

一株降解呕吐毒素细菌的筛选及其鉴定

范卓莹, 余挺*

浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 馥莉食品科学研究院, 农业部农产品营养评价重点实验室, 农业部农产品采后处理重点实验室, 智能食品加工技术与装备国家地方联合工程实验室, 浙江 杭州
Email: 21813066@zju.edu.cn, *yuting@zju.edu.cn

收稿日期: 2021年2月23日; 录用日期: 2021年3月11日; 发布日期: 2021年3月25日

摘要

本文利用苯基环氧乙烷为唯一碳源从咖啡渣中筛选出7株具有呕吐毒素降解潜力的菌株, 通过iElisa酶联免疫法确定呕吐毒素降解率, 最终得到一株呕吐毒素降解能力较强的菌株XY-3。通过分子生物学技术对其进行鉴定, 并初步探究了其生理生化特性。结果表明, 筛选得到的菌株XY-3为解单端孢菌素微杆菌 (*Microbacterium trichothecenolyticum*), 其在24 h内对呕吐毒素的降解率可达到27.71%。XY-3为革兰氏阳性菌, 可利用多种碳源, 并具有较强的耐盐性, 但是对酸性环境较敏感。本研究可为呕吐毒素生物降解拓展研究范围, 并为后续的研究提供基础支撑。

关键词

呕吐毒素, 降解, 筛选鉴定, 解单端孢菌素微杆菌

Screening and Identification of a Deoxynivalenol (DON)-Degrading Bacteria

Zhuoying Fan, Ting Yu*

National Engineering Laboratory of Intelligent Food Technology and Equipment, Key Laboratory for Agro-Products Postharvest Handling of Ministry of Agriculture, Key Laboratory for Agro-Products Nutritional Evaluation of Ministry of Agriculture, Zhejiang Key Laboratory for Agro-Food Processing, Fuli Institute of Food Science, College of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou Zhejiang
Email: 21813066@zju.edu.cn, *yuting@zju.edu.cn

Received: Feb. 23rd, 2021; accepted: Mar. 11th, 2021; published: Mar. 25th, 2021

*通讯作者。

Abstract

In this paper, 7 strains with deoxynivalenol (DON) degradation potential were selected from coffee grounds using styrene oxide as the only carbon source, and the degradation rate of DON was determined. Finally, a strain XY-3 with the outstanding degrading ability of DON was obtained, which was identified by molecular biology technology, and its physiological and biochemical characteristics were preliminarily explored. The results showed that XY-3 was identified as *Microbacterium trichothecenolyticum*, and its degradation rate of DON can reach 27.71% within 24 hours. XY-3 is a gram-positive bacterium that can use a variety of carbon sources and has strong salt tolerance, but it is more sensitive to acidic environments. This study can expand the scope of research for the biodegradation of DON and provide basic support for further research.

Keywords

Deoxynivalenol (DON), Degradation, Screening and Identification, *Microbacterium trichothecenolyticum*

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

真菌毒素是真菌的次级代谢产物, 普遍出现于受真菌污染的谷物、农作物中, 从而对食品和饲料产生污染。真菌毒素可对动物和人类产生严重的健康威胁, 国际癌症研究组织和世界卫生组织曾研究表明真菌毒素不仅可以引起人畜急性中毒、诱发癌症还会导致儿童发育迟缓, 在全球范围内约有 1.6 亿五岁以下儿童因真菌毒素影响而发育不良。因此对于真菌毒素的防治和降解是全球性的课题, 具有深远的意义和价值[1]。

呕吐毒素又称脱氧雪腐镰刀菌烯醇(Deoxynivalenol, DON), 是由禾谷镰刀菌、尖孢镰刀菌、串珠镰刀菌等镰刀菌产生的次级代谢产物, 也是谷物中最常见的 B 型单端孢霉烯类毒素[2]。呕吐毒素其结构为 3 α , 7 α , 15 一三羟基草镰孢霉-9-烯-8-酮, 易溶于水、乙醇、乙酸乙酯等溶剂, 在高温、高压以及酸性条件下非常稳定, 具有较强的细胞毒性, 免疫毒性和遗传毒性[3] [4]。有研究表明对于以鸡为例的家禽来讲, 日粮中呕吐毒素的摄入会严重影响家禽的饲料摄入、生长状态以及免疫系统功能[5], 从而增加了家禽感染传染性疾病的可能性, 影响其生产性能, 对家禽养殖者造成巨大的经济损失[6] [7]。此外, 呕吐毒素对于一系列神经细胞也显示出明显的神经毒性。呕吐毒素可通过激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路诱导神经元细胞凋亡、影响神经递质的分泌、脂质过氧化和钙稳态, 并增加了血脑屏障的通透性, 从而产生神经毒性[8]。对于人脑而言, 已知研究表明呕吐毒素可以影响人脑中的多巴胺能受体, 从而引起呕吐, 腹泻, 头痛和发烧等症状, 对人体健康产生威胁[9]。

当前对于呕吐毒素的脱毒方法主要可分为物理、化学和生物脱毒三个方法。物理方法和化学方法是当前呕吐毒素脱毒的主要方法, 其中物理方法主要可分为热处理、漂白研磨、吸附、辐射处理等, 化学脱毒法主要有强酸、强碱及臭氧处理等方法[10]。虽然物理和化学脱毒方法在实际生产中具有应用面较广、价格低廉等优势, 但是仍存在如降低农产品、饲料质量, 降低食品营养价值及风味、有机物残留等缺点,

限制了物理化学等脱毒方法在生产中的应用[11]。生物脱毒具有反应条件温和、不使用有害化学试剂、对原料感官性状和适口性影响较小以及营养成分损失较少等优点,是当前食品、饲料处理过程中极具前景和潜力的呕吐毒素降毒方法,其主要机理可分为微生物菌体的吸附作用以及微生物的酶促降解作用[12][13]。其中微生物的酶促降解作用其机理主要有三种:1) C12、C13 的开环氧化;2) 3C-OH 的氧化、糖苷化或异构化作用;3) 水合作用[14][15]。有研究表明一些微生物可以利用呕吐毒素作为唯一碳源维持其生长,并通过以上三种机理将呕吐毒素转化为低毒甚至是无毒的产物,从而实现呕吐毒素脱毒的目的。因此脱毒菌株的筛选是当前呕吐毒素生物降解研究的关键和热点[16]。

本文以从咖啡渣中筛选出了一株降解呕吐毒素的解单端孢菌素微杆菌 XY-3,利用 iELISA 酶联免疫法测定了其呕吐毒素的降解率,并对其生理生化特征进行了鉴定,为筛选新的呕吐毒素降解菌和在实际生产中呕吐毒素降解的应用提供了理论基础,具有一定的应用前景和价值。

2. 材料与仪器

2.1. 试验材料

LB 液体培养基: 蛋白胨 10 g, 酵母提取物 5 g, 氯化钠 10 g, 加水定容至 1 L, 121℃ 灭菌 15 min。

LB 固体培养基: 蛋白胨 10 g, 酵母提取物 5 g, 氯化钠 10 g, 琼脂 20 g, 加水定容至 1 L, 121℃ 灭菌 15 min。

筛选培养基: 硫酸铵 1 g, 磷酸二氢钾 3 g, 磷酸氢二钾 6 g, 氯化钠 0.5 g, 硫酸镁 0.5 g, 硫酸亚铁 0.001 g, 氯化钙 0.05 g, 玉米浆 0.1 g, 琼脂 20 g, 加水定容至 1 L, 121℃ 灭菌 15 min。灭菌后,待稍冷却后加入经 0.22 μm 有机膜过滤后的苯基环氧乙烷至 15 mmol/L 作为唯一碳源,振荡分散均匀[17]。

呕吐毒素标准品购于青岛普瑞邦生物工程有限公司;呕吐毒素 iELISA 呕吐毒素检测试剂盒购于北京中检维康生物技术有限公司;Lysis Buffer for Microorganism to Direct PCR 试剂盒购买于北京宝日医生物技术有限公司;使用试剂均为分析纯。

2.2. 试验设备

SW-CJ-1FD 超净工作台,购于苏州安泰空气技术有限公司;XLS-3750 高压蒸汽灭菌锅,购于日本松下三洋公司;ZQLY-180F 振荡培养箱,购于上海知楚仪器有限公司;LRH-250 生化培养箱,购于上海一恒科技有限公司;3K15 冷冻离心机,购于德国 Sigma 公司;SpectraMax Plus 384 酶标仪,购于美国 Bio-Rad 公司;光学显微镜,购于日本 Olympus 公司。

3. 实验方法

3.1. 细菌的富集与分离

取 5 g 样品与 45 ml 的无菌水中,充分振荡混合后梯度稀释,取 100 μl 涂布于 LB 培养基,于 37℃ 培养 48 h。根据菌落形态及生长状况,挑去不同形态的单菌落在 LB 培养基中划线纯化,纯化后的菌株用 50% 甘油于 -80℃ 中冷冻保存备用。

3.2. 呕吐毒素降解菌初筛

将纯化后的菌株接种于 LB 液体培养基中,37℃ 连续活化两代后,取 1 ml 菌液于 2 ml 离心管中,4℃,6000 xg 离心 10 min,去除上清液,用无菌水洗涤两次,梯度稀释。取 100 μl 不同稀释度的菌悬液涂布于筛选固体培养基上,于 37℃ 恒温培养箱中培养,观察菌落生长状况。记录可在筛选培养基上生长的菌株,进行进一步筛选。

3.3. 呕吐毒素降解菌复筛

取初筛菌株于筛选培养基中 37°C, 180 r/min 条件下培养 24 h, 发酵液于 4°C, 8000 xg 条件下离心 10 min, 收集上清液, 以苯基环氧乙烷为底物, 利用酶标仪测定发酵上清液中的降解酶活力, 筛选出降解活力最高的菌株

3.3.1. 苯基环氧乙烷标准曲线的测定

于 1.5 ml 的离心管中, 加入 135 μ l 磷酸盐缓冲溶液(pH = 8)与 15 μ l 浓度分别为 50、100、200、300、400、500 mmol/L 的苯基环氧乙烷溶液, 立即加入 150 μ l 丙酮, 充分振荡后依次加入三乙二醇二甲醚、三乙胺、230 mmol/L 的 4-(对硝基苄基)吡啶溶液各 50 μ l, 混合震荡后取 200 μ l 混合溶液于 96 孔板中, 30°C 保温 90 min, 分别测定在 580 nm 处的吸光值, 绘制标准曲线。

3.3.2. 不同菌株降解酶活性的测定

于 1.5 ml 的离心管中, 加入 135 μ l 上清液与 15 μ l 200 mmol/L 的苯基环氧乙烷溶液, 30°C 保温 10 min 后立即加入 150 μ l 丙酮, 充分振荡后依次加入三乙二醇二甲醚、三乙胺、230 mmol/L 的 4-(对硝基苄基)吡啶溶液各 50 μ l, 混合震荡后取 200 μ l 混合溶液于 96 孔板中, 30°C 保温 90 min, 分别测定在 580 nm 处的吸光值, 以苯基环氧乙烷浓度为 X 轴, 以相应吸光值为 Y 轴, 绘制标准曲线。将在 30°C 下, 每分钟水解 1 μ mol 苯基环氧乙烷所要的酶量定义为一个酶活力单位(U)。

3.4. 呕吐毒素降解率的测定

3.4.1. 呕吐毒素标准曲线的测定

根据 iELisa 呕吐毒素检测试剂盒说明书测定绘制呕吐毒素标准曲线, 具体步骤如下: 取 50 μ l 呕吐毒素标准品于微孔中, 依次加入 50 μ l 的 DON 酶标抗原与 50 μ l DON 抗体, 震荡均匀避光于室温温育 30 min, 甩干孔液, 加入 250 μ l 洗涤液充分洗涤 30 s, 充分洗涤三次。洗涤完毕后在吸水纸上用力拍干孔液, 加入 150 μ l 底物, 避光室温温育 10 min 后, 每孔加入 50 μ l 反应终止液, 测定 450 nm 处的吸光值, 以呕吐毒素标准品浓度值为 X 轴, 百分吸光度值为 Y 轴, 绘制标准曲线。

3.4.2. 呕吐毒素浓度降解率测定

以呕吐毒素纯品为底物, 测定菌株呕吐毒素降解能力。挑取复筛菌株接种于 50 ml 的 LB 液体培养基中, 37°C, 180 r/min 培养 24 h, 作为种子液。以 2% 的接种量再次接种于 LB 液体培养基中, 相同培养条件培养 24 h, 作为发酵液。取 990 μ l 发酵液于离心管中, 加入 10 μ l 浓度为 100 μ g/ml 的呕吐毒素标准工作液, 于 37°C, 180 r/min 培养 48 h, 以 LB 液体培养基作为对照。48 h 后将待检测液于 10,000 xg 离心 5 min, 取上清液经 0.22 μ m 的无菌过滤器过滤后, 用酶联免疫试剂盒测定上清液中呕吐毒素剩余含量, 计算呕吐毒素降解率, 测定方法与 3.4.1 相同。

3.5. 呕吐毒素降解菌的鉴定

将 XY-3 划线接种于 LB 培养基中, 37°C 培养 24 h 后观察菌株生长状态、色泽和菌落特征并进行革兰氏染色实验, 按《伯杰氏细菌鉴定手册》说明, 对 XY-3 进行形态学和生理生化鉴定[18]。

3.6. 呕吐毒素降解菌的分子生物学鉴定

根据 Buffer for Microorganism to Direct PCR 试剂盒说明书要求, 提取菌株基因组。使用细菌通用引物 7F 和 1540R 进行 PCR 扩增。扩增产物委托杭州擎科生物技术有限公司进行测序, 所得序列利用 Blast 与 GenBank 数据库进行比对, 并利用 MEGA 7.0 软件根据亲缘关系构建菌株进化树。

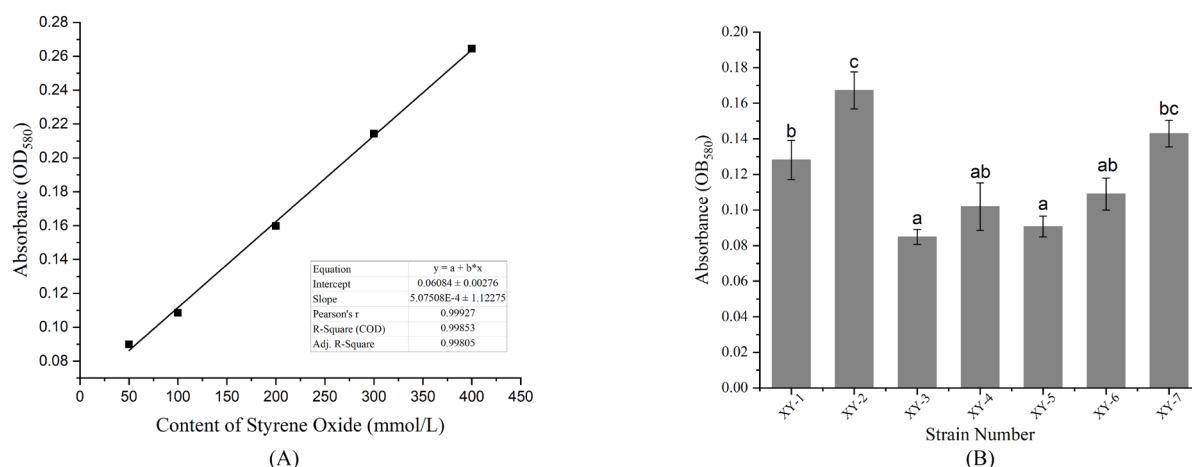
3.7. 统计分析

实验数据均使用 SPSS 22.0 软件进行单因素 ANOVA 分析, 进一步利用 Duncan 检验进行组件显著性差异分析, $p < 0.05$ 表示具有显著性差异。

4. 结果与分析

4.1. 脱毒菌株的筛选

苯基环氧乙烷与呕吐毒素具有相同的 C12、C13 环氧结构, 是低成本且有效的呕吐毒素脱毒菌株筛选方法之一。按照 3.1 的方法, 从咖啡渣样品中筛选出来的菌株中, 共筛选获得 7 株可在以苯基环氧乙烷为唯一碳源的初筛培养基中优势生长的菌株, 分别编号为 XY-1, XY-2, XY-3, XY-4, XY-5, XY-6, XY-7。通过测定这 7 株优势生长菌株对苯基环氧乙烷降解的酶活力, 对这 7 株菌株进行复筛。从图 1 中可以看出, 在 7 株菌株中, 除 XY-2 外其余菌株上清液均能对苯基环氧乙烷有降解作用, 其中 XY-3 与 XY-5 可以显著降低苯基环氧乙烷的含量, 说明 XY-3 和 XY-5 极有可能产生具有降解呕吐毒素作用的胞外酶, 并具有较强酶活性。



注: 图中不同标记字母表示统计学结果显示差异显著。

Figure 1. Standard curve of styrene oxide (A) and determination its degradation rate (B)

图 1. 苯基环氧乙烷标准曲线(A)及各菌株对其降解效果测定(B)

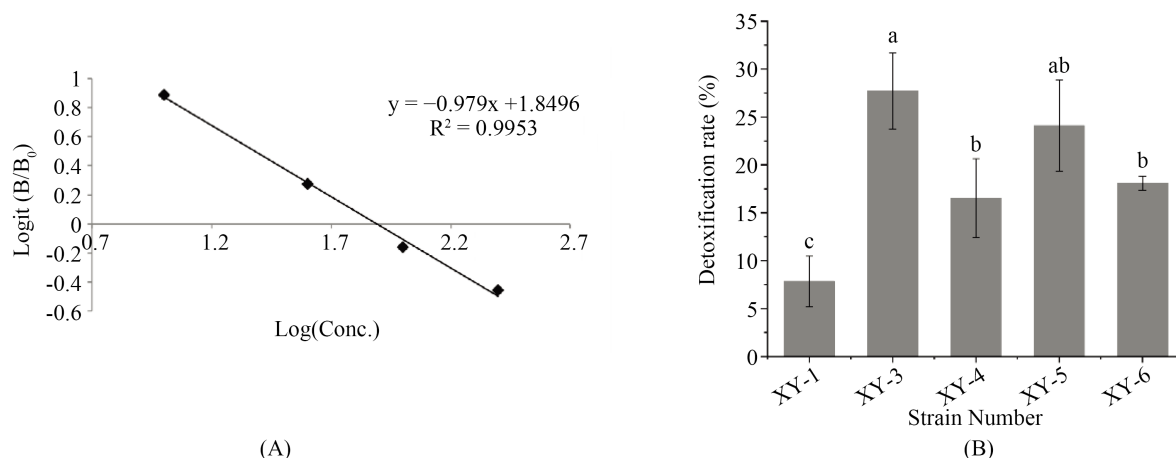
4.2. 呕吐毒素降解率测定

根据 3.4 的方法利用呕吐毒素酶联免疫试剂盒, 对酶活性较强的 5 株菌(XY-1, XY-3, XY-4, XY-5, XY-6), 进行呕吐毒素降解率测定。由图 2 可得, 这 5 株菌均对呕吐毒素具有降解作用, 其中 XY-3 较其他菌株能显著降解培养基中的呕吐毒素, 在 24 h 内其降解率达到 27.71%, 故取 XY-3 作为优势菌株进行进一步研究。

4.3. 脱毒菌株的鉴定

4.3.1. 菌株形态学特征

对 XY-3 进行菌落形态和革兰氏染色剪点, 如图 3(A)所示, XY-3 在 LB 培养基中 37°C 培养 24 h 后, 菌落形态呈圆形、金黄色不透明, 表面凸起湿润光滑, 边缘整齐。菌落革兰氏染色结果如图 3(B)所示, 经显微镜 1000 倍放大后观察可得 XY-3 为革兰氏阳性菌, 在显微镜下菌体呈短杆状, 无芽孢。



注: 图中不同标记字母表示统计学结果显示差异显著。

Figure 2. Standard curve of DON (A) and determination its degradation rate (B)

图 2. 呕吐毒素标准曲线(A)及各菌株对其降解效果测定(B)

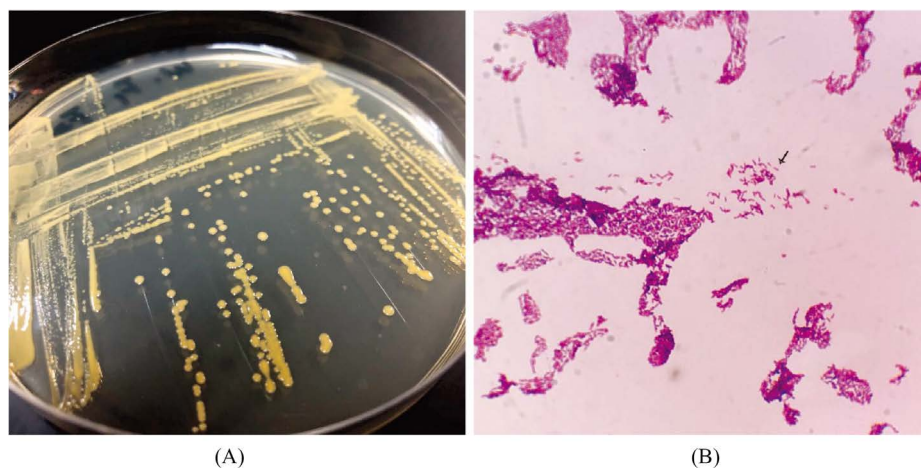


Figure 3. Colony morphology (A) and Gram stain (B) of strain XY-3 (10 × 100)

图 3. 菌株 XY-3 的菌落形态(A)及革兰氏染色(B) (10 × 100)

4.3.2. 菌株 16S rDNA 鉴定

使用 Lysis Buffee for Microorganism to Direct PCR 试剂盒提取 XY-3 基因组, 并对其进行 PCR 扩增。将扩增产物进行基因组测序, 将测序结果于 NCBI 中进行 BLAST 比对, 并通过 MEGA 软件构建 XY-3 亲缘进化树。比对结果如图 4 亲缘关系进化树所示, XY-3 与 KF953537.1 *Microbacterium trichothecenolyticum* strain M03 L05 (解单端孢菌素微杆菌)亲缘关系最近, 结合其菌落形态特征和 DNA 同源性比对结果, 将 XY-3 确认为解单端孢菌素微杆菌(*Microbacterium trichothecenolyticum*)。

4.3.3. 菌株生理生化特征

对 XY-3 进行部分生理生化特性鉴定, 包括生长实验及化学敏感性实验, 实验结果如表 1、表 2、表 3 所示, 结果表明 XY-3 可分泌接触酶和 β -半乳糖醛酸酶, 并能利用如 a-D-葡萄糖、D-果糖、D-半乳糖、蔗糖、D-麦芽糖等多种碳源促进生长。同时 XY-3 具有较强的耐盐能力, 对多种抗生素如利福霉素 SV、氨曲南、萘啶酸等不敏感, 但在 pH 为 5.0 以及盐酸胍、十四烷硫酸钠、夫西地酸存在的条件下较为敏感, 无法生长。

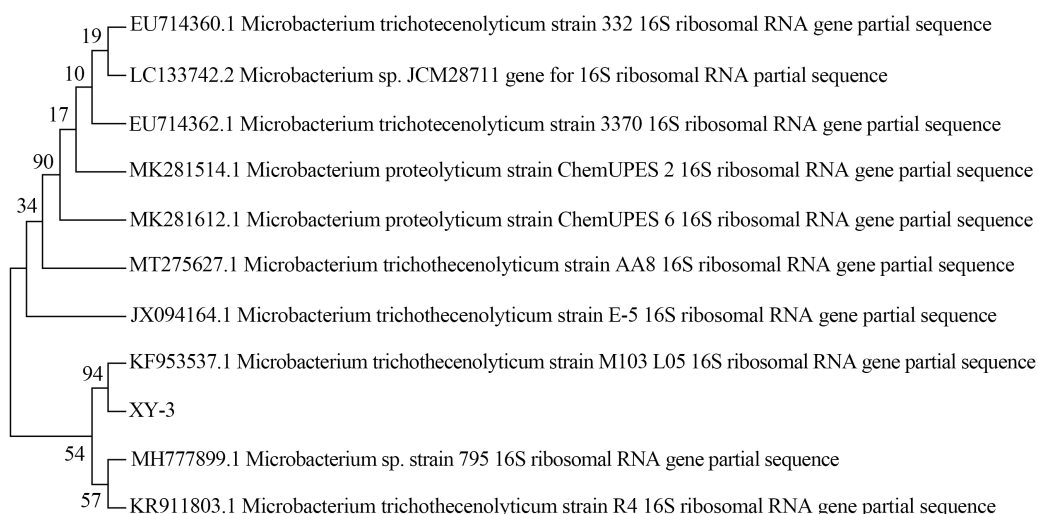


Figure 4. Phylogenetic tree of strain XY-3 based on 16SrDNA

图 4. 菌株 XY-3 基于 16SrDNA 的系统进化树

Table 1. Basic physiological and biochemical identification of strain XY-3

表 1. XY-3 生理生化鉴定

实验项目	结果	实验项目	结果
接触酶	+	β -半乳糖醛酸	+
精氨酸双水解酶	-	氧化酶	-
柠檬酸利用	-	鸟氨酸脱羧酶	-
赖氨酸脱羧酶	-	产生 H ₂ S	-
脲酶	-	色氨酸脱羧酶	-
产生吲哚	-	VP 反应	-

Table 2. Carbon source analysis and identification of strain XY-3

表 2. XY-3 碳源分析鉴定

实验项目	结果	实验项目	结果	实验项目	结果
a-D-葡萄糖	+	明胶	+	D-甘露醇	+
吐温 40	+	3-甲基-D-葡萄糖	-	D-丝氨酸	-
D-甘露糖	+	D-水杨酸	+	D-阿糖醇	-
γ -氨基丁酸	-	D-半乳糖醛酸	-	丙酸	-
D-果糖	+	L-丙氨酸	+	肌醇	-
D-乳酸甲酯	-	L-半乳糖酸内酯	-	甲酸	-
D-半乳糖	+	L-精氨酸	-	甘油	+
L-乳酸	+	D-葡萄糖-6-磷酸	+	D-纤维二糖	+
龙胆二糖	+	L-天冬氨酸	+	D-麦芽糖	+
柠檬酸	+	D-果糖-6-磷酸	+	D-海藻糖	+
蔗糖	+	L-谷氨酸	+	奎宁酸	-
α -酮戊二酸	-	D-葡萄糖醛酸	-	β -甲基-D-葡萄糖苷	-
松二糖	+	L-组氨酸	-	糖质酸	-

Continued

L-苹果酸	+	葡萄糖酰胺	+	N-乙酰-D-葡萄糖胺	-
水苏糖	-	L-焦谷氨酸	-	果胶	+
D-棉子糖	-	甘氨酸-L-脯氨酸	-	N-乙酰- β -D-甘露糖胺	-
肌苷	+	L-丝氨酸	+	D-天冬氨酸	-
α -D-乳糖	+	p-羟基苯乙酸	+	N-乙酰-D-半乳糖胺	-
D-山梨醇	-	粘酸	-	D-葡萄糖酸	+
D-蜜二糖	-	β -羟基-D,L-丁酸	+	N-乙酰神经氨酸	-

Table 3. Sensitivity test of strain XY-3

表 3. XY-3 敏感性鉴定

实验项目	结果	实验项目	结果
1% NaCl	+	盐酸胍	-
4% NaCl	+	萘啶酸	+
8% NaCl	+	十四烷硫酸钠	-
pH 6.0	+	夫西地酸	-
pH 5.0	-	氯化锂	+
利福霉素 SV	+	溴酸钠	+
氨曲南	+	亚碲酸钾	+
1%乳酸钠	+	丁酸钠	+

5. 结论

本研究通过呕吐毒素类似物从咖啡渣中筛选出 7 株具有降解呕吐毒素潜力的菌株, 并对前 5 株优势菌株进行呕吐毒素降解率测定。在含有呕吐毒素的培养基中培养后, 通过 iElisa 酶联免疫试剂盒最终筛选出一株具有较高呕吐毒素降解率的菌株 XY-3, 在 24 h 内其降解率为 27.71%。经分子生物学鉴定, 该菌株被鉴定为解单端孢菌素微杆菌(*Microbacterium trichothecenolyticum*), 并通过一系列生理生化鉴定, 初步了解了 XY-3 的生长特性和化学敏感性。上述研究为呕吐毒素降解菌株的筛选提供了理论基础, 并进一步拓展了微生物在呕吐毒素降解中的应用前景, 为后续的研究提供了基础和参考。

参考文献

- [1] International Agency for Research on Cancer. New IARC Report Urges against Widespread Mycotoxin Contamination in Developing Countries. <https://www.iarc.who.int/news-events/new-iarc-report-urges-action-against-widespread-mycotoxin-contamination-in-developing-countries>
- [2] 史海涛, 曹志军, 李健, 郭春华, 王永, 李胜利. 中国饲料霉菌毒素污染现状及研究进展[J]. 西南民族大学学报, 2019, 45(4): 354-366.
- [3] 何伟杰, 刘易科, 朱展望, 张静柏, 高春保, 廖玉才. 镰刀菌毒素脱氧雪腐镰刀菌烯醇脱毒菌及脱毒酶研究进展[J]. 植物病理学报, 2019, 49(5): 577-589.
- [4] 曹慧英, 伍松陵, 孙长坡. 呕吐毒素(DON)生物合成和降解研究进展[J]. 中国粮油学报, 2013, 28(5): 116-122.
- [5] Alassane-Kpembé, I., et al. (2015) Toxicological Interactions between the Mycotoxins Deoxynivalenol, Nivalenol and Their Acetylated Derivatives in Intestinal Epithelial Cells. *Archives of Toxicology*, **89**, 1337-1346. <https://doi.org/10.1007/s00204-014-1309-4>
- [6] Awad, W., Ghareeb, K., Böhm, J. and Zentek, J. (2013) The Toxicological Impacts of the Fusarium Mycotoxin, Deoxynivalenol, in Poultry Flocks with Special Reference to Immunotoxicity. *Toxins*, **5**, 912-925.

- <https://doi.org/10.3390/toxins5050912>
- [7] Aguzey, H.A., Gao, Z.H., Wu, H.H., Cheng, G.L., Wu, Z.M. and Chen, J.H. (2019) The Effects of Deoxynivalenol (DON) on the Gut Microbiota, Morphology and Immune System of Chicken—A Review. *Annals of Animal Science*, **19**, 305-318. <https://doi.org/10.2478/aoas-2019-0013>
- [8] Zhang, J.J., You, L., Wu, W.D., Wang, X., Chrienova, Z., Nepovimova, E., Wu, Q.H. and Kuca, K. (2020) The Neurotoxicity of Trichothecenes T-2 Toxin and Deoxynivalenol (DON): Current Status and Future Perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, **145**, Article ID: 111676. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111676>
- [9] Chen, D.J., Chen, P., Cheng, Y.L., Peng, P., Liu, J., Ma, Y.W., Liu, Y.H. and Ruan, R. (2019) Deoxynivalenol Decontamination in Raw and Germinating Barley Treated by Plasma-Activated Water and Intense Pulsed Light. *Food and Bioprocess Technology*, **12**, 246-254. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2206-2>
- [10] 张晓莉, 孙伟, 张红印, 杨其亚. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇的毒性及生物脱毒研究进展[J]. 食品科学, 2016, 37(17): 245-251.
- [11] Yao, Y.Z. and Long, M. (2020) The Biological Detoxification of Deoxynivalenol: A Review. *Food and Chemical Toxicology*, **145**, Article ID: 111649. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111649>
- [12] Bata, Á. and Lásztity, R. (1999) Detoxification of Mycotoxin-Contaminated Food and Feed by Microorganisms. *Trends in Food Science and Technology*, **10**, 223-228. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(99\)00050-3](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(99)00050-3)
- [13] Wan, J., Chen, B.C. and Rao, J.J. (2020) Occurrence and Preventive Strategies to Control Mycotoxins in Cereal-Based Food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **19**, 928-953. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12546>
- [14] He, P., Young, L.G. and Forsberg, C. (1992) Microbial Transformation of Deoxynivalenol (Vomitoxin). *Applied and Environmental Microbiology*, **58**, 3857-3863. <https://doi.org/10.1128/AEM.58.12.3857-3863.1992>
- [15] Sato, I., Ito, M., Ishizaka, M., Ikunaga, Y., Sato, Y., Yoshida, S., Koitabashi, M. and Tsushima, S. (2012) Thirteen Novel Deoxynivalenol-Degrading Bacteria Are Classified within Two Genera with Distinct Degradation Mechanisms. *FEMS Microbiology Letters*, **327**, 110-117. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02461.x>
- [16] Muhialdin, B.J., Saari, N. and Meor Hussin, A.S. (2020) Review on the Biological Detoxification of Mycotoxins Using Lactic Acid Bacteria to Enhance the Sustainability of Foods Supply. *Molecules*, **25**, 2655. <https://doi.org/10.3390/molecules25112655>
- [17] Yang, S.H., Wu, Y., Yang, J., Yan, R., Bao, Y.H., Wang, K.P., Liu, G.Q. and Wang, W. (2017) Isolation and Identification of an Extracellular Enzyme from *Aspergillus niger* with Deoxynivalenol Biotransformation Capability. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, **29**, 742-750. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2017.v29.i10.1295>
- [18] R. E. 布坎南, N. E. 吉本斯, 等. 伯杰细菌鉴定手册(第八版) [M]. 北京: 科学出版社, 1984.