

生物法防治黄曲霉毒素 B₁ 研究进展

王乐^{1,2}, 冉艳朋¹, 吕扬勇¹, 商海红², 胡元森^{1*}

(1. 河南工业大学生物工程学院, 郑州 450001; 2. 棉花生物学国家重点实验室, 安阳 455000)

摘要: 黄曲霉毒素具有极强的致癌、致畸和致突变作用。受黄曲霉毒素污染的粮食不仅给人体和动物的健康带来严重危害, 也给食品、畜牧等行业造成巨大经济损失。目前, 黄曲霉毒素降解方法研究已成为各国科研工作者的一个热点。生物法降解黄曲霉毒素较物理、化学等方法具有安全系数高、特异性强、绿色清洁等独特优势, 被视为最具发展前景和潜力的降解方法。利用微生物菌体的吸附作用、微生物酶解作用、微生物代谢作用等对黄曲霉毒素进行脱除, 已逐渐成为生物法消减黄曲霉毒素的重要研究方向。通过筛选和改造获得可脱除黄曲霉毒素的优良菌株; 通过分离、提取、纯化等手段获得高纯度和高活性的微生物源解毒产物; 通过改进和优化获得最佳脱除工艺等, 已成为研究生物法脱除黄曲霉毒素的重要手段和突破口。本文主要对国内外生物法防治黄曲霉毒素 B₁ 的研究进行综述, 并对今后生物防治的发展方向提出一些设想。

关键词: 微生物提取物; 生物酶制剂; 脱毒; 黄曲霉毒素 B₁; 生物法降解

Research progress on biological prevention and cure of aflatoxin B₁

WANG Le^{1,2}, RAN Yan Peng¹, LV Yang-Yong¹, SHANG Hai-Hong², HU Yuan-Sen^{1*}

(1. School of Biological Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China; 2. State Key Laboratory of Cotton Biology, Anyang 455000, China)

ABSTRACT: Aflatoxins (AF) have the effects of carcinogenic, teratogenic and mutagenic. These polluted food crops not only bring great harm to human and animal's health, but also cause tremendous economies loss in food industry, graziery and other related industries. Nowadays, the researches of aflatoxins degradation have been a hot issue. Compared with the physical and chemical methods, biological methods are the potential way to degrade aflatoxins because of the advantages of high safety coefficient, strong specificity and green and clean. The removals of aflatoxin B₁ by microbial adsorption, microbial enzymes and microbial metabolites have gradually become important research directions for biological removal and decrease of aflatoxins. The good strains removal of aflatoxin B₁ could be obtained by different ways of screening and transformation. The high purity and activity of the detoxification products of the microbial source could be obtained by the methods of separation, extraction and purification. After the improving and optimizing, the optimal process conditions of aflatoxin B₁ biodegradation could be achieved. Those have become the important ways and breakthrough in the study of biological methods to remove aflatoxins. This review mainly discussed the recent researches about biological methods for degrading

基金项目: 河南省自然科学基金重点项目(162300410047)、棉花生物学国家重点实验室开放课题(CB2016A05)、小麦和玉米深加工国家工程实验室开放课题(001248)

Fund: Supported by the Key Project of Henan Province Natural Science Foundation (162300410047), State Key Laboratory of Cotton Biology Open Fund (CB2016A05) and National Engineering Laboratory for Wheat & Corn Further Processing, Henan University of Technology (001248)

*通讯作者: 胡元森, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为粮油食品微生物学。E-mail: hys308@126.com

*Corresponding author: HU Yuan-Sen, Professor, Doctoral Supervisor, School of Biological Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China. E-mail: hys308@126.com

afatoxin B₁ from home and abroad. Moreover, some assumptions about the development directions of biological degradation were also proposed.

KEY WORDS: microbial extracts; biological enzymes; detoxification; aflatoxin B₁; biodegradation

1 引言

黄曲霉毒素(aflatoxins, AFs)是一类化学结构类似的二氢呋喃香豆素衍生物,主要由黄曲霉(*Aspergillus flavus*)和寄生曲霉(*A. parasiticus*)产生^[1]。黄曲霉可在农作物生长、农产品收获、运输、贮藏等多个环节发生侵染并产毒,特别是对花生、玉米、小麦、大豆等作物具有较强的侵染能力^[2]。如果不采取有效措施在源头、过程和终端分别进行防控,必将造成重大食品安全事件和巨大的经济损失。随着人们对黄曲霉毒素危害的日益关注,近几年各国食品安全管理部门都建立了各自的防控措施和安全标准。不同国家对食品中黄曲霉毒素 B₁ 的限量情况见图 1,主要黄曲霉毒素结构式见图 2。

目前在国际上主要的黄曲霉毒素控制途径有:培育和选用优质的农作物品种、改善和控制栽培条件、优化和清洁贮藏环境等^[5,6]。然而黄曲霉对环境适应性强、污染面广、毒素化学性质稳定等特点,使得在畜牧、食品等生产中极易发生黄曲霉毒素超标等威胁人们健康的食品安全事件^[7,8]。针对受黄曲霉毒素污染的粮食作物,探索有效的毒素脱除方法是目前各国科研工作者研究的热点问题^[9]。对黄曲霉毒素的脱除途径可分为:脱除毒素、将毒素转化为无毒化合物和将毒素脱除为小分子物质 3 种^[10]。而目前主要的脱除方法有物理法、化学法和生物法^[11]。由表 1 可见,3 种方法在黄曲霉毒素的脱除中各有适用的应用领域和作用特点。但综合比较来看,生物法脱除是一种集绿色清洁、安全实用、应用范围广、效率高、特异性强等诸多优点于一身且存在巨大应用和发展潜力的毒素脱除方法^[12,13]。



图 1 不同国家对食品中黄曲霉毒素 B₁ 的限量情况^[3]

Fig. 1 The limitation situation of AFB₁ in food in various countries^[3]

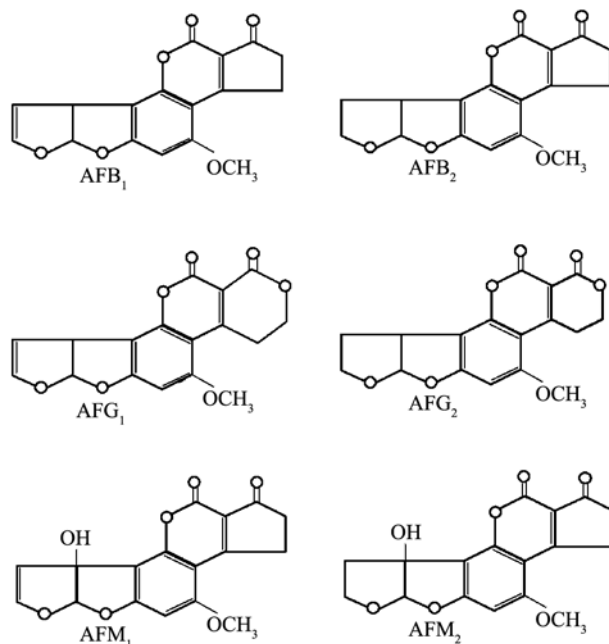


图 2 主要黄曲霉毒素结构式^[4]

Fig. 2 Molecular structures of main aflatoxins^[4]
(毒性: AFB₁ > AFM₁ > AFG₁ > AFB₂ > AFM₂ > AFG₂)

利用生物法脱除黄曲霉毒素的研究和其他方法相比虽然起步较晚,但近年来的研究队伍确越来越多。利用微生物菌体的吸附作用、微生物酶解作用、微生物代谢作用等对黄曲霉毒素进行脱除,已逐渐成为生物法消减黄曲霉毒素的重要研究方向^[11]。通过筛选和改造获得可脱除黄曲霉毒素的优良菌株;通过分离、提取、纯化等手段获得高纯度和高活性的微生物源解毒产物;通过改进和优化获得最佳脱除工艺等,已成为研究生物法脱除黄曲霉毒素的重要手段和突破口^[15,16]。虽然目前生物法脱除黄曲霉毒素的技术还没有广泛应用于工业化,但随着研究的深入,其应用领域将更加趋于规模化和多样化。

2 利用微生物菌剂对黄曲霉毒素 B₁ 进行脱除

自然界中能够和黄曲霉毒素相互作用的微生物种类有很多,如细菌、霉菌、酵母菌、放线菌以及藻类等。微生物体对于黄曲霉毒素的作用效果主要分为两类,一类是通过与黄曲霉菌竞争作用直接抑制黄曲霉菌的生长和产毒^[17]。

表 1 3 种黄曲霉毒素 B₁ 脱除方法比较
Table 1 Comparison of 3 methods for AFB₁ degradation

脱毒方法	具体举例	主要条件或试剂	优缺点	参考文献
物理法	吸附法	硅铝酸盐、活性炭	可吸附大部分毒素; 但不能破坏黄曲霉毒素结构, 同时吸附营养成分。	[7]
	辐射法	紫外线、 γ -射线	对毒素破坏能力较强; 处理效果稳定性不佳, 成本较高。	[8]
	加热法	高温烘烤、蒸煮	可破坏大部分毒素; 但能耗高, 对原料中的营养成分破坏较大。	[9]
化学法	碱处理法	亚硫酸钠、氢氧化钠	对某些原料去毒效率高; 设备投资大。	[10]
	氧化处理法	次氯酸钠、臭氧	处理效果比较好; 处理成本高。	[11]
	微生物菌体制剂	葡甘露聚、糖酯化物	处理效果好; 成本高, 专一性有差异。	[12]
生物法	酶制剂	酶	对产品无污染, 高度专一性, 不影响产品的营养价值; 稳定性差。	[13]
	微生物提取物	细菌、酵母菌	绿色, 清洁, 高效, 同时增加产品中的营养值; 作用机制、安全性有待研究。	[14]

其中主要包括不产毒黄曲霉菌和对黄曲霉菌生长具有抑制作用的益生菌等。另一类是利用菌体的吸附结合作用。某些微生物可以与黄曲霉毒素结合形成复合体, 随后利用微生物自身吸附力下降, 从而容易与黄曲霉毒素同步分离^[18]。这两类方法是生物法脱除黄曲霉毒素研究中的重点内容, 是实现生物法脱除用于实际生产生活的重要途径。

2.1 利用菌体间的竞争作用对黄曲霉菌进行抑制

胡熔等^[19]研究发现, 某些微生物在和霉菌杂居混时, 与其争夺共同营养和空间, 并释放特殊的化学因子抑制霉菌生长。将具有抑制霉菌生长的特定菌株按一定比例添加到粮食中, 可抑制霉菌生长和产毒, 达到防治黄曲霉毒素超标的目的。目前, 常被用作饲料添加剂来抑制黄曲霉菌生长的微生物有乳酸菌和枯草芽孢杆菌等, 取得了良好的防治效果^[20]。Liu 等^[21]、Battilani 等^[22]、Moyné 等^[23]均通过筛选得到了对黄曲霉和寄生曲霉生长具有强烈抑制作用的枯草芽孢杆菌, 对黄曲霉和寄生曲霉具有独特的抑制性能^[21-23]。虽然对具体的抑制机制还有待深入研究, 但有报道指出枯草芽孢杆菌分泌的脂肽是抑制黄曲霉生长的重要作用因子^[16]。乳酸菌可以通过代谢产生大量的有机酸使环境 pH 降低, 酸化细胞质并破坏电化学质子梯度, 进而阻碍其他微生物的生长^[17]。曹冬梅等^[14]在对黄曲霉进行乳酸试验发现, 尽管 pH 降低可以抑制黄曲霉生长, 但其产毒能力并不会受到明显抑制, 甚至呈现随 pH 降低, 毒素反而升高的趋势, 研究还发现乳酸菌对黄曲霉的抑制作用是低 pH 值、代谢产物及微生物间的拮抗作用等多因素协同作用的结果。

自然界中并非所有的黄曲霉菌都产毒。研究发现, 部分黄曲霉菌由于基因突变等原因导致不能够正常产生黄曲霉毒素的情况也是存在的。目前已有许多使用不产毒黄曲

霉菌来和产毒菌进行竞争, 从而达到抑制产毒的应用报道^[20]。美国环保协会注册的两株不产毒黄曲霉菌株, 可用于防治棉花和花生的黄曲霉毒素污染问题, 并已在美国多个州进行了试用^[24]。应用不产毒黄曲霉菌对农作物尤其是棉花和花生的防治效果, 平均可达到 70%~90%^[25]。Zanon 等^[26]从阿根廷的花生中分离到一株不产毒黄曲霉菌 AFCHG2, 连续 2 年进行花生黄曲霉毒素污染防治的田间试验, 发现该菌使黄曲霉毒素的含量下降了 71%。另外, 还可以通过转基因技术、敲除产毒基因或阻止产毒基因正常表达等手段使转基因工程菌成为田间的优势菌, 也是一种非常具有潜力的生物防治途径。

黄曲霉毒素生物合成过程中至少存在 23 步酶促反应, 但所需要的酶类主要是由一个基因簇的各个基因转录翻译而成^[23]。*aflR* 是黄曲霉毒素生物合成途径中的一个重要调节基因, 负责调节黄曲霉毒素基因簇上的大多数结构基因的转录活性^[10]。陈茹等^[27]利用 RT-PCR 法检测了产毒黄曲霉菌和不产毒黄曲霉菌中 *aflR* 基因的转录表达水平, 对比发现有 5 个共同变异位点可能导致菌株不产毒。Chang 等^[24]研究发现, 寄生曲霉中 *aflS* 基因的表达同样需要 *aflR* 基因的激活。采用基因工程技术制成可抑制或阻断 *aflR* 基因正常表达的特效制剂, 是防治 AFB₁ 的一种新型、高效的手段。

2.2 利用微生物吸附作用脱除黄曲霉毒素 B₁

利用微生物吸附作用脱除黄曲霉毒素 B₁, 酵母、乳酸菌等益生菌常被作为主要的研究对象。张建梅等^[20]采用生物法和物理法相结合的方式, 制成了含有活性乳酸菌、乳酸菌细胞壁以及水合铝硅酸盐等有效成分的生物脱毒剂, 应用于霉变饲料中, 脱毒效果显著, 具有良好的工业化生产潜力。刘畅等^[28]首次筛选出能够吸附 AFB₁ 的酿酒酵母,

通过优化菌体的处理方式和吸附时间, AFB₁的吸附率可达81.16%。关于益生菌对 AFB₁的吸附作用是否可逆, 存在着不同的观点^[27], 多数研究报道证明, 菌体与黄曲霉毒素形成的复合体, 主要以非共价的方式结合, 并且这种结合力与菌体的细胞壁有着密切关系。另外, 微生物的吸附作用受菌体浓度和温度等影响较大^[25]。有报道指出^[29], 灭菌处理前后的菌体, 吸附毒素效果变化不显著, 甚至菌体经热处理失活后, 吸附效果反而好于活菌体。电镜结果发现, 热处理后的菌体, 细胞壁表面由光滑变的凹凸不平, 一方面增加了细胞壁的通透性, 细胞表面一些新的吸附位置暴露出来; 另一方面增加了细胞与 AFB₁的接触面积, 提高了吸附能力^[28,30,31]。也有报道指出, 活细胞吸附 AFB₁的能力强于死细胞的吸附能力^[32]。

3 利用生物酶制剂脱除黄曲霉 B₁

利用生物酶制剂催化脱除黄曲霉毒素, 系生物防治黄曲霉毒素 B₁重要研究方向之一。基于酶具有特异性和高效性等特点, 利用酶制剂脱毒具有条件温和, 不破坏产品品质, 绿色无污染等优势^[6], 被越来越多的研究学者所关注。刘大岭等^[33]从假蜜环菌中提取的粗酶液, 对样品溶液中黄曲霉毒素 B₁的脱除率可达 80%; 陈仪本等^[34]研究发现, 黑曲霉菌丝体提取物可以脱除花生油中的黄曲霉毒素, 并证明该反应是一个酶促反应; 王宁等^[35]通过优化粘细菌的培养条件和培养基配比, 提高了所产酶液降解毒素的效果。研究结果表明, 通过提高酶的纯度、优化酶的脱除条件, 能够有效提升生物酶制剂脱除黄曲霉毒素的效果^[36], 但目前, 关于解析酶的结构和功能之间的关系、酶的作用机制等方面的研究, 仍然较少。

黄曲霉毒素解毒酶(aflatoxin detoxifying enzyme, ADTZ)是一种具有高效脱除黄曲霉毒素能力的发光假蜜环菌胞内酶, 能够破坏黄曲霉毒素中的 C8,9 双键, 打开呋喃环使其形成无毒物质^[37]。然而黄曲霉毒素解毒酶在高温和极端 pH 条件下稳定性较差, 容易失活, 不利于其在工业生产中的应用。刘大岭等^[33]通过对 ADTZ 进行固定化处理, 提高了酶的酸碱稳定性和热稳定性。张赛等^[38]运用定向进化-易错 PCR 法, 向黄曲霉毒素解毒酶中随机引入突变, 并建立该酶的基因突变文库, 再结合辣根过氧化物酶(HRP)-隐性亮绿(RBG)快速高通量筛选系统筛选的方法, 在经过两轮易错筛选后, 分别得到了耐高温 70 °C 的突变酶 A1773、pH 4.0 稳定性较强的突变酶 A1476 以及在 pH 4.0 和 pH 7.5 均具有较强稳定性的突变酶 A2863, 这些突变酶的活力较野生酶都有了大幅度的提升。虽然这种非理性的改造方法存在一定的不确定性, 然而有利于获得高耐受性、高催化效率的 ADTZ, 提高工业化应用价值。高明等^[39]从假蜜环菌的总 RNA 出发, 克隆编码得到 ADTZ 基因, 并把该基因连接到表面展示质粒载体 pYD₁ 上, 将重组质粒

pYD₁-ADTZ 成功导入酿酒酵母菌 EBY100 中, 最终毒素的脱除率达到 27.3%, 提高了饲料的利用率和禽畜的生产效益, 具有一定的应用前景。

漆酶是一种大量存在于平菇等大型真菌中的含铜的多酚氧化酶, 对黄曲霉毒素具有较好的脱除效果^[40]。Alberts 等^[41]发现提高漆酶的活性, 黄曲霉毒素的脱除能力增强。王会娟等^[42]通过筛选得到最适产漆酶的低盐培养基, 并通过脱除实验得到, 平菇菌株 p1 的发酵液对 AFB₁的脱除率可达 77.74%, 远高于 Alberts 等使用平菇 St2-3 菌株的脱除率。孙丰芹^[43]采用固态发酵法去除花生粕中的 AFB₁, 通过对比巨大芽孢杆菌细胞和发酵上清液对 AFB₁的去除率, 发现上清液中的胞外酶起主要的脱除作用。经过对发酵条件的优化, AFB₁的脱除率达到了 69.34%, 同时还检测到发酵结束后, 花生粕中粗蛋白的含量较发酵前增长了 10.79%, 总氨基酸含量增长了 5.08%, 此方法不仅降低了花生粕中 AFB₁的含量, 还在一定程度上提高了原料的营养价值, 具有一定应用价值。

4 添加微生物提取物来脱除黄曲霉毒素 B₁

许多乳酸菌除产生乳酸、乙酸和过氧化氢之外, 还可以产生一些具有抑菌生物活性的细菌素, 在食品的防腐保鲜方面起着很重要的作用^[44]。徐雪梅等^[45]发现酵母细胞提取物葡甘露聚糖对黄曲霉毒素有较好的吸附作用, 葡甘露聚糖因其具有添加量低、吸附多种霉菌毒素、吸附营养物质少的特点, 受到广泛关注。Reverberi 等^[46]发现从香菇中制备的多糖提取物对黄曲霉毒素的产生有抑制作用, 通过对菌丝体进行荧光实时定量 PCR 分析, 结果表明多糖提取物中的 β-葡聚糖对与毒素产生有关的基因 *aflR* 和 *norA* 的转录具有抑制作用。陈国强等^[47]在对铁钉菜、羊栖菜和冈村凹顶藻 3 种海藻中提取的粗蛋白进行抗菌测试实验后发现, 铁钉菜中的粗蛋白对黄曲霉的抑制作用最好, 对菌丝生长的抑制率达 27.9%, 对孢子萌发的抑制率达 60.5%。葡甘露聚糖酯化物结合毒素的能力主要取决于它巨大的表面积。据测定 1 kg 的葡甘露聚糖酯化物具有高达 2.2 m² 的表面积^[48], 其结合黄曲霉毒素的能力接近于 16 kg 粘土类结合剂的结合能力。使用葡甘露聚糖酯化物作为解毒剂, 具有添加量少、作用效果显著及结合霉菌毒素范围广等特点。还有报道称, 甘露聚糖、甘露寡糖可以吸附黄曲霉毒素 B₁, 并且对黄曲霉毒素的结合率接近 100%^[49]。

5 总结

利用微生物菌体或酶对 AFB₁进行高效降解从而消减控制 AFB₁的危害, 是解决毒素污染的有效途径和研究热点, 近年来取得了一定的研究成果。同时, 一些学者还发现微生物中的一些多糖、蛋白等物质对于 AFB₁的防治也

具有较好的效果^[50], 为生物法防治黄曲霉毒素的研究开辟了新途径。然而, 在生物法防治 AFB₁ 的研究中, 多数更关注脱除菌株的筛选、改造、脱除条件的优化等方面的研究, 在生物法防治 AFB₁ 作用机理的探究、降解产物结构解析和降解产物安全性评价、以及环境耐受性等方面, 研究成果相对较少。此外, 若能有效改善生物法脱除霉菌毒素过程中周期普遍较长, 在复杂环境下脱除能力不稳定等问题, 生物法防治技术将会具有更重要的实际应用价值。

参考文献

- [1] 李冰. 黑曲霉对黄曲霉毒素 B₁ 的降解及应用[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012.
Li B. Degradation and application of aflatoxin B₁ by *Aspergillus niger* [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2012.
- [2] 左瑞雨, 常娟, 尹清强, 等. 乳酸菌和枯草芽孢杆菌对黄曲霉毒素产生菌生长的抑制作用研究[J]. 河南农业科学, 2011, 40(3): 145–148.
Zuo RY, Chang J, Yin QQ, et al. Inhibition of *Lactobacillus* and *Bacillus subtilis* on the growth of *Aspergillus flavus* [J]. J Henan Agric Sci, 2011, 40(3): 145–148.
- [3] 苏福荣, 王松雪, 孙辉, 等. 国内外粮食中真菌毒素限量标准制定的现状与分析[J]. 粮油食品科技, 2007, 15(6): 57–59.
Su FR, Wang SX, Sun H, et al. The state of mycotoxin maximum limit of grain [J]. Sci Technol Cere Oils Foods, 2007, 15(6): 57–59.
- [4] Zhao Y, Huang J, Ma L, et al. Development and validation of a simple and fast method for simultaneous determination of aflatoxin B₁ and sterigmatocystin in grains [J]. Food Chem, 2017, 221: 11–17.
- [5] 魏丹丹. 不产毒黄曲霉菌不产毒的分子机制及其抑制产毒菌产毒的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.
Wei DD. Molecular mechanisms of atoxigenic *Aspergillus flavus* and the study in inhibiting the aflatoxin production by toxigenic *A. flavus* [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014.
- [6] Xin G, Qiugang Ma, Lihong Zhao, et al. Isolation of *Bacillus subtilis*: screening for aflatoxins B₁, M₁, and G₁ detoxification [J]. Eur Food Res Technol, 2011, 232(6): 957–962.
- [7] Zhang CS, Xing FG, Selvaraj JN, et al. The effectiveness of ISSR profiling for studying genetic diversity of *Aspergillus flavus* from peanut-cropped soils in China [J]. Biochem Syst Ecol, 2013, 50(2): 147–153.
- [8] Alberts JF, Gelderblom WC, Botha A, et al. Degradation of aflatoxin B₁ by fungal laccase enzymes [J]. Int J Food Microbiol, 2009, 135(1): 47–52.
- [9] Guan S, Ji C, Zhou T, et al. Aflatoxin B₁ Degradation by *Stenotrophomonas maltophilia* and other microbes selected using coumarin medium [J]. Int J Mol Sci, 2008, 9(8): 1489–1503.
- [10] Shim WB, Yang ZY, Kim JS, et al. Development of immunochromatography strip-test using nanocolloidal gold-antibody probe for the rapid detection of aflatoxin B₁ in grain and feed samples [J]. J Microbiol Biotechnol, 2007, 17(10): 1629–1637.
- [11] 翟翠萍. 红平红球菌的培养及其对黄曲霉毒素 B₁ 的降解研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
Zhai CP. Study on cultivation of *Rhodococcus erythropolis* and its degradation of aflatoxin B₁ [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012.
- [12] 陈冉. 花生中黄曲霉毒素降解技术研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2013.
Chen R. Study on degradation of aflatoxins in peanuts [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2013.
- [13] 王涛. 发酵豆制品中黄曲霉毒素的控制[D]. 成都: 西华大学, 2010.
Wang T. Control of aflatoxin in fermentation soya beans [D]. Chengdu: Xihua University, 2010.
- [14] 曹冬梅, 张洪英, 何成华, 等. 弯曲乳酸杆菌 HB02 抑制黄曲霉生长及产毒[J]. 南京农业大学学报, 2008, 31(3): 125–129.
Cao DM, Zhang HY, He CH, et al. Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* by *Lactobacillus curvatus* HB02 [J]. J Nanjing Agric Univ, 2008, 31(3): 125–129.
- [15] OA Adebo, PB Njobeh, V Mavumengwana. Degradation and detoxification of AFB₁ by *Staphylococcus warneri*, *Sporosarcina* sp. and *Lysinibacillus fusiformis* [J]. Food Control, 2016, 68: 92–96.
- [16] Shcherbakova L, Statsyuk N, Mikityuk O, et al. Aflatoxin B₁ Degradation by metabolites of *Phoma glomerata* PG41 isolated from natural substrate colonized by aflatoxigenic *Aspergillus flavus* [J]. Jundishapur J Microbiol, 2015, 8(1): e243224.
- [17] 胡丽莎, 谢春芳, 刘大岭. 黄曲霉毒素氧化酶的酶动力学研究[J]. 暨南大学学报(自然科学版), 2012, 33(5): 496–500.
Hu LS, Xie CF, Liu DL. Enzymatic kinetics of aflatoxin oxidase [J]. J Jinan Univ (Nat Sci Ed), 2012, 33(5): 496–500.
- [18] Fountain JC, Scully BT, Ni X, et al. Environmental influences on maize-*Aspergillus flavus* interactions and aflatoxin production [J]. Frontiers Microbiol, 2014, 5(2): 40.
- [19] 胡熔, 刘大岭, 谢春芳, 等. 黄曲霉毒素解毒酶在大肠杆菌中的可溶性表达、纯化及其圆二色谱分析[J]. 中国生物工程杂志, 2011, 31(4): 71–76.
Hu R, Liu DL, Xie CF, et al. Soluble expression, purification of recombinant aflatoxin-detoxifzyme in *E. coli* and analysis of circular dichroism spectrum [J]. China Biotechnol, 2011, 31(4): 71–76.
- [20] 张建梅, 李国军, 谷巍. 生物脱毒剂对黄曲霉毒素 B₁ 的作用研究[J]. 中国饲料, 2009, (2): 78.
Zhang JM, Li GJ, Gu W. Study on the effect of biological mold removing agent on aflatoxin B₁ [J]. China Feed, 2009, (2): 78.
- [21] Liu J, Sun LH, Zhang NY, et al. Effects of nutrients in substrates of different grains on aflatoxin B₁ production by *Aspergillus flavus* [J]. Biomed Res Int, 2016, (1): 1–10.
- [22] Battilani P, Toscano P, Van der Fels-Klerx HJ, et al. Aflatoxin B₁ contamination in maize in Europe increases due to climate change [J]. Sci Reports, 2016, 6: 24328
- [23] Moyne AL, Shelby R, Cleveland TE, et al. Bacillomycin D: An iturin with antifungal activity against *Aspergillus flavus* [J]. J Appl Microbiol, 2001, 90(4): 622.
- [24] Chang PK, Hua SS. Non-aflatoxigenic *Aspergillus flavus* TX9-8 competitively prevents aflatoxin accumulation by *A. flavus* isolates of large and small sclerotial morphotypes [J]. Int J Food Microbiol, 2007, 114(3): 275–279.
- [25] Yan N, Lei Y, Jin H. Biological control of aflatoxin contamination of crops [J]. Toxin Rev, 2008, 9(2/3): 787–792
- [26] Zanon MS, Chiotta ML, Gaj-Merlera G, et al. Evaluation of potential biocontrol agent for aflatoxin in Argentinean peanuts [J]. Int J Food Microbiol, 2013, 162(3): 220–225.
- [27] 陈茹, 刘钟滨. 黄曲霉菌 aflR 基因启动子序列变异与黄曲霉毒素产生相关[J]. 细胞生物学杂志, 2006, 28(6): 912–916.

- Chen R, Liu ZB. Promoter sequence mutations in the aflR gene of *Aspergillus flavus* are correlated with the production of aflatoxin [J]. *Chin J Cell Biol*, 2006, 28(6): 912-916.
- [28] 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 GF, *et al.* Screening of aflatoxin B₁ binding strains and binding mechanism of yeast strain [J]. *J Nucl Agric Sci*, 2010, 24(4): 766-771.
- [29] Adebo OA, Njobeh PB, Sidu S, *et al.* Aflatoxin B₁ degradation by liquid cultures and lysates of three bacterial strains [J]. *Int J Food Microbiol*, 2016, 233: 11.
- [30] Chen JH, Liu DL, Li SC, *et al.* Development of an amperometric enzyme electrode biosensor for sterigmatocystin detection [J]. *Enzym Microb Technol*, 2010, 47(4): 119-126.
- [31] 李超波. 黄曲霉毒素 B₁ 降解菌的分离鉴定及其降解特性[D]. 南昌: 南昌大学, 2012.
- Li CB. Isolation and characteristics of an aflatoxin B₁-degrading bacterium [D]. Nanchang: Nanchang University, 2012.
- [32] Lee YK, El-Nezami H, Haskard CA, *et al.* Kinetics of adsorption and desorption of aflatoxin B₁ by viable and nonviable bacteria [J]. *J Food Protect*, 2003, 66(3): 426-430.
- [33] 刘大岭, 姚冬生, 黄炳贺, 等. 黄曲霉毒素解毒酶的固定化及其性质的研究[J]. *生物工程学报*, 2003, 19(5): 603-607.
- Liu DL, Yao DS, Huang BH, *et al.* Characterization of immobilized aflatoxin-detoxzyme [J]. *Chin J Biotechnol*, 2003, 19(5): 603-607.
- [34] 陈仪本, 蔡斯赞, 黄白爱, 等. 生物学法降解花生油中黄曲霉毒素的研究[J]. *卫生研究*, 1998, 27(S1): 79-83.
- Chen YB, Cai SZ, Huang BA, *et al.* Detoxification of aflatoxin B₁ in peanut oil by biological methods [J]. *J Hyg Res*, 1998, 27(S1): 79-83.
- [35] 王宁, 马秋刚, 计成, 等. 黏细菌降解黄曲霉毒素 B₁ 的产酶条件优化[J]. *中国农业大学学报*, 2009, 14(2): 27-31.
- Wang N, Ma QG, Ji C, *et al.* Screening of culture condition for aflatoxin B₁ transformation enzyme from *Mycococcus fulvus* [J]. *J China Agric Univ*, 2009, 14(2): 27-31.
- [36] Yu J, Fedorova ND, Montalbano BG, *et al.* Tight control of mycotoxin biosynthesis gene expression in *Aspergillus flavus* by temperature as revealed by RNA-Seq [J]. *Fems Microbiol Lett*, 2011, 322(2): 145-149.
- [37] 宋艳萍, 刘大岭. 真菌(E-20)中黄曲霉毒素解毒酶分离与纯化的研究[D]. 广州: 暨南大学, 2003.
- Song YP, Liu DL. Studies on separation and purification of aflatoxin-detoxzyme from fungi(E-20) [D]. Guangzhou: Jinan University, 2003.
- [38] 张赛, 邢克克, 胡亚冬, 等. 基于易错 PCR 的黄曲霉毒素解毒酶体外分子定向进化[J]. *生物工程学报*, 2011, 27(7): 1100-1108.
- Zhang S, Xing KK, Hu YD, *et al.* Directed evolution of aflatoxin detoxzyme in vitro by error-prone PCR [J]. *Chin J Biotechnol*, 2011, 27(7): 1100-1108.
- [39] 高明. 黄曲霉毒素降解酶在酿酒酵母细胞表面上的展示及酶活性的研究[D]. 济宁: 曲阜师范大学, 2012.
- Gao M. Aflatoxins degradation enzyme in *Saccharomyces cerevisiae* cells on the surface of the display and enzyme activity of qualitative research [D]. Jining: Qufu Normal University, 2012.
- [40] 李文明. 黄曲霉毒素 B₁ 生物降解产物的分离鉴定及其致突变性研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2013.
- Li WM. Separation and characteristics of the products derived from biodegraded aflatoxin B₁ [D]. Nanchang: Nanchang University, 2013.
- [41] Alberts JF, Engelbrecht Y, Steyn PS, *et al.* Biological degradation of aflatoxin B₁ by *Rhodococcus erythropolis* cultures [J]. *Int J Food Microbiol*, 2006, 109(1/2): 121-126.
- [42] 王会娟, 刘阳, 邢福国. 高产漆酶平菇的筛选及其在降解黄曲霉毒素 B₁ 中的应用[J]. *核农学报*, 2012, 26(7): 1025-1030.
- Wang HJ, Liu Y, Xing GF. Screening high-production laccase of pleurotust ostreatus and degradation of AFB₁ by *Pleurotus ostreatus* laccase [J]. *J Nucl Agric Sci*, 2012, 26(7): 1025-1030.
- [43] 孙丰芹. 固态发酵法去除花生粕中的黄曲霉毒素 B₁[D]. 无锡: 江南大学, 2010.
- Sun FQ. The removal of aflatoxin B₁ in peanut meal by solid-state fermentation [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2010.
- [44] Cao H, Liu D, Mo X, *et al.* A fungal enzyme with the ability of aflatoxin B₁ conversion: purification and ESI-MS/MS identification [J]. *Microbiol Res*, 2011, 166(6): 475-483.
- [45] 徐雪梅, 齐德生, 张妮娅, 等. 葡甘露聚糖单方、复配膨润土及改性产物的霉菌毒素体外吸附效果[J]. *动物营养学报*, 2013, 25(12): 2973-2980.
- Xu XM, Qi DS, Zhang NY, *et al.* Glucomannan, glucomannan combined with bentonite and modified glucomannan: assessment of *in vitro* mycotoxins absorption effects [J]. *Chin J Anim Nutr*, 2013, 25(12): 2973-2980.
- [46] Reverberi M, Fabbri AA, Zjalic S, *et al.* Antioxidant enzymes stimulation in *Aspergillus parasiticus* by *Lentinula edodes* inhibits aflatoxin production [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2005, 69(2): 207-215.
- [47] 陈国强, 郑怡, 林勇, 等. 3 种海藻的粗蛋白对植物病原真菌的抑制作用[J]. *福建师范大学学报(自然科学版)*, 2008, 24(2): 67-70.
- Chen GQ, Zhang Y, Lin Y, *et al.* Inhibition of plant pathogenic fungi by crude proteins from three marine algae [J]. *J Fujian Norm Univ (Nat Sci Ed)*, 2008, 24(2): 67-70.
- [48] Rawal S, Kim JE, Coulombe RJR. Aflatoxin B₁ in poultry toxicology, metabolism and prevention [J]. *Res Vet Sci*, 2010, 89(3): 325-331.
- [49] Zhou G, Chen Y, Kong QY, *et al.* Detoxification of aflatoxin B₁ by *Zygosaccharomyces rouxii* with solid state fermentation in peanut meal [J]. *Toxins*, 2017, 9: 42.
- [50] Shetty PH, Hald B, Jespersen L. Surface binding of aflatoxin B₁ by *Saccharomyces cerevisiae* strains with potential decontaminating abilities in indigenous fermented foods [J]. *Int J Food Microbiol*, 2007, 113(1): 41-46.

(责任编辑: 姚 菲)

作者简介



王 乐, 博士, 副教授, 主要研究方向为农产品及副产物加工及生物转化。
E-mail: wanglely1984@163.com



胡元森, 博士, 教授, 主要研究方向为粮油食品微生物学。
E-mail: hys308@126.com