

中国被毛孢降解黄曲霉毒素 B₁ 的特性研究

滕毅*, 李雅佩, 王怡梅, 傅媛焯, 魏莎, 许峰

(杭州中美华东制药江东有限公司, 杭州 310000)

摘要: 目的 分析中国被毛孢(*Hirsutella sinensis*) 8#菌株降解黄曲霉毒素 B₁ (aflatoxin B₁, AFB₁)的能力。**方法** 考察该菌株培养液、菌丝体悬液和上清液去除 AFB₁ 的能力; 利用洗脱法和萃取法区分生物降解和可逆吸附 AFB₁; 研究不同初始 AFB₁ 浓度、温度、pH 和金属离子对其降解能力的影响; 对 AFB₁ 降解液进行高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)和薄层色谱(thin layer chromatography, TLC)分析。**结果** *H. sinensis* 培养液和菌丝体悬液降解效果显著($P<0.05$), 96 h 后对初始质量浓度 100 ng/mL 的 AFB₁ 降解率分别是 96.90%±4.39%和 97.93%±2.92%。磷酸盐缓冲液洗脱液和甲醇萃取液均未检测到 AFB₁, 证实了该菌生物降解 AFB₁。菌株 AFB₁ 降解效果与初始质量浓度密切相关。当反应温度 25°C, pH 5.0 时, 培养液作用 72 h 后降解率为 99.90%±0.18%。同时, 反应液中加入 Fe²⁺有利于降解, 而 Mg²⁺却起到了抑制作用。HPLC 和 TLC 对产物分析表明, 该菌株可将 AFB₁ 降解为至少为 1 种产物。**结论** 中国被毛孢 8#菌株对 AFB₁ 有良好的降解作用, 可用于生物降解真菌毒素的潜力菌株。

关键词: 黄曲霉毒素 B₁; 中国被毛孢; 生物降解; 薄层层析

Study on the characteristics of aflatoxin B₁ degradation by *Hirsutella sinensis*

TENG Yi*, LI Ya-Pei, WANG Yi-Mei, FU Yuan-Ye, WEI Sha, XU Feng

(Hangzhou Zhongmei Huadong Pharmaceutical Jiangdong Co., Ltd., Hangzhou 310000, China)

ABSTRACT: Objective To analyze the capability of *Hirsutella sinensis* 8# on the degradation of aflatoxin B₁ (AFB₁). **Methods** The capability of removing AFB₁ from the culture solution, the mycelium suspension and the supernatant of the strain was investigated; the elution and extraction methods were used to decide whether the toxin was biodegradation or reversibly bound; the effects of the initial AFB₁ concentration of the medium, reaction temperature, pH and metal ion on degradation were studied; the products of AFB₁ degradation were detected by high performance liquid chromatography (HPLC) and thin layer chromatography (TLC). **Results** The degradation effects of *H. sinensis* culture medium and bacteria were significant ($P<0.05$), and after 96 h, the degradation rates of AFB₁ at the initial mass concentration of 100 ng/mL were 96.90%±4.39% and 97.93%±2.92%, respectively. The absence of AFB₁ in either the phosphate buffer eluant or the methanol extract confirmed the biodegradation of AFB₁. The degradation effect of strain AFB₁ was closely related to the initial mass concentration. When the reaction temperature was 25°C and pH was 5.0, the degradation rate of the culture solution after 72 h treatment was 99.90%±0.18%. At the same time, the addition of Fe²⁺ in the reaction solution was conducive to the degradation, while Mg²⁺ played an inhibitory role. Product analysis by HPLC and TLC showed that the strain degraded AFB₁ to at least one product. **Conclusion** *H. sinensis* 8# has a good degradation effect on AFB₁ and can be used as a potential strain for biodegradation of mycotoxins.

*通信作者: 滕毅, 硕士, 工程师, 主要研究方向为生物制药及药品质量安全。E-mail: tengyi@eastchinapharm.com

*Corresponding author: TENG Yi, Master, Engineer, Hangzhou Zhongmei Huadong Pharmaceutical Jiangdong Co., Ltd., No.7278, Meilin Road, Qiantang District, Hangzhou 310000, China. E-mail: tengyi@eastchinapharm.com

KEY WORDS: aflatoxin B₁; *Hirsutella sinensis*; microbiological degradation; thin layer chromatography

0 引言

黄曲霉毒素(aflatoxins, AFs)最早是由英国科学家从黄曲霉(*Aspergillus flavus*)中发现的次级代谢产物^[1]。AFs属于二氢呋喃氧萜邻酮的衍生物,根据分子结构可分为两类:第一类结构中含有二氢呋喃环、香豆素和环戊烯酮,如黄曲霉毒素 B₁ (aflatoxin B₁, AFB₁)、黄曲霉毒素 B₂ (aflatoxin B₂, AFB₂)、黄曲霉毒素 M₁ (aflatoxin M₁, AFM₁)、黄曲霉毒素 M₂ (aflatoxin M₂, AFM₂)等;另一类为二氢呋喃环、香豆素和二氢吡喃,如黄曲霉毒素 G₁ (aflatoxin G₁, AFG₁)、黄曲霉毒素 G₂ (aflatoxin G₂, AFG₂)等^[2-3]。研究最多的还是 AFB₁、AFB₂、AFG₁和 AFG₂,其中 AFB₁的毒性最强,被世界卫生组织癌症研究中心认定为人类第 1 类致癌物,其毒性分别是砒霜、亚硝酸铵、氰化钾的 68、75 和 10 倍。

AFs 在粮食、饲料中污染比较严重,对人类和牲畜的健康威胁大,传统的 AFs 去除主要是物理法和化学法^[4-6]。物理法主要有高温法、辐射法和物理吸附法;化学法有碱处理法、氧化法等,但是这些方法容易对环境造成二次污染、降低样品的营养价值以及降解产物毒性不确定等问题^[7-12]。利用生物脱毒法具有安全、高效、对环境友好等特点,成为 AFs 降解的研究热点^[13]。生物脱毒主要有两种方式,一类是利用菌体吸附结合作用,某些微生物可以与 AFs 结合形成复合体,但是这种方式容易随着菌体吸附能力的下降,导致菌体与 AFs 分离^[14]。另一类是利用微生物的酶解作用、代谢作用对 AFs 进行脱除^[15-18]。目前,已经报道了某些微生物具有脱除 AFs 的能力,例如,关心等^[19]通过香豆素为唯一碳源,筛选获得了蔬菜芽孢杆菌(*Bacillus oleronius*) GX01,发酵上清液对 AFB₁ 降解率达 83%。邵帅等^[20]分离的夏孢生枝孢(*Cladosporium uredinicola*)经发酵工艺优化后对 AFB₁ 降解率提升至 69.52%。郭钰婷等^[21]从动物粪便、发霉的粮食等样品中分离了降解率高达 91.48% 的绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*) YM-1。此外,枯草芽孢杆菌、黑曲霉、浑浊红球菌等都被报道存在去除 AFs 的能力^[22-26]。

中国被毛孢(*Hirsutella sinensis*),又称蝙蝠蛾被毛孢(*Hirsutella hepiali* Chen et Shen),是分离自青藏高原海拔 4000~5000 m 的野生冬虫夏草,是公认的冬虫夏草的无性型,具有抗疲劳、提高免疫力、预防 I 型糖尿病、抗肿瘤等生物活性^[27-29],同时,也是卫生部规定的可用于保健食品的真菌菌种。可见中国被毛孢是安全性比较可靠的微生物,在生物防治中使用对人畜无害。但是有关中国被毛孢在生物降解方面的研究并不多见。本研究中,通过自行分离筛选获得的中国被毛孢菌株与 AFB₁ 共培养降解 AFB₁,并对其降解特性与降解机制进行了初步研究,为后续开发

应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

H. sinensis 8#菌株,分离自新鲜冬虫夏草,保存于本实验室,经浙江工业大学生物工程研究所进行形态学、生理生化和分子生物学鉴定为中国被毛孢菌株。

AFB₁ 标准品(质谱纯,新加坡 Pribolab 公司);乙腈、甲醇(色谱纯,美国 Avantor Performance Materials 公司);苯、二氯甲烷(分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);丙酮、氯仿(分析纯,上海凌峰化学试剂有限公司);磷酸盐(phosphate buffer saline, PBS)缓冲液(0.01 mol/L, pH 7.4,福州飞净生物科技有限公司);马铃薯葡萄糖营养肉汤(patato dextrose broth, PDB)、马铃薯葡萄糖琼脂培养基(patato dextrose agar, PDA)(试剂级,上海源叶生物科技有限公司);0.22 μm 有机型、0.45 μm 亲水型微孔滤膜、Welch C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)[月旭科技(上海)股份有限公司]。

1.2 主要仪器与设备

1200 型高效液相色谱仪、1260 Infinity 荧光检测器(美国 Agilent 公司);UVE 光化学衍生仪(德国 LC-Tech 公司);BSA3225-CW 万分之一天平(德国 Sartorius 公司);KQ-500DB 超声波清洗机(昆山市超声波仪器有限公司);TGL-16B 飞鸽牌高速离心机(上海安亭科学仪器厂);WT-12 水浴氮吹仪(杭州米欧仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 中国被毛孢 8#菌株培养液的制备

刮取 4℃ 保存在 PDA 培养基上的 *H. sinensis* 8#菌丝于 PDB 培养基中,15℃、120 r/min 活化培养 12~14 d 后,按 10%接种量转接于 PDB 培养基,同样条件培养 4 d,得到 *H. sinensis* 8#菌株的培养液。

1.3.2 *H. sinensis* 8#对 AFB₁ 的去除实验

为分析 *H. sinensis* 8#对 AFB₁ 的去除作用,将实验分为 4 组:①培养液的上清液用 0.45 μm 滤膜过滤;②菌丝体沉淀用 PBS 缓冲液(0.01 mol/L, pH 7.4,下同)清洗 2 次后,再用 PBS 缓冲液悬浮,获得菌丝体悬液;③取部分培养液不做任何处理;④无菌 PDB 培养基作为对照。上述 4 组处理中分别加入 AFB₁ 标准品至初始质量浓度为 100 ng/mL,120 r/min 振荡培养 96 h 后取样,12000 r/min 高速离心 10 min,取上清,用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)检测 AFB₁ 的含量。

1.3.3 *H. sinensis* 8#降解 AFB₁ 的验证实验

微生物去除 AFB₁ 存在菌体吸附和生物降解两种方式,

为了排除菌丝体吸附作用, 采用 PBS 缓冲液洗脱和甲醇萃取方法进行确认。①取与 AFB₁ 反应后的菌丝体, 加入 5 mL PBS 缓冲液, 重悬菌体, 15°C 保温 10 min, 12000 r/min 高速离心, 重复 3 次, HPLC 测定上清液中 AFB₁ 含量; ②取与 AFB₁ 降解后的菌体, 加入 5 mL 的甲醇溶液, 悬浮混匀, 40 kHz 超声萃取 30 min, 0.45 μm 滤膜过滤, 取上清, 检测 AFB₁ 含量, 以加入同样含量 AFB₁ 的无菌 PBS 缓冲液为对照。

1.3.4 不同初始 AFB₁ 浓度降解实验

培养液加入不同量的 AFB₁, 使其初始质量浓度为 50、100、200、500 和 1000 ng/mL, 15°C、120 r/min 振荡培养, 分别在 0、8、24、48、72、96 和 120 h 后, 检测 AFB₁ 降解情况。以初始质量浓度相同的 PDB 培养基作为对照。

1.3.5 反应条件对降解 AFB₁ 的影响

(1) 温度对降解 AFB₁ 的影响

取 5 mL 培养液加入 AFB₁ 标准品至其初始质量浓度为 100 ng/mL, 分别置于 10、15、20、25、30 和 40°C, pH 自然, 120 r/min 振荡培养 72 h 后, 12000 r/min 高速离心, 测定上清液中 AFB₁ 含量, 计算降解率。以空白 PDB 培养基加 AFB₁ 为对照。

(2) pH 对降解 AFB₁ 的影响

取 5 mL 培养液调节 pH 至 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 和 8.0 后, 加入 AFB₁ 标准品至其初始质量浓度为 100 ng/mL, 25°C、120 r/min 振荡培养 72 h 后, 12000 r/min 高速离心, 测定上清液中 AFB₁ 含量, 计算降解率。以各自 pH 的空白 PDB 培养基加 AFB₁ 为对照。

(3) 金属离子对降解 AFB₁ 的影响

取 5 mL 培养液加入 AFB₁ 标准品至其初始质量浓度为 100 ng/mL 后, 分别向反应体系中加入金属离子 Mn²⁺、Fe²⁺、Ca²⁺、Cu²⁺、Zn²⁺ 和 Mg²⁺ (分别以 MnCl₂、FeSO₄、CaCl₂、CuSO₄、ZnSO₄ 和 MgSO₄ 形式), 使其终浓度为 2 mmol/L, pH 自然, 15°C、120 r/min 振荡培养 72 h 后, 12000 r/min 高速离心, 测定上清液中 AFB₁ 含量, 计算降解率。以不加离子的反应液作为对照。

1.3.6 AFB₁ 的检测

(1) AFB₁ 的提取

AFB₁ 的检测方法参考 ZHAO 等^[30]的方法。取与 AFB₁ 反应后的上清液加等体积甲醇混合, 再加入等体积二氯甲烷混匀, 吸取下层有机相液体, 重复萃取 3 次, 合并萃取液。待二氯甲烷经氮吹仪彻底挥干后, 再用等体积甲醇溶解, 振荡均匀, 经 0.22 μm 有机滤膜过滤后, HPLC 检测。

(2) HPLC 检测条件

色谱柱为 Welch C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇:乙腈:水=22:22:56 (V:V:V), 流速 0.8 mL/min, 柱温 40°C, 进样量 5 μL, 采用光化学衍生仪进行衍生, 荧光检测器检测, 激发波长 360 nm, 发射波长 450 nm。

(3) AFB₁ 降解率计算

AFB₁ 的降解率利用公式(1)进行计算:

$$\text{AFB}_1 \text{ 降解率}/\% = \left(1 - \frac{\text{实验组 AFB}_1 \text{ 含量}}{\text{对照组 AFB}_1 \text{ 含量}}\right) \times 100\% \quad (1)$$

1.3.7 薄层色谱法检测与形态学观察

AFB₁ 降解产物的薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)检测参考王佳兴等^[31]的方法。AFB₁ 标准品溶液(200 ng/mL)降解反应进行后, 通过氮气吹干重新溶解在苯-乙腈(2:98, V:V)里, 点样进行薄层色谱分离, 以乙腈代替 AFB₁ 经同样处理作为对照。展开剂为氯仿:丙酮(92:8, V:V), 待展开结束后, 晾干的薄层板置于 365 nm 紫外灯下观察, 记录荧光斑点的位置。同时, 对降解前后的菌丝体进行吕氏碱性美蓝染色, 于光学显微镜下观察菌丝形态, 借此初步研究中国被毛孢 8#菌株降解 AFB₁ 的机制。

1.3.8 数据分析

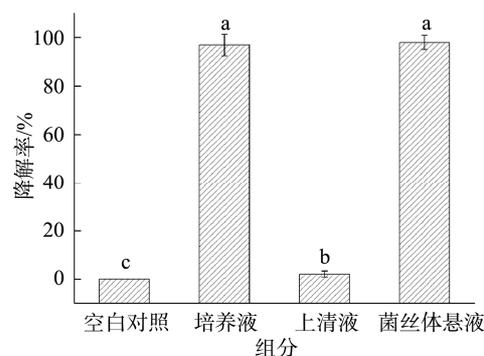
采用 SPSS 25.0 统计软件进行数据分析。数据均以平均值±标准偏差表示, 每组重复 3 次。不同组间的差异性采用单因素方差分析(one-way analysis of variance, ANOVA)方法进行比较, $P < 0.05$ 表示差异显著具有统计学意义。采用 origin 8 制图软件进行制图。

2 结果与分析

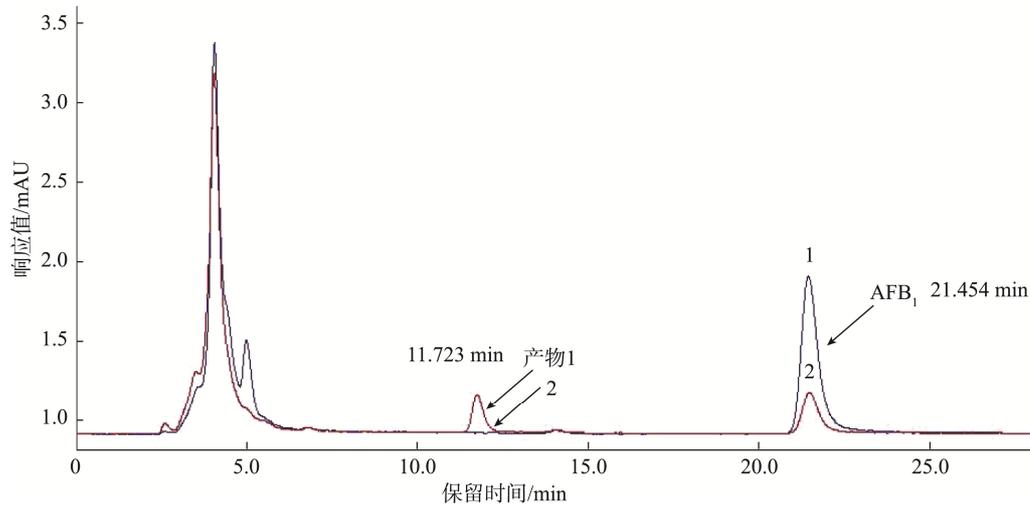
2.1 *H. sinensis* 8#菌株对 AFB₁ 的降解实验

对培养液、上清液和菌丝体悬液的降解 AFB₁ 毒素的能力进行了比较, 结果图 1 所示。培养液和菌丝体悬液的降解能力显著($P < 0.05$)高于上清液的降解能力, 在反应 96 h 后降解率分别达到了 96.90%±4.39%和 97.93%±2.92%, 二者差异不显著($P > 0.05$), 而上清液中降解率仅为 2.03%。可见, 菌株 8#降解 AFB₁ 的活性物质主要存在于细胞内。据文献报道, 李超波等^[18]研究发现施氏假单胞菌 F4 的降解物质也存在细胞内, 菌体细胞在反应 72 h 后, AFB₁ 的降解率为 82.84%。

同时, 可以看到随着培养液对 AFB₁ 的降解, 色谱图上的 AFB₁ 峰逐渐变小, 几乎消失不见, 而产物 1 的峰也随之产生(图 2), 这初步证明了 *H. sinensis* 8#有效地降解了 AFB₁, 并产生了 1 种新的可能的降解产物。



注: 图中不同小写字母代表有显著性差异, $P < 0.05$, 下同。
图 1 菌株 8#培养液、上清液和菌悬液对 AFB₁ 的降解($n=3$)
Fig.1 Degradation of AFB₁ by strain 8# culture medium, supernatant and bacterial suspension ($n=3$)



注: 1: 0 h 降解液; 2: 96 h 降解液。

图 2 AFB₁ 降解产物 HPLC 图

Fig.2 HPLC diagram for AFB₁ degradation products

2.2 *H. sinensis* 8# 降解 AFB₁ 的验证分析

本研究对加入 AFB₁ 毒素反应后的菌丝体细胞进行洗脱和萃取, 先用 PBS 反复洗脱了 3 次, 3 次洗脱液中均没有检测到 AFB₁ 含量。同时, 利用甲醇对菌丝体进行萃取, 但也未检测到 AFB₁, 而空白对照中残余率是 94.01%±4.39%。

微生物去除 AFB₁ 主要有吸附和降解两种方式, 如乳酸菌、酵母菌通过细胞壁吸附^[14], 但是这种吸附作用是可逆的, 通过加入甲醇或二氯甲烷等有机溶剂可以使 AFs 游离出来^[32]。而本研究通过 PBS 反复洗脱, 以及利用甲醇进行超声萃取, 都没有萃取到 AFB₁, 证实了 *H. sinensis* 8# 菌株是生物降解 AFB₁, 而不是吸附结合。

2.3 不同初始 AFB₁ 质量浓度降解实验

从图 3 可以看出, 在 0~24 h 内, *H. sinensis* 8# 菌株对 AFB₁ 的降解效率最高, 使得 50~1000 ng/mL 质量浓度的 AFB₁ 含量急剧减少, 降解率在 69.34%~73.65% 之间, 这可能是由于菌丝体处于对数期生长, 胞内降解酶活力比较旺盛; 在 24~120 h 的培养阶段, 降解效率缓慢增加, 这可能是由于菌体生长处于稳定状态, 代谢能力不再增加。此外, 从图 3 可以看出, 不同质量浓度的 AFB₁ 在 0~120 h 的降解趋势基本相似, 因此在后续实际应用研究中可以采用 24 h 作为最佳的降解时间。

2.4 反应条件对降解 AFB₁ 的影响

鉴于 *H. sinensis* 8# 菌株降解 AFB₁ 的活性组分存在于细胞内, 推测可能是胞内的某种酶起作用。而酶的活性往往与反应体系温度、pH 和金属离子有关, 因此从以下几个方面进行研究。

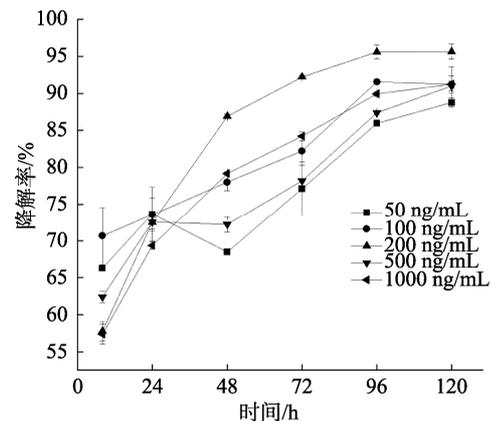


图 3 不同时间和不同 AFB₁ 浓度下菌株 8# 的降解效率 (n=3)

Fig.3 Degradation efficiencies of strain 8# under different times and AFB₁ mass concentrations (n=3)

2.4.1 温度对降解 AFB₁ 的影响

不同温度对 *H. sinensis* 8# 菌株降解 AFB₁ 的效率影响明显, 其中在反应温度不超过 25°C 时, 随着温度的升高, 降解率随之提高, 在 25°C 时降解率达到了 97.11%±0.78%。而高于 25°C 后, 降解效果急剧下降, 30 和 40°C 的降解率分别只有 36.14%±3.25% 和 33.70%±1.79%, 这可能是中国被毛孢适宜在 10~25°C 低温下生长有关。因此最适温度为 25°C。

2.4.2 pH 对降解 AFB₁ 的影响

不同初始 pH 对中国被毛孢 8# 菌株降解 AFB₁ 的效率有一定影响, 其中当 pH 在 3.0~5.0 的范围内, 随着反应液 pH 的提高, 降解率随着增加, 但是在 pH 5.0~8.0 的范围内, 对 AFB₁ 的降解基本趋于稳定, 降解率维持在 98% 以上, 且没有显著性差异 ($P>0.05$)。pH 为 5.0 时, 降解率高达 99.90%±0.18%, 此为最适宜的降解 pH。

2.4.3 金属离子对降解 AFB₁ 的影响

不同的金属离子对 AFB₁ 的降解效果有一定差异, 从图 4 可以看到, 除 Mn²⁺ 会抑制降解效果, 降解率下降了 5.88% 外,

其他金属离子都能提高降解效果, 其中 Fe²⁺提高了 16.78%, Zn²⁺提高了 15.24%, 两者没有明显的差异($P>0.05$)。

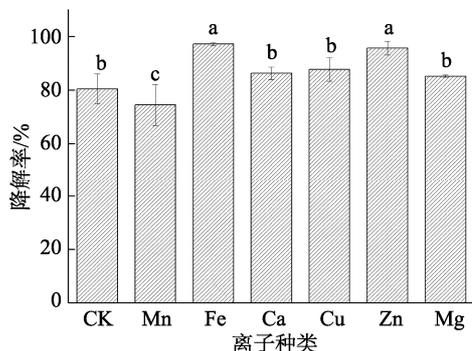
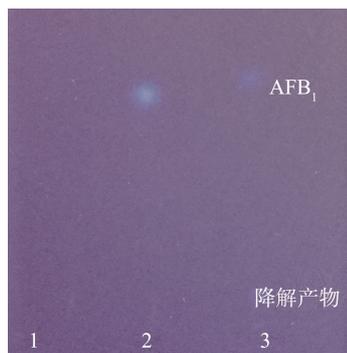


图 4 金属离子对降解 AFB₁ 的影响 (n=3)

Fig.4 Effects of metal ions on AFB₁ degradation (n=3)

2.5 降解机制初步研究

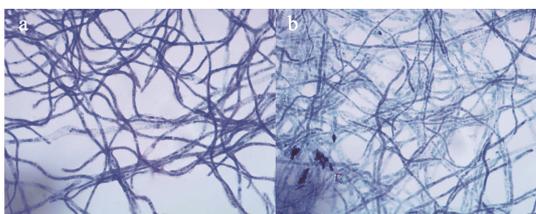
从图 5 可以看出, 反应后的 AFB₁ 在离点样不远处存在一个荧光亮点, 而在 AFB₁ 处的斑点相比标准溶液处的荧光亮度暗了很多, 可以确定 AFB₁ 被降解了, 生成了新的带有荧光的另一物质。AFB₁ 结构中主要存在 3 个毒性位点, 即呋喃环上毒性位点、香豆素吡喃环毒性位点以及环戊烯酮环上的毒性位点。有报道称, AFB₁ 呋喃环结构被破坏, 会导致荧光特性消失, 而香豆素结构断裂, 产物仍具有荧光^[15], 据此推断, *H. sinensis* 8# 菌株降解 AFB₁ 的机制可能是破坏了吡喃环结构。从图 6 中可以看到, 该菌株在与 AFB₁ 反应 72 h 后菌丝由原先的粗状、横隔清晰变得菌丝空洞、横隔模糊。



注: 1: PDB 培养基; 2: AFB₁ 标准溶液; 3: AFB₁ 降解液。

图 5 降解 AFB₁ 的 TLC

Fig.5 TLC of degradation of AFB₁



注: a: 降解前; b: 降解后。

图 6 降解前后形态学特征

Fig.6 Morphological properties of degradation before and after

3 结 论

本研究首次证实了 *H. sinensis* 8# 菌株能够降解 AFB₁, 并通过 PBS 洗脱和有机溶剂超声萃取的方式证实该菌对 AFB₁ 的脱毒是生物降解, 不是物理吸附, 且活性物质存在于胞内。不同起始 AFB₁ 浓度降解实验表明该菌株在 24 h 内降解效率最高, 且 AFB₁ 初始质量浓度在 50~1000 ng/mL 时, 降解趋势差异不明显。此外, 通过反应条件温度、pH 和金属离子研究证实, 该菌降解 AFB₁ 的效率受到 pH、温度和金属离子种类的影响, 主要可能起到降解效果的是胞内的酶引起的。最后, 通过薄层色谱检测发现, AFB₁ 的降解产物为一带有微弱荧光, 且迁移率远小于 AFB₁ 的物质, 说明 *H. sinensis* 8# 菌株导致 AFB₁ 的吡喃环结构受到破坏。HPLC 和 TLC 对产物分析表明, 该菌株可将 AFB₁ 降解为至少为 1 种产物。下一步, 将会对 *H. sinensis* 8# 菌株降解 AFB₁ 的发酵工艺进行研究, 同时对其降解 AFB₁ 的应用做研究, 拓展中国被毛孢的应用范围。

参考文献

- [1] JIANG H, DU ZJ, QIAN YY, *et al.* Characterization of the aflatoxin B₁ degradation role of laccases in *Stenotrophomonas acidaminiphila* [J]. Acta Microbiol Sin, 2021, 61(1): 127-140.
- [2] 宋川, 王利娟, 汪玲玲. 微生物代谢黄曲霉毒素 B₁ 的研究进展[J]. 食品工业科技, 2021, 42(10): 362-369.
SONG C, WANG LJ, WANG LL. Research progress on the microbial metabolism of aflatoxin B₁ [J]. Sci Technol Food Ind, 2021, 42(10): 362-369.
- [3] MARTINA L, FRANCESCA F, VANIA CL, *et al.* Mycotoxin biotransformation by native and commercial enzymes: Present and future perspectives [J]. Toxins (Basel), 2017, 9(4): 111.
- [4] 莫紫梅, 袁光蔚, 陈宁周, 等. 黄曲霉毒素降解技术及其降解产物研究进展[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(2): 188-193.
MO ZM, YUAN GW, CHEN NZ, *et al.* The research progress of aflatoxins degradation and product analysis [J]. Food Res Dev, 2019, 40(2): 188-193.
- [5] 刘立芳. 黄曲霉毒素的检测及其降解方法进展[J]. 中国酿造, 2014, 33(1): 23-26.
LIU LF. Progress on detection and degradation method of aflatoxin [J]. China Brew, 2014, 33(1): 23-26.
- [6] 黄巍, 殷海成, 王乐. 生物法降解黄曲霉毒素 B₁ 的机理研究进展[J]. 中国饲料, 2019, (1): 7-11, 5.
HUANG W, YIN HC, WANG L. Research progress on mechanism of biodegradation of aflatoxin B₁ [J]. China Feed, 2019, (1): 7-11, 5.
- [7] ZHANG CS, XING FG, SELVARAJ JN. 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] MARTINSA LM, SANT'ANA AS, IAMANAKAA BT, *et al.* Kinetics of aflatoxin degradation during peanut roasting [J]. Food Res Int, 2017, (97): 178-183.
- [9] AIKO V, EDAMANA P, MEHTA A. Decomposition and detoxification of aflatoxin B₁ by lactic acid [J]. J Sci Food Agric, 2016, 96(6): 1959-1966.
- [10] 宋承钢, 王彦多, 杨健, 等. 黄曲霉毒素脱毒研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(12): 3945-3957.
SONG CG, WANG YD, YANG J, *et al.* Research progress of aflatoxin detoxification [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(12): 3945-3957.

- [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] 王乐, 冉艳朋, 吕扬勇, 等. 生物防治黄曲霉毒素 B₁ 研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(5): 1527-1532.
WANG L, RAN YP, LV YY, et al. Research progress on biological prevention and cure of aflatoxin B₁ [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(5): 1527-1532.
- [14] CHLEBICZ A, ŚLIŻEWSKA K. *In vitro* detoxification of aflatoxin B₁, deoxynivalenol, fumonisins, T-2 toxin and zearalenone by probiotic bacteria from genus *Lactobacillus* and *Saccharomyces cerevisiae* yeast [J]. Probiotics Antimicrob Proteins, 2020, 12(1): 289-301.
- [15] 王雪妍, 陈晓飞, 周伏忠, 等. 一株具有黄曲霉毒素 B₁ 降解功能的食醋红球菌的分离鉴定[J]. 河南科学, 2017, 35(7): 1070-1074.
WANG XY, CHEN XF, ZHOU FZ, et al. Isolation and identification of a *Rhodococcus aetherivorans* strain degrading aflatoxin B₁ [J]. Henan Sci, 2017, 35(7): 1070-1074.
- [16] 雷娇, 宋宏新, 李鹏娟, 等. 发酵工艺条件对黑曲霉产黄曲霉毒素 B₁ 降解酶的影响[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(5): 190-195.
LEI J, SONG HX, LI PJ, et al. Effects of fermentation conditions on the production of aflatoxin B₁ degradation enzyme from *Aspergillus niger* [J]. Food Res Dev, 2017, 38(5): 190-195.
- [17] 舒彩云, 乔国华. 耐盐短杆菌 JH8 对黄曲霉毒素 B₁ 的降解研究[J]. 粮食与饲料工业, 2018, (9): 13-16.
SHU CY, QIAO GH. Aflatoxin B₁ degradation mechanism of *Brevibacterium halotolerans* JH8 [J]. Cere Feed Ind, 2018, (9): 13-16.
- [18] 李超波, 李文明, 杨文华, 等. 黄曲霉毒素 B₁ 降解菌的分离鉴定及其降解特性[J]. 微生物学报, 2012, 52(9): 1129-1136.
LI CB, LI WM, YANG WH, et al. Isolation and characterisation of an aflatoxin B₁-degrading bacterium [J]. Acta Microbiol Sin, 2012, 52(9): 1129-1136.
- [19] 关心, 何剑斌, 董双, 等. 黄曲霉毒素 B₁ 高效降解菌株的筛选鉴定及其降解[J]. 华中农业大学学报, 2016, (2): 90-96.
GUAN X, HE JB, DONG S, et al. Isolation, identification and preliminary degradation of aflatoxin B₁ degrading bacterial strain [J]. J Huazhong Agric Univ, 2016, (2): 90-96.
- [20] 邵帅, 戴军, 杜馨, 等. 降解黄曲霉毒素 B₁ 菌株的发酵条件优化及降解机制[J]. 食品科学, 2016, 37(5): 138-143.
SHAO S, DAI J, DU X, et al. Optimization of fermentation condition for an AFB₁-degrading strain and preliminary exploration of degradation mechanism [J]. Food Sci, 2016, 37(5): 138-143.
- [21] 郭钰婷, 张帅兵, 李娜, 等. 降解黄曲霉毒素 B₁ 的绿脓杆菌的分离、鉴定及应用研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2019, 40(3): 33-38, 49.
GUO YT, ZHANG SB, LI N, et al. Isolation and characterization of *Pseudomonas aeruginosa* with aflatoxin B₁ degradation capacity and its detoxification application [J]. J Henan Univ Technol (Nat Sci Ed), 2019, 40(3): 33-38, 49.
- [22] 孙标, 白禄宏, 韩立虎, 等. 产黄曲霉毒素生物降解酶枯草芽孢杆菌菌株的筛选及发酵工艺研究[J]. 饲料工业, 2020, 41(10): 30-37.
SUN B, BAI LH, HAN LH, et al. Screening and fermentation of *Bacillus subtilis* producing aflatoxin degrading enzyme [J]. Feed Ind, 2020, 41(10): 30-37.
- [23] 赵杨, 要灿, 郭晓军, 等. 黄曲霉毒素降解菌 N-1a 的降解特性及在全株玉米青贮中的应用[J]. 中国饲料, 2019, (17): 30-34.
ZHAO Y, YAO C, GUO XJ, et al. Degradation characteristics of *Bacillus Subtilis* N-1a degrading aflatoxin and the application in whole-plant corn silage [J]. China Feed, 2019, (17): 30-34.
- [24] FARZANEH M, SHI ZQ, GHASSEMPOUR A, et al. Aflatoxin B₁ degradation by *Bacillus subtilis* UTBSP1 isolated from pistachio nuts of Iran [J]. Food Control, 2012, 23(1): 100-106.
- [25] 齐景凯, 李丹丹, 王思珍, 等. 黑曲霉固体发酵 DDGS 降解黄曲霉毒素初探[J]. 饲料工业, 2017, 38(16): 53-54.
QI JK, LI DD, WANG SZ, et al. Degradation of DDGS aflatoxin by solid fermentation of *Aspergillus niger* [J]. Feed Ind, 2017, 38(16): 53-54.
- [26] 阴佳璐, 唐语谦, 任杰, 等. 浑浊红球菌 PD630 对黄曲霉毒素 B₁ 的生物降解特性研究[J]. 中国食品添加剂, 2020, 31(2): 39-46.
YIN JL, TANG YQ, REN J, et al. Biodegradation of aflatoxin B₁ by *Rhodococcus opacus* PD630 [J]. China Food Addit, 2020, 31(2): 39-46.
- [27] 韩成芳, 红梅, 涂峰. 中国被毛孢菌粉对小鼠抗疲劳、免疫功能的作用[J]. 中国医学创新, 2011, 8(34): 3-5.
HAN CF, HONG M, TU F. Effects of *Hirsutella sinensis* fermented mycelia physical fatigue and immunologic function of mice [J]. Med Innov China, 2011, 8(34): 3-5.
- [28] 韩洪坤, 杨晓彤, 杨庆尧, 等. 铁离子还原法(FRAP)测定中国被毛孢菌丝体提取物抗氧化活[J]. 上海师范大学学报(自然科学版), 2011, 40(3): 271-275.
HAN HK, YANG XT, YANG QY, et al. Antioxidative activity of *Hirsutella sinensis* mycelial extract measured by ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) [J]. J Shanghai Teach Univ (Nat Sci), 2011, 40(3): 271-275.
- [29] 刘少静, 秦蓓, 余丽丽, 等. 中国被毛孢提取物及其主要活性成分的抗肿瘤活性[J]. 化工科技, 2021, 29(3): 24-28.
LIU SJ, QIN B, YU LL, et al. Antitumor activity of *Hirsutella sinensis* extract and its main active components [J]. Sci Technol Chem Ind, 2021, 29(3): 24-28.
- [30] ZHAO LH, GUAN S, GAO X, et al. Preparation, purification and characteristics of an aflatoxin degradation enzyme from *Mycococcus fulvus* ANSM068 [J]. J Appl Microbiol, 2015, 110(1): 147-155.
- [31] 王佳兴, 谢岩黎, 宋娟娟, 等. 铜绿假单胞菌 M19 降解黄曲霉毒素 B₁ 的产物研究[J]. 粮油食品科技, 2020, 28(5): 1-5.
WANG JX, XIE YL, SONG JJ, et al. Analysis of the degradation products of aflatoxin B₁ by *Pseudomonas aeruginosa* M19 [J]. Sci Technol Cere Oils Foods, 2020, 28(5): 1-5.
- [32] 李超波, 李文明, 杨文华, 等. 降解黄曲霉毒素微生物筛选中降解与吸附结合作用的区分[J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(5): 17-21.
LI CB, LI WM, YANG WH, et al. Distinguishing degradation from binding of AFB₁ in screening of aflatoxin-degrading microorganisms [J]. Food Ferment Ind, 2012, 38(5): 17-21.

(责任编辑: 张晓寒 郑 丽)

作者简介



滕毅, 硕士, 工程师, 主要研究方向为生物制药及药品质量安全。

E-mail: tengyi@eastchinapharm.com