

乳酸菌抗真菌生物防腐剂作用机理 和前景展望

成妮妮

(临沂大学生命科学学院, 山东临沂 276000)

摘要:食品在储藏过程中易受霉菌及其产生的毒素的污染,严重危害人类健康。许多研究发现有些乳酸菌能够通过产生的有机酸、短肽、过氧化氢、以及其自身的吸附能力等抑制霉菌生长,吸附真菌毒素,以降低食品中霉菌及其毒素的含量,延长食品货架期。对乳酸菌的代谢产物及其抗真菌活性的深入研究表明,乳酸菌作为生物防腐剂具有良好的应用前景,有望成为安全的食品添加剂。

关键词:乳酸菌,生物防腐剂,霉菌,真菌毒素,抗真菌

Mechanisms of lactic acid bacteria as antifungal biopreservative and expectation of its prospects

CHENG Ni-ni

(College of Life Science, Linyi University, Linyi 276000, China)

Abstract: Foods are subject to be contaminated by moulds and their mycotoxin during storage, which has serious health hazard. Many researches found that some lactic acid bacteria (LAB) can inhibit mould growth and absorb mycotoxin through producing organic acid, short peptide, hydrogen peroxide and the absorption abilities of itself, reduce the content of mould and mycotoxin in food and extend the shelf-life. The researches of metabolic product and antifungal activity of LAB indicated that LAB had very good application prospect and hopeful became a safety food additive.

Key words: lactic acid bacteria; biopreservative; mould; mycotoxin; antifungal

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)04-0430-04

乳酸菌(lactic acid bacteria, LAB)是一类能利用碳水化合物并产生大量乳酸的细菌。乳酸菌大多数为益生菌,包括乳杆菌属、链球菌属、明串珠菌属、乳球菌属等^[1]。乳酸菌是较早的应用于食品发酵的微生物,其调节肠道微生态、抗肿瘤、抗溃疡、提高免疫力及降低胆固醇等作用已得到大家的认同^[2]。其除了具有一定的保健功能外,乳酸菌还能产生一些抗菌物质以控制病原菌及腐败微生物菌群。食品和饲料在储藏过程中易受到黄曲霉菌、镰刀霉菌和青霉菌的污染,继而导致黄曲霉毒素、伏马菌素、赭曲霉毒素和玉米烯酮等高毒性代谢物在食品中的积累,诱发癌症、损害肝脏和肾脏,严重损害人畜健康。现在主要利用物理和化学方法控制这些微生物及其毒素的出现,但是还没有有效的方法来消除霉菌毒素的存在。而且,有些霉菌对山梨酸钾、山梨酸酯等化学防腐剂已具有抗性。利用乳酸菌可很好地替代物理

和化学方法来控制霉菌的生长。Gourama等^[3]报道,经过精心筛选的乳酸菌能够控制霉菌生长、延长发酵食品的货架期、降低由霉菌毒素引起的健康风险。Voulgari等^[4]研究了乳制品中非发酵乳酸菌的抗真菌活性,发现分离自意大利奶酪中的非发酵乳酸菌对普通霉菌和酵母具有一定的抗性。近年来,为了减少化学防腐剂的使用,利用食品中天然存在的微生物来控制另一种微生物的生物防腐已引起人们的高度重视。

1 乳酸菌抗真菌的机理

乳酸菌通常在乳制品、肉及肉类和谷类等营养较丰富的产品中生长。某些乳酸菌能够通过产生抗真菌代谢物及吸附某些真菌毒素以降低其在培养基质中的浓度起到抗真菌的作用。因此,利用乳酸菌作为安全的生物防腐剂来代替化学防腐剂防治食品腐败一直是人们研究的目标。

1.1 产生抗菌代谢物

目前已经从乳酸菌培养液中分离了几种具有强抗真菌活性的成分。大多数已鉴定的抗真菌物质都是由有机酸、过氧化氢、短肽化合物、reuterin、羟基脂

收稿日期: 2011-02-21

作者简介: 成妮妮(1975-),女,硕士研究生,讲师,主要从事乳酸菌生物学特性及其功能食品开发方面的研究。

肪酸以及某些酚类化合物等组成的低分子量物质。

1.1.1 有机酸 食品中的有机酸是添加剂或乳酸菌发酵碳水化合物代谢终产物。乳酸和乙酸是碳水化合物经乳酸菌发酵后的主要产物,它们通过目标生物的膜以疏水未解离的形式进行扩散,进而降低细胞质的 pH 并终止代谢活性。由此推测有机酸通过中和原生质膜上的电化学势,提高其通透性,从而导致细菌被抑制,最终死亡。Gerez 等^[5]对 95 个乳酸菌株进行抗真菌测试发现只有植物乳杆菌 CRL 778 (*L.plantarum* CRL 778), 罗伊氏乳杆菌 CRL 1100 (*L.reuteri* CRL 1100) 和短乳杆菌 CRL 772, CRL 796 (*L.brevis* CRL 772 and CRL 796) 四种具有抗真菌活性。它们产生的主要抗真菌成分是乙酸和苯乳酸。用含有乳酸菌的酵母发酵剂生产的面包中霉菌出现的时间延长到 5d, 而不加乳酸菌的面包霉菌出现的时间为 2d。由此看见, 乳酸菌产生的有机酸降低面包的 pH (约为 5.0) 是抑制霉菌生长的主要因素之一, 而且抗霉菌活性也因乳酸菌的菌株(种)的不同而差异较大。Schillinger 等^[6]对从食品中分离的乳酸菌在 MRS 培养基中生长对青霉菌的抑制作用的研究发现, 许多乳酸菌能够抑制产赭曲霉毒素的青霉菌。他们以筛选的抗真菌的乳酸菌培养液处理 MRS 培养基, 并与用盐酸和乳酸酸化的 MRS 培养基进行抗真菌对照实验, 结果发现前者具有更好地抑制青霉菌生长的效果, 说明除了乙酸和乳酸之外, 乳酸菌中其他代谢成分也有助于抑制霉菌的生长。

1.1.2 过氧化氢 大部分乳酸菌在有氧存在时会产生过氧化氢。乳酸菌不能产生过氧化氢酶, 不能降解过氧化氢, 过氧化氢积累后, 就会氧化目标微生物的膜脂和细胞蛋白。在某些食品如牛奶中, 低浓度过氧化氢在乳过氧化物酶催化下与硫氰酸盐反应, 反应产物如硫氰酸盐和其他中间分子能够抑制某些微生物的生长, 由此产生抗微生物活性^[7]。

1.1.3 产生细菌素等短肽化合物 许多乳酸菌产生抗菌肽, 如细菌素, 包括嗜酸乳杆菌 (*L.acidophilus*) 产生的乳酸菌素 B, 植物乳杆菌 (*L.plantarum*) 产生的植物乳杆菌素 (plantaricin) 和乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*) 产生的 nisin, 这些抗菌物质具有较小的抗菌谱, 仅对很窄范围的相关细菌有效。大多数细菌素通过使细胞膜通透性增加或与其必需的酶相互作用杀死敏感细菌^[8]。但目前还没有可靠的资料证明乳酸菌产生的蛋白质化合物具有抑制霉菌和酵母生长的作用。有报道称某些乳酸菌如乳酸乳球菌乳酸亚种 (*Lc.lactis subsp.lactis*)^[9]、干酪乳杆菌假植物亚种 (*Lb.casei subsp.pseudoplanatarum*)^[10] 和小球片球菌 (*P.pentosaceus*)^[11] 产生的抗真菌代谢物对蛋白水解酶敏感。例如, 研究发现干酪乳杆菌假植物亚种菌株产生的抗真菌活性可以通过胰岛素或胰凝乳蛋白酶处理而被抑制, 由此认为参与抗真菌活性的主要分子是一种分子量不超过 1ku 的短肽。Magnusson 等^[12]进一步研究显示, 棒状乳杆菌棒状亚种 Si3 (*Lb.coryniformis subsp.coryniformis* Si3) 产生的抗真菌代谢物是一种高热稳定的分子量大约为 3ku 的小肽, 其活性可以被蛋白水解酶完全抑制。

1.1.4 reuterin reuterin, 也叫 3-羟基丙醛 (3-hydroxypropionaldehyde), 是罗伊氏乳杆菌 (*L.reuteri*)、短乳杆菌 (*L.brevis*)、布氏乳杆菌 (*L.buchneri*) 等在厌氧条件下发酵甘油的产物。这种化合物能够抑制革兰氏阳性菌、阴性菌、酵母菌和霉菌。Schaefer 等^[13]研究发现 reuterin 可能对蛋白质和小分子中的硫醇基团进行修饰诱导细胞的氧化胁迫而起到抗菌的作用。Chung 等^[14]报道, reuterin 能够抑制曲霉菌和镰刀霉菌的生长。Magnusson 等^[13]也研究发现在某些乳酸菌的培养中加入甘油可以产生 reuterin 以提高它们的抗真菌活性, 与 Schaefer 等的研究结果一致。而且 reuterin 为非肽类物质, 不受蛋白酶水解的影响。

1.1.5 脂肪酸和酚类化合物 一些乳酸菌能够产生抗微生物的脂肪酸, 提高发酵产品的感官特性。Ouattara 等^[15]认为脂肪酸通过其疏水基团与细菌细胞表面的蛋白质或脂类结合, 进而穿过细胞膜进入细胞而使细菌死亡。Ouattara 等还发现同样链长的不饱和脂肪酸的抗菌效果好于饱和脂肪酸。Corsetti 等^[16]报道分离自圣弗朗西斯科的乳酸菌 CBI 菌株产生的己酸是主要抗真菌物质, 可以与丙酸、酪酸和戊酸等协同作用。Sjögren 等^[14]研究报道羧化脂肪酸 (C3) 具有很强的抗真菌活性, 其中最具活性的是链长为 12 个碳原子的脂肪酸。羧化脂肪酸具有非常广泛的抑菌谱, 能够有效地抗霉菌和酵母菌。羧化脂肪酸的最小抑菌浓度 (MIC) 范围在 10~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。它们的产量动力学遵从其菌株的生长, 说明这些化合物不是由细胞裂解产生的, 但它们的作用机理还有待于进一步研究。

Mandal 等^[17]对酚类化合物参与乳酸菌的抗真菌活性进行了论述。这种酚类化合物是由乳酸片球菌 (*P.acidilactici*) 产生的, 具有不同程度的抗真菌活性, 能够抗食品和食源性霉菌以及植物病原真菌。

1.2 乳酸菌对真菌毒素的作用

除了产生抗菌物质外, 乳酸菌还通过抑制霉菌生长和产毒、孢子萌发以及菌体吸附作用等方式降低和除去培养基质中的毒素。

1.2.1 乳酸菌抑制霉菌生长和产毒 已有研究表明乳酸菌对毒枝菌素积累的影响与产黄曲霉毒素的霉菌有关。Wiseman 等^[18]研究显示在乳酸乳球菌和寄生曲霉属之间存在拮抗关系。当将寄生曲霉的孢子加入到 13 日龄的乳酸乳球菌培养液中时, 黄曲霉毒素的产生受到完全抑制。而将真菌孢子悬浮液和乳酸菌菌株同时接种时, 黄曲霉毒素的产生有所增加。Coallier-Ascach 等^[19]研究发现当两种微生物同时在牛肉膏蛋白胨肉汤培养基中培养时, 黄曲霉毒素积累受到抑制; 且该抑制作用与 pH 的降低无关, 而与乳酸菌在对数生长初期产生的一种热稳定的、低分子量代谢物有关。由此推测这种抑制作用与氢过氧化物或有机酸等代谢物引起的抑制作用不同。唐雨蕊等^[20]研究发现乳酸所形成的低 pH 环境有降低黄曲霉孢子萌发率的作用, 但接种了乳酸杆菌的处理组表现出更明显的抑制作用。这说明, 对黄曲霉孢子萌发的抑制作用不仅在于低 pH 环境的影响, 还有

乳酸杆菌代谢产物和微生物间互相拮抗等多因素协同作用的结果。

将乳酸杆菌抑制毒枝菌素生物合成的研究重点放在黄曲霉毒素上。在细胞裂解的过程中,乳酸菌释放出的分子会抑制霉菌生长,进而导致这些霉菌毒素的积累降低。Gourama^[21]利用透析实验分析证明在乳杆菌的无细胞抽提物中有一种代谢物的存在抑制了黄曲霉毒素的积累。由此可知黄曲霉毒素生物合成的抑制不是过氧化氢产生或 pH 下降的结果。

1.2.2 乳酸菌吸附霉菌毒素 Piotrowska 等^[22]筛选了 29 株乳杆菌和乳球菌来研究它们对赭曲霉素 A 的敏感性及其从液体培养基中排除这种毒素的能力。发现所有的菌株都能降低赭曲霉素 A 的浓度,且它们中的大部分对这种毒素不敏感。其中嗜酸乳杆菌 CH-5、鼠李糖乳杆菌 GG、植物乳杆菌 BS、干酪乳杆菌等的最大吸附能力超过赭曲霉素 A 起始浓度的 50%,且与报道的酒类乳酸菌对赭曲霉素 A 的吸附效果结果相似。赭曲霉素 A 在细菌生长过程中被排除的数量在 8%~28% 之间,且没有检测到降解产物,说明酒中乳酸菌是通过吸附过程排除赭曲霉素 A 的。

Niderkorn 等^[23]首先在体外检测了乳酸菌与伏马菌素的相互作用。他从 29 株乳酸菌和丙酸杆菌属中选取三株菌,研究其从酸化的 MRS 肉汤 (pH 4.0) 中排除伏马菌素 B1 和 B2 的能力。证明对伏马菌素 B1 的排除不如对 B2 有效。大部分菌株能够排除这两种毒素,但在这些菌株中也存在很大地差异。丙酸杆菌属的菌株不如乳酸菌效率高。结合效率受 pH 的影响,在 pH 7 时,乳酸菌不能结合伏马菌素 B1 和 B2。

乳酸菌与玉米烯酮及其衍生物 α -玉米烯赤霉烯醇的相互作用也有报道。细菌菌体对这两种毒素的捕获率高达 38%~48%,且没有检测到二者的降解产物^[24]。由此可知,乳酸菌是通过结合而不是降解除去培养基中的毒素的。烟曲霉毒素 B1、B2^[22]和赭曲霉素 A^[23,25]也是通过同样的方式被除去的。因此,它们均是以结合和抑制生物合成两种特殊的方式参与了乳酸菌-毒枝菌素的相互作用。

2 乳酸菌抗真菌生物防腐剂的前景展望

近些年来,随着人们对化学防腐剂危害的认识,发展可应用于食品的生物防腐剂逐渐引起人们的兴趣。乳酸菌作为生物防腐剂有其独特的优势:a.乳酸菌已经作为安全的发酵剂在食品中具有悠久的历史;b.乳酸菌能够产生有机酸、脂肪酸、过氧化氢和细菌素等生物活性分子;c.如前所述,乳酸菌的抗真菌活性已经被证明^[26-27]。发酵产品中乳酸菌和真菌之间特异的相互作用是比较复杂的,乳酸菌的抗菌活性可能是几种抗菌组分综合作用的结果,实质上也是微生物相互作用的结果,在食品保藏和发酵过程中,乳酸菌发酵产生的每一种抗菌物质都相当于添加一道防治腐败菌的屏障。

目前研究发现只有少数乳酸菌能产生一系列的抗真菌物质,而大部分乳酸菌没有这个特性。因此推测这些菌株可能具有其独特的代谢途径。以前对

乳酸菌抗菌活性的研究主要集中于某些乳酸菌菌株产生的细菌素上,有些细菌素分子量小、热稳定性好,且对食品腐败菌和某些病原菌具有很强的抑制能力,在食品保藏具有良好的开发和应用前景。虽然细菌素是乳酸菌普遍产生的一种短肽类物质,但是目前鉴定的还是极少数,而且鉴定细菌素的方法依赖于功能性测定,这种方法的主要缺陷是菌株产生细菌素有遗传不稳定性。对于这种不稳定性,我们一般认为是传代和转化过程中的质粒丢失或基因失活等原因所致。但是研究发现事实并不如此简单,乳酸菌生长过程涉及到营养、pH、温度、生长周期等多种因素的影响,其代谢产物和抗菌活性可能具有较为复杂的调控机制。

随着生物技术的发展,目前已有 20 多种与食品工业相关的乳酸菌菌株的序列被测出,逐步建立起了相应的微生物信息资源库。人们开始从基因水平对乳酸菌的形态、进化关系和功能进行分析。Makarova 等^[28]提出利用基因方法发现新的细菌素。细菌素是一些氨基酸序列高度分散的小蛋白,很难从保守的氨基酸序列来区分它们,比较基因组学方法使对乳杆菌产生的全部细菌素进行更为全面有效地特征分析成为可能。Makarova 等已从 7 株乳酸菌的基因组中分离了原来预测的细菌素及其相关蛋白的基因簇。他们还推测在细菌素及其相关蛋白编码基因最接近的区域存在大量的小的开放读码框可能能够编码新的细菌素,虽然这些序列与已知细菌素的编码序列并不相似。当前,对乳酸菌基因组的发掘研究发现,新的细菌素等抗菌物质已经形成专业的计算机网络服务器,这将成为研究乳酸菌抗菌活性的重要工具,进而为新型生物防腐剂的开发与应用奠定基础。

参考文献

- [1] 凌代文,东秀珠.乳酸细菌分类鉴定及实验方法[M].北京:中国轻工业出版社,1999.
- [2] 陈有容,郑小平,方继东,等.益生菌的健康功效及其应用[J].上海水产大学学报,2001,10(3):269-275.
- [3] GOURAMA H, BULLERMAN L B. Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* by *Lactobacillus* species [J]. Journal of Food Protection, 1995, 58: 1249-1256.
- [4] VOULGARI K, HATZIKAMARI M, DELEPOGLOU A, et al. Antifungal activity of non-starter lactic acid bacteria isolates from dairy products [J]. Food Control, 2010, 21: 136-142.
- [5] GEREZ C L, TORINO M I, ROLLÁN G, et al. Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties [J]. Food Control, 2009, 20: 144-148.
- [6] SCHILLINGER U, VILLARREAL J V. Inhibition of *Penicillium nordicum* in MRS medium by lactic acid bacteria isolated from foods [J]. Food Control, 2010, 21: 107-111.
- [7] SCHNÜRER J, MAGNUSSON J. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives [J]. Trends in Food Science and Technology, 2005, 16: 70-78.
- [8] BIERBAUM G, SAHL H G. Lantibiotics: mode of action, biosynthesis and bioengineering [J]. Curr Pharm Biotechnol, 2009 (10): 2-18.

- [9] ROY U, BATISH V K, GROVER S, et al. Production of antifungal substance by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CHD-28.3 [J]. International Journal of Food Microbiology, 1996, 32: 27-34.
- [10] GOURAMA H. Inhibition of growth and mycotoxin production of *Penicillium* by *Lactobacillus* species [J]. Lebensmittel - Wissenschaft und - Technologie, 1997, 30: 279-283.
- [11] ROUSE S, HARNETT D, VAUGHAN A, et al. Lactic acid bacteria with potential to eliminate fungal spoilage in foods [J]. Journal of Applied Microbiology, 2008, 104: 915-923.
- [12] MAGNUSSON J, SCHNÜRER J. *Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* strain Si3 produces a broad - spectrum proteinaceous antifungal compound [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67: 1-5.
- [13] SCHAEFER L, AUCHTUNG T A, HERMANS K E, et al. The antimicrobial compound reuterin (3 - hydroxypropionaldehyde) induces oxidative stress via interaction with thiol groups [J]. Microbiology, 2010, 156: 1589-1599.
- [14] CHUNG T C, AXELSSON L, LINDGREN S E, et al. In vitro studies on reuterin synthesis by *Lactobacillus reuteri* [J]. Microbial Ecology and Health and Disease, 1989, 2: 137-144.
- [15] OUATTARA B, SIMARD R E, HOLLEY R A, et al. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms [J]. International Journal of Food Microbiology, 1997, 37: 155-162.
- [16] CORSETTI A, GOBETTI M, ROSSI J, et al. Antimould activity of sourdough lactic acid bacteria: identification of a mixture of organic acids produced by *Lactobacillus sanfrancisco* CBI [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1998, 50: 253-256.
- [17] MANDAL V, SEN S K, MANDAL N C. Detection, isolation and partial characterization of antifungal compound (s) produced by *Pediococcus acidilactici* LAB 5 [J]. Natural Product Communications, 2007(2): 671-674.
- [18] WISEMAN D W, MARTH E H. Growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* when in the presence of *Streptococcus lactis* [J]. Mycopathologia, 1981, 73: 49-56
- [19] COALLIER - ASCAH J, IDZIAK E. Interaction between *Streptococcus lactis* and *Aspergillus flavus* on production of aflatoxin [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1985, 49: 163-167.
- [20] 唐雨蕊, 倪学勤, 曾东. 乳酸杆菌对黄曲霉生长抑制的研究 [J]. 中国饲料, 2008(2): 42-45.
- [21] GOURAMA H, BULLERMAN L B. Inhibition of Growth and Aflatoxin Production of *Aspergillus flavus* by *Lactobacillus* Species [J]. Journal of Food Protection, 1995(8): 1249-1256.
- [22] PIOTROWSKA M, ZAKOWSKA Z. The limination of ochratoxin A by lactic acid bacteria strains [J]. Polish Journal of Microbiology, 2005, 54: 279-286.
- [23] NIDERKORN V, BOUDRA H, MORGAVI D P. Binding of Fusarium mycotoxins by fermentative bacteria in vitro [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 101: 849-856.
- [24] EL- NEZAMI H S, POLYCHRONAKI N, SALMINEN S, et al. Binding rather metabolism may explain the interaction of two food - grade *Lactobacillus* strains with zearalenone and its derivative - zearalenol [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68: 3545-3549.
- [25] FUCHS S, SONTAG G, STIDL R, et al. Detoxification of patulin and ochratoxin A, two abundant mycotoxins, by lactic acid bacteria [J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46: 1398-407.
- [26] HASSAN Y I, BULLERMAN L B. Antifungal activity of *Lactobacillus paracasei* ssp. *tolerans* isolated from a sourdough bread culture [J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 121: 112-115.
- [27] SJÖGREN J, MAGNUSSON J, BROBERG A, et al. L. Antifungal 3 - hydroxyl fatty acids from *Lactobacillus plantarum* MiLAB14 [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69: 7554-7557.
- [28] Makarova K S, Koonin E V. Evolutionary Genomics of Lactic Acid Bacteria [J]. Journal of Bacteriology, 2007, 189(4): 1199-1208.

(上接第 429 页)

- [9] Taejoon Kang, Seung Min Yoo, Ilsun Yoon, et al. Patterned Multiplex Pathogen DNA Detection by Au Particle - on - Wire SERS Sensor [J]. Nano Letters, 2010, 10: 1189-1193.
- [10] Sengupta A, Mujacic M, James Davis E. Detection of bacteria by surface - enhanced raman spectroscopy [J]. Anal Bioanal Chem, 2006, 386: 1379-1386.
- [11] 余海湖, 何谋春, 周灵德, 等. 自组装金纳米粒子薄膜 SERS 研究 [J]. 胶体与聚合物, 2003, 21(2): 10-12.
- [12] Tripp R A, Dluhy R A, Zhao Yiping. Novel nanostructures for SERS biosensing [J]. Nanotoday, 2008(6-8): 31-37.
- [13] Jarvis R M, Law Nicholas, Shadi I T, et al. Surface - enhanced raman scattering from Intracellular and extracellular bacterial locations [J]. Anal Chem, 2008, 80: 6741-6746.
- [14] Kneipp Katrin, Haka A S, Kneipp Harald, et al. Surface - enhanced raman spectroscopy in single living cells using gold nanoparticles [J]. Applied Spectroscopy, 2002, 56(2): 150-154.
- [15] Rejman Joanna, Oberle Volker, Zuhorn I S, et al. Size - dependent internalization of particles via the pathways of clathrin - and caveolae - mediated endocytosis [J]. Biochem, 2004, 377: 159-169.
- [16] Lina Juqiang, Chena Rong, Feng Shangyuan, et al. Rapid delivery of silver nanoparticles into living cells by electroporation for surface - enhanced Raman spectroscopy [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2009, 25: 388-394.
- [17] Scaffidi J P, Gregas M K, Seewaldt Victoria, et al. SERS - based plasmonic nanobiosensing in single living cells [J]. Anal Bioanal Chem, 2009, 393: 1135-1141.
- [18] Chithrani B D, Ghazani A A, Chan WC W. Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells [J]. Nano Letters, 2006, 6(4): 662-668.
- [19] Nguyen C T, Nguyen J T, Rutledge Steven, et al. Detection of chronic lymphocytic leukemia cell surface markers using surface enhanced raman scattering gold nanoparticles [J]. Cancer Letters, 2010, 292: 91-97.