

高吸附杂环胺乳酸菌的筛选、吸附特性及机理研究

王惠汀¹, 刘培清³, 晓燕², 苏琳¹, 靳焯¹, 赵丽华^{1*}

(¹ 内蒙古农业大学 呼和浩特 010018)

² 呼和浩特市抽样监测与重大活动保障中心 呼和浩特 010018

³ 乌兰察布市市场监督管理局 内蒙古乌兰察布 012000)

摘要 采用高效液相色谱法筛选对 2-氨基-1-甲基-6-苯基-咪唑[4,5-b]吡啶(PhIP)具有高吸附作用的乳酸菌,并对其吸附特性进行研究,采用扫描电镜及傅里叶红外光谱分析解释其吸附机理。结果显示:菌株 37X-6、37X-15 和 X3-1B 对 PhIP 具有较高的吸附能力,吸附率分别为 80.43%、83.36%和 76.69%,且当菌株细胞浓度为 10¹⁰ CFU/mL、pH 6、温度 37℃、吸附时间 1.5 h 时,菌株的吸附效果最好。热处理及酶处理结果表明,菌株吸附作用与其活力无关,属于物理性吸附;酶处理后菌株吸附率均有所增加。菌株吸附 PhIP 后细胞表面出现明显损伤,其吸附部位主要在细胞壁,且 C-N、O-H、N-H、C-O 等基团参与吸附过程。乳酸菌对 PhIP 具有吸附作用(物理性吸附),其吸附作用与菌株细胞壁有关。

关键词 乳酸菌; 杂环胺; 筛选; 吸附

文章编号 1009-7848(2023)06-0041-07 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2023.06.005

杂环胺类化合物(Heterocyclic aromatic amines, HAAs)是富含蛋白质的食物在加工过程中产生的一类致癌、致突变性的物质。20 世纪 70 年代,人们首次在烤牛肉和烤鱼表面发现了杂环胺,并发现长期摄入含 HAAs 的食物会增加患结肠癌、乳腺癌、肝癌等癌症的风险^[1]。目前,人类已发现近 30 种 HAAs^[2]。研究表明,一些富含蛋白质的肉制品如腌腊肉制品、油炸肉制品、酱卤肉制品等经过高温加热后都被检出杂环胺^[3]。随着生活水平的提高,人们对于食物的要求不再只是色、香、味,而更侧重于食物的安全品质。

研究发现,可以通过多种方式来抑制杂环胺的形成,例如:适当降低加热温度、缩短加热时间以及对原料肉进行微波预处理来减少加工肉制品中杂环胺的产生^[4-6];添加香辛料、黄酮类等抗氧化物质来抑制杂环胺的生成^[7-8]。

虽然有大量的方法可以控制杂环胺的形成,减少食用者的摄入,但是仍有部分杂环胺进入体

内,因此,对于杂环胺代谢的调控也是必不可少的。有研究表明,部分发酵乳制品中的乳酸菌可以吸附未代谢的 HAAs,从而使其失活,不能再进行代谢,最后排出体外。Bolognani 等^[9]确定了产乳酸生物体的活培养物对膳食致癌物的结合作用,并研究乳酸菌对苯并[a]芘、杂环胺(2-氨基-3-甲基咪唑[4,5-f]喹啉(2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, IQ)、2-氨基-3,4-二甲基咪唑[4,5-f]喹啉(2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline, MeIQ)、2-氨基-3,8-二甲基咪唑[4,5-f]喹啉(2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline, MeIQx)、3-氨基-1-甲基-5H-吡啶[4,3-b]吲哚(3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole, Trp-P-2)、PhIP)的结合能力,结果发现,长双歧杆菌和嗜酸乳杆菌对苯并[a]芘和 Trp-P-2 的结合最为有效,而对 MeIQx、MeIQ、PhIP 和 IQ 的结合能力较差,且乳酸菌对杂环胺的吸附能力与培养过程中的 pH 值条件密切相关。目前,多数人认为其吸附机理是乳酸菌中细胞壁上的肽聚糖与 HAAs 发生阳离子交换^[10]。

本研究筛选对 PhIP 具有高吸附能力的乳酸菌,研究其吸附特性及机理,以期减少肉制品中 PhIP 的含量,为我国乳酸菌的综合开发和利用提供新思路。

收稿日期: 2022-06-20

基金项目: 内蒙古自治区科技计划项目(201802067);内蒙古成果转化项目(2019CG066);内蒙古自治区自然科学基金重大专项(20202D11);国家自然科学基金项目(32160589)

第一作者: 王惠汀,女,硕士生

通信作者: 赵丽华 E-mail: 867051675@qq.com

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

植物乳杆菌(37X-6)、戊糖片球菌(37X-15)、弯曲乳杆菌(X3-1B)对 PhIP 具备较高的吸附能力,均由内蒙古农业大学肉品科学与技术团队提供。菌种存于 30%甘油冻存管中,于-80℃保存待用。

MRS 液体培养基:醋酸钠·3H₂O 5 g、酵母提取粉 5 g、柠檬酸氢二铵 2 g、磷酸氢二钾 2 g、大豆蛋白胨 10 g、牛肉浸粉 10 g、吐温 80 1 mL、葡萄糖 20 g、盐液 A 5 mL、蒸馏水 1 000 mL,pH 6.2~6.3,121℃灭菌 15 min。

盐液 A:MgSO₄·7H₂O 11.5 g、MnSO₄·4H₂O 2.8 g、蒸馏水 1 000 mL。

1.2 仪器与设备

Agilent 1260vwd 型高效液相色谱仪,美国安捷伦公司;DSH-300A 型回旋式水浴恒温振荡器;Centrifuge 5810R 型高速冷冻离心机,安徽中科中佳科学仪器有限公司;SN510C 型立式压力蒸汽灭菌器,重庆雅马拓科技有限公司;电热恒温培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;TESCAN MIRA4 型扫描电子显微镜,泰思肯贸易(上海)有限公司;Thermo Scientific NICOLET iS20 型傅里叶红外光谱仪,赛默飞。

1.3 方法

1.3.1 供试菌株的制备 甘油保存的菌株解冻后,接种于 5 mL MRS 液体培养基中,在培养箱中培养 18~24 h,获得一代菌。之后按照 2%接种量,将菌株活化三代。将活化好的三代菌液离心(4℃,6 000 r/min,5 min)弃上清,用超纯水洗涤菌体 2 次(4℃,6 000 r/min,5 min)后调整细胞浓度为 1×10¹⁰ CFU/mL 用于后续试验。

1.3.2 菌株对 PhIP 的吸附 将 1.3.1 节中所得到的菌泥中加入 1 mL 无菌超纯水,5 μL PhIP 标准工作液(50 mg/L),振荡匀混后,于 37℃培养 20 min 后,于 4℃、12 000×g 下离心 15 min,收集上清,过 0.22 μm 有机滤器,用 HPLC 测定上清液中 PhIP 的含量。以不含菌株的 PhIP 水溶液为空白对照。

菌体对 PhIP 的吸附率按计算公式:

吸附率(%)=

$$\frac{\text{空白样品中 PhIP 的含量}-\text{上清液中 PhIP 的含量}}{\text{空白样中 PhIP 的含量}}$$

×100

1.3.3 各因素对菌株吸附 PhIP 的影响

1.3.3.1 吸附时间的影响 按 1.3.1 节和 1.3.2 节操作,将菌株调至 pH 6,与 PhIP(50 mg/L)于 37℃培养,分别在 0,0.3,1.5,24,48,72,96,120,144 h 取样,测定不同时间对菌株吸附 PhIP 的影响。

1.3.3.2 吸附温度的影响 按 1.3.1 节和 1.3.2 节操作,将菌株调至 pH 6,与 PhIP(50 mg/L)分别于 4,20,37,45℃培养 1.5 h,测定不同温度对菌株吸附 PhIP 的影响。

1.3.3.3 pH 值的影响 将 1.3.1 节制得的菌株分别悬浮于 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液(pH 3,4,5,6)和 Tris-HCl 缓冲液(pH 7,8,9)中,与 PhIP(50 mg/L)于 37℃培养 1.5 h,测定不同 pH 值对菌株吸附 PhIP 的影响。以不含菌株的缓冲液与 PhIP 工作液混合作为空白对照。

1.3.3.4 菌体细胞浓度的影响 将菌株细胞浓度分别调整至 1×10⁶,1×10⁷,1×10⁸,1×10⁹,1×10¹⁰ CFU/mL,pH 值调至 6,与 PhIP(50 mg/L)于 37℃培养 1.5 h,测定不同菌体细胞浓度对菌株吸附 PhIP 的影响。

1.3.4 不同处理方式对菌株吸附 PhIP 的影响

1.3.4.1 热处理 将 1.3.1 节制得的菌株于 100℃下加热 30 min,按操作 1.3.2 节测定菌株对 PhIP 的吸附能力。以未经热处理的菌株作为对照。

1.3.4.2 酶处理 将 1.3.1 节制得的菌株分别悬浮于 10 mg/mL 中性蛋白酶、碱性蛋白酶、胃蛋白酶,40℃摇床(150×g)培养 4 h,无菌水洗涤 2 次,按操作 1.3.2 节测定菌株对 PhIP 的吸附能力。以未经酶处理的菌株作为对照。

1.3.5 乳酸菌吸附 PhIP 前、后扫描电镜观察 将-80℃保存的乳酸菌接种于 5 mL MRS 培养基中,37℃培养 18~24 h,按 2%接种量连续活化 3 代,按照 1.3.2 节测定菌株对 PhIP 的吸附能力,取吸附前后的菌体沉淀悬浮于 2.5%戊二醛,于 4℃冰箱中固定过夜,4℃、6 000 r/min 离心 5 min,弃上清。用 0.1 mol/L PBS(pH 7.2)离心洗涤菌体 3 次,每次 10 min,然后用 50%,70%,80%,90%,95%,100%的乙醇脱水,每次 10 min,之后将菌体沉淀

悬浮于乙酸异戊酯中,4℃冰箱中过夜,于冷冻干燥机中进行干燥处理。将干燥后的样品粘贴在铜台上,喷金后于扫描电镜下观察。

1.3.6 乳酸菌吸附 PhIP 前后傅里叶红外光谱分析 将-80℃保存的乳酸菌接种于 5 mL MRS 培养基中,37℃培养 18~24 h,按 2%接种量连续活化 3 代,按照 1.3.2 节测定菌株对 PhIP 的吸附能力,取吸附前后的菌体沉淀,于-80℃冰箱中预冻 24 h,于冷冻干燥机中进行干燥处理。称取 2 mg 菌粉与 200 mg 溴化钾粉末混合,研磨均匀后取适量粉末进行压片,成型后置于傅里叶红外光谱仪的检测台上,于 4 000~400 cm⁻¹ 波数范围内扫描。

1.4 数据处理

每组试验重复 3 次,利用 SPSS 26.0 进行单因素方差分析与显著性差异分析,数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。图表利用 Excel 软件进行绘制,差异显著, $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 具有高吸附 PhIP 能力乳酸菌的筛选

本试验所用乳酸菌菌株主要分离自酸奶、酸菜汁、兰州大麦等发酵性食品,包括植物乳杆菌、戊糖片球菌等在内的 3 个种共 8 株菌。由表 1 可以看出,乳酸菌菌种对 PhIP 吸附能力没有菌株特异性,同一菌种内吸附率有高有低。所选 8 株乳酸菌中,戊糖片球菌 37X-15 具有较高的吸附率,为 83.36%,植物乳杆菌 CL4-3 吸附率最低,为 7.93%。

2.2 各因素对菌株吸附能力的影响

2.2.1 时间对菌株吸附能力的影响 由图 1 可知,3 株菌对 PhIP 的吸附率变化趋势基本相同,均随吸附时间的增加,吸附率先升高后降低,而后趋于稳定。在 0 h 时,菌株吸附率就已达到 70%~80%,这是因为菌株对 PhIP 的吸附可在较短的时间内完成,是一个快速的过程^[11]。之后随着时间的延长,吸附率逐渐增加,菌株 37X-15 在 1.5 h 时吸附率达到最大,为 85.82%,之后吸附率开始下降,直到 96 h 之后趋于平稳,与 144 h 无显著性差异;37X-6 和 X3-1B 于 24 h 时吸附率达到最大,分别为 82.55%和 77.00%,其中 37X-6 于 96 h 开始趋于平衡,X3-1B 于 120 h 开始趋于平衡。吸附率趋于稳定的原因可能是表面结合位点饱和并达

表 1 不同菌株的 PhIP 吸附能力

Table 1 Different strains on high PhIP adsorption capacity

种名	菌种编号	吸附率%
植物乳杆菌	37X-6	80.43 ± 1.42
	X3-2B	39.75 ± 0.74
	AL6-1	17.27 ± 0.51
	BL4-8	11.40 ± 1.17
	CL4-3	7.93 ± 1.16
	ML2-2	19.82 ± 1.15
戊糖片球菌	37X-8	65.65 ± 2.66
	37X-15	83.36 ± 1.25
弯曲乳杆菌	X3-1B	76.96 ± 1.04

到了平衡^[12]。

2.2.2 温度对菌株吸附能力的影响 由图 2 可知,菌株 37X-15 和 X3-1B 随温度的上升,吸附率先增加然后逐渐下降,且于 37℃吸附率达到最大值,分别为 83.51%和 73.00%,而菌株 37X-6 于 37℃逐渐趋于平衡,变化幅度较小,这与解琳等^[13]研究结果一致。菌株会在适宜的温度下生长,不同的温度对其生长及活力影响不一,同时菌株对 PhIP 的吸附能力也会受到温度的影响。这可能是因为温度影响了细胞壁酶的活性,导致菌体吸附率受到影响^[14]。由此可知,菌株吸附 PhIP 的最适温度为 37℃。

2.2.3 pH 值对菌株吸附能力的影响 由图 3 可知,3 株菌在 pH 值的影响下吸附率呈现出相同的变化趋势,均随 pH 值的升高先增加后减少,当 pH 值为 6 时,3 株菌的吸附率均达到最大值,其中 37X-15 的吸附率最高,为 83.12%,37X-6 次之,为 80.85%,X3-1B 吸附率最小,为 74.35%。当 pH 值大于 6 时,菌株吸附率显著降低,最终在 pH 值为 8 时达到平衡。研究发现,乳酸菌对致癌因子的吸附重要因素之一就是 pH 值,不同的 pH 值对致癌物质吸附效果影响不一,这可能是因为 pH 值会影响细胞壁上一些吸附基团如氨基、巯基、磷酸盐等,从而影响吸附平衡时间和吸附能力^[15]。

2.2.4 菌体浓度对菌株吸附能力的影响 由图 4 可知,3 株菌随菌株浓度的增加吸附率变化趋势相同,均随菌株浓度的增加吸附率先增加而后趋于平衡,菌株 37X-15 和 X3-1B 于 10⁹ CFU/mL 开始趋于平衡,而菌株 37X-6 对 PhIP 还会有缓慢增

加,但增加不显著。3株菌吸附率均于 10^{10} CFU/mL 达到最大值,且菌株 37X-15 吸附率最大,37X-6 次之,X3-1B 最小,吸附率分别为 84.33%, 83.54%, 71.23%。吸附率趋于稳定或缓慢增加的

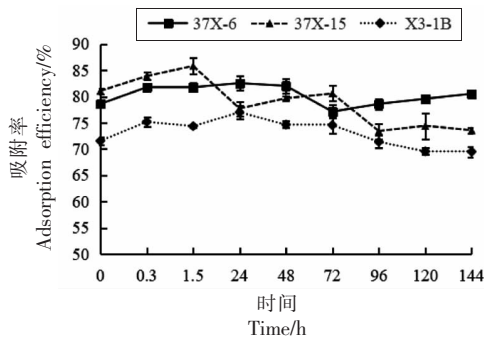


图1 吸附时间对菌株吸附 PhIP 的影响

Fig.1 Effect of adsorption time on PhIP adsorption by strains

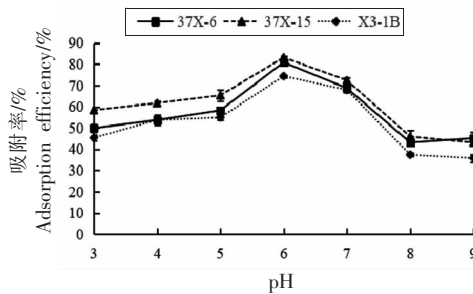


图3 pH 值对菌株吸附 PhIP 的影响

Fig.3 Effect of pH on PhIP adsorption by strains

2.3 不同处理方式对菌株吸附 PhIP 的影响

2.3.1 热处理对菌株吸附 PhIP 的影响 为了确定菌株细胞活性是否会对吸附作用有影响,对 3 株菌进行热灭活处理。由表 2 可以看出,3 株菌经热灭活处理后,热处理之后菌株的吸附率较未处理菌株的吸附能力有所增加,说明菌株对 PhIP 的吸附作用与其活力无关,并非是由于菌株生理代谢所引起的。Sreekumar 等^[16]研究发现,菌体吸附 PhIP 后形成的物质稳定性较低,是一种物理性吸附。热处理之后菌体吸附率增加的原因可能是热处理使蛋白质变性,从而使肽聚糖层交联减少,暴露出了更多的结合位点,进而对菌株吸附 PhIP 效果发生变化^[18]。

2.3.2 酶处理对菌株吸附 PhIP 的影响 由图 5

原因可能是菌体对致癌物质的吸附能力是有限的,当吸附率达到一定程度后,菌体表面部位的吸附位点达到平衡,吸附率将不再增加^[16]。这与李佳祺^[17]研究结果一致。

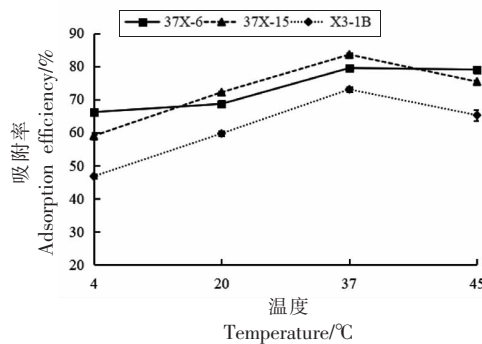


图2 温度对菌株吸附 PhIP 的影响

Fig.2 Effect of temperatures on PhIP adsorption by strains

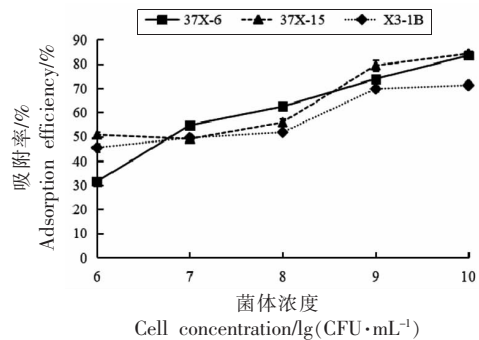


图4 菌株浓度对菌株吸附 PhIP 的影响

Fig.4 Effect of cell concentrations on PhIP adsorption by strains

表2 菌体活力对菌株吸附 PhIP 的影响

Table 2 Effect of bacteria vitality on PhIP adsorption by strains

菌株名称	未处理	热处理
37X-6	77.90 ± 1.50	83.56 ± 0.79
37X-15	79.43 ± 0.79	86.38 ± 0.95
X3-1B	71.37 ± 2.17	78.24 ± 0.85

可知,菌株经酶处理后对 PhIP 吸附率均有所提高,不同蛋白酶处理对菌株产生了不同的影响,其中菌株 37X-15 经碱性蛋白酶处理后,吸附率增加较显著,达到 89.26%;菌株 37X-6 经胃蛋白酶处理后吸附率由 80.43%增加到 86.67%;菌株 X3-1B 经中性蛋白酶处理后吸附率由 70.96%增加到

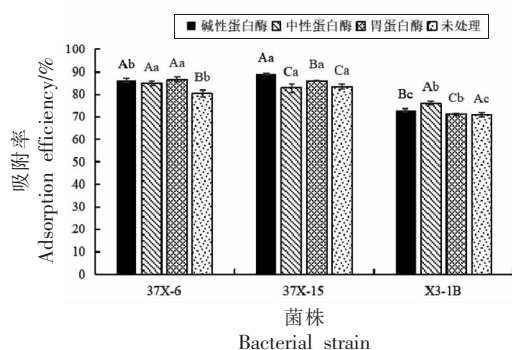


图 5 酶处理对菌株吸附 PhIP 的影响

Fig.5 Effect of enzyme treatment on PhIP adsorption by strains

76.07%。菌株吸附率增加的原因可能是菌体经蛋白酶处理后,使细胞壁上的蛋白质脱落,暴露了更多的吸附位点^[19]。而蛋白酶对菌株的作用较为温和,因此 3 株菌的吸附率均未发生显著变化。

2.4 菌株吸附 PhIP 前后扫描电镜观察

综上所述,菌株 37X-15 对 PhIP 有较好的吸附能力,为了进一步研究其吸附机理,本研究通过 SEM 观察吸附前后菌体表面的微观形态变化,从而判断 PhIP 对菌体细胞结构的影响。

图 6 为菌株吸附 PhIP 前后的扫描电镜图,其中 A 为菌株吸附前的电镜观察图,从图中可以看出,菌株在吸附前,细胞形态完整、菌体表面光滑,呈现出较为规则的圆形。B 为菌株吸附后的 SEM 图,可以看出菌株在吸附 PhIP 后,细胞表面遭到了严重的破坏,细胞形态变化极其明显,菌体细胞出现凹陷扁塌。这可能是因为 PhIP 进入细胞后取代了大量维持细胞平衡的阳离子,导致细胞面临了不利于生长的环境,不能良好生长,从而发生变形甚至破裂^[20]。

2.5 菌株吸附 PhIP 前后傅里叶红外光谱分析

为了进一步探究菌株 37X-15 在吸附 PhIP 前后细胞壁上化学基团变化情况,利用傅里叶红外光谱仪对菌株 37X-15 吸附 PhIP 前后进行了检测。

由图 7 可以看出,菌株 37X-15 吸附 PhIP 前后谱图出现明显差异,吸附后的谱图较吸附之前的谱图部分基团波数有所变化,峰位发生位移,主要体现在微生物分析灵敏区 $1\ 000\sim 2\ 000\ \text{cm}^{-1}$ 。说明菌株 37X-15 吸附 PhIP 后菌体细胞结构受到了

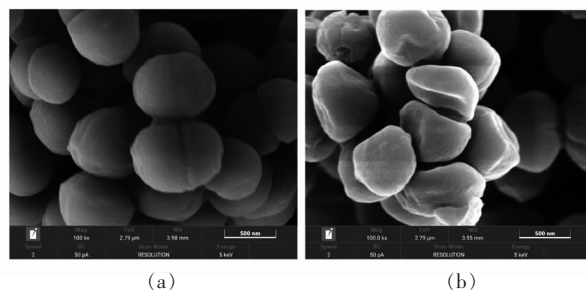


图 6 菌株吸附 PhIP 前后扫描电镜图

Fig.6 Scanning electron micrographs of strains before and after PhIP adsorption

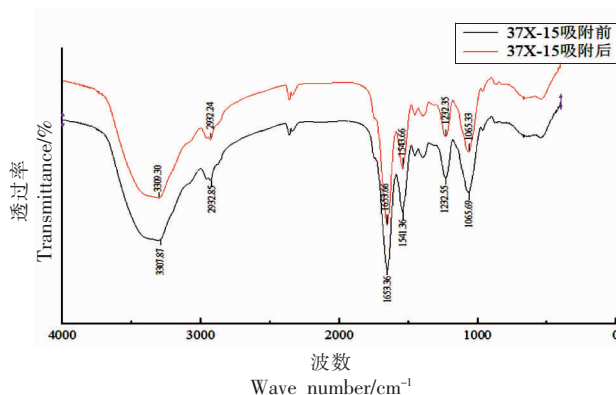


图 7 菌株吸附 PhIP 前后的红外光谱图

Fig.7 Infrared spectra of strains before and after PhIP adsorption

明显损伤。 $3\ 400\sim 3\ 200\ \text{cm}^{-1}$ 处宽而强的吸收峰为缔合 O-H 伸缩振动峰和 N-H 的伸缩振动峰共同作用形成,图中原位于 $3\ 388.87\ \text{cm}^{-1}$ 处伸缩振动峰移至 $3\ 309.30\ \text{cm}^{-1}$,这种变化表明可能是细胞壁上的-OH 和 N-H 参与了吸附; $2\ 970\sim 2\ 840\ \text{cm}^{-1}$ 为 CH_3 (甲基)、 CH_2 (亚甲基)和 CH (次甲基)中 C-H 键的伸缩振动峰,图中位于 $2\ 932.85\ \text{cm}^{-1}$ 的 C-H 伸缩振动峰位移至 $2\ 932.24\ \text{cm}^{-1}$,说明甲基、亚甲基、次甲基等基团参与吸附导致峰位移动; $1\ 680\sim 1\ 630\ \text{cm}^{-1}$ 处的峰为酰胺 I 带,是由酰胺基($-\text{CONH}_2$)中的 C=O 引起的伸缩振动, $1\ 653.36\ \text{cm}^{-1}$ 处的峰移动到了 $1\ 653.66\ \text{cm}^{-1}$ 处,说明蛋白质酰胺 I 带中的 C=O 键通过伸缩振动参与了 PhIP 的吸收与富集,但是位移不明显,可以认为 C-O 键的功能性官能团没有参与; $1\ 541\ \text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰为酰胺 II 带,是 N-H 弯曲振动和

C-N 伸缩振动; $1\ 232\ \text{cm}^{-1}$ 处为酰胺Ⅲ带, 主要是 C-N 伸缩振动和 N-H 弯曲振动, 酰胺峰 I 和酰胺峰 II 为蛋白质的特征吸收峰, 酰胺峰 III 仅有参考作用; $1\ 065\ \text{cm}^{-1}$ 对应多糖类 C-O 和 P=O 的存在^[21]。

综合以上结果, 菌株吸附 PhIP 的主要部位在细胞壁上, 细胞壁上各种官能团的活性直接影响菌株的吸附。参与 PhIP 吸附的基团有细胞壁上蛋白质酰胺 II 带、胺基中的 C-N、O-H、N-H、C-O、P=O 基团、细胞壁上的多糖成分, 同时细胞膜上的甲基、亚甲基、次甲基等基团也参与了吸附过程。

3 结论

本试验主要研究了乳酸菌对 PhIP 的吸附特性及机理。结果发现菌株 37X-6、37X-15 及 X3-1B 对 PhIP 有较好的吸附效果, 且当菌株细胞浓度为 10^{10} CFU/mL、pH 值为 6、温度 $37\ ^\circ\text{C}$ 、吸附时间为 1.5 h 时, 菌株的吸附效果最好。经蛋白酶和热处理后, 菌株对 PhIP 的吸附率无显著影响 ($P > 0.05$)。以具有 PhIP 高吸附性菌株 37X-15 为研究目标, 对其机理进行研究。通过扫描电镜及傅里叶红外光谱结果分析得知, 菌株吸附 PhIP 后, 细胞表面遭到了严重破坏, 细胞出现凹陷扁塌; 菌株吸附 PhIP 的主要部位在细胞壁上, 参与 PhIP 吸附的基团有细胞壁上蛋白质酰胺 II 带、胺基中的 C-N、O-H、N-H、C-O、P=O 基团、细胞壁上的多糖成分, 同时细胞膜上的甲基、亚甲基、次甲基等基团也参与了吸附过程。为乳酸菌进一步的合理开发利用提供了参考依据。

参 考 文 献

- [1] SUGIMURA T, NAGAO M. Mutagenic factors in cooked foods[J]. *Crc Critical Reviews in Toxicology*, 1979, 6(3): 189-209.
- [2] GIBIS M. Heterocyclic aromatic amines in cooked meat products: causes, formation, occurrence, and risk assessment[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety*, 2016, 15(2): 269-302.
- [3] 潘晗. 酱肉中 Norharman 和 Harman 形成机理的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2014: 11-19.
PAN H. The formation of norharman and harman in braised sauce meat[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014: 11-19.
- [4] 郭海涛. 加工条件对羊肉制品中杂环胺含量的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2013.
GUO H T. Effect of processing mehtods on the content of heterocyclic aromatic amines in lamb products[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2013.
- [5] 李利洁. 微波加热中杂环胺 PhIP 的形成规律及抑制机制[D]. 无锡: 江南大学, 2018.
LI L J. Formation regularities and inhibition mechanism of PhIP in the microwave heating[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2018.
- [6] FELTON J S, FULTZ E, DOLBEARE F A, et al. Effect of microwave pretreatment on heterocyclic aromatic amine mutagens/carcinogens in fried beef patties[J]. *Pergamon*, 1994, 32(10): 897-904.
- [7] BAO X X, MIAO J J, FAN Y X, et al. The effective inhibition of the formation of heterocyclic aromatic amines via adding black pepper in fried tilapia fillets [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2020, 44(5): 897-903.
- [8] 罗舟. 化学模型中黄酮对杂环胺的抑制作用研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2014.
LUO Z. Study on the inhibition effects of flavonoids on heterocyclic amines in chemical model syetem[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2014.
- [9] BOLOGNANI F, RUMNEY C J, ROWLAND I R. Influence of carcinogen binding by lactic acid-producing bacteria on tissue distribution and in vivo mutagenicity of dietary carcinogens [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 1997, 35(6): 535-545.
- [10] NOWAK A, CZYŻOWSKA A, STAŃCZYK M. Protective activity of probiotic bacteria against 2-amino-3-methyl-3H-imidazo [4, 5-f]quinoline (IQ) and 2-amino-1-methyl-6-phenyl-1H-imidazo [4, 5-b]pyridine (PhIP)-an in vitro study[J]. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2015, 32 (11): 1927-1938.
- [11] 刘畅, 刘阳, 邢福国, 等. 黄曲霉毒素 B1 吸附菌株的筛选及吸附机理研究[J]. *核农学报*, 2010, 24 (4): 766-771.
LIU C, LIU Y, XING F G, et al. Screening of aflatoxin B1 binding strains and binding mechanism

- of yeast strain Y1[J]. Journal of Nuclear Agronomy, 2010, 24(4): 766-771.
- [12] SUJATHA P, KALARANI V, KUMAR B N. Effective biosorption of nickel(II) from aqueous solutions using trichoderma viride[J]. Journal of Chemistry, 2013, 2013(9): 1-7.
- [13] 解琳, 郝宇, 齐欣, 等. 一株耐铅镉真菌的分离鉴定及其吸附特性的研究[J]. 微生物学报, 2020, 60(4): 780-788.
- XIE L, HAO Y, QI X, et al. Isolation, identification and adsorption characteristics of a lead-cadmium resistant fungus[J]. Journal of Microbiology, 2020, 60(4): 780-788.
- [14] ZINEDINE A, FAID M, BENLEMLIH M. In vitro reduction of Aflatoxin B1 by strains of lactic acid bacteria isolated from Moroccan Sourdough bread[J]. International Journal of Agriculture & Biology, 2005, 1(7): 67-70.
- [15] LI X H, XU H X, GAO B, et al. Efficient biosorption of Pb (II) from aqueous solutions by a PAH-degrading strain *Herbaspirillum chlorophenolicum* FA1[J]. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2018, 57(25): 64-71.
- [16] SREEKUMAR O, HOSONO A. The heterocyclic amine binding receptors of *Lactobacillus gasseri* cells [J]. Mutation Research, 1998, 421(1): 65-72.
- [17] 李佳祺. 体外消化过程中乳酸菌对丙烯酰胺的减控作用及机制研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2018.
- LI J Q. Study on the effect and mechanism of lactic acid bacteria on the mitigation of acrylamide in vitro digestion[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2018.
- [18] 陈漪汶, 李溪, 雷柳琳, 等. 活性与灭活乳酸菌吸附霉菌毒素的机制[J]. 饲料工业, 2018, 39(18): 57-64.
- CHEN Y W, LI X, LEI L L, et al. Adsorption mechanism of mycotoxins by active and inactivated lactic acid bacteria[J]. Feed Industry, 2018, 39(18): 57-64.
- [19] 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.
- QI Y Q, ZHANG J T, PAN X H, et al. Binding of benzo(a) pyrene by *Lactobacilli* strains[J]. Journal of Microbiology, 2011, 51(7): 956-964.
- [20] 倪奕弘. 耐受重金属铜的乳酸菌的筛选及其铜结合性能的研究[D]. 广州: 暨南大学, 2014.
- NI Y H. Screening and characterization of copper-resistant *Lactobacillus*[D]. Guangzhou: Jinan University, 2014.
- [21] 丽丽. 粘质红酵母菌 WT6-5 对水中 Pb²⁺ 的耐受性及吸附作用研究[D]. 沈阳: 东北大学, 2013.
- LI L. Study on heavy metal resistance and biosorption of lead (II) Ions from Aqueous Solution by WT6-5[D]. Shenyang: Northeastern University, 2013.

Screening, Adsorption Characteristics and Mechanism of Lactic Acid Bacteria with High Heterocyclic Aromatic Amines Adsorption Capacity

Wang Huiting¹, Liu Peiqing³, Xiao Yan², Su Lin¹, Jin Ye¹, Zhao Lihua^{1*}

¹Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018

²Hohhot Sampling Monitoring and Major Activities Support Center, Hohhot 010018

³Ulanqab Market Supervision and Administration, Ulanqab 012000, Inner Mongolia)

Abstract To screen the lactic acid bacteria with high PhIP adsorption capacity and to study adsorption characteristics by HPLC. The adsorption mechanism was discussed by scanning electron microscopy and Fourier transform infrared spectroscopy. The results showed that lactic acid bacteria 37X-6, 37X-15 and X3-1B had high adsorption capacity for PhIP, the adsorption rates were 80.43%, 83.36% and 76.69%, respectively. And the strains had the best adsorption effect when the cell concentration of strains was 10¹⁰ CFU/mL, pH was 6, temperature was 37 °C or adsorption time was 1.5 h. By heat treatment and enzyme treatment, it was found that the bacterial adsorption was a physical adsorption unrelated to its activity, and the bacterial adsorption rate increased after enzyme treatment. By scanning electron microscopy and Fourier infrared spectroscopy, it was found that PhIP cell surface was obviously damaged when strain adsorbed PhIP. The adsorption site of PhIP was mainly in the cell wall, and C-N, O-H, N-H, C-O groups were involved in the adsorption process. Lactic acid bacteria can adsorb PhIP, which was a physical adsorption, and its adsorption was related to the bacterial cell wall.

Keywords lactic acid bacteria; heterocyclic aromatic amines; screening; adsorption