

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2018.05.012

黄曲霉毒素 B₁ 降解菌株的筛选鉴定

王明清¹, 于丽娜¹, 张初署¹, 毕洁¹, 孙杰^{1,2}, 刘宾³

(1. 山东省花生研究所, 山东 青岛 266100; 2. 西海岸现代农业示范区管委会, 山东 青岛 266000; 3. 山东省农业科学院 农业质量标准与检测技术研究所, 山东 济南 250000)

摘要: 黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁) 具有极强的毒性和致癌性, 严重危害人和动物健康。通过富集培养、初筛和复筛从土壤中筛选到能降解黄曲霉毒素的菌株, 鉴定降解效率最高菌株并研究其降解特征。结果表明, 筛选出多株能降解 AFB₁ 菌株, 其中菌株 A12 降解效率最高, 通过形态学、生理生化特征及 16S rRNA 基因系统进化分析鉴定菌株 A12 为枯草芽孢杆菌, 命名为 *Bacillus subtilis* subsp. *Inaquosorum* A12。研究发现枯草芽孢杆菌 A12 上清液、菌悬液、胞内液能分别降解 87.6%、17.3% 和 10.8% 的 AFB₁, 表明菌株 A12 分泌至胞外活性物质主导生物降解作用。菌株 A12 上清液降解 AFB₁ 的最适反应温度为 37 ℃, 最适 pH 为 7.0。将该菌接种到 AFB₁ 污染的花生样品, 能显著降低 AFB₁ 的含量。为枯草芽孢杆菌 A12 应用于 AFB₁ 的生物脱毒奠定了基础。

关键词: 黄曲霉毒素 B₁; 筛选; 菌株; 降解; 鉴定

中图分类号: TS 207.4; Q 939.11⁺² 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2018)05-0063-07

Screening and identification of aflatoxin B₁ degrading strains

WANG Ming-qing¹, YU Li-na¹, ZHANG Chu-shu¹, BI Jie¹, SUN Jie^{1,2}, Liu Bin³

(1. Shandong Peanut Research Institute, Qingdao Shandong 266100; 2. Management Committee of West Coast Modern Agricultural Demonstration Area, Qingdao Shandong 266000; 3. Agricultural Quality Standards and Testing Technology Institute, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan Shandong 250000)

Abstract: Aflatoxin B₁ (AFB₁) is highly toxic and carcinogenic, which seriously endangers human and animal health. The aflatoxin degradation strains were screened from the soil through enrichment culture, initial screening and rescreening, and the efficient degradation strain was identified and the degradation characteristics were studied. The results showed that the selected strains could degrade AFB₁, and the strain A12 was the most efficient one, which was identified as *Bacillus subtilis*, named as *Bacillus subtilis* subsp. *Inaquosorum* A12, by morphological, physiological and biochemical analyses and the evolution of 16S rRNA gene system. The degradation rate of supernatant, bacterial suspension, and intracellular fluid of A12 were 87.6%, 17.3% and 10.8% AFB₁, respectively. The results indicated that degradation activity of strain A12 was located in extracellular fluid, and the optimal reaction temperature and pH value for degradation of AFB₁ by supernatant were 37 ℃ and 7.0, respectively. The AFB₁ content could be significantly reduced by inoculating strain A12 to peanut sample contaminated by AFB₁. This study laid a foundation for the biological detoxification of AFB₁ by strain A12.

收稿日期: 2018-04-25

基金项目: 山东省自然科学基金 (ZR2016CM43、ZR2017MC060、ZR2016YL021、ZR2017MC062); 山东省农业科学院重大科技成果培育计划 (2016CGPY10); 山东省农业科学院农业科技创新工程 (CXGC2016B17, CXGC2018E21); 山东省 2018 年度农业重大应用技术创新项目

作者简介: 王明清, 1981 年出生, 男, 博士, 助理研究员.

通讯作者: 孙杰, 1981 年出生, 博士, 副研究员.

Key words: aflatoxin B₁; screen; strain; degradation; identification

黄曲霉毒素是一类由黄曲霉 (*Aspergillus flavus*) 和寄生曲霉 (*Aspergillus parasiticus*) 等真菌产生的次级代谢产物^[1]。20世纪60年代英国发生了十万只火鸡死亡事件, 调查发现火鸡食用了黄曲霉毒素污染的花生粕导致中毒死亡^[2]。黄曲霉毒素具有致突变、致癌性、强肝毒性、致畸性, 严重危害人和动物健康。黄曲霉毒素性质稳定, 在花生、玉米等农产品及制品、饲料中广泛存在, 污染后难以消除, 能残留在肉、蛋、奶等畜产品中, 并随着食物链的传递和富集而威胁人类健康和生命安全^[3]。目前已经发现了二十多种黄曲霉毒素, 如黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁)、黄曲霉毒素 B₂ (AFB₂)、黄曲霉毒素 G₁ (AFG₁)、黄曲霉毒素 G₂ (AFG₂)、黄曲霉毒素 M₁ (AFM₁)、黄曲霉毒素 M₂ (AFM₂) 等, 其中 AFB₁ 毒性最强、分布最广、危害最大、致癌力最强^[4-5]。因此, 采取有效措施对已污染黄曲霉毒素的农产品和食品进行脱毒, 成为粮油工业、食品工业、饲料业和畜牧业亟待解决的难题。

目前黄曲霉毒素脱毒的方法主要有物理法、化学法和生物法。物理法包括剔除发霉粮食颗粒法、硅藻土等吸附剂吸附法、紫外线辐照法、等离子体处理法、高温处理法、熏蒸法等^[6-7]; 化学法包括臭氧、过氧化氢等氧化法、有机试剂脱毒法、氨处理法等^[8]; 生物法主要包括生物吸附法和生物降解法^[9-10]。物理法和化学法存在转移而未降解黄曲霉毒素、向食品中引入化学残留、破坏食品营养等问题, 而生物降解法因为对毒素高度专一性、无污染、不破坏食品营养等优点, 成为近年来黄曲霉毒素脱毒的研究热点^[11]。本研究从土壤中筛选降解 AFB₁ 的菌株, 研究其降解特征并对该菌株进行鉴定, 为其应用于黄曲霉毒素的生物脱毒奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

土壤样品: 山东省青岛市; AFB₁ 标准品: 以色列 Fermentek 公司; 香豆素: 上海融禾医药科

技发展有限公司; 色谱级甲醇: 德国 Merck 公司; 细菌基因组 DNA 提取试剂盒和 DNA 凝胶回收试剂盒: 天根生化科技(北京)有限公司; Super GelRed 荧光染色试剂: 美国 US Everbright Inc; pMD19-T: 宝生物工程(大连)有限公司; 黄曲霉毒素免疫亲和柱: 北京华安麦科生物技术有限公司。

1.2 培养基

富集培养基为 LB 液体培养基 (g/L): 10 g 胰蛋白胨, 5 g 酵母提取物, 10 g NaCl, pH 7.0, 121 高压灭菌 20 min。LB 固体培养基: LB 液体培养基中加入 15 g/L 琼脂。初筛培养基为香豆素固体筛选培养基^[12] (g/L): 0.25 g KH₂PO₄, 0.25 g MgSO₄·7H₂O, 0.5 g KNO₃, 0.5 g (NH₄)₂SO₄, 0.005 g CaCl₂, 0.003 g FeCl₃·6H₂O, 15 g 琼脂, 1.0 g 香豆素, pH 7.0, 121 高压灭菌 15 min。复筛培养基 (g/L): 10 g 蛋白胨, 3 g 牛肉膏, 10 g NaCl, 1 g KH₂PO₄, 1 g 葡萄糖, pH 7.0, 121 高压灭菌 15 min。

1.3 仪器与设备

IS-RDV1 恒温震荡器: 美国精骐公司; 5430R 高速离心机: 德国 Eppendorf 公司; S1000TM Thermal Cycler PCR 仪和凝胶成像仪: 美国 Bio-Rad 公司; pH 计: 德国赛多利斯公司; GI36T 高压蒸气灭菌器: 致微(厦门)仪器有限公司; 1260 型高效液相色谱仪: 美国 Agilent 公司。

1.4 菌株筛选

1.4.1 降解 AFB₁ 菌株的初筛

土壤样品用无菌水稀释十倍, 稀释液按百分之一的接种量接种到富集培养基, 在 37 120 r/min 条件下震荡培养 24~48 h。观察培养液的变化, 当出现浑浊后取 100 μL 菌液涂布在初筛培养基上, 在 37 培养箱中培养 7~10 d, 定期观察菌的生长情况, 根据颜色形态等挑取单菌落, 划线纯化 3 次。纯化的菌株在 LB 培养基培养后, 加入 20% 甘油, 于 -20 冰箱冻存。

1.4.2 降解 AFB₁ 菌株的复筛

筛选出的菌株接种于复筛培养基, 培养 2 d。

1 980 μL 菌液加入 20 μL 的 10 mg/L AFB₁ 标准品, 加 AFB₁ 的培养基作为空白对照, 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 3 d。

1.5 AFB₁ 检测方法^[13]

经 10 000 r/min 离心 10 min 后收集菌株上清液, 上清液经 0.22 μm 滤膜过滤后加入免疫亲和柱, 先用超纯水洗两遍免疫亲和柱, 然后将色谱级甲醇加入亲和柱, 收集洗脱液。采用高效液相色谱检测溶液中 AFB₁ 的含量, HPLC 检测条件为: C-18 色谱柱 (4.6 mm \times 15 cm \times 5 μm), 进样量为 20 μL , 流动相为 $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{水}}=1:1$, 流速 0.8 mL/min, 荧光检测器激发波长为 360 nm, 发射波长为 440 nm。利用以下公式计算菌株对 AFB₁ 的降解率:

$$Y = \left(1 - \frac{S}{C}\right) \times 100\%$$

C 为空白对照样品 AFB₁ 的峰面积; S 为发酵菌液处理样品中残留 AFB₁ 的峰面积, Y 为 AFB₁ 降解率。

1.6 菌株的鉴定

1.6.1 表型分析

菌株 A12 在 LB 固体培养基平板上 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h 后观察菌落形态、色泽。

1.6.2 生理生化特征分析

观察菌株 A12 革兰氏染色反应, 以及其能利用的唯一碳源, 其氧化酶、过氧化氢酶等实验。唯一碳源利用实验: 将“1.2 培养基”中的初筛培养基中的香豆素替换为某一底物碳源, 115 $^{\circ}\text{C}$ 灭菌 20 min, 将菌株 A12 在唯一碳源平板上划线, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 15 d, 观察是否生长, 碳源包括葡萄糖、乳糖、麦芽糖和甘露糖等碳源。氧化酶实验: 用 1% 四甲基对苯二胺二盐酸盐溶液浸湿滤纸, 挑取新鲜的菌株 A12 点在滤纸上, 在 10 s 内呈现紫色的为阳性。过氧化氢酶实验: 将 30% 过氧化氢滴在新鲜的 A12 菌落上, 如果立即出现气泡为阳性, 30 s 后仍未产生气泡为阴性。

1.6.3 细菌 16S rRNA 基因序列分析

菌株 A12 接种到 LB 液体培养基, 培养 24 h 后, 采用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取细菌基因组 DNA。细菌 16S rRNA 基因通用引物为 27F

和 1492R^[14], PCR 反应体系 12.5 μL : Taq buffer 1.25 μL , dNTPs 1 μL , Taq 聚合酶 0.1 μL , 引物 P1 和 P2 各 0.5 μL , A12 基因组模板 0.5 μL (浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 水 8.65 μL 。PCR 扩增程序: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 10 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 40 s, 50 $^{\circ}\text{C}$ 退火 40 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 120 s, 30 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 8 min。反应结束后, 取 PCR 产物上样于 0.8% 的琼脂糖凝胶, 检测 PCR 结果, 切下目的条带, 通过 DNA 胶回收试剂盒纯化目的条带, 连接到 pMD19-T 载体, 转化到大肠杆菌, 通过蓝白斑筛选挑取阳性菌落, 经菌落 PCR 检测后, 将菌液送到上海生工生物有限公司测序。测序得到的基因序列进行在线比对分析, 选取相近的同源序列进行 ClustalW 分析, 然后用 MEGA6 软件构建系统进化树。

1.7 菌株 A12 降解特性研究

取 10 mL 的 A12 发酵液, 经 10 000 r/min 离心 20 min 后, 分离得到菌体和上清液。制备的菌体经无菌水洗涤后离心, 加入 10 mL 无菌水悬浮菌体获得 A12 菌悬液。A12 菌悬液经低温超声破碎后, 10 000 r/min 离心 20 min 得到的液体经 0.22 μm 滤膜过滤制备 A12 的胞内液。将 A12 上清液、菌悬液、胞内液三种组分分别加入 AFB₁, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 72 h 后, 检测分析各组分的 AFB₁ 降解率。

1.8 影响菌株 A12 上清液降解 AFB₁ 的因素

1.8.1 时间的影响

向菌株 A12 上清液中加入 AFB₁ 的标准品, 使 AFB₁ 终浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{L}$, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育, 分别在 6、12、24、36、48、72 h 取样, 采用 HPLC 检测 AFB₁ 的浓度。

1.8.2 温度的影响

向五支无菌的孵育管中分别加入 A12 上清液, 放入不同的温度培养箱中孵育, 孵育温度分别为 20、30、37、40 $^{\circ}\text{C}$, 待温度达到要求后加入终浓度 100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的 AFB₁, 避光孵育 72 h 后, 分析不同温度下菌株 A12 上清液的 AFB₁ 降解率。

1.8.3 pH 的影响

将菌株 A12 上清液调整至不同 pH 值, 分别为 5.0、6.0、7.0、8.0, 加入终浓度 100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的 AFB₁ 进行 AFB₁ 的降解实验, 避光孵育 72 h 后,

分析不同 pH 下菌株 A12 上清液的 AFB₁ 降解率。

1.9 菌株 A12 对花生样品中黄曲霉毒素的降解实验

将黄曲霉毒素超标的花生样品经研磨后分为三份, 每份 2 g, 编号分别为 S1、S2 和 S3。S1 号样品作为对照, S2 号样品经 121 °C 灭菌 15 min; S3 号样品经 121 °C 灭菌 15 min 处理后降温, 接入 A12 菌液处理 72 h。分别检测这三份样品中 AFB₁ 的含量。

2 结果与分析

2.1 菌株筛选

通过富集培养和初筛, 获得多株降解菌株, 进一步复筛后发现 8 株菌株能不同程度地降解 AFB₁ (图 1), 其中菌株 A12 的降解率最高, 为 87.6%。下面围绕着菌株 A12 进行研究, 鉴定该菌株并分析其降解特征。

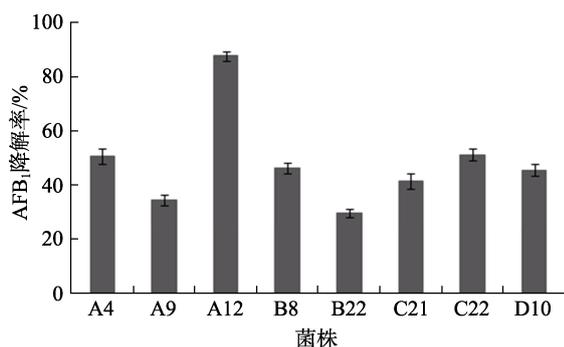


图 1 各菌株降解 AFB₁ 的能力

2.2 菌种鉴定

2.2.1 菌株 A12 形态学特征

由图 2 可以看出, 菌株 A12 在 LB 培养基上单菌落凸起, 有皱褶, 乳白色, 不透明。



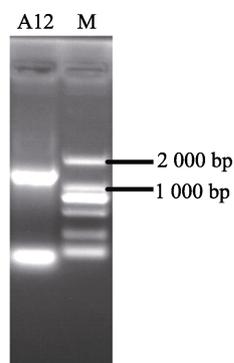
图 2 菌株 A12 的菌落形态

2.2.2 菌株 A12 生理生化特征

菌株 A12 的革兰氏染色呈阳性, 能利用葡萄糖、乳糖、麦芽糖、甘露糖等碳源, 具有氧化酶和过氧化酶活性。根据菌株 A12 的生化反应特征及形态学特征, 初步判断菌株 A12 属于芽孢杆菌属^[15-16]。

2.2.3 菌株 A12 的 16S rRNA 基因鉴定

以 16S rRNA 基因特异性引物进行 PCR 扩增, 在约 1 500 bp 处获得一条特异性的扩增条带, 且条带清晰亮度好 (图 3)。经测序得到 16S rRNA 基因长度为 1 511 bp, 该序列已提交 GeneBank, 登录号为 MH236184。与已经公布的序列比对分析, 发现菌株 A12 与芽孢杆菌属的菌株处于同一大的分支 (图 4), 其中与标准菌株 *Bacillus subtilis* subsp. *Inaquosorum* KCTC 13429^T 聚类在一起, 进化距离最近, 并且与该菌株 KCTC 13429^T 相似度最高, 相似度高达 99.86%。结合形态、生理生化特征和 16S rRNA 基因系统进化分析结果鉴定, 菌株 A12 命名为 *Bacillus subtilis* subsp. *Inaquosorum* A12, 中文名为枯草芽孢杆菌 A12。



A12 是菌株 A12 的 16S rRNA 基因; M 是 DL2000 DNA Marker

图 3 菌株 A12 的 16S rRNA 基因 PCR 产物
琼脂糖凝胶电泳分析

2.3 菌株 A12 降解特性

2.3.1 菌株 A12 各组分降解 AFB₁ 特性

比较菌株 A12 不同组分的降解能力, 发现其上清液、菌悬液、胞内液能分别降解 87.6%、17.3% 和 10.8% 的 AFB₁ (图 5)。这表明菌株 A12 降解 AFB₁ 是细菌分泌至胞外的活性物质主导的生物降解作用, 而不是细菌细胞壁的吸附作用。

2.3.2 时间对菌株 A12 上清液降解 AFB₁ 的影响 分析孵育时间对 A12 上清液降解 AFB₁ 的影

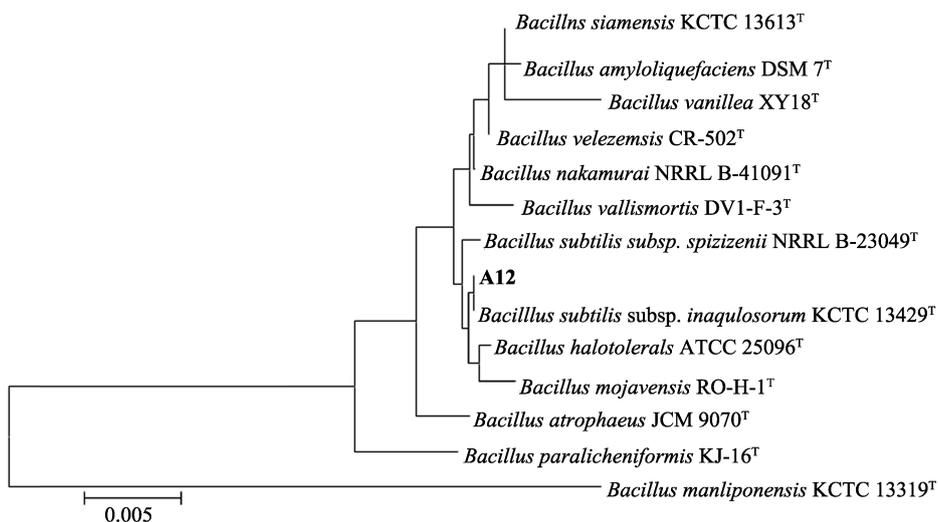


图 4 菌株 A12 的系统发育树

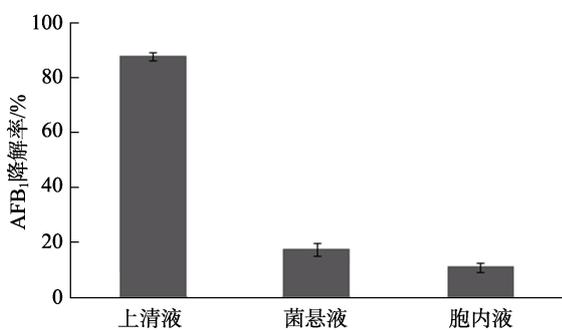


图 5 菌株 A12 各组分降解 AFB₁

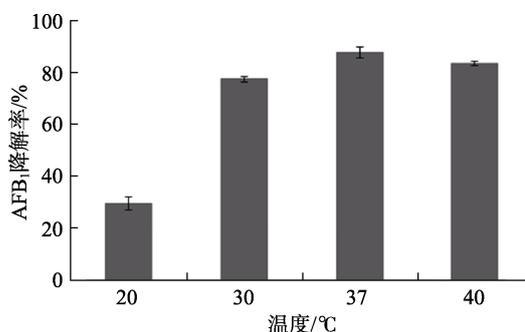


图 7 不同温度下菌株 A12 上清液降解 AFB₁ 的结果

响, 研究 6、12、24、36、48 和 72 h 六个孵育时间点菌株 A12 上清液降解 AFB₁, 结果表明: 降解率分别为 15.7%、25.1%、32.6%、48.9%、76.7% 和 87.6% (图 6)。

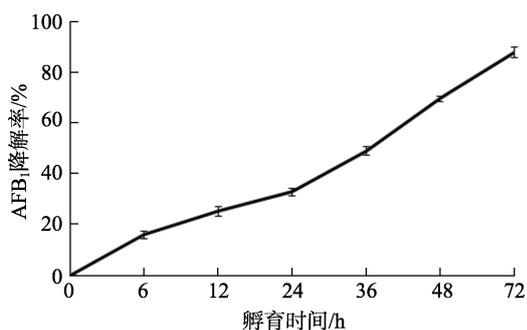


图 6 不同时间菌株 A12 上清液降解 AFB₁ 的结果

2.3.3 温度对菌株 A12 上清液降解 AFB₁ 的影响

分别研究 20、30、37、40 四个温度下菌株 A12 上清液降解 AFB₁ 的情况 (图 7)。结果表明, 在 20~37 条件下, 菌株 A12 上清液降解 AFB₁ 的能力在增加, 在 37~40 条件下, 降解率明显降低, 表明 37 是该菌上清液的最佳降解温度。

2.3.4 pH 对菌株 A12 上清液降解 AFB₁ 的影响

研究发现菌株 A12 上清液对 AFB₁ 的降解随着 pH 的变化而不同。图 8 可以看出, 当 pH 为 5 时降解率为 33.3%, 在 pH 从 5 到 7 时, 降解率逐渐增加, pH 为 8 时, 降解率降低。研究表明当 pH 为 7 时, 菌株 A12 上清液对 AFB₁ 的降解率最高。

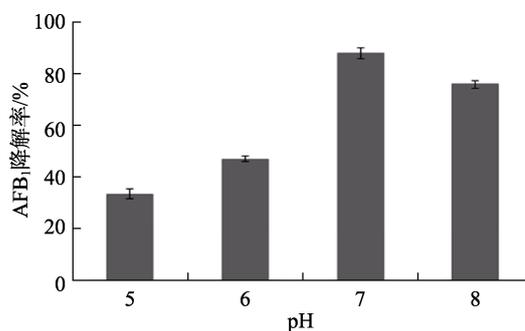


图 8 不同 pH 条件下菌株 A12 上清液降解 AFB₁ 的结果

2.4 菌株 A12 降解花生中 AFB₁ 的实验

以黄曲霉毒素超标的花生样品为研究对象, 分析表明未处理样品 S1 的 AFB₁ 含量为 135.1 μg/kg。样品 S2 为黄曲霉毒素超标的花生样品经过灭菌处理, 样品 S3 为加入菌株 A12 菌液处理。图 9

表明,样品 S2 的 AFB₁ 的含量为 133.3 μg/kg,与样品 S1 未处理组差别不大,而加入菌株 A12 菌液处理的样品 S3 经 72 h 后,AFB₁ 的含量明显降低,为 25.6 μg/kg。说明菌株 A12 能显著降解黄曲霉毒素超标的花生样品中 AFB₁。

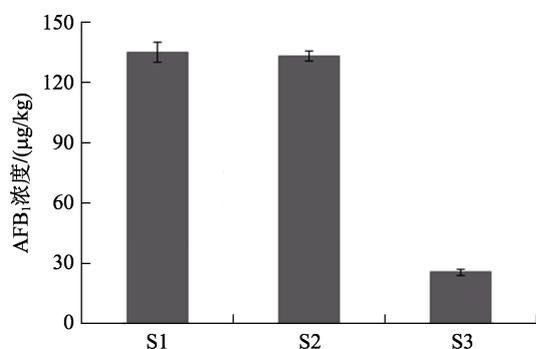


图 9 菌株 A12 对花生样品中 AFB₁ 的降解结果

3 讨论

上述研究结果表明,从青岛土壤中筛选分离到的菌株 A12 具有较强的降解 AFB₁ 的能力,进一步研究表明菌株 A12 是一株枯草芽孢杆菌,该菌对 AFB₁ 降解的活性组分存在于胞外上清液中,菌悬液和胞内液对 AFB₁ 降解率很低。菌株 A12 上清液对 AFB₁ 降解能力受到培养时间、温度、pH 等因素的影响,当温度为 37 ℃、pH 7.0、培养时间为 72 h 时降解效率最高。目前报道有些细菌能降解 AFB₁,如嗜麦芽窄食单胞菌 (*Stenotrophomonas maltophilia*)^[17]、铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)^[18]、施氏假单胞菌 (*Pseudomonas stutzeri*)^[19]、红平红球菌 (*Rhodococcus erythropolis*)^[20]、橙红色粘球菌 (*Myxococcus fulvus*)^[21]、厚壁菌 (*Firmicutes bacterium*)^[22] 等菌株,这些菌株如果应用到动物饲料中,还需要对它们安全性进行评价。枯草芽孢杆菌是革兰氏阳性菌,该菌株对人和动物无毒、无害,是农业部准许的可添加到动物饲料中的有益微生物,同时也是国际公认的可直接喂食动物的微生物制品^[23],在本研究中菌株 A12 对污染的花生样品中 AFB₁ 的降解实验表明该菌能显著降低花生中的 AFB₁。因此,本研究筛选到的高效降解 AFB₁ 的枯草芽孢杆菌 A12 具有很大的应用潜力。

目前只有少数研究报道了生物降解 AFB₁ 的

产物成分及其安全性,并且不同微生物降解 AFB₁ 的产物也不同^[9]。曹郁生等发现施氏假单胞菌 F4 能将 AFB₁ 降解成两种产物,分析发现降解产物无毒性^[24];刘大岭等发现假蜜环菌的胞内酶能使 AFB₁ 的双呋喃环断裂从而降低毒性^[25]。本研究发现菌株 A12 能显著降解 AFB₁,而对其降解产物的组成及产物毒性还未知。因此,后续实验将进行菌株 A12 降解 AFB₁ 的产物种类及安全性的研究,为应用该菌降解 AFB₁ 的安全性提供重要依据。

4 结论

从青岛土壤中筛选分离到的枯草芽孢杆菌 A12 具有较强的降解 AFB₁ 的能力,进一步发现该菌分泌至胞外的活性物质起主导的生物降解作用,而不是细菌细胞壁的吸附作用,菌株 A12 上清液降解 AFB₁ 的最适反应温度为 37 ℃,最适 pH 是 7.0。枯草芽孢杆菌 A12 适合添加到动物饲料中,具有很大的应用价值和前景。

参考文献:

- [1] MAO J, HE B, ZHANG L X, et al. A structure identification and toxicity assessment of the degradation products of aflatoxin B₁ in peanut oil under UV irradiation[J]. *Toxins*, 2016, 8: 332-341.
- [2] 刘然, 庞广昌. 黄曲霉毒素与食品污染[J]. *食品科技*, 2005(9): 34-36.
- [3] 李成成, 冯永兵, 王文龙, 等. 黄曲霉毒素对蛋鸡产业潜在的生态和健康风险[J]. *家禽生态学报*, 2015(2): 87-90.
- [4] 刘畅, 刘阳, 邢福国. 黄曲霉毒素生物学脱毒方法研究进展[J]. *食品科技*, 2010, 35: 290-293.
- [5] 刘真, 王世清, 肖军霞, 等. 等离子体降解花生中黄曲霉毒素的影响因素[J]. *粮油食品科技*, 2016, 24: 44-48.
- [6] 李培武, 张道宏, 杨扬, 等. 粮油制品中黄曲霉毒素脱毒研究进展[J]. *中国粮油作物学报*, 2010, 32: 315-319.
- [7] 李玉鹏, 王世清, 肖军霞, 等. 低温射频等离子体降解农产品中黄曲霉毒素 B₁ 效果的研究. *粮油食品科技*, 2014(5): 54-57.
- [8] WOMACK E D, BROWN A E, SPARKS D L. A recent review of non-biological remediation of aflatoxin-contaminated crops [J]. *Society of Chemical Industry*, 2014, 94: 1706-1714.
- [9] 蔡俊, 田尔诺, 邵帅, 等. 黄曲霉毒素 B₁ 生物脱毒的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2017, 44: 726-731.
- [10] 孙丰芹, 金青哲, 王兴国, 等. 黄曲霉毒素 B₁ 生物脱毒的研究进展[J]. *粮油食品科技*, 2011, 49: 39-41.
- [11] 计成, 赵丽红. 黄曲霉毒素生物降解的研究及前景展望[J]. *动物营养学报*, 2010, 22: 241-245.

- [12] HORMISCH D, BROST I, KOHRING G W, et al. *Mycobacterium fluoranthenorans* sp. nov., a fluoranthene and aflatoxin B₁ degrading bacterium from contaminated soil of a former coal gas plant[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2004, 27: 653-660.
- [13] 关心, 何建斌, 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, 35(2): 90-96.
- [14] FRANK J A, REICH C I, SHARMA S, et al. Critical evaluation of two primers commonly used for amplification of bacterial 16S rRNA genes[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74: 2461-2470.
- [15] RUIZ-GARÍA C, BÉJAR V, MARTÍNEZ-CHECA F, et al. *Bacillus velezensis* sp. nov., a surfactant-production bacterium isolated from the river Vélez in Málaga, southern Spain[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2005, 55: 191-195.
- [16] ROONEY A P, PRICE N P, EHRHARDT C, et al. Phylogeny and molecular taxonomy of the *Bacillus subtilis* species complex and description of *Bacillus subtilis subtilis* subsp. *Inaquosorum* subsp. nov[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2009, 59: 2429-2436.
- [17] GUAN S, JI C, ZHOU T, et al. Aflatoxin B₁ degradation by *Stenotrophomonas maltophilia* and other microbes selected using coumarin medium[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2008(9): 1489-1503.
- [18] SANGARE L, ZHAO Y J, FOLLY Y M E, et al. Aflatoxin B₁ degradation by a *Pseudomonas* strain[J]. Toxin, 2014(6): 3028-3040.
- [19] 杨文华, 李海星, 刘晓华, 等. 黄曲霉毒素 B₁ 降解酶的分离纯化及其酶学特征[J]. 食品科学, 2014, 35: 164-168.
- [20] KONG Q, ZHAI CP, GUAN B, et al. Mathematic modeling for optimum conditions on aflatoxin B₁ degradation by the aerobic bacterium *Rhodococcus erythropolis*[J]. Toxin, 2012(4): 1181-1195.
- [21] ZHAO L, GUAN S, GAO X, et al. Preparation, purification and characteristics of an aflatoxin degradation enzyme from *Myxococcus fulvus* ANSM068[J]. Journal of Applied Microbiology, 2011, 110: 147-155.
- [22] 陈晓飞, 周伏忠, 孙玉飞, 等. 黄曲霉毒素 B₁(AFB₁)降解菌的筛选鉴定[J]. 河南科学, 2011, 29: 1447-1450.
- [23] 孙玲玉, 李超, 郝海玉, 等. 泰山枯草芽孢杆菌的分离鉴定及其对黄曲霉毒素 B₁ 的降解研究[J]. 中国畜牧兽医, 2014, 41: 246-250.
- [24] 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.
- [25] CAO H, LIU D L, MO X M, et al. A fungal enzyme with the ability of aflatoxin B₁ conversion: purification and ESI-MS/MS identification[J]. 2011, Microbiological Research, 166: 475-483. ㊟

《粮食加工》2019 年征订启事

《粮食加工》杂志创刊于 1976 年, 1992 年为中文核心期刊, 被《中国知网》数据库长年收录, 并以其学术性与实用性结合、内容详实、信息量丰富、发行面广、印刷精美, 在全国粮食行业具有很大的影响力。刊物主要栏目有粮食经济论坛、小麦加工、稻米加工、玉米及小杂粮加工、粮食加工设备、粮食深加工、食品研究与开发、粮食物流与仓储及粮情检测分析等。

《粮食加工》为国内外公开发行, 双月刊(逢双月 1 日出版), 8 元/期, 全年定价: 48 元。国际标准 A4 开本, 全国各地邮局均可订阅。CN61-1422/TS, 邮发代号: 52-202, 国外发行代号: BM2990。

地 址: 西安市莲湖区劳动路 138 号《粮食加工》杂志社

联系人: 肖 锋

电 话: 029-88648175 传 真: 029-88631191

邮 编: 710082

E-mail: xibu98@sina.com lsjg2004@126.com

网 址: Http://www.lsjg.cn

广告