Nybom SMK, Salminen SJ, Meriluoto JAO. Specific strains of probiotic bacteria are efficient in removal of several different cyanobacterial toxins from solution. *Toxicon*, 2008, 52(2): 214-220.
- [18] Ishii H, Nishijima M, Abe T. Characterization of degradation process of cyanobacterial hepatotoxins by a gram-negative aerobic bacterium. *Water Research*, 2004, 38(11): 2667-2676.
- [19] 周洁, 闫海, 何宏胜. 食酸戴尔福特菌 USTB04 生物降解微囊藻毒素的活性研究. *科学技术与工程 (Science Technology and Engineering)*, 2006, 6(002): 166-170.
- [20] Kirsten C, Susanne L, Anne W. Microbial activity and bacterial community structure during degradation of microcystins. *Aquatic Microbial Ecology*, 2002, 27(2): 125-136.

Removal of microcystin-LR by lactic acid bacteria

Song Wang¹, Juan Zhang^{2*}, Miao Wang^{3*}, Guocheng Du², Jian Chen^{2,3}

(¹School of Food science&Technology, ²School of Biotechnology, ³State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: **[Objective]** The performance of *Lactobacillus salivarius* BBE09-18, *L. fermentum* BBE09-29 and *L. casei Zhang* to remove the cyanobacterial toxin microcystin-LR (MC-LR) were determined in this study, and the key factors related to the removal efficiency were investigated to analyze the specific mechanism and provide a novel way to deal with the MC-LR contaminated foods. **[Methods]** Investigate the microcystin-removing capability of cells in different physiological status, *e. g.* viable and nonviable cells, and compare their removing effects with different biomass, toxin concentration and glucose supplement. **[Results]** Among these strains, *L. casei Zhang* removed the microcystin-LR most effectively. After a removal treatment with *L. casei Zhang* for 24 h (10^9 CFU/mL, pH7, 37°C), the MC-LR concentration deduced from 150 $\mu\text{g/L}$ to 85.5 $\mu\text{g/L}$. Results also showed that the viable cells were more effective for MC-LR removal than the nonviable ones. Moreover, the removal performance can be improved significantly when glucose was added, and the maximum removal of 92% was observed for *L. casei Zhang* (toxin initial concentration 1800 $\mu\text{g/L}$, 10^{10} CFU/mL, pH7.0, 37°C, 24 h) with 5% glucose supplement. **[Conclusion]** All of the three LAB used in this study can remove MC-LR. It can be confirmed that some factors, such as biomass, toxin concentration and energy supplement of cells play important roles on the removal efficiency. These results suggest further that the mechanism of MC-LR removal in LAB may be related to their metabolic activity.

Keywords: Microcystin; *Lactobacillus*; Food security; Metabolic activity

(本文责编: 张晓丽)