

嗜酸乳杆菌同化吸附降胆固醇作用机理研究

赵瑞香,路四海,杨天佑,牛生洋,段改丽,李银娜,王 莹

(河南科技学院食品学院,河南新乡 453003)

摘 要:嗜酸乳杆菌具有降低血清及培养介质中胆固醇水平能力,其机理主要体现在其对胆固醇的吸附作用和同化吸收作用。实验采用 MATH 法测定了胆固醇介导嗜酸乳杆菌 La-XH1 和 La-XH2 表面疏水性、对超声波的抗性及其胞内脂肪酸组成变化。结果表明,La-XH1 和 La-XH2 对正十六烷和二甲苯具有较强表面疏水性,并通过电镜扫描结果显示,La-XH1 和 La-XH2 可以将胆固醇吸附到自身表面,并随菌体一起在离心条件下沉淀下来,而且生长在含有胆固醇培养基内的菌株对超声波的抗性要明显高于生长在普通 MRS 培养基内的菌株。胞内脂肪酸含量 GC-MC 分析得出,添加胆固醇后,嗜酸乳杆菌 La-XH1 和 La-XH2 胞内饱和脂肪酸相对含量分别由 16.99% 与 18.31% 下降为 13.55% 与 17.87%,不饱和脂肪酸相对含量分别由 33.69% 与 32.22% 增加至 53.73% 与 53.91%,改变了菌体自身脂肪酸组成,胆固醇被菌体吸收同化到菌体内。

关键词:嗜酸乳杆菌,胆固醇,吸附,同化,胞内脂肪酸

Study on cholesterol-lowering mechanism of *Lactobacillus acidophilus* by adsorbing and assimilating cholesterol

ZHAO Rui-xiang, LU Si-hai, YANG Tian-you, NIU Sheng-yang, DUAN Gai-li, LI Yin-na, WANG Ying

(College of Food Science, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China)

Abstract: *Lactobacillus acidophilus* has the capacity of cholesterol-lowering in serum and cultivate media and its mechanism mainly embodies in adsorbing and assimilating cholesterol. By using MATH method, the surface hydrophobicity, resistance to ultrasonic and composition change of cellaur fatty acid mediated by cholesterol of La-XH1 and La-XH2, were measured. The results showed that La-XH1 and La-XH2 both had stronger surface hydrophobicity to hexadecane and xylol. Scanning electron microscope showed that La-XH1 and La-XH2 could adsorb cholesterol to its surface and deposit with thallus in centrifugal condition. In addition, strain in cultivate media including cholesterol had notable anti-ultrasonic resistance compared with that grown in common MRS cultivate. GC-MC analysis found that the relative amount of cellaur saturated fatty acid of *Lactobacillus acidophilus* La-XH1 and La-XH2 had respectively declined to 13.55% and 17.87% from 16.99% and 18.31%, and the relative amount of unsaturated fatty acid respectively rose to 53.73% and 53.91% from 33.69% and 32.22%, which changed the composition of its own cellaur fatty acid and cholesterol had been adsorbed and assimilated into its thallus.

Key words: *Lactobacillus acidophilus*; cholesterol; adsorption; assimilation; cellaur fatty acid

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2014)15-0077-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2014.15.007

嗜酸乳杆菌 (*Lactobacillus acidophilus*) 是人体肠道中重要的微生物,与人体健康息息相关,当其达到一定数量时,能改善调节人体肠道微生物菌群的平衡,降低胆固醇水平,缓解乳糖不耐症以及抑制肿瘤细胞的形成等等,即起到健康促进效果^[1-2]。胆固醇是维持机体生理机能所不可缺少的重要物质,是动物体内膜结构中的重要组分,长期摄入过多的胆固

醇会导致血脂升高,扰乱体内胆固醇的正常代谢,危害人体健康。国内外研究表明,以嗜酸乳杆菌等为代表的乳酸菌具有较强的降低胆固醇作用,有关乳酸菌对血清胆固醇影响的研究是目前国内外众多研究领域中的热点之一,但其作用机理至今尚无定论,目前国内外研究者的观点主要集中于以下 4 个方面:乳酸菌细胞直接同化吸收胆固醇,将其变为自身成分;乳酸菌产生的胆盐水解酶 (BSH) 将结合型胆盐转变为游离型胆盐,其与胆固醇发生共沉淀作用;同化吸收与共沉淀联合作用;以及其他理论。项目组近 20 年来对嗜酸乳杆菌功能特性尤其是降低胆固醇作用进行了深入系统研究,大量实验研究表明,实验所用 *Lactobacillus acidophilus* Ind-1 (简称 La-XH1), *Lactobacillus acidophilus* Lakcid (简称 La-

收稿日期:2013-11-15

作者简介:赵瑞香(1966-),女,博士,教授,研究方向:食品生物技术。

基金项目:河南省教育厅科学技术研究重点项目(12A550004);河南省科技攻关计划项目(122102110117);新乡市科技创新平台建设项目(CP1310)。

XH2)菌株能够有效地降低血清及培养介质中的胆固醇水平^[3-4],其降低胆固醇作用的机理主要集中在其对胆固醇的吸附能力和同化吸收作用^[5-6]。实验采用胆固醇介导对嗜酸乳杆菌菌体表面疏水性的改变及对超声波抗性的增强等来探讨其对胆固醇的吸附能力和同化能力,进一步检测嗜酸乳杆菌胞内脂肪酸组成变化分析胆固醇是否被菌体吸收同化到自身细胞内,进而改变了自身脂肪酸的组成,以探索嗜酸乳杆菌降低胆固醇水平的作用机理,为嗜酸乳杆菌降胆固醇功能食品的开发利用提供一些理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

Lactobacillus acidophilus Ind-1(简称 La-XH1),*Lactobacillus acidophilus* Lakcid(简称 La-XH2),来源于波兰罗兹技术大学发酵工程与工业微生物系,本实验室分离、驯化、保藏。

水溶性胆固醇 分析纯,德国 Sigma 公司;正十六烷,二甲苯,六甲基二硅烷等试剂 均为分析纯,郑州久是生物技术有限责任公司。

SW-CJ-1D 单人单面垂直净化工作台 苏州智华净化精密仪器有限公司;RC5C 高速冷冻离心机 美国杜邦公司;TU-1810 紫外-可见分光光度计 北京普析通用仪器责任有限公司;Quanta 200 扫描电子显微镜 美国 FEI 公司;Trace-ASQ II 型 GC-MS 仪器 美国 Finnigan 公司;色谱柱:TR-SM8 毛细管柱 中型柱(30mm×0.25mm/0.25μm);等。

1.2 实验方法

1.2.1 嗜酸乳杆菌菌体表面疏水性测定 采用 MATH 法测定菌体表面疏水性^[7]。选择正十六烷和二甲苯作为疏水性有机溶剂,将 La-XH1 和 La-XH2 接种于 MRS 培养基 37℃ 条件下培养 20h,之后于 6000r/min 4℃ 条件下离心 15min 获得菌体细胞,用 50mmol/L 的磷酸盐缓冲液洗涤 2 次,再将菌体细胞重悬浮于相同的磷酸盐缓冲液中,在 600nm 处调节光密度为 1.0。取 3mL 悬浮液分别添加正十六烷和二甲苯各 1mL,震荡混匀 2min,然后静置使两相分离,小心移除水相,在 600nm 处测其光密度(吸光度)。细胞表面疏水性(H%)计算: $H(\%) = [(A_0 - A)/A_0] \times 100$, A_0 和 A 分别是提取前后的吸光度。

1.2.2 电镜扫描 将 La-XH1 和 La-XH2 分别接种于未含和含有胆固醇的 MRS 的液体培养基内,37℃ 培养 20h,然后在 4℃,8000r/min 下离心 25min,将离心后所得菌体用 pH7.0 的磷酸缓冲液洗涤 2 次,重新悬浮于含有甲醛(4%,v/v)和戊二醛(1%,v/v)的磷酸缓冲液中固定 2~4h,将固定后的样品离心,用蒸馏水洗涤 2 次,再用六甲基二硅烷脱水。脱水后将六甲基二硅烷轻轻从试管中倒出,残留物在 25℃ 下进行空气干燥。最后,将干燥后的细胞固定在载物台上,放入镀金仪内喷金 90s,再放入扫描电镜内观察。

1.2.3 菌体超声波耐受性测定 按 5% 的接种量将活化后的嗜酸乳杆菌 La-XH1、La-XH2 分别接种于未添加胆固醇及添加 0.2% 牛胆盐和水溶性胆固醇

的 MRS 液体培养基内,37℃ 恒温条件下培养 24h 后,于 4℃、6000r/min 下离心 20min,并将所得菌体重新悬浮于无菌水中,调整菌体浓度为 10^9 cfu/mL 左右。然后取适量菌液在 900W 功率下超声处理 15min,冰浴,对超声处理前后样品稀释处理,用平板计数。

1.2.4 胞内脂肪酸的测定 脂肪酸提取液的制备:溶液 I,15g 氢氧化钠溶于 50mL 甲醇及 50mL 蒸馏水;溶液 II,38mL 浓盐酸、45mL 甲醇溶于 27mL 蒸馏水;溶液 III,100mL 正己烷与 100mL 乙醚混合均匀;溶液 IV,2.4g 氢氧化钠溶于 200mL 蒸馏水中;溶液 V,饱和氯化钠溶液。

将 La-XH1、La-XH2 分别接种于未添加胆固醇和添加 0.2% 牛胆盐与水溶性胆固醇的 MRS 液体培养基中,37℃ 下恒温培养 24h,离心后用无菌水洗涤 2 次收集菌体。取适量菌体,置于具塞试管内,加入 4mL 溶液 I,盖上塞子,于 100℃ 沸水下放置 5min,取出振荡 10s,继续沸水浴 25min。待样品管冷却后,加入 8mL 溶液 II,混合均匀,并于 80℃ 水浴 10min,取出后再冰浴下迅速冷却。向样品管内加入 5mL 溶液 III,快速振荡 10min,静置分层后保留有机相,在剩余有机相中加入 12mL 溶液 IV 及几滴溶液 V,迅速振荡 5min,取上层有机相备用。气相检测条件:炉温为二阶程序升温,起始温度为 170℃,以 5℃/min 升温至 260℃,随后以 40℃/min 升至 310℃,维持 15min;进样口温度为 250℃,载气为氢气,流速为 0.5mL/min,分流进样模式,分流比为 100:1,进样量 2μL;检测器温度为 300℃,氢气流速 30mL/min,空气流速 216mL/min,补充气流速 30mL/min^[8]。

2 结果与分析

2.1 嗜酸乳杆菌菌体表面疏水性变化

细菌的表面疏水性不仅反映了其在肠道内的定殖能力,也侧面反映了对胆固醇的吸附能力^[9]。益生菌疏水性的大小是依据它们对碳氢化合物的黏附能力,疏水性越大,其黏附能力也越强。实验选择正十六烷和二甲苯作为疏水性有机溶剂来测定嗜酸乳杆菌 La-XH1 和 La-XH2 的疏水性大小,测得结果如表 1 所示。

表 1 La-XH1 和 La-XH2 的表面疏水性

Table 1 The surface hydrophobicity of La-XH1 and La-XH2

菌株	疏水性(%)	
	正十六烷	二甲苯
La-XH1	56.1 ± 2.85	29.6 ± 7.82
La-XH2	41.8 ± 5.09	28.8 ± 3.65

由表 1 可以看出,嗜酸乳杆菌 La-XH1 和 La-XH2 对正十六烷的吸附能力要比对二甲苯的吸附能力强,分别达到了 56.1% 和 41.8%,而对二甲苯的吸附能力为 29.6% 和 28.8%,且 La-XH1 吸附能力高于 La-XH2,特别是对正十六烷的吸附力高出 14.3%。实验结果可以表明嗜酸乳杆菌 La-XH1 和 La-XH2 都有相对较好的表面疏水性,这种性质能使它们吸附到宿主组织,与上皮细胞紧密接触来发挥

表2 不同培养基内嗜酸乳杆菌菌体对超声波耐受性

Table 2 The resistance to ultrasonic treatment of *Lactobacillus acidophilus* strains in different media

	菌株	超声处理前(× 10 ⁹ cfu/mL)	超声处理后(× 10 ⁹ cfu/mL)	存活率(%)
La-XH1	未添加胆固醇培养基	1.65 ± 0.08	0.90 ± 0.14	54.55
	添加胆固醇培养基	1.35 ± 0.28	1.15 ± 0.24	85.19
La-XH2	未添加胆固醇培养基	1.70 ± 0.24	0.70 ± 0.10	41.18
	添加胆固醇培养基	1.45 ± 0.15	1.00 ± 0.16	68.97

其保健作用,同时也间接反映了嗜酸乳杆菌 La-XH1 和 La-XH2 对胆固醇具有一定的吸附能力。

2.2 电镜扫描观察嗜酸乳杆菌菌体吸附胆固醇能力

嗜酸乳杆菌能够有效的吸附胆固醇于菌体细胞上,进而可以阻止胃肠道对胆固醇的吸收^[10]。实验对未添加和添加胆固醇的 MRS 培养液中培养过的嗜酸乳杆菌 La-XH1 和 La-XH2 进行电镜观察,电镜扫描结果见图 1。

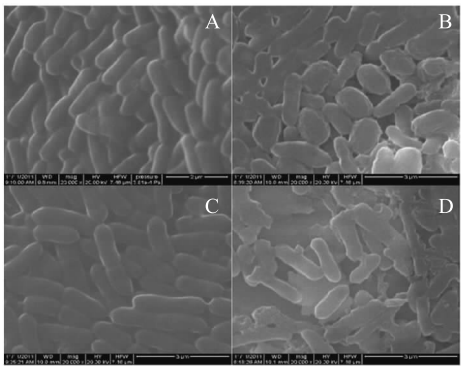


图1 嗜酸乳杆菌 La-XH1 和 La-XH2 的扫描电镜

Fig.1 SEM micrograph of La-XH1 and La-XH2

注:A-生长于未添加胆固醇 MRS 液体培养基的嗜酸乳杆菌 La-XH1;B-生长于添加胆固醇 MRS 液体培养基的嗜酸乳杆菌 La-XH1;C-生长于未添加胆固醇 MRS 液体培养基的嗜酸乳杆菌 La-XH2;D-生长于添加胆固醇 MRS 液体培养基的嗜酸乳杆菌 La-XH2。

从图 1 中可以看出,在未添加胆固醇的 MRS 液体培养基中,嗜酸乳杆菌 La-XH1(图 1A)和 La-XH2(图 1C)菌体表面光滑圆润,呈细杆状,表面没有胆固醇附着痕迹;而在添加了胆固醇的 MRS 液体培养基内,嗜酸乳杆菌 La-XH1(图 1B)和 La-XH2(图 1D)都表现出了相似的胆固醇吸附现象,其菌体表面粗糙,有许多胆固醇附着在其表面,特别是 La-XH1,表面附着胆固醇更多,并且有部分菌体发生明显的变形,由细杆状变为了粗短杆状或椭圆状。嗜酸乳杆菌 La-XH1 和 La-XH2 对胆固醇的吸附,可能是菌体固有的物理作用,这种作用受细胞壁肽聚糖层化学和物理结构特性的影响,特别是与细胞壁内的氨基酸有关^[10]。被吸附到菌体表面的胆固醇相对稳定,不易被磷酸缓冲液洗涤下来,可以随细胞在离心条件下从培养基出去,进而达到降低培养基内胆固醇的作用。

2.3 菌体的超声波耐受性

研究发现,低频率、低功率的超声波处理可在细

胞表面瞬间造成微伤,使细胞壁或细胞膜局部破裂,随着超声强度增强,作用时间增长,超过细胞自身修复能力时,细胞就会受到严重损伤,导致细胞崩解死亡^[11]。将活化后的嗜酸乳杆菌 La-XH1、La-XH2 分别接种于未添加及添加胆固醇的 MRS 液体培养基内,37℃ 恒温条件下培养 24h 后,其对超声波的耐受性见表 2。

由表 2 可以看出,嗜酸乳杆菌 La-XH1 和 La-XH2 在添加与未添加胆固醇的 MRS 液体培养基内生长,其对超声波的耐受程度有所不同。在同样的超声处理下,La-XH1 在含有胆固醇的培养基内存活率为 85.19%,而未添加胆固醇的培养基内,存活率为 54.55%;La-XH2 分别为 68.97% 和 41.18%。从结果可以看出,在含有胆固醇的培养基内生长的菌株对超声波的抗性要明显高于生长在未添加胆固醇的培养基内的菌株。其原因可能是胆固醇被吸收到细胞膜或者细胞壁中,改变了细胞的组成成分,增加了膜的韧性,进而导致了菌体细胞对超声波的抗性增强,这也间接说明了 La-XH1 和 La-XH2 对胆固醇可能有同化作用。

2.4 胞内脂肪酸的测定

利用 GC-MS 对嗜酸乳杆菌 La-XH1 和 La-XH2 生长在未添加胆固醇(培养基 A)与添加胆固醇(培养基 B)培养后其胞内脂肪酸的变化进行了测定,结果如图 2。

用 GC-MC 法检测分析所得的嗜酸乳杆菌 La-XH1 和 La-XH2 在添加与未添加胆固醇培养基中其胞内脂肪酸组成,将离子流色谱图按面积归一法积分得到各脂肪酸相对含量、饱和脂肪酸(SFA)与不饱和脂肪酸(USFA)相对含量,结果见表 3。

从表 3 可以看出,与未添加胆固醇相比,在添加胆固醇的培养基中培养后,La-XH1 和 La-XH2 胞内脂肪组成有很明显的变化,其中,La-XH1 胞内的十八碳烯酸、十八碳二烯酸、十八碳饱和脂肪酸相对含量都较大的增加,分别增加了 73.54%、244.07%、213.89%,而十五碳饱和脂肪酸则大幅减少,仅为原来的 38.32%;La-XH2 中十六碳烯酸、十八碳烯酸、十八碳二烯酸相对含量也有明显增加,分别增加了 311.76%、53.13%、68.66%,而十四饱和脂肪酸则明显下降,为原来的 62.45%,其他脂肪酸含量变化不大。嗜酸乳杆菌 La-XH1 在不添加胆固醇的培养基中培养后,其 SFA 相对含量为 16.99%,USFA 相对含量为 33.69%,二者比为 0.50;而添加胆固醇后,SFA 和 USFA 相对含量分别为 13.55% 和 53.73%,相对比为 0.25;嗜酸乳杆菌 La-XH2 也呈现了相似的变化。

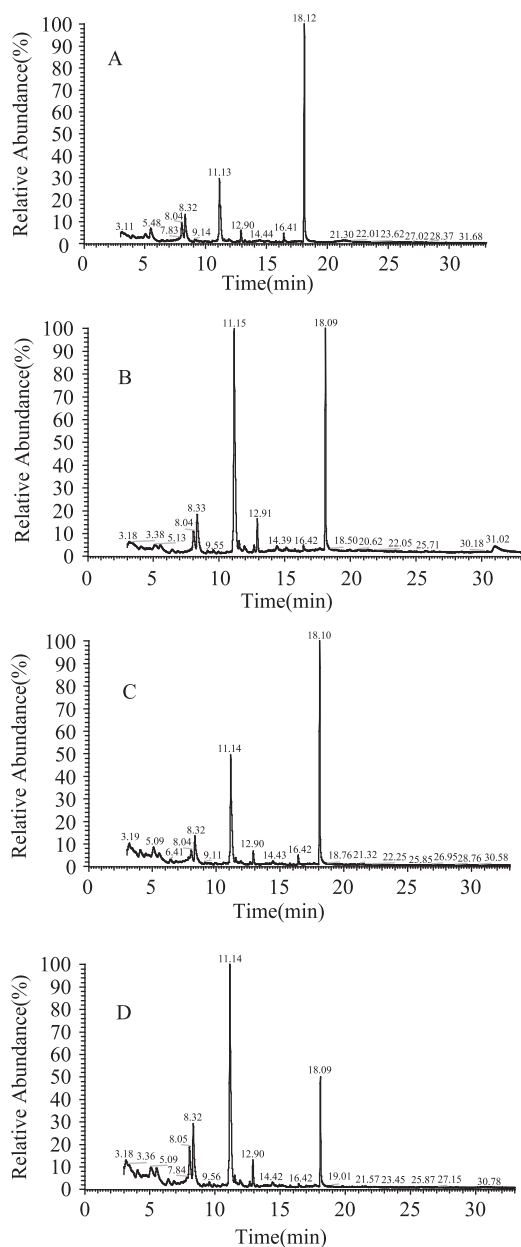


图2 嗜酸乳杆菌 La-XH1 和 La-XH2 在不同培养基内胞内脂肪酸色谱图
Fig.2 The chromatogram of cellaur fatty acid of La-XH1 and La-XH2 in different media
注:图 A、B 分别为 La-XH1 在培养基 A、B 中培养胞内脂肪酸色谱图;图 C、D 分别为 La-XH2 在培养基 A、B 中培养胞内脂肪酸色谱图。

可以看出在添加胆固醇后,嗜酸乳杆菌 La-XH1 和 La-XH2 胞内 USFA 相对含量均明显增加,而 SFA 减少,说明胆固醇被嗜酸乳杆菌 La-XH1 和 La-XH2 菌体吸收同化到自身细胞内,进而改变了自身胞内脂肪酸的组成,这与 Taranto、Kimoto、刘娟等人结论相似^[12-14]。

3 结论

嗜酸乳杆菌能够有效地降低血清及培养介质中的胆固醇水平,其降低胆固醇作用的机理主要体现在其对胆固醇的吸附能力和同化吸收作用。实验采用 MATH 法测定嗜酸乳杆菌 La-XH1 和 La-XH2 表

面疏水性,结果发现,La-XH1 和 La-XH2 对正十六烷和二甲苯具有较强表面疏水性,并通过电镜扫描结果显示,La-XH1 和 La-XH2 可以将胆固醇吸附到自身表面,并随菌体一起在离心条件下沉淀下来,而且生长在含有胆固醇培养基内的 La-XH1 和 La-XH2 菌株对超声波的抗性要明显高于生长在普通 MRS 培养基内的菌株。进一步对胞内脂肪酸含量 GC-MC 分析得出,添加胆固醇后,嗜酸乳杆菌 La-XH1 和 La-XH2 胞内 SFA 相对含量降低,USFA 相对含量上升,这说明菌体吸收同化胆固醇到自身细胞内,进而改变了自身脂肪酸的组成,从而有效地降低胆固醇水平。

表3 添加与未添加胆固醇下培养嗜酸乳杆菌

La-XH1 和 La-XH2 胞内脂肪酸的组成

Table 3 Cellaur fatty acid composition of La-XH1 and La-XH2 in the presence and absence of cholesterol

脂肪酸	脂肪酸相对含量(%)			
	La-XH1		La-XH2	
	培养基 A	培养基 B	培养基 A	培养基 B
C14:0	2.55	2.26	5.46	3.41
C15:0	6.42	2.46	2.12	2.92
C16:1	5.91	6.51	2.21	9.10
C16:0	7.66	7.70	10.06	10.79
C18:1	23.81	41.32	26.80	41.04
C18:2	0.59	2.03	0.67	1.13
C18:0	0.36	1.13	0.67	0.75
C19:1	3.38	3.87	2.54	2.64
SFA	16.99	13.55	18.31	17.87
USFA	33.69	53.73	32.22	53.91
SFA/USFA	0.50	0.25	0.57	0.33

参考文献

- [1] Zhao R X, Sun J L, Mo H Z, et al. Analysis of functional properties of *Lactobacillus acidophilus* [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2007, 23(2): 195-200.
- [2] Tannock G. Probiotics and prebiotics: Where are we going? [M]. Wymondham, UK: Caister Academic Press, 2002: 22-28.
- [3] 赵瑞香, 孙俊良, 李明静, 等. 嗜酸乳杆菌同化 MRS 培养基中胆固醇能力的研究[J]. 中国微生物学杂志, 2005, 17(4): 36-39.
- [4] 路四海, 赵瑞香, 祁婷婷. 两株嗜酸乳杆菌体外降低胆固醇的研究[J]. 食品与机械, 2011, 27(6): 60-63.
- [5] Ooi L, Liong M. Cholesterol-lowering effects of probiotics and prebiotics: a review of *in vivo* and *in vitro* findings [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2010, 11(6): 2499-2522.
- [6] 路四海, 赵瑞香, 牛生洋, 等. 乳酸菌降低胆固醇作用及其机理的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(2): 163-166.
- [7] Geertsema F L, Van Der Mei H C, Busscher H J. Microbial cell surface hydrophobicity. The involvement of electrostatic interactions in microbial adhesion to hydrocarbons (MATH) [J]. Journal of Microbiol Method, 1993, 18: 61-68.

(下转第 84 页)

Pb^{2+} 的 Langmuir 方程拟合相关系数分别为 0.9804、0.9730、0.9687 和 0.9762,这说明在等温吸附实验的 4 种条件下可以用 Langmuir 方程对 Pb^{2+} 的等温吸附平衡进行描述, Pb^{2+} 的最大吸附量分别为 68.49、64.10、37.45 和 34.60mg/g。

3 结论

3.1 Ni^{2+} 的存在减缓了 Pb^{2+} 的吸附速率,但对 Pb^{2+} 的吸附量没有影响,没有与 Pb^{2+} 形成有效竞争。 Cu^{2+} 的存在使 Pb^{2+} 的吸附量降低了 29.32%,抑制了 Pb^{2+} 的吸附,与 Pb^{2+} 形成有效竞争,酿酒废酵母对重金属的吸附是选择性吸附。

3.2 Cu^{2+} 的存在使相关系数由 0.9999 降低为 0.9953,降低了 Pb^{2+} 的准二级动力学方程的拟合度, Ni^{2+} 的存在对 Pb^{2+} 的准二级动力学方程的拟合度无影响,相关系数仍为 0.9999,在本吸附动力学实验条件下 Pb^{2+} 的准二级动力学方程拟合相关系数为 0.9953~0.9999,可用准二级动力学方程对 Pb^{2+} 的竞争吸附动力学过程进行很好的描述。

3.3 在等温吸附实验的 4 种条件下 Pb^{2+} 的 Langmuir 方程拟合相关系数为 0.9687~0.9824,可以用 Langmuir 方程对酿酒废酵母竞争吸附 Pb^{2+} 的等温吸附平衡进行描述, Pb^{2+} 的最大吸附量分别为 68.49、64.10、37.45 和 34.60mg/g。

参考文献

- [1] 王建龙,陈灿.生物吸附法去除重金属离子的研究进展[J].环境科学学报,2010,30(4):673-694.
- [2] 郜瑞莹,陈灿,王建龙.酿酒酵母吸附 Zn^{2+} 和 Cd^{2+} 的动力学[J].清华大学学报:自然科学版,2007,47(6):897-900.
- [3] 曹玉娟,张扬,夏军,等. ϵ -聚赖氨酸生产废菌体对六价铬吸附影响的研究[J].环境科学,2012,33(2):499-504.
- [4] Areco M M, Hanel S, Duran J, et al. Biosorption of Cu(II), Zn(II), Cd(II) and Pb(II) by dead biomasses of green alga *Ulva lactuca* and the development of a sustainable matrix for adsorption implementation[J]. Journal of Hazardous Materials, 2012, 213-214:123-132.
- [5] Sar A, Tuzen M. Biosorption of total chromium from aqueous solution by red algae (*Ceramium virgatum*): equilibrium kinetic and thermodynamic studies[J]. Journal of Hazardous Materials, 2008, 160(2/3):349-355.
- [6] 苏新华,潘洁茹,蒋捷,等.苏云金芽孢杆菌治理镍污染的方法的建立[J].激光生物学报,2011,20(5):699-702.
- [7] 李维焕,孟凯,李俊飞,等.两种大型真菌子实体对 Cd^{2+} 的生物吸附特性[J].生态学报,2011,31(20):6157-6166.
- [8] 葛凤,武运,聂威,等.固定化酿酒废酵母吸附 Pb^{2+} 的动力学及等温吸附研究[J].食品与机械,2012,28(1):29-31.
- [9] 李耘倩,郭立新,许默,等.啤酒酵母对重金属离子的吸附和解吸效果影响的实验研究[J].化工科技,2011,1(3):37-40.
- [10] 陈灿,王建龙.酿酒酵母吸附 Zn^{2+} 的特性及其动力学研究[J].清华大学学报:自然科学版,2006,46(12):2069-2072.
- [11] 徐惠娟,廖生赞,龙敏南,等.啤酒酵母生物吸附镉的研究[J].工业微生物,2004,34(2):10-14.
- [12] 葛凤,古丽娜孜,聂威,等.酿酒废酵母吸附 Cr^{6+} 的动力学及吸附平衡研究[J].食品工业科技,2012,10:94-96.
- [13] Kadukova J, Virckova E. Comparison of differences between copper bioaccumulation and biosorption[J]. Environ Int, 2005, 31:227-232.
- [14] 郜瑞莹,王建龙.酿酒酵母生物吸附 Cu^{2+} 的动力学及吸附平衡研究[J].应用与环境生物学报,2007,13(6):848-852.
- [15] Chen Xin Cai, Wang Yuan Peng, Lin Qi, et al. Biosorption of copper(II) and zinc(II) from aqueous solution by *Pseudomonas putida* CZ1[J]. Colloids and Surfaces, B: Biointerfaces, 2005, 46(2):101-107.
- [16] Yan G Y, Viraraghavan T. Heavy-metal removal from aqueous solution by fungus *Mucor rouxii* [J]. Water Research, 2003, 37(18):4486-4496.
- [17] Ho Y S, McKay G. Pseudo-second order model for sorption processes[J]. Process Biochemistry, 1999, 34:451-465.
- [18] Miretzky P, Saralegui A, Cirelli A F. Simultaneous heavy metal removal mechanism by dead macrophytes[J]. Chemosphere, 2006, 62(2):247-254.
- [19] Cruz C C, Costa A C, Henriques C A, et al. Kinetic modeling and equilibrium studies during cadmium biosorption by dead *Sargassum* sp. Biomass[J]. Bioresource Technology, 2004, 91(3):249-257.
- [8] 张建丽,张娟,宋飞,等.诺卡氏菌型放线菌细胞中脂肪酸的气相色谱分析[J].微生物学通报,2008,35(8):1219-1223.
- [9] Lye H S, Rahmat-Ali G R, Liong M T. Mechanisms of cholesterol removal by lactobacilli under conditions that mimic the human gastrointestinal tract[J]. International Dairy Journal, 2010, 20(3):169-175.
- [10] Sman B, Hosono A. Viability of *Lactobacillus gasserii* and its cholesterol binding and antimutagenic activities during subsequent refrigerated storage in nonfermented milk[J]. Journal of Dairy Science, 1999, 82:2536-2542.
- [11] 卢群,刘晓艳,丘泰球,等.超声对酵母细胞膜通透性的影响[J].食品与发酵工业,2005,31(9):14-17.
- [12] Taranto M P, Fernandez Murga M L, Lorca G, et al. Bile salts and cholesterol induce changes in the lipid cell membrane of *Lactobacillus reuteri* [J]. Journal of Applied Microbiology, 2003, 95:86-91.
- [13] Kimoto H, Ohmomo S, Okamoto T. Cholesterol removal from media by lactococci[J]. J Dairy Sci, 2002, 85:3182-3188.
- [14] 刘娟.植物乳杆菌 ST-III 菌株降胆固醇机理的研究[D].上海:上海海洋大学,2008.

(上接第 80 页)