

乳杆菌脱除伏马毒素的研究

王 晓¹, 郑钧予¹, 彭晓龙¹, 乔雅斐², 周 方¹, 赵丽丽¹, 张柏林¹

(1. 北京林业大学生物科学与技术学院食品科学与工程系, 北京 100083;

2. 河北农业大学食品科技学院, 河北保定 071000)

摘 要: 为了探究植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*) B7 和戊糖乳杆菌(*L. pentosus*) X8 对伏马毒素 FB1 和 FB2 脱除作用及影响因素。本文采用高效液相荧光检测的方法研究菌体细胞的伏马毒素脱除率。结果表明植物乳杆菌 B7 和戊糖乳杆菌 X8 在 37℃ 吸附 1h 后对 FB1 的脱除率分别为 52.9% 和 58.0%, 对 FB2 的脱除率分别达到了 85.2% 和 86.5%。pH、温度、酶影响菌株 B7 和 X8 结合伏马毒素 FB1 和 FB2 的效果, 并且两菌株脱除伏马毒素的作用与其活力无关。两菌株结合伏马毒素的效率随 pH 升高而降低。当 pH > 7 时, 无法检测到两株乳杆菌具有结合伏马毒素的能力。经 100℃ 沸水浴处理后, 菌体细胞脱除伏马毒素的效率上升; 经溶菌酶处理后, 菌体脱除伏马毒素的效率降低。两株乳杆菌具有以吸附方式脱除伏马毒素 FB1 和 FB2 的能力, 但吸附 FB2 的效果高于吸附 FB1 的效果。

关键词: 乳杆菌, 伏马毒素, 影响因素, 脱除作用

Study on the removal of fumonisins by *Lactobacillus* strains

WANG Xiao¹, ZHENG Jun-yu¹, PENG Xiao-long¹, QIAO Ya-fei², ZHOU Fang¹, ZHAO Li-li¹, ZHANG Bo-lin¹

(1. Department of Food Science, College of Biological Science and Biotechnology,

Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;

2. College of Food Science and Technology, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, China)

Abstract: The ability of *Lactobacillus plantarum* B7 and *L. pentosus* X8 to bind fumonisins was studied. The removal of fumonisins, FB1 and FB2 by strains B7 and X8 was detected by reversed-phase HPLC with fluorescence detector. The percentage of FB1-binding was 52.9% for strain B7 and 58.0% for strain X8 respectively. Results showed that more FB2 was bound to two strains when incubated at 37℃ for 1h. The removal percentage of FB2 by strains B7 and X8 was 85.2% and 86.5%, respectively. Factors which affect the ability of the two strains to remove FB1 and FB2 included temperature, pH and enzyme. The fumonisins-binding does not depend on the activity of the two lactobacilli strains. The higher pH values, the less the removal percentage of fumonisins by the two strains. No fumonisins-binding by strain B7 and X8 was detected when pH was larger than 7. The cells of two lactobacilli strains subjected to the pretreatment of boiled water for 15min showed higher removal of fumonisins than their controls. The lysozyme was used to treat the cells of two lactobacilli strains significantly reduced their ability to bind fumonisins. The selected two lactobacilli strains should be potential candidates as a biological detoxification agent for the removal of fumonisins via their physical binding, although more FB2 was removed than FB1.

Key words: *Lactobacillus*; fumonisins; influences; removal

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)09-0162-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.09.027

乳杆菌在益生性和脱除致癌因子方面的作用, 已经得到了学者的广泛关注和认可。漆叶琼等^[1]筛选出 14 株乳杆菌与致癌物苯并芘共同培养, 发现所选用的乳杆菌能够吸附苯并芘而不能将其降解或转化。其中, 植物乳杆菌 121 和戊糖乳杆菌 ML32 对致癌物苯并芘的吸附率分别达到了 65.9% 和 64.9%。Niderkorn 等^[2]选用 202 株菌株对加标有玉米赤霉烯酮(ZEN)、DON、FB1 和 FB2 玉米浆的脱毒研究证实, 大多数菌体能够有效地降低玉米浆中真菌毒素的含量, 其中有 8 株乳杆菌能够将

ZEN 降解为 α -ZEN。韩鹏飞等^[3]报道指出, 微生物之所以能够吸附真菌毒素与其复杂的细胞壁结构有关, 它们在不同作用力的作用下形成微生物-毒素的复合体。

伏马毒素是由镰刀菌属在一定的温度和湿度条件下产生的水溶性代谢产物^[4], 种类较多, 但其结构存在相似性, 如 FA1、FA2、FB1、FB2、FB3、FB4 等^[5]都具有线状碳原子(19 或 20)骨架, 区别在于羟基、甲基及三羧酸等化学基团位于骨架两侧的不同位点。在伏马毒素众多的种类中以 FB1 和 FB2

收稿日期: 2014-06-27

作者简介: 王晓(1988-), 女, 硕士, 研究方向: 食品微生物。

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)的项目(2006AA10Z344); “益生菌定向筛选与功能开发关键技术”(2008AA10Z335)。

的危害性最大,能够引起马脑的白质化和猪肺水肿,对人有致癌性^[6],其中伏马毒素 FB1 已经被国际癌症研究机构列为 2B 级致癌物^[7]。随着国际社会对伏马毒素危害性认识的加深,欧盟在 2007 年出台了新的伏马毒素在食品中的限量标准^[8],规定人用玉米制品中伏马毒素的含量不能高于 1000 μg/kg,零食制品和婴儿食品中的含量分别不能超过 800 和 200 μg/kg。

目前,已有大量文献报道伏马毒素的危害性^[4-7],所以研究一种行之有效的方法来降低伏马毒素的危害性显得尤为重要。本研究针对玉米及其制品中大量存在并且对人体危害最大的 FB1、FB2^[9],采用乳杆菌对其进行脱除研究。这项研究,为乳杆菌脱除粮食作物中的伏马毒素提供了理论依据,同时也为降低伏马毒素对人体的危害提供了一种新方法。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

植物乳杆菌 B7、戊糖乳杆菌 X8 均由中国微生物菌种保藏中心提供;伏马毒素 FB1、FB2 (≥99%,普瑞邦) 购于北京泰乐祺科技有限公司;三氯乙酸(TCA)、溶菌酶(Sigma)、胰蛋白酶(Sigma)、甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)、邻苯二甲醛(OPA) 购于北京市科百奥生物科技有限公司。

高效液相色谱 Waters;紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限公司;反向 Luna-C₁₈ 色谱柱(4.6mm × 250mm × 5 μm) phenomenex。

1.2 菌悬液的制备

将活化后的两株菌按 10% 的接种量分别接种到 MRS 液体培养基中,在 37℃ 条件下培养 18~20h。培养完成后,将培养液离心,收集菌体。将菌体用无菌水洗涤两次后,在 600nm 下测其 OD 值调菌悬液的浓度到 10⁸ 数量级。

1.3 菌体对伏马毒素吸附率的测定

取供试菌悬液 1mL 离心(4000 × g, 4℃, 10min)收集菌体,加入 990 μL 无菌水(乳酸调 pH = 3.0),伏马毒素 FB1 和 FB2 工作液(乙腈-水(1:1 v/v)溶解)各 5 μL,得到含伏马毒素 FB1 和 FB2 各 5 μg/mL 的菌悬液。将该菌悬液静置 1h 后,离心(3000 × g, 4℃, 5min)收集上清液,过膜(0.22 μm 水溶膜)后进样检测。以 5 μg/mL 伏马毒素(FB1 + FB2)水溶液(1mL)为阳性对照^[10]。

色谱条件:荧光检测器(激发波长:335nm,发射波长:440nm);流动相(A 液:乙腈,B 液:0.05mol/L 磷酸二氢钠溶液与甲醇溶液等体积混合并调 pH = 3.35);洗脱方式:梯度洗脱(A 液在 10min 内由 10% 增加到 60%,在 60% 时保持 7min 后在 1min 内将 A 液的比例由 60% 降低到 10%)^[11];流速:1mL/min;进样量:5 μL。

衍生化处理:衍生液邻苯二甲醛与待测液以 3:1 的比例混合后,进样。整个过程必须在 2min 内完成。

伏马毒素的脱除率(%) = [1 - (上清液中伏马

毒素的含量/空白样中伏马毒素的含量)] × 100

1.4 伏马毒素对菌体生长的影响

把植物乳杆菌 B7 和戊糖乳杆菌 X8 分别按 10% 的接种量接种到含有伏马毒素(FB1 + FB2 各 5 μg/mL) MRS 液体培养基中,用菌落计数法绘制 0、4、8、12、16、20、24、48、72、96h 的菌体生长曲线。以不含伏马毒素的培养基绘制的生长曲线作为对照。

1.5 菌体吸附伏马毒素与菌体活力的关系

取 1mL 含伏马毒素(FB1 + FB2 各 5 μg/mL)的供试菌悬液,在常温下培养 1h,离心(3000 × g, 4℃, 5min)收集菌体。菌体洗涤一次后,重悬于 1mL 生理盐水中,梯度稀释后选择合适梯度倒平板,48h 后进行菌落计数,观察菌体的生长状况。以不含伏马毒素的 1mL 菌悬液作为对照。

1.6 影响菌体吸附伏马毒素的因素

pH:配制 0.1mol/L 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液,分别调 pH 为 3、4、5、6;配制 0.1mol/L 的 Tris-HCl 缓冲液并调 pH 分别为 7、8、9。取两株供试菌悬浮于上述 pH 缓冲液中,制备成含伏马毒素(FB1 + FB2 各 5 μg/mL)的供试菌悬液。在常温下静置 1h 后,离心(3000 × g, 4℃, 5min)收集上清液,过膜后进样检测。以不含菌体的缓冲液与伏马毒素工作液混合为对照。

冷冻及热处理:取两株供试菌悬液(按 1.2 操作)分别进行以下两种处理:在 -20℃ 条件下冷冻,备用;在 121℃ 条件下加热 15min。

酸处理:取 1mL 供试菌悬液,离心(4000 × g, 4℃, 10min)收集菌体,无菌水洗涤两次,将菌体悬浮于 1mol/L 的 HCl 中沸水浴 15min。

酶及化学处理:对两株供试菌悬液进行离心、无菌水洗涤后,向菌体沉淀内加入 5mL 10% 的三氯乙酸(TCA),沸水浴 15min 后迅速冷却;加入 2mL 的溶菌酶(45000U)37℃ 摇床(90r/min)震荡 12h。

按上述方法处理后的菌悬液离心洗涤三次,用 1.3 的方法测定菌体对伏马毒素的吸附率。未经处理的菌体作为对照。

1.7 数据分析

本实验采用 SPSS17.0 数据处理软件对所有数据进行统计分析,做 t 检验及方差分析,所有实验均重复三次,实验数据采用平均值 ± 标准差表示。

2 结果与分析

2.1 伏马毒素对菌体生长的影响

从图 1 可以看出,在菌体生长期的前 24h 内,伏马毒素对植物乳杆菌 B7 和戊糖乳杆菌 X8 基本没有影响,菌体的数量级都在 10⁷ CFU/mL 以上。植物乳杆菌 B7 在 24h 以后,菌体数量开始明显下降;而戊糖乳杆菌 X8 在 48h 以后,菌体的数量才有所下降。由此说明,伏马毒素在菌体生长的对数期和平稳期内对两株供试菌的生长并没有产生太大的影响。

2.2 吸附伏马毒素后菌体的生长状况

由表 1 可以看出,在菌体与伏马毒素共同培养完成吸附后,对菌体进行平板菌落计数测定的菌体

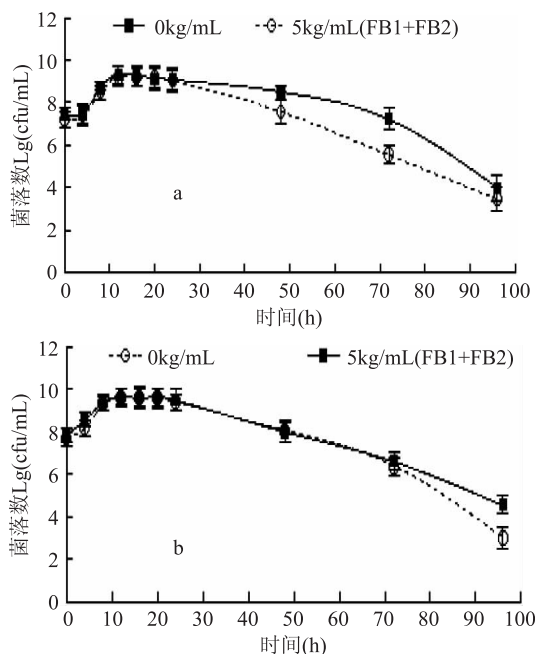


图1 伏马毒素对植物乳杆菌 B7
和戊糖乳杆菌 X8 生长的影响

Fig.1 Effects of fumonisins FB1 and FB2
on the growth of *L. plantarum* B7 and *L. pentosus* X8

注:a:植物乳杆菌,b:戊糖乳杆菌。

活力并没有显著性的变化,菌落数依然保持在 10^8 数量级。说明 $5\mu\text{g/mL}$ 的伏马毒素没有影响植物乳杆菌 B7 和戊糖乳杆菌 X8 的活力。

表1 吸附伏马毒素 FB1、FB2 后菌体的
生长情况 (Lg (CFU/mL))

Table 1 Growth of the strains B7 and
X8 bound to fumonisins FB1 and FB2 (Lg (CFU/mL))

菌株	伏马毒素的浓度	
	0	5
植物乳杆菌 B7	9.04 ± 0.35	8.69 ± 0.52
戊糖乳杆菌 X8	8.89 ± 0.19	8.74 ± 0.30

注:菌体吸附伏马毒素后的菌落数采用平均值 $\pm$ 标准差,实验做三次平行。

2.3 影响菌体吸附伏马毒素的因素

2.3.1 菌体的活性 冷冻解冻,热灭活的处理后的菌体与未做处理的菌体相比较,两株菌脱除伏马毒素的能力并没有受到显著影响 ($p > 0.05$),说明菌体的活性与菌体脱除毒素的能力无关。同时,说明菌体脱除毒素的效果是物理吸附而不是降解作用。图2所示热灭活后的菌体对伏马毒素的吸附能力略高于对照组,这一现象可能与热处理改变了细胞壁的结构有关^[8]。

2.3.2 pH pH 对 B7 和 X8 吸附伏马毒素的影响显著。由图3可以看出,两株菌体对伏马毒素的吸附率随 pH 的升高而降低;在 pH 为 3 时,两株菌吸附伏马毒素的能力较高,B7 和 X8 对伏马毒素 FB2 的吸附率都在 80% 以上,对 FB1 的吸附率也在 50% 以上。但当 $\text{pH} \geq 7$ 时,两株菌体对 FB1 的吸附率都趋近于 0,对 FB2 的吸附率较 $\text{pH} < 7$ 时降低明显。这

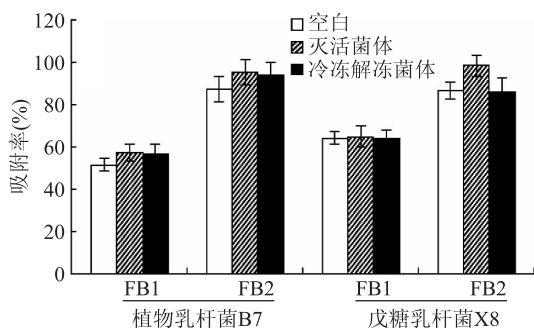


图2 菌体活性的影响

Fig.2 Effects of activity on binding FB1 和 FB2

可能与 pH 对菌体细胞壁的作用及 FB1、FB2 结构上的差异有关。其次,同一 pH 下,植物乳杆菌 B7 和戊糖乳杆菌 X8 吸附伏马毒素的能力存在菌株间的差异。戊糖乳杆菌 X8 对 FB1 的吸附率明显高于植物乳杆菌 B7;在 pH 分别为 5 和 6 时,X8 对 FB2 的吸附率高于 B7 的程度更加显著 ($p < 0.01$)。

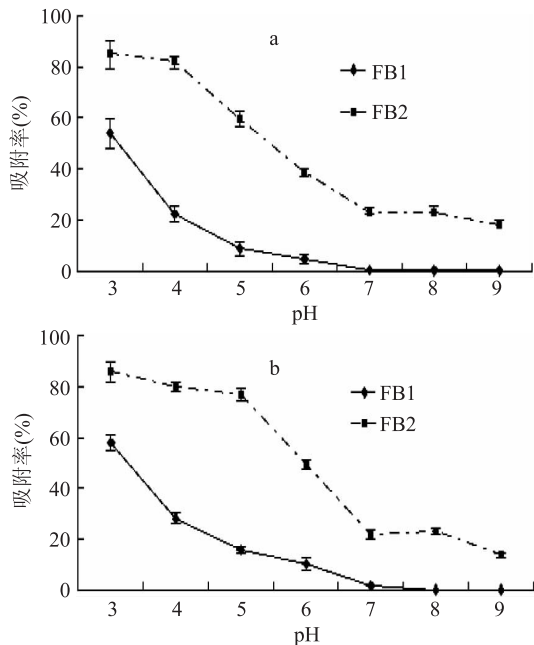


图3 pH 对植物乳杆菌 B7

和戊糖乳杆菌 X8 吸附伏马毒素的影响

Fig.3 Effects of pH on binding FB1
and FB2 by *L. plantarum* B7 and *L. pentosus* X8

注:(a)植物乳杆菌;(b)戊糖乳杆菌。

2.3.3 化学/酶处理 由表2可见,经 HCL 和 10% TCA 处理的菌体,吸附伏马毒素的能力都有所增加,特别是植物乳杆菌 B7 和戊糖乳杆菌 X8 对 FB1 的吸附率提高显著 ($p < 0.01$);而经溶菌酶处理过的菌体,其对伏马毒素的吸附能力下降明显 ($p < 0.01$)。B7 和 X8 对 FB1 的吸附率降到了 10% 以下,而吸附率较高的 FB2 分别下降到了 13% 和 26%。

3 讨论与结论

伏马毒素危及人类和动物的健康,乳杆菌吸附毒素后可以减少胃肠道对伏马毒素的吸收,进而可能降低对人畜的危害^[9]。目前,去除伏马毒素的研究大多数还停留在物理和化学方法上,鲜有文章研究

表2 化学处理及酶处理对植物乳杆菌 B7 和戊糖乳杆菌 X8 吸附伏马毒素 FB1、FB2 的影响
Table 2 Effect of chemical and enzymatic treatments of bacteria on binding of fumonisin B1 and B2 by *Lactobacillus plantarum* B7 and *Lactobacillus pentosus* X8

处理方法	FB1		FB2	
	植物乳杆菌 B7 吸附率(%)	戊糖乳杆菌 X8 吸附率(%)	植物乳杆菌 B7 吸附率(%)	戊糖乳杆菌 X8 吸附率(%)
化学方法				
水,100℃,15min(对照)	52.4 ± 3	57.7 ± 6	87.5 ± 3	86 ± 5
HCL,1mol/L,100℃,15min	93.2 ± 5 **	86.1 ± 5 **	89.5 ± 9	96.4 ± 3
10% TCA,100℃,15min	90.8 ± 5 **	87.7 ± 7 **	95 ± 4	91.5 ± 8
酶处理				
未处理(对照)	51.5 ± 2	60.4 ± 4	84.7 ± 5	82.9 ± 5
溶菌酶	ND	9.4 ± 5 **	13.0 ± 4 **	26.0 ± 5 **

注:**:差异性显著($p < 0.01$)。

乳杆菌对伏马毒素的脱除作用。

本研究选用植物乳杆菌 B7 和戊糖乳杆菌 X8 对伏马毒素的脱除作用进行研究,证实两株乳杆菌能较好地脱除伏马毒素。从两株乳杆菌的生长过程看,5μg/mL 伏马毒素几乎对菌体的生长没有影响,且吸附毒素后菌体的活菌数并没有降低。这表明在发酵过程中乳杆菌或许具有脱除伏马毒素的能力。冷冻解冻处理对两株乳杆菌脱除 FB1 和 FB2 并没有产生显著的影响;而热灭活处理提高了菌体脱除毒素的能力,这说明菌体的活性并不影响其对毒素的脱除,与生理代谢作用无关。pH、热处理、化学处理和酶处理等能显著改变细胞壁结构的一些方式都会提升或降低乳杆菌结合伏马毒素的效果,推测乳杆菌细胞壁的结构可能与菌株脱除伏马毒素的能力相关。

在乳杆菌脱除伏马毒素的过程中,菌体吸附伏马毒素的能力随 pH 的升高而降低。同时,pH 对两株乳杆菌的影响存在差异(图 3 和图 4),这可能与构成细胞壁骨架的肽聚糖的差异性有关。pH 之所以是影响菌体吸附伏马毒素的重要因素,一方面是因为在酸性条件下,细胞壁多糖中的糖苷键发生断裂,释放出游离的单糖,细胞壁表面的蛋白质及肽链中的硫酸键遭到破坏,使原有细胞壁的结构发生改变,削弱了细胞壁的致密性,增加了毒素与细胞壁间的相互作用,这也是具有完整结构的菌体不能够达到的^[12];另一方面,伏马毒素的三羧酸结构是与菌体细胞壁相互作用的重要部位^[10],在酸性条件下,可能抑制了三羧酸结构的水解,使之能更好地与细胞壁结合。

加热和酸处理都能够提高菌体对伏马毒素的脱除能力(表 2),因为这些处理都改变了菌体细胞壁的表面结构,暴露出更多与伏马毒素结合的位点。El-Nezami 在黄曲霉毒素 B1 和玉米烯酮的研究中也证实了这一点^[13]。

李莹等^[14]比较了用 10% TCA 法、苯酚法、SDS 法、TX-100 法去除细胞壁中的磷壁酸的效果后发现,10% TCA 能够有效去除细胞壁中的磷壁酸,很好的增加细胞壁的通透性。所以,两株乳杆菌在 10%

TCA 蒸煮处理 15min 后,细胞壁的结构变得疏松,暴露出更多能够与伏马毒素结合的位点,其吸附伏马毒素的能力显著提高($p < 0.01$)。溶菌酶处理菌体后,菌体对伏马毒素的吸附能力明显降低($p < 0.01$),这是因为溶菌酶能够水解形成聚糖骨架的 β-1,4 糖苷键^[15],彻底打破了肽聚糖的三维立体网状结构,导致吸附毒素的能力降低。

综上,在与伏马毒素 FB1 和 FB2 共同培养时,乳杆菌的生长和活菌数量没有受到显著影响,且具有结合伏马毒素的能力;改变细胞壁结构的各种处理方式都有助于提高乳杆菌吸附 FB1 和 FB2 的效果,但破坏细胞壁结构的处理方式(如溶菌酶)会降低菌体吸附 FB1 和 FB2 的效果。这说明菌体细胞脱除毒素的能力主要是生物吸附而非生物降解,菌体吸附毒素的能力与其本身的活性无关,而是与其细胞壁的结构密切相关。然而,细胞壁上的何种成分以及通过何种相互作用方式来吸附伏马毒素仍然有待进一步探究。

参考文献

[1]漆叶琼,张佳涛,潘向辉,等.乳杆菌吸附苯并芘的特性[J].微生物学报,2011,51(7):956-964.
[2]Niderkorn D P, Morgavi E, Pujos, et al. Screening of fermentative bacteria for their ability to bind and biotransform deoxynivalenol, zearalenone and fumonisins in an *in vitro* simulated corn silage model [J]. Food Additives and Contaminants,2007,24(4):406-415.
[3]韩鹏飞,贺稚非,李红军,等.微生物细胞壁结构及结合真菌毒素的研究进展[J].食品科学,2012,33(11):294-298.
[4]徐瑾,伍松龄,常晓娇,等.伏马菌素生物合成和降解的研究[J].中国粮油学报,2013,28(7):119-123.
[5]王金昌,王小红,杨一兵,等.伏马菌素的毒害及脱毒防控技术的研究进展[J].江西科学,2009,27(1):76-80.
[6]Sun Gui-ju, Wang Shao-kang, Hu Xu, et al. Fumonisin B1 contamination of home-grown corn in high-risk areas for esophageal and liver cancer in China [J]. Food Additives and Contaminants,2007,24(2):181-185.

(下转第 170 页)

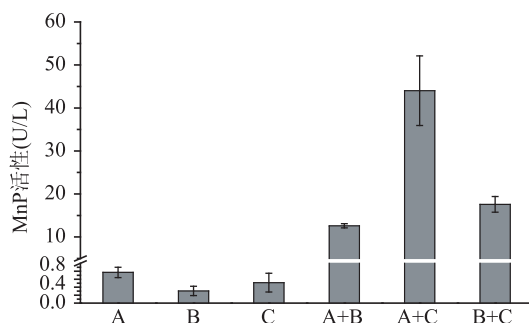


图4 不同真菌菌丝种间诱导对 MnP 酶活的影响

Fig.4 Effect of different hyphal interspecific induction on MnP activity

注:A: *Trametes versicolor*; B: *Pleurotus ostreatus*;

C: *Dichomitus squalens*, D: *Bjerkandera adusta*。

共培养的 MnP 活性较单一培养时均有明显增加,因此推测这三种白腐菌可能具有种间诱导潜力。

参考文献

- [1] 王敏,白腐菌降解木质素研究进展[J].衡水学院学报,2011,13(1):51-53.
- [2] Hatakka A, Biodegradation of lignin. In: Hofrichter M, Steinbuechel A, editors. Biopolymers. Vol. 1 - Lignin, humic substances and coal[J]. Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2001, p:129-180.
- [3] 胡雪竹.木质素降解酶的研究进展[J].安徽农业科学,2011,39(11):6326-6328.
- [4] Maciel M J M, Silva A C, Ribeiro H C T. Industrial and biotechnological applications of ligninolytic enzymes of the basidiomycota: A review[J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2010, ISSN:0717-3458.
- [5] Elisashvili V, Kachlishvili E. Physiological regulation of laccase and manganese peroxidase production by white - rot Basidiomycetes[J]. Journal of Biotechnology, 2009, 144:37-42.
- [6] Yakovlev I A, Hietala A M, Courty P E, et al. Genes associated with lignin degradation in the polyphagous white - rot pathogen Heterobasidion irregulare show substrate-specific regulation[J]. Fungal Genetics and Biology, 2013, 56:17-24.

(上接第 165 页)

- [7] 宫慧芝,那磊,李岩溪,等.玉米中伏马菌素 B1 高效液相色谱检测[J].中国公共卫生,2008,24(3):381-382.
- [8] Chiara Dall'Asta, Mattia Mangia, Franz Berthiller, et al. Difficulties in fumonisin determination: the issue of hidden fumonisins[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2009 (395):1335-1345.
- [9] He - Mendoza A, Garcia HS, Steele JL. Screening of Lactobacillus casei strains for their ability to bind Aflatoxin B1. [J]. Food and Chemical Toxicology, 2009 (47):1064-1068.
- [10] V Niderkorn, D P Morgavi, B Aboab, et al. Cell wall component and mycotoxin moieties involved in the binding of fumonisin B1 and B2 by lactic acid bacteria[J]. Journal of Applied Microbiology, 2009 (106):977-985.
- [11] V Niderkorn, H Boudra, D P Morgavi. Binding of fusarium

[7] Christian V V, Shrivastava R, Novotny C, et al. Decolorization of sulfonphthalein dyes by manganese peroxidase activity of the white rot fungus Phanerochaete chrysosporium[J]. Folia Microbiol (Praha), 2003, 48:771-774.

[8] Xu H, Scott G, Jiang F, et al. Recombinant manganese peroxidase (rMnP) from Pichia pastoris. Part 1: Kraft pulp delignification[J]. Holzforschung, 2010a, 64:137-143.

[9] Xu H, Scott G, Jiang F, et al. Recombinant manganese peroxidase (rMnP) from Pichia pastoris. Part 2: application in TCF and ECF bleaching[J]. Holzforschung, 2010b, 64:145-151.

[10] Grzegorz J, Katarzyna H K, Anna P, et al. Fungal laccase, manganese peroxidase and lignin peroxidase: Gene expression and regulation[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2013, 52:1-12.

[11] Paszczynski A, Crawford R L, Huynh V B. Manganese peroxidase of Phanerochaete chrysosporium: purification [J]. Methods Enzymol, 1988, 161:264-270.

[12] 周金燕,张发群.愈创木酚法测定锰过氧化物酶活力[J].纤维素科学与技术,1993,1(1):34-37.

[13] Wariishi H, Akaleswaran L, Gold M H. Manganese peroxidase from the basidiomycete Phanerochaete chrysosporium: spectral characterization of oxidized states and the catalytic cycle[J]. Biochemistry, 1988, 27:5365-5370.

[14] 池玉杰,伊洪伟.木材白腐菌分解木质素的酶系统-锰过氧化物酶、漆酶和木质素过氧化物酶催化分解木质素的机制[J].菌物学报,2007,26(1):153-160.

[15] 肖亚中,张敏,吴涓,等.影响白腐真菌-菌株漆酶合成的因子和发酵条件[J].生物工程报,2001,2(2):137-140.

[16] 李慧蓉.白腐真菌生物学和生物技术[M].北京:化学工业出版社,2005.

[17] 徐春燕,王宏勋,周建兵,等.诱导物和金属离子对竹子白腐菌降解影响的研究[J].生物技术,2005,15(6):68-69.

[18] 丁少军,王传槐.不同培养条件对云芝木质素降解酶产酶影响的研究[J].纤维素科学与技术,1994,2(2):36-46.

[19] Chi Y, Hatakka A, Maijala P. Can co-culturing of two white - rot fungus increase lignin degradation and the production of lignin - degrading enzymes? Int [J]. Biodeterioration. Biodegradation, 2007, 59:32-39.

mycotoxins by fermentative bacteria *in vitro* [J]. Journal of Applied Microbiology, 2006 (101):849-856.

[12] Zhang X B, Ohta Y. Binding of mutagens by fractions of the cell wall skeleton of lactic acid bacteria on mutagens[J]. Journal of Dairy Science, 1991, 74(5):1477-1481.

[13] EL-Nezami H, Kankaanpää P, Salminen S, et al. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen, aflatoxin B1 [J]. Food and Chemical Toxicology, 1998 (36):321-326.

[14] 李莹.婴儿双歧杆菌完整肽聚糖提取及其理化特性的研究[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2009.

[15] 朱丽,韩德权,张家玲,等.植物乳杆菌细胞壁肽聚糖的分离及鉴定[J].黑龙江大学自然科学学报,2011,28(1):113-116.