

# 真菌毒素降解酶及其在饲料与食品行业中的研究现状

徐炜<sup>1</sup>, 张玉磊<sup>1</sup>, 施妍<sup>1</sup>, 方媛媛<sup>1</sup>, 欧阳斌斌<sup>1</sup>, 张文立<sup>1</sup>, 沐万孟<sup>\*1,2</sup>

(1. 食品科学与技术国家重点实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 食品安全国际合作联合实验室, 江苏 无锡 214122)

**摘要:** 真菌毒素是一类由真菌在其生长过程中所产生的次级代谢产物。真菌毒素不仅严重影响了粮食作物的产量, 而且也会对人的身体健康产生潜在的威胁。针对真菌毒素的物理处理方法有很多, 包括清洗、去皮、曝晒、辐照、离子脉冲等, 但物理方法很难保障对毒素的彻底清除, 同时容易对作物中的营养成分产生一定的损伤。化学方法同样可以对真菌毒素进行一定程度的消除, 但引入的化学试剂及潜在的间接污染限制了其在实际中的应用。随着生物技术的不断发展, 生物酶法因其反应条件温和、降解程度较高及降解产物毒性较低等诸多优点在真菌毒素降解方面显示出巨大的优势。作者对目前已经报道的真菌毒素降解酶的挖掘、鉴定及其实际应用等多方面进行了综述。相信随着研究的不断深入, 该类降解酶有望被进一步开发和使用在饲料和食品行业中。

**关键词:** 真菌毒素; 生物降解; 生物酶法; 饲料领域; 食品行业

中图分类号: Q 814 文章编号: 1673-1689(2023)01-0001-17 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2023.01.001

## Studies on Mycotoxin Degrading Enzymes and Their Applications in Feed and Food Industries

XU Wei<sup>1</sup>, ZHANG Yulei<sup>1</sup>, SHI Yan<sup>1</sup>, FANG Yuanyuan<sup>1</sup>,  
OUYANG Binbin<sup>1</sup>, ZHANG Wenli<sup>1</sup>, MU Wanmeng<sup>\*1,2</sup>

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;  
2. International Joint Laboratory on Food Safety, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** Mycotoxins are a group of secondary metabolites produced by fungi during their growth. Mycotoxins not only seriously affect the yield of food crops, but also pose big threat to human health. There are various physical treatments for mycotoxins including cleaning, peeling, exposure, irradiation, ion pulse and so on, however, these physical methods are difficult to ensure complete removal of toxins. Also, the loss of nutrients in crops would be possibly caused during the physical treatment. Chemical methods can also eliminate mycotoxins to some extent, but the introduction of chemical reagents and the potential indirect contamination can limit the further application in practical field. With a continuous development of biotechnology, microbial enzymes have shown great advantages in the degradation of mycotoxins due to the mild reaction conditions, high degradation efficiency and low toxicity of degradation products. The discovery, identification and

收稿日期: 2022-05-14

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFC1604602)。

作者简介: 徐炜(1991—), 男, 博士, 副研究员, 主要从事食品生物技术研究。Email: weixu@jiangnan.edu.cn

\* 通信作者: 沐万孟(1981—), 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事食品生物技术研究。Email: wmmu@jiangnan.edu.cn

application of mycotoxin-degrading enzymes which have been reported so far were thoroughly reviewed in this manuscript. It is believed that with the further of research, the mycotoxin-degrading enzymes are expected to be further developed and employed in the feed and food industries.

**Keywords:** mycotoxins, biological degradation, microbial enzyme, feed industry, food industry

真菌毒素的发现要追溯到 11 世纪欧洲的“麦角中毒”事件。真菌毒素主要是由丝状真菌如镰刀菌属、曲霉属和青霉菌属产生的次生代谢物。真菌毒素一般理化性质稳定,结构难以破坏,可以通过食物链进行累计富集,从而危害到动物和人类的健康安全,产生一系列的生殖毒性、免疫毒性、遗传毒性和致癌毒性。例如玉米赤霉烯酮被证明具有肝毒性、血液毒性、生殖毒性、免疫毒性和遗传毒性。谷物、种子和水果中存在真菌毒素会造成巨大的经济损失,并对农业和食物链构成重大威胁,进而对人类健康构成威胁。据联合国粮食及农业组织(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)的调查显示,世界上每年约有 25%的农作物被真菌毒素污染,给全球造成了近千亿美元的经济损失<sup>[1]</sup>。早在 2006 年,欧盟(European Union, EU)就实施了食品真菌毒素法规委员会条例并且对食品

中真菌毒素的最高含量进行了明确规定。因此,如何最大限度地减少真菌毒素一直是饲料和食品行业的一个重要且全球性的话题。

物理方法可以去除一些真菌毒素,但必需营养素的非特异性结合禁止其进一步应用。由于潜在的毒性、较高的成本和可能的二次污染,化学方法也受到限制。近年来,生物脱毒相比于物理化学法愈加展现其强大的优势,其中的生物酶法脱毒更是吸引了广泛的关注。生物酶法在仅添加蛋白质及少量绿色因子的情况下,便能够高效降解真菌毒素,降解程度高,且最终产生的转化产物毒性更低。基于此,作者对呕吐毒素、玉米赤霉烯酮、黄曲霉毒素、伏马毒素、赭曲霉毒素、展青霉毒素 6 种常见真菌毒素的降解酶及其在饲料与食品行业中的研究现状进行了综述(见图 1)。

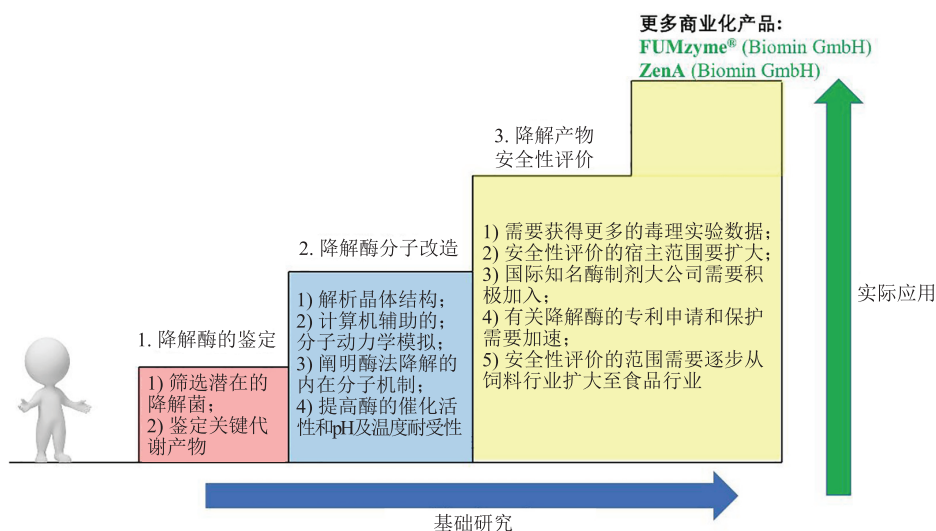


图 1 真菌毒素降解酶从“实验”走向“实际”

Fig. 1 Mycotoxins degrading enzymes from "laboratory" to "practice"

## 1 呕吐毒素

脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON),又称呕吐毒素,因其会引起人类和动物的腹泻、呕吐和胃肠道炎症而得名。低剂量的 DON 摄入会造成

动物的肠道屏障损伤和免疫刺激,高剂量摄入时会引起呕吐,导致饲料转化率降低等。能够产生呕吐毒素的菌属主要包括链孢菌属(*Alternaria* Nees)、曲霉属(*Aspergillus*)、枝孢菌属(*Cladosporium*)、镰刀菌属(*Fusarium*)和青霉菌属(*Penicillium*)<sup>[2]</sup>,其中镰刀菌

属是最主要的菌属。DON 通常在农作物采后和储存过程中产生,常出现于世界各地被污染的食品和饲料中,尤其在玉米中的发生率较高。

由于很难在农作物生长环节中完全避免 DON 的产生,因此近年来人们围绕作物加工和储存环节开展了一系列有关 DON 解毒的工作。目前,利用微生物吸附、降解或使用酶法降解对 DON 进行生物降解,具有巨大的应用潜力。其中,酶法降解 DON 因反应条件温和、降解率高等优点备受关注。研究报告, DON 中主要的致毒基团是 C3 位的羟基和 C12~C13 位的环氧结构(见图 2)<sup>[3-4]</sup>。因此酶法消除 DON 的主要作用位点是 C3 羟基以及 C12~C13 位的环氧基团<sup>[5]</sup>。

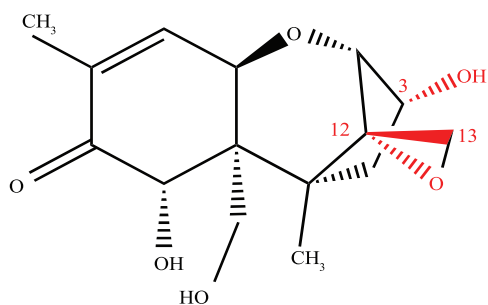


图 2 呕吐毒素的结构简式及相应的酶解基团

Fig. 2 Chemical structure of DON and the corresponding degradation groups

### 1.1 C12~C13 环氧结构的 DON 降解

有关 DON 的 C12~C13 环氧结构的降解或修饰作用的降解酶鲜有报道。其中,来自米曲霉 (*Aspergillus oryzae*) As-W.6 的培养液被发现含有一种脂肪酶,且纯化后的脂肪酶可以将不同浓度的 DON 降解 70%<sup>[6]</sup>。高效液相色谱-质谱(HPLC-MS)分析结果显示,降解产物比 DON 的相对分子质量减少了 13.9,表明生成了一种新的物质。尽管对 C12~C13 环氧结构进行降解的酶报道很少,但作用于该位置的 DON 降解菌却很多。如 Fuchs 等发现从牛瘤胃分离的细菌菌株 BBSH 797 可以将 DON 降解为 DOM-1;不但如此,与 DON 结构类似的 6 种不同的 A 型毛霉烯族毒素液均能被该菌株降解<sup>[7]</sup>。Gao 等从鸡肠道中鉴定出一株新的毛霉烯氧化细菌 *Eggerthella* sp. DII-9。在温度 20~45 °C 和 pH 5~10 时,该菌生长状态良好,并能够将 DON 转化为 DOM-1,且同样对之前提到的 DON 同族毒素具有光谱降解效果<sup>[8]</sup>。该团队还筛选得到一株革兰氏阳

性无孢子菌 *Slackia* sp. D-G6, 该菌株不仅可以将 DON 降解为 DOM-1,还可以高效的产生雌激素,能有效预防雌激素依赖以及年龄相关的疾病<sup>[9]</sup>。

### 1.2 C3 位羟基的 DON 降解

针对 DON 的 C3 位羟基有两种降解的途径。一种是氧化 C3 位羟基,生成相应的酮基,即 3-酮-DON(3-keto-DON);另一种是将 C3 位羟基异构化,形成 3-羟基-DON(3-epi-DON)。He 等从麦田中分离到一株能够降解 DON 的细菌菌株鞘氨醇单胞菌 S3-4 (*Sphingomonas* S3-4)<sup>[10]</sup>。通过与其他可降解 DON 菌株的基因组序列进行比较分析,结合鞘氨醇单胞菌 S3-4 基因组 BAC 文库的功能筛选,发现鞘氨醇单胞菌 S3-4 菌株中主要是一个羟酮还原酶家族成员 AKR18A1 负责将 DON 氧化为 3-keto-DON。随后该酶成功在大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 中实现重组表达,重组后的 AKR18A1 降解 DON 的最适 pH 为 9.5,在此条件下该酶的最大反应速率为 (25.7±0.8) nmol/(min·mg)。该酶在 pH 10~11 时可以保持 70% 的相对酶活力,显示出良好的碱稳定性。AKR18A1 的降解反应依赖辅因子烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADP<sup>+</sup>),但是在烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)存在的情况下,AKR18A1 也能够催化 3-keto-DON 的逆反应生成 DON。随后,He 等发现德沃斯氏菌 D6-9 (*Devosia mutans* D6-9) 能够将 DON 分解为 3-keto-DON 和 3-epi-DON。通过对德沃斯氏菌 D6-9 进行基因组分析,共确定了 3 个与 DON 异构化反应有关的基因,其编码的蛋白质一个是醌依赖的 DON 脱氢酶 QDDH,负责将 DON 氧化为 3-keto-DON<sup>[11]</sup>,以及另外两个分别为 NADPH 依赖的 aldo/keto 还原酶 AKR13B2 和 AKR6D1,负责将 3-keto-DON 转化为 3-epi-DON。利用大肠杆菌获得重组蛋白质 QDDH、AKR13B2 和 AKR6D1,并对小麦籽粒中的 DON 进行降解,可以观察到 6 h 内 DON 被完全降解成 3-keto-DON 和 3-epi-DON。Carere 等通过对 DON 降解菌德沃斯氏菌 17-2-E-8 (*Devosia mutans* 17-2-E-8) 的 RNA 进行测序和比较,推测该菌株中可能同时存在两种 DON 降解酶。一种是吡咯喹啉醌(PQQ)依赖的脱氢酶 DepA,可以将 DON 降解为 3-keto-DON。另外一种蛋白酶则负责将 3-keto-DON 进一步还原为 3-epi-DON<sup>[12]</sup>。随后,又在 *Devosia mutans* 17-2-E-8 中纯化出了 DepB,证实了 DepB 是一种 NADPH 依赖的脱氢酶,

该酶的最适温度为 30 °C, 最适 pH 为 7.5, 且在 pH 为 7~8 时能够保持较高的降解率<sup>[13]</sup>。

Qin 等通过对耐盐远洋杆菌 ANSP101 (*Pelagibacterium halotolerans* ANSP101)、德沃斯氏菌 17-2-E-8 和德沃斯氏菌 IFO13580 三株菌进行基因组分析, 发现一种来自耐盐远洋杆菌 ANSP101 的喹诺酮类蛋白质, 并命名为脱氧雪腐镰刀菌烯醇脱氢酶(DDH)<sup>[14]</sup>。DDH 可以在氢受体吩嗪甲硫酸酯(PMS)或二氯酚苯酚(DCPIP)为辅因子的前体下将 DON 氧化成 3-keto-DON。通过与德沃斯氏菌 17-2-E-8 和德沃斯氏菌 D6-9 的酰基辅酶 A 依赖脱氢酶 DepA

序列比对, 发现了 DDH 中两个显著影响 DON 降解的关键氨基酸残基, 分别为第 478 位的丝氨酸和第 480 位的谷氨酸。徐建宏等研究了 DON 降解菌 *Devosia* sp. DDS-1 产生的 3-乙酰-DON (3-AC-DON) 氧化酶的酶学特性。该酶的最适温度为 35 °C, 最适 pH 为 7.0, 且在 pH 为 7~9 时可以保持 80% 的相对酶活力。同时, 结果表明大多数金属离子在浓度为 0.2~2.0 mmol/L 时, 对 3-AC-DON 氧化酶有促进作用, 而乙二胺四乙酸(EDTA)对该酶活性有抑制作用<sup>[15]</sup>。不同微生物来源的 DON 降解酶及其性质比较如表 1 所示<sup>[10-15]</sup>。

表 1 不同微生物来源的 DON 降解酶及其性质比较

Table 1 Comparison of DON degradation enzymes from different microorganisms and their properties

微生物来源	名称	酶种类	识别底物	底物质量浓度/( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	降解产物	降解条件	反应时间/h	降解率/%	参考文献
<i>Sphingomonas</i> S3-4	AKR18A1	羟酮还原酶	DON	100	3-keto-DON	辅因子 NADP <sup>+</sup> , 55 °C, pH 9.5	NR	NR	[10]
<i>Devosia mutans</i> D6-9	QDDH	脱氢酶	DON	500	3-keto-DON	外源 PQQ, 40 °C, pH 6	6	99.3	[11]
	AKR13B2、AKR6D1	羟酮还原酶	3-keto-DON		3-epi-DON	辅因子 NADPH, 35 °C, pH 6.5			
<i>Devosia mutans</i> 17-2-E-8	DepA	脱氢酶	DON	50	3-keto-DON	1 mmol/L Ca <sup>2+</sup> , 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ PQQ, 室温, pH 7.5	12	>99	[12]
	DepB	羟酮还原酶	3-keto-DON	100	3-epi-DON	400 $\mu\text{mol}/\text{L}$ NADPH 或 NADH, 35 °C, pH 7.5	NR	NR	[13]
<i>Pelagibacterium halotolerans</i> ANSP101	DDH	脱氢酶	DON	50	3-keto-DON	500 $\mu\text{mol}/\text{L}$ PMS 或 DCPIP	NR	NR	[14]
	TDDH	DDH 突变体 (M516E)	DON	50	3-keto-DON	500 $\mu\text{mol}/\text{L}$ PMS 或 DCPIP 或 PQQ	NR	NR	
<i>Devosia</i> sp. DDS-1	3-AC-DON 氧化酶	氧化酶	DON	1	3-AC-DON	Mn <sup>2+</sup> 或 Zn <sup>2+</sup> 等金属离子、乙酰辅酶 A, 35 °C, pH 7.0	4	58.11	[15]
			3-AC-DON	3-keto-DON	68.39				

注: NR 代表未被报道。

## 2 玉米赤霉烯酮

玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN) 是一类由镰刀菌属(*Fusarium*)产生的真菌毒素, 广泛分布于种植玉米、小麦、大麦和高粱的农田及粮食副产品中, 会导致农作物的大量减产<sup>[16-17]</sup>。ZEN 具有一个二羟基苯甲酸内酯结构, 并且根据其内酯环结构中 C1 和 C6 位的官能团差异, ZEN 还拥有另外 5 种结构衍生物, 分别包括  $\alpha/\beta$ -玉米赤霉烯醇 ( $\alpha/\beta$ -

zearalenol,  $\alpha/\beta$ -ZOL)、 $\alpha/\beta$ -玉米赤霉醇 ( $\alpha/\beta$ -zearalanol,  $\alpha/\beta$ -ZAL) 和玉米赤霉酮(zearalanone, ZAN), 其中  $\alpha$ -ZOL 和  $\alpha$ -ZAL 具有比 ZEN 更高的毒性。随着食物链的不断累积, ZEN 及其衍生物不仅会造成严重的农作物污染, 而且严重威胁到人类的身体健康, 构成了世界性食品安全问题<sup>[18-19]</sup>。作为一种真菌毒素, ZEN 已经被证明具有肝毒性、血液毒性、免疫毒性和遗传毒性。Gao 等通过小鼠实验表明接触 ZEN 会破坏通过激素相关基因调节的生殖



激素和睾丸发育的系统<sup>[20]</sup>。目前围绕 ZEN 的降解思路主要是利用内酯酶或漆酶破坏 ZEN 的内酯结构,辅以 C6' 酮基和 C2 或 C4 羟基的氧化或修饰(见图3)。

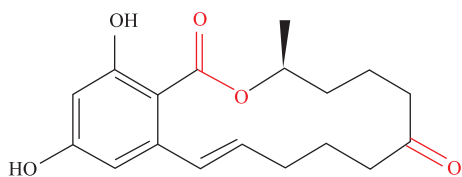


图3 玉米赤霉烯酮的结构简式及相应的酶解基团

Fig. 3 Chemical structure of ZEN and the corresponding degradation groups

### 2.1 内酯酶对 ZEN 的降解

2002 年,有研究者在粉红粘帚霉(*Clonostachys rosea*) IFO 7063 中发现了一段能够降解 ZEN 的关键基因,并成功纯化到了该基因编码的目的蛋白质。然后,基于纯化蛋白质的序列,将该基因克隆到大肠杆菌中,并命名为 ZHD101<sup>[21]</sup>。随后,ZHD101 分别在裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)和毕赤酵母中成功实现异源表达,并且检测到了 ZEN 降解活性。这是首次报道的 ZEN 降解酶,并且该基因序列早在 2002 年已经被申请专利保护。随后,将增强型绿色荧光蛋白质(EGFP)基因与 ZHD101 融合并在大肠杆菌中表达,并观测到表达后的重组蛋白质(EGFP:ZHD101)与改造前的 ZHD101 降解效果接近。同时,在不同的 pH 条件下,EGFP:ZHD101 的荧光强度和反应速度表现出良好的相关性,为实现实时检测 ZHD101 体内降解 ZEN 的效率提供了一定的研究思路<sup>[22]</sup>。Yang 等通过将编码 ZHD101 的基因克隆到大肠杆菌和乳酸杆菌穿梭载体 pNZ3004 中,然后通过电穿孔获得重组质粒 pNZ-ZHD101,将重组质粒导入到从肉鸡胃肠道分离的益生菌乳酸杆菌中,结果发现转化后的菌株获得了降解 ZEN 的能力<sup>[23]</sup>。值得注意的是,重组 ZHD101 在生产过程中并没有对细胞生长、耐酸性和胆盐耐受性产生明显的副作用。

随着研究的不断深入,其他微生物中也陆续发现了潜在的 ZEN 内酯酶。如 Zhang 等从红粘帚霉(*Gliocladium roseum*) 克隆得到了一种内酯酶可以高效地降解 ZEN,命名为 ZENG<sup>[24]</sup>。重组 ZENG 的最适 pH 为 7.0,最适温度为 38 ℃,同时 ZENG 对 ZEN、 $\alpha$ -ZOL 和  $\alpha$ -ZAL 都有较高的降解率。Hui 等

挖掘出了一种 ZHD101 同源的蛋白质,称为 CbZHD。序列比对表明,CbZHD 具有与 ZHD101 相同的催化三联体“S-H-E”,而催化三联体主要用于和 ZEN 之间的相互作用。CbZHD 的最适温度和最适 pH 分别为 35 ℃和 8.0<sup>[25]</sup>。Zhang 等发现了 3 种新的具有降解 ZEN 能力的内酯酶 CLA、EXO 和 TRI,分别与 ZHD101 有着 61%、63%和 97%的氨基酸同源性<sup>[26]</sup>。Bi 等鉴定了一种红面包霉菌(*Neurospora crassa*)来源的内酯酶 ZENC,具有较高的酶活力。除此之外还将 ZENC 应用于 3 种不同的动物饲料中。结果表明,当分别在酒糟、玉米副产物和玉米皮中添加 800 U 的 ZENC 时,ZEN 的浓度分别降低了 70.9%、88.9%和 94.7%<sup>[27]</sup>。Yu 等分离了一种新的内酯酶 ZHD607,并通过结构和序列比对分析,得到了活性分别是 ZHD607 的 2.9 倍和 3.4 倍的突变体<sup>[28]</sup>。Wang 等纯化重组了一种与 ZHD101 有 65%的氨基酸同源性的内酯酶 ZHD518,可以降解 ZEN 及其衍生物等多种真菌毒素<sup>[29]</sup>。随后,对其进行了酶学性质的鉴定和活性位点改造,并设计定点突变株 N156H,该突变体对  $\alpha$ -ZOL 的降解活性提高至原始酶的 3.3 倍。

### 2.2 其他酶对 ZEN 的降解

Wang 等首次研究了枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)来源的 BsCotA 漆酶降解 ZEN 和 AFB<sub>1</sub> 的能力<sup>[30]</sup>。在以丁香酸甲酯作为介质时,该酶对 ZEN 和 AFB<sub>1</sub> 降解率分别为 98%和 100%。Loi 等在体外实验中评估了杏鲍菇(*Pleurotus eryngii*)来源的漆酶(Ery4)和漆酶介体系统(LMSs)对多种毒素的降解作用<sup>[31]</sup>。其中,AFB<sub>1</sub> 和 ZEN 在一起降解时,*P. eryngii* Ery4 对这两种毒素的降解率分别为 86%和 100%。Yu 等克隆了来自不动杆菌 SM04 中的一个过氧化还原酶(Prx)基因,并成功在大肠杆菌 BL21 中实现了重组表达<sup>[32]</sup>。重组的 Prx 在 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 存在时可以有效降解 ZEN,同时对 ZEN 的最适降解 pH 和降解温度分别为 9.0 和 70 ℃。将该酶与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 共处理 6 h 后,可以降解 90%的 ZEN。Qin 等鉴定出了一种来自热羧链霉菌(*Streptomyces thermocarboxydus*)的多铜氧化酶(StMCO)<sup>[33]</sup>。StMCO 在与乙酰丁香酮或 ABTS 等介体物质共存时对 ZEN 和 AFB<sub>1</sub> 有较高的降解率。同时,在没有介质的情况下,StMCO 也可以微弱地降解 ZEN 和黄曲霉毒素 AFB<sub>1</sub>。不同微生物来源的 ZEN 降解酶及性质比较如表 2 所示<sup>[16,21,24-33]</sup>。

表 2 不同微生物来源的 ZEN 降解酶及其性质比较

Table 2 Comparison of ZEN degradation enzymes from different microorganisms and their properties

微生物来源	名称	酶种类	识别底物	底物质量浓度/ ( $\mu\text{g/mL}$ )	降解产物或效果	降解条件	比活力/ (U/mg)	降解率/%	参考文献	
<i>Clonostachys rosea</i>	ZHD101	内酯酶	ZEN	2	NR	37 °C、pH 9.5、2 h	NR	100	[21]	
<i>Gliocladium roseum</i>	ZENG	内酯酶	ZEN	10~80	NR	38 °C、pH 7.0、3 h	NR	70	[24]	
			$\alpha$ -ZOL					55		
<i>Cladophialophora bantiana</i> CBS 173.52	CbZHD	内酯酶	ZEN	59.52	NR	35 °C、pH 8.0	0.688	NR	[25]	
<i>Exophiala aquamarine</i> CBS 119918	CLA	内酯酶	ZEN	20	NR	40 °C、pH 7.0	114.8	NR	[26]	
<i>Exophiala aquamarina</i>	EXO							459.0		NR
<i>Trichoderma aggressivum</i>	TRI							40 °C、pH 9.0		239.8
<i>Neurospora crassa</i> OR74A	ZENC	内酯酶	ZEN	20	NR	45 °C、pH 8.0、0.25 h, 部分金属离子会抑制酶活力	NR	>99.9	[27]	
<i>Phialophora americana</i>	ZHD607	内酯酶	ZEN	50	NR	35 °C、pH 8.0	4 940 $\pm$ 28.06	NR	[28]	
<i>Rhinochadiella mackenziei</i>	ZHD518	内酯酶	ZEN	40	NR	Cu <sup>2+</sup> 或 Ni <sup>2+</sup> 抑制酶活力,Hg <sup>2+</sup> 几乎消除酶活力	207.0 $\pm$ 2.1	NR	[29]	
<i>Bacillus subtilis</i>	BsCotA	漆酶	ZEN	5	BsCotA 的反应混合物对水螅的生存无明显影响	1 mmol/L 丁香酸甲酯、30 °C、pH 7.0、0.5 h	NR	98	[30]	
<i>Pleurotus eryngii</i>	Ery4	漆酶	ZEN	0.5	NR	10 mmol/L TEMPO、ABTS 或 SA 等介体, 25 °C、72 h	NR	>99.9	[31]	
<i>Acinetobacter</i> sp. SM04	Prx	过氧化还原酶	ZEN	20	PRX 的反应混合物对 MCF-7 细胞没有增殖或抑制增殖作用	20 mmol/L H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 、30 °C、pH 9.0 (最适温度为 70 °C)、6 h	NR	90	[32]	
<i>Streptomyces thermocarboxydus</i>	StMCO	多铜氧化酶	ZEN	1	13-OH-ZEN-quinone	1 mmol/L 乙酰丁香酮、5 mmol/L CuSO <sub>4</sub> 、30 °C、pH 7.0、24 h	NR	>99.9	[33]	
<i>Bacillus subtilis</i> SCK6	BsDyP	过氧化物酶	ZEN	1	NR	1 mmol/L MnSO <sub>4</sub> 、0.1 mmol/L H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 、30 °C、pH 4.0、48 h	NR	85	[16]	

注:NR 代表未被报道。

### 3 黄曲霉毒素

AFs 是由黄曲霉属菌(*Aspergillus section Flavi*)产生的次级代谢物<sup>[34]</sup>,在农产品加工、运输和储存以及食品加工过程中广泛存在。早在 2002 年,AFs 就被国际癌症研究机构(IARC)归纳成一类致癌物。AFs 的存在不仅污染了多种食品和饲料产品<sup>[35]</sup>,而且造成严重的食品安全问题和巨大的经济损失<sup>[36]</sup>。在众多 AFs 中(见图 4),AFB<sub>1</sub> 被研究得最为广泛,因此作者将主要围绕 AFB<sub>1</sub> 的几种生物降解酶进行介绍。

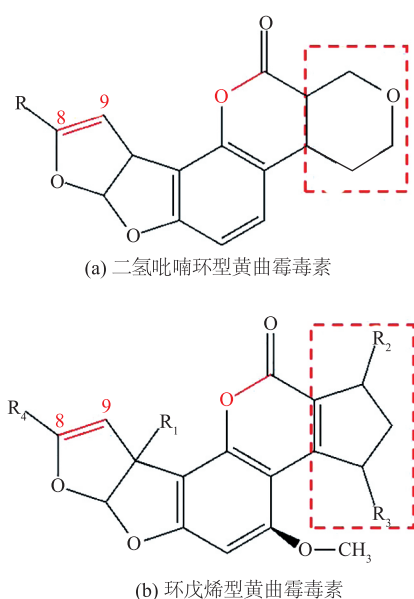


图 4 二氢吡喃环型黄曲霉毒素及环戊烯型黄曲霉毒素的结构简式及相应的酶基团

Fig. 4 Chemical structure of ciclopentenone and difuro-coumarolactone and the functional group corresponding degradation groups

#### 3.1 漆酶对 AFB<sub>1</sub> 的降解

Alberts 等首次探究了白腐真菌来源的漆酶(LSs)应用不同介质降解 AFB<sub>1</sub> 的情况<sup>[37]</sup>。用 1 U/mL 的商品制剂处理,30 ℃ 反应 3 d 后,底物 AFB<sub>1</sub> 的降解率为 87.34%。Loi 等利用从平菇中纯化到的漆酶 Lac2 去直接氧化 AFB<sub>1</sub>,发现单独存在 Lac2 的情况下,最终的降解率为 23%。当在体系中添加乙酰丁香酮(AS)和 2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS)等氧化还原介体物质时,Lac2 对 AFB<sub>1</sub> 的降解率可以大幅提高。其中,添加 1 mmol/L 的 AS

或 ABTS 后 AFB<sub>1</sub> 的降解率分别从 23% 提升至 42% 和 45%。值得注意的是,当丁香醛(SA)添加量为 1 mmol/L 时,Lac2 的降解率与没有添加介体物质相比,降低了 13%。继续提高介体物质的浓度,当添加 10 mmol/L 的 ABTS、AS 和 SA 后,Lac2 对 AFB<sub>1</sub> 的降解率又分别提高到了 81%、90% 和 72%<sup>[38]</sup>。Guo 等分离了地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*) ANSB821 来源的漆酶 CotA。通过研究发现,CotA 可以在没有介体的情况下实现对 AFB<sub>1</sub> 的高效降解,在 pH 8.0 和 37 ℃ 下,酶解 3 h 和 12 h 对 AFB<sub>1</sub> 的降解率分别为 66% 和 96%,同时降解产物被鉴定为 AFQ<sub>1</sub> 和 epi-AFQ<sub>1</sub><sup>[39]</sup>。

#### 3.2 其他酶对 AFB<sub>1</sub> 的降解

刘大岭等首次报道了一种名为 ADTZ 的黄曲霉毒素降解酶<sup>[40-41]</sup>。随着研究不断深入,ADTZ 被证明为氧化酶,并更名为 AFO<sup>[42]</sup>。1 mg/mL 的 AFO 在 28 ℃、30 min 内可以完全降解 150 ng 的 AFB<sub>1</sub>。Wang 等在原毛平革菌(*Phanerochaete sordida*)中分离出一种锰过氧化物酶(MnP),当 AFB<sub>1</sub> 质量浓度为 0.3 μg/mL 时,该酶可以在 24 h 内将 AFB<sub>1</sub> 降解至 14%<sup>[43]</sup>。Yehia 等同样报道了 MnP 对 AFB<sub>1</sub> 的降解,通过在白腐食用菌平菇培养滤液中纯化分离到的 MnP,与底物 AFB<sub>1</sub> 反应 48 h 后可以达到 90% 的降解率<sup>[44]</sup>。Xia 等在食品级宿主乳克鲁维酵母菌 GG7993 中构建了 3 种不同来源的重组 MnP,并通过优化找出了其中降解 AFB<sub>1</sub> 效率较高的 PHCMNP。含有该酶的重组菌株 GG799(pKLAC1 *Phcmnp*) 培养上清液可以对花生样品 AFB<sub>1</sub> 的降解率达 90% 以上<sup>[45]</sup>。

Yang 等将变色栓菌(*Trametes versicolor*)来源的 AFB<sub>1</sub> 降解酶(TV-AFB<sub>1</sub>D)基因整合到巴斯德毕赤酵母 GS115(*Pichia pastoris* GS115)基因组上,并通过优化最适作用条件对 AFB<sub>1</sub> 的降解达到 75.9%<sup>[46]</sup>。Xu 等从玉米、水稻和土壤样本中富集到的 43 个细菌中成功筛选得到一株具有高效降解 AFB<sub>1</sub> 能力的菌株,即沙氏芽孢杆菌 L7(*Bacillus shackletonii* L7)<sup>[47]</sup>。通过分离纯化,鉴定出沙门氏菌 L7 中含有的 AFB<sub>1</sub> 降解酶 BADH,该酶的最适温度高达 70 ℃。同时发现 Cu<sup>2+</sup> 能够显著促进 BADE 活性,而 Zn<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Li<sup>+</sup> 等离子则会强烈抑制 BADE 的活性<sup>[47]</sup>。Shu 等分离到一株芽孢杆菌(*Bacillus velezensis* DY3108),并发现其对 AFB<sub>1</sub> 具有很高的降解率

(91.5%), 且发挥降解功能的主要成分是该菌的无细胞上清液<sup>[48]</sup>。用该上清液处理 AFB<sub>1</sub> 的最适温度和 pH 分别为 80 °C 和 8.0。Xie 等从泛菌 (*Pantoea* sp. T6) 中分离出一种外膜蛋白质 PADE, 发现 PADE 可以降解 AFB<sub>1</sub>, 反应的最适温度为 40 °C, 最适 pH 为 7.0<sup>[49]</sup>。Song 等研究了铜绿假单胞菌 M19 (*Pseudomonas aeruginosa* M19) 对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的生物降解, 并鉴定出降解 AFB<sub>1</sub> 的关键蛋白质

PADE<sup>[50]</sup>。Li 等报道了一种 F420H2 依赖的还原酶 MSMEG5998 可以降解 AFB<sub>1</sub>, 并且发现将该蛋白质的硫氧还蛋白质 (Trx) 连接可以大幅增强酶的降解活性, Trx 连接的酶在 8 h 内对 AFB<sub>1</sub> 的降解率超过 80%<sup>[51]</sup>。Loi 等鉴定了一种过氧化物酶 Rh\_DypB, 该酶可以高效降解 AFB<sub>1</sub>, 在低酶量和低 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 作用下即可催化 AFB<sub>1</sub> 羟基化为 AFQ<sub>1</sub><sup>[52]</sup>。不同微生物来源的 AFB<sub>1</sub> 降解酶及其性质如表 3 所示<sup>[16, 33, 37-39, 42-47, 50-53]</sup>。

表 3 不同微生物来源的 AFB<sub>1</sub> 降解酶及其性质比较

Table 3 Comparison of AFT degradation enzymes from different microorganisms and their properties

微生物来源	名称	酶种类	识别底物	底物含量	降解产物或效果	降解条件	反应时间/h	降解率/%	参考文献
<i>Bacillus subtilis</i> SCK6	BsDyP	过氧化物酶	AFB <sub>1</sub>	1 µg/mL	NR	1 mmol/L MnSO <sub>4</sub> 、0.1 mmol/L 的 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 、30 °C、pH 4.0	48	78	[16]
<i>Streptomyces thermocarboxydus</i>	StMCO	多铜氧化酶	AFB <sub>1</sub>	1 µg/mL	AFQ <sub>1</sub>	1 mmol/L 乙酰丁香酮、5 mmol/L CuSO <sub>4</sub> 、30 °C、pH 7.0	24	99.85	[33]
<i>Trametes versicolor</i>	云芝漆酶(商用酶)	漆酶	AFB <sub>1</sub>	1.40 µg/mL	NR	30 °C、pH 6.5	72	87.34	[37]
<i>Pleurotus pulmonarius</i> (ITEM 17144)	Lac2	漆酶	AFB <sub>1</sub>	1 µg/mL	NR	5 U/mL 酶和介质、25 °C、pH 5.0	72	90	[38]
			AFM <sub>1</sub>	0.05 µg/mL				100	
<i>Bacillus licheniformis</i> ANSB821	CotA	漆酶	AFB <sub>1</sub>	2.01 µg/ml	AFQ <sub>1</sub> 和 epi-AFQ <sub>1</sub>	37 °C、pH 8.0	12	96	[39]
<i>Armillariella tabescens</i>	AFO	氧化酶	AFB <sub>1</sub>	0.05 µg/mL	破坏了内酯结构	PBS 缓冲液 0.02 mol/L、28 °C、pH 6.0	0.5	>99.9	[42]
<i>Phanerochaete sordida</i> YK-624	MnP	锰过氧化物酶	AFB <sub>1</sub>	0.3 µg/mL	黄曲霉毒素 1-8,9-二氢二醇	1 mmol/L MnSO <sub>4</sub> 、30 °C、pH 4.5	24	86	[43]
<i>Pleurotus ostreatus</i>	MnP	锰过氧化物酶	AFB <sub>1</sub>	0.31 µg/mL	NR	1 mmol/L MnSO <sub>4</sub> 、30 °C、pH 4.5	48	90	[44]
NR	PHCMNP	锰过氧化物酶	AFB <sub>1</sub>	50.0、500.0、2 000.0 µg/kg(花生样品)	AFB <sub>1</sub> -8,9-二氢二醇	1 mmol/L MnSO <sub>4</sub> 、足量 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 、40 °C、pH 4.5	40	>90	[45]
<i>Trametes versicolor</i>	TV-AFB <sub>1</sub> D	NR	AFB <sub>1</sub>	NR	NR	体积分数 8% 甲醇、28 °C、pH 7.0	12	75.9	[46]
<i>Bacillus shackletonii</i> L7	BADE	NR	AFB <sub>1</sub>	0.1 µg/mL	NR	10 mmol/L Cu <sup>2+</sup> 可增强活性、70 °C、pH 7.0	72	47.5	[47]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> M19	PADE	NR	AFB <sub>1</sub>	2.5 µg/mL	NR	50 mmol/L Cu <sup>2+</sup> 、65 °C、pH 6.0	NR	80	[50]
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	MSMEG5998	还原酶	AFB <sub>1</sub>	10 mmol/L	NR	22 °C、pH 7.4	8	80	[51]



续表 3

微生物来源	名称	酶种类	识别底物	底物含量	降解产物或效果	降解条件	反应时间/h	降解率/%	参考文献
NR	Rh_DypB	过氧化物酶	AFB <sub>1</sub>	1 mmol/L	AFQ <sub>1</sub>	2 mmol/L MnCl <sub>2</sub> , 0.1 mmol/L H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 25 °C, pH 6.0	96	96	[52]
<i>Myxococcus fulvus</i> ANSM068	MADE	金属离子依赖	AFB <sub>1</sub>	0.1 μg/mL	NR	Mn <sup>2+</sup> 可提升酶活, 100 U/mL 酶, 30 °C, pH 6.0	48	72	[53]
			AFM <sub>1</sub>					96	
			AFG <sub>1</sub>					97	

注:NR 代表未被报道。

## 4 展青霉毒素

展青霉毒素(patulin, PAT), 又称棒曲霉毒素, 主要是由青霉属(*Penicillium*)和曲霉属(*Aspergillus*)等真菌产生的一种耐热的真菌毒素(见图5), 常见于植物中, 且主要污染的农作物是苹果。毒性研究表明, PAT 对小鼠具有致畸、致癌和免疫毒性。除此以外, PAT 还会影响人类的免疫、神经和胃肠道系统<sup>[54]</sup>。它是苹果和苹果衍生产品(如果汁、苹果酒、果酱和其他儿童食品)中最常见的真菌毒素。生化研究表明, 生物合成途径由大约 10 个步骤组成。其中涉及的基因包括特征酶、调节因子和转运蛋白基因<sup>[55]</sup>。因为其污染范围广和有动物毒性的特点, 挖掘 PAT 相关的降解酶来保障苹果及其他果蔬作物的安全性具有重要的研究价值。

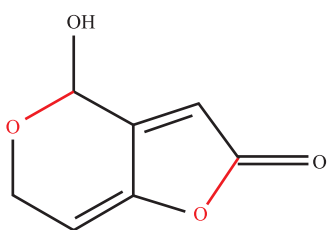


图 5 展青霉毒素的结构简式及相应的酶解基团

Fig. 5 Chemical structure of patulin and the corresponding degradation groups

关于展青霉毒素降解酶的挖掘, Tang 等报道了来自粘红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)中的磷酸核糖基转移酶 Orotate 对苹果汁中棒曲霉毒素具有降解作用, 通过研究苹果汁中棒曲霉毒素降解前后的最佳降解条件和理化性质的变化发现, 苹果汁中除了香气成分和抗坏血酸成分发生一定变化外, 酶降解后的其余各项理化性质均无显著差异<sup>[56]</sup>。Wang 等研究了卡利比克毕赤酵母(*Pichia caribbica*)降解

PAT 的机理并发现了其关键基因翻译的 PcCRG1 蛋白质, 最终体外实验证实了 PcCRG1 蛋白质对 PAT 的降解能力<sup>[57]</sup>。Xiao 等研究了猪胰脂肪酶(PPL)对梨汁中 PAT 的降解能力以及降解后对梨汁品质参数的影响<sup>[58]</sup>。通过优化不同的 PPL 用量、温度和时间, 最终得出了 PPL 的最佳脱毒条件: 当 PPL 的质量浓度为 0.02 g/mL 时, 能够降解 0.375 mg/L 的 PAT, 且降解率可达到 93.4%。同时, 还评价了 PPL 水解对梨汁中不同风味物质的影响, 发现 PPL 的酶解不会对有机酸和维生素 C 等风味物质产生明显的改变。Xing 等从阴沟肠杆菌 TT-09 (*Enterobacter cloacae* TT-09) 中分离鉴定出一种核糖核苷二磷酸还原酶 NrdA 同样对棒曲霉毒素起关键的降解作用<sup>[59]</sup>。Xing 等继续从酵母菌株(*Candida guilliermondii*)中分离出短链脱氢酶(CgSDR)基因, 并将其翻译出的蛋白质 SDR 成功在大肠杆菌中异源表达和生产<sup>[60]</sup>。Dor 等纯化出一种 PLL 家族的乳糖酶, 该酶被发现可以显著抑制病原菌在苹果中的定殖<sup>[61]</sup>。此外, 如果在病原菌感染苹果之前将纯化的乳糖酶添加到菌培养物中, 会导致致病菌中参与 PAT 生物合成和真菌细胞壁生物合成的关键基因表达量明显减少。不同微生物来源的 PAT 降解酶及其性质如表 4 所示<sup>[56-58, 60]</sup>。

## 5 伏马毒素

伏马毒素(fumonisin, FB)于 1988 年首次从串珠镰刀菌培养液中分离发现。它是滋生在谷物上的轮枝镰刀菌(*Fusarium verticillioides*)、串珠镰刀菌(*Fusarium moniliforme*)等多种镰刀菌属真菌产生的具有水溶性的次级代谢产物。此外部分曲霉菌和弯颈霉菌也被报道会产生伏马毒素, 如黑曲霉能在花生、玉米、葡萄等多种农作物中产生伏马毒素<sup>[62]</sup>。天

表 4 不同微生物来源的 PAT 降解酶及其性质比较

Table 4 Comparison of PAT degradation enzymes from different microorganisms and their properties

微生物来源	名称	酶种类	识别底物	底物质量浓度/( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	降解产物或效果	降解条件	反应时间/h	降解率/%	参考文献
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Orotate	磷酸核糖基转移酶	PAT	1 000	香气成分含量有所改变、抗坏血酸损失 20.84%	25 $^{\circ}\text{C}$ 、pH 3.67	18	80.0	[56]
<i>Pichia caribbica</i>	PcCRG1	甲基转移酶	PAT	120	HPLC-MS 检测到两个降解产物	以 S-蛋氨酸做甲基供体、28 $^{\circ}\text{C}$ 、pH 7	12	90.7	[57]
<i>Porcine pancreatic</i>	PPL	猪胰脂肪酶	PAT	125	Caco-2 细胞在 PPL 降解前后存活率均有提升	35~45 $^{\circ}\text{C}$ 、pH 4~5	24	93.4	[58]
<i>Candida guilliermondii</i>	SDR	短链脱氢酶	PAT	50	NR	45 $^{\circ}\text{C}$ 、pH 6	72	>99.9	[60]

注:NR 代表未报道。

然伏马毒素是由丙烷-1,2,3-三羧酸和长链氨基多元醇骨架组成的二酯,根据多氢醇的不同,这类真菌毒素可以分为 A、B、C、P 4 个系列共 28 种不同形式的伏马毒素,其中 B 系列( $\text{FB}_1$ )占 70%<sup>[2,63]</sup>,是污染分布最广、毒性最强、研究最为广泛的一种,并且常与其他系列的伏马毒素( $\text{FB}_2$ 、 $\text{FB}_3$ )共存<sup>[64]</sup>。伏马毒素的存在,严重影响包括玉米、小麦、燕麦在内的多种谷物及谷物制品的安全性,对人类和动物的健康造成巨大威胁。伏马毒素残留在食物中进入人体,损害人体肝肾功能,刺激和抑制人体免疫系统,会导致食道癌、肝癌等多种疾病。根据 Qu 等的研究,伏马毒素的致毒机理是调节鞘脂代谢和诱导氧化应激效应<sup>[65]</sup>。伏马毒素作为二酯化合物,是人体内两种鞘脂——二氢神经鞘氨醇(SA)和神经鞘氨醇(SO)的结构类似物,而高浓度的 FB 会对神经酰胺合成酶产生抑制作用<sup>[66]</sup>,扰乱鞘磷脂代谢,导致人体细胞

和组织内的鞘氨醇累积,最终产生致毒效果<sup>[67]</sup>。根据联合国粮食及农业组织和世界卫生组织规定,伏马毒素的每日最大耐受水平为 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ (以体质量计)<sup>[65]</sup>。针对伏马毒素污染的控制,主要通过作物收获前引入预防镰刀菌措施进行拮抗,以及农作物收获后在加工过程中使用天然的黏土吸附剂对 FB 进行吸附。但是,上述两种方法均无法彻底达到解毒的效果,并且会残留其他物质,因此利用生物酶法进行高效彻底地降解 FB(见图 6)具有重要的研究价值。

关于 FB 降解酶的挖掘与应用,目前所报道的真菌毒素降解酶及降解菌均较少,只有少数降解酶被鉴定。FB 降解酶主要为羧酸酯酶,Duvick 等首先在 *Exophiala spinifera* 中发现了负责降解伏马毒素的关键基因,将这些基因簇在玉米等农作物中克隆表达后,伏马毒素的含量逐渐减少<sup>[68]</sup>。Heinl 等研究发现菌株 *Sphingopyxis* sp. MTA144 中存在两步酶

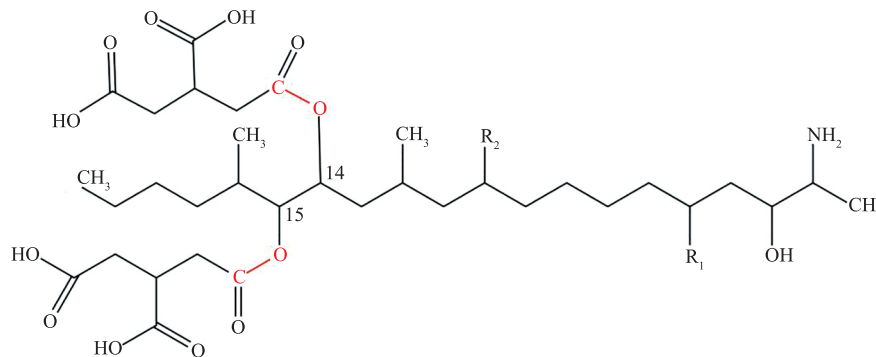


图 6 伏马毒素的结构简式及相应的酶解基团

Fig. 6 Chemical structure of fumonisins and the corresponding degradation groups

促反应将 FB<sub>1</sub> 降解为无毒产物。首先,由基因 *fumD* 编码羧酸酯酶催化水解主链上 C14 和 C5 两个三羧酸基团并生成中间产物 HFB<sub>1</sub>;其次,由基因 *fumI* 编码的氨基转移酶将 HFB<sub>1</sub> 的 C2-氨基转移到底物丙酮酸上,得到终产物 2-keto-HFB<sub>1</sub>。对比 2-keto-HFB<sub>1</sub> 与 FB<sub>1</sub> 的关键致毒基团,发现最大的变化是在致毒氨基基团,因此,作者推测该两步反应的终产物无毒<sup>[69]</sup>。Doris 等在以上工作的基础上,实现 FumI (GenBank ACS27061)在大肠杆菌中的异源表达。通过纯化并鉴定了该酶的最适反应条件为 pH 8.5 和 35 °C,同时发现磷酸吡哆醛可提高酶活力,而高浓度盐则会抑制酶活性<sup>[70]</sup>。除了羧酸酯酶,Li 等根据氨基酸序列同源性、微生物来源和蛋白质结构,利用生物信息学技术从 GenBank 中筛选出一种来自鞘氨醇单胞菌属的羧酸酯酶(FumDSB)。FumDSB 有着与 FumD 相似的作用机制,且可将 FB<sub>1</sub> 降解为 HFB<sub>1</sub>

(毒性仅为母本化合物的 1/10),该酶在最适条件 pH 6.0、30 °C 下的比活力可达 1.12 U/mg,同时具有良好的 pH 和热稳定性<sup>[71]</sup>。Garnham 等从黑曲霉中分离鉴定了一种单胺氧化酶 AnFAO,并且发现 AnFAO 可以将 FB<sub>2</sub> 氧化脱胺形成 FP<sub>2</sub>。随后,成功在大肠杆菌中实现 AnFAO 的重组表达,并且结果显示在不需要添加外源辅因子的前体下,AnFAO 就能将伏马毒素 FB<sub>2</sub> 氧化脱胺<sup>[72]</sup>。有学者已于 2014 年首次将来自 *Sphingopyxis* sp. MTA144 的天然酯酶开发为商用 FB 脱毒酶制剂 FUMzyme,这是第一个经欧盟认证能够将 FB 生物转化为无毒产物的安全酶制剂<sup>[73]</sup>。Alberts 等以商品化酶制剂 FUMzyme 为基础,开发出一种 FumDFB 还原法,可以进一步扩大该酶制剂在整粒燕麦中的应用<sup>[74]</sup>。不同微生物来源的 FB 降解酶及其性质如表 5 所示<sup>[69-72]</sup>。

表 5 不同微生物来源的 FB 降解酶及其性质比较

Table 5 Comparison of FB degradation enzymes from different microorganisms and their properties

微生物来源	名称	酶种类	识别底物	底物含量	降解产物或效果	降解条件	酶活性	参考文献
<i>Sphingopyxis</i> sp. MTA144	FumD	羧酸酯酶	FB <sub>1</sub>	NR	HFB <sub>1</sub>	NR	NR	[69]
<i>Sphingopyxis</i> sp. MTA144	FumI	氨基转移酶	HFB <sub>1</sub>	2 500 μg/mL	2-keto-HFB <sub>1</sub>	35 °C、pH 8.5、5 mmol/L 丙酮酸、20 mmol/L Tris-HCl 缓冲液	2.2 U/mg	[70]
<i>Sphingomonadales bacterium</i> (KUO56785)	FumDSB	羧酸酯酶	FB <sub>1</sub>	10 μg/mL	HFB <sub>1</sub>	30 °C、pH 6.0	1.12 U/mg	[71]
<i>Aspergillus niger</i>	AnFAO	单胺氧化酶	FB <sub>2</sub>	2 μmol/L	FP <sub>2</sub>	37 °C、pH 7.4	$K_m=195 \mu\text{mol/L}$ (FB <sub>2</sub> ) $k_{cat}=14 \text{ min}^{-1}$ (FB <sub>2</sub> )	[72]

## 6 赭曲霉毒素

赭曲霉毒素(ochratoxin, OT)主要由赭曲霉属和数种青霉属真菌产生,其衍生物包括 A(OTA,见图 7)、B(OTB)、C(OTC)和 α(OTα),其中 OTA 毒性最强,污染最严重,在小麦、玉米、花生等农作物中均可广泛检出 OT。赭曲霉毒素骨架均由二氢异香豆素基团和苯丙氨酸以酰胺键连接而成,此外 OTA 和 OTC 还包含一个对氯苯酚结构<sup>[75]</sup>。OTA 是一种白色、无臭、热力学性质稳定的固体结晶物,水溶性差,溶解于醇、酮和氯仿等有机溶剂。因其特殊的化

学结构特征,OTA 具有很强的荧光特性,即经紫外线照射会呈现绿色荧光<sup>[76]</sup>。OTA 在酸性条件下极为稳定,同时食品加工中的简单高温处理并不能将其去除。OTA 具有免疫毒性、遗传毒性、神经毒性和致畸性,而其脂溶性使之易于在动物的组织中积累,进一步通过食物链被人类摄入。OTA 的结构还类似于人体必需氨基酸苯丙氨酸,因而会竞争性抑制肝肾中的苯丙氨酸羟化酶的作用,抑制相应蛋白质的合成<sup>[77]</sup>。包括中国在内的多个国家和地区均对 OTA 检出做限量规定;根据 GB 2761—2011,我国各类谷物和豆制品中的 OTA 限量为 5 μg/kg<sup>[78]</sup>。欧盟在部



分食品中设定了 OTA 限值,为 5~50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[79]</sup>。通过酶促反应降解 OTA 具有特异性强、降解率高等特点,是目前生物脱 OTA 的一大研究热点。OTA 的酶促降解途径主要有如下 4 种:1)水解酰胺键裂解生成 OT $\alpha$  和 L- $\beta$ -苯丙氨酸;2)异香豆素环脱氯生成 OTB,并进一步降解为 OT $\beta$ ;3)异香豆素环羟基化生成赭曲霉毒素对苯二酚(OTHQ);4)内断裂酯环生成 OTA 内酯 OP-OTA(与 OTA 具有相似毒性)。由于 L- $\beta$ -苯丙氨酸被认为是一种无毒化合物,且 OT $\alpha$  的半衰期仅为 OTA 的 1/10,因此水解酰胺键生成 OT $\alpha$  和 L- $\beta$ -苯丙氨酸被认为是真正实现了 OTA 的解毒<sup>[80]</sup>。

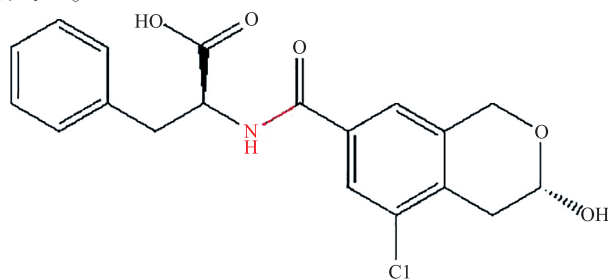


图 7 赭曲霉毒素 A 的结构简式及相应的酶解基团

Fig. 7 Chemical structure of ochratoxin A and the corresponding degradation groups

### 6.1 肽酶降解 OTA

赭曲霉降解酶主要分为  $\text{Zn}^{2+}$  依赖的金属羧肽酶 CPA (EC 3.4.24) 和丝氨酸羧肽酶 CPY (EC 3.4.16)。Pitout 等证实从牛胰腺中分离出来的羧肽酶 CPA 可以水解 OTA,在 25  $^{\circ}\text{C}$  下的  $K_m$  值为  $1.5 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ <sup>[81]</sup>。来自酿酒酵母的羧肽酶 CPY 也被发现可以降解 OTA 为 OT $\alpha$ ,且最适作用条件为 pH 5.6 和 37  $^{\circ}\text{C}$ ,但该酶的活性较低,经过 5 d 的孵育后,对 OTA 的降解率仅有 52%<sup>[82]</sup>。Zhang 等从粪产碱菌 DSM 16503 (*Alcaligenes faecalis* DSM 16503) 中纯化出一种 OTA 降解酶 Af-OTase (GenBank OSZ37025.1)。经鉴定该酶属于 M20 肽酶家族,在其活性部位含有两个  $\text{Zn}^{2+}$ ,属于  $\text{Zn}^{2+}$  依赖酶。该酶在 pH 6.5, 50  $^{\circ}\text{C}$  的条件下达到最佳降解效果,并且表现出良好的 pH 稳定性和热稳定性<sup>[83]</sup>。除此之外,有关 OTA 降解酶的分子改造也取得了一定的效果。Azam 等利用基因融合技术,构建了含有玉米赤霉烯酮水解酶 ZHD (GenBank AB076037) 和羧肽酶 CP (GenBank KP161493) 的融合酶 ZHDCP。该酶具有协同降解 OTA 和 ZEN 的双功能活性,且在 pH 7.0 和 30  $^{\circ}\text{C}$

下,仅反应 30 min 便可以完全降解 OTA<sup>[84]</sup>。Xiong 等构建了截断前肽和信号肽的成熟 CPA 突变体 (M-CPA)。结果表明,突变体 M-CPA 对 OTA 的降解率可达 93.36%,较原始酶有了大幅提升<sup>[85]</sup>。

### 6.2 其他降解酶

宋佳等同样从粪产碱菌 (*Alcaligenes faecalis*) 中分离出一种  $\text{Co}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  依赖的酰胺水解酶,命名为 Af-OTd (GenBank: WP\_123049291.1),且成功实现了该酶在大肠杆菌的异源表达。经纯化鉴定,该酶的最适反应条件为 pH 7.5, 50  $^{\circ}\text{C}$ ,且在此条件下,该酶对 OTA 具有 90% 以上的降解率<sup>[86]</sup>。Dobritzsch 等报道了一种来自黑曲霉的 OTA 降解酶 (登录号 AAG60585),并命名为 OTase,测得该酶的最适反应条件为 pH 6.0 和 60  $^{\circ}\text{C}$ <sup>[87]</sup>。Luo 等从嗜酸窄食单胞菌 (*Stenotrophomonas acidaminiphila*) 中分离出一种能够高效降解 OTA 的酰胺水解酶 ADH3 (GenBank CP062156.1),重组的 ADH3 (1.2 mg/mL) 可以在 90 s 内完全去除 OTA (50 mg/mL),且具有较强温度适应性,在 0~70  $^{\circ}\text{C}$  均能发挥一定水解作用<sup>[80]</sup>。一些其他种类的酶,如脂肪酶、酰胺酶和蛋白酶也被发现能够水解 OTA。如来自黑曲霉的脂肪酶与 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 OTA 反应 120 min 后,后者被 100% 降解为 OT $\alpha$  和苯丙氨酸<sup>[88]</sup>。一些商业上的蛋白酶也可被报道可以将 OTA 水解为 OT $\alpha$ ,如来自黑曲霉的蛋白酶 A 和来自猪胰脏的胰腺素。这些酶均在 pH 7.5 显示出很高的水解活性,在与底物反应 25 h 后可以将 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 OTA 分别降解 87.3% 和 43.4%<sup>[89]</sup>。Garcia 等研究了商业化的过氧化物酶 POD 对模型溶液和实际啤酒中的 OTA 降解效果,发现降解率分别为 64.9% 和 10.9%<sup>[90]</sup>。不同微生物来源的 OTA 降解酶及其性质如表 6 所示<sup>[80-84,86]</sup>。

## 7 展望

尽管目前已鉴定的真菌毒素降解酶种类已经覆盖到了包括辣根过氧化物酶、锰过氧化物酶、漆酶、羧肽酶、脂肪酶、酰胺酶、醌依赖性脱氢酶、醛酮还原酶和 UDP-糖基转移酶和内酯水解酶等在内的超 10 种生物酶,但是针对真菌毒素降解菌中的特定降解酶鉴定和报道仍然不足。例如,从牛瘤胃液中分离出的真杆菌 (Biomim<sup>®</sup> BBSH 797) 培养物能够将 DON 转化为 DOM-1,但尚未确定负责这种单端孢菌素降解的特定酶是什么。因此增加真菌毒素代谢



表 6 不同微生物来源的 OTA 降解酶及其性质比较

Table 6 Comparison of OTA degradation enzymes from different microorganisms and their properties

微生物来源	名称	酶种类	识别底物	底物含量	降解产物	降解条件	反应时间/min	降解率/%	参考文献
<i>Stenotrophomonas acidaminiphila</i> CW117	ADH3	酰胺水解酶	OTA	5 000 $\mu\text{g/mL}$	OT $\alpha$	1.2 mg/mL 蛋白质、50 $^{\circ}\text{C}$ 、pH 8.0	1.5	>99.9	[80]
牛胰腺	CPA	羧肽酶	OTA	$1.50 \times 10^{-4}$ mol/L	OT $\alpha$	pH 7.5、25 $^{\circ}\text{C}$	NR	NR	[81]
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	CPY	羧肽酶	OTA	NR	OT $\alpha$	pH 5.6、37 $^{\circ}\text{C}$	7 200	52	[82]
<i>Alcaligenes faecalis</i> DSM16503	Af-OTase	酰胺水解酶	OTA	50 $\mu\text{g/mL}$	NR	pH 6.5、50 $^{\circ}\text{C}$	NR	NR	[83]
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain ASAG1	ZHDCP	羧肽酶	OTA	50 $\mu\text{mol/L}$	OT $\alpha$	pH 7.0、30 $^{\circ}\text{C}$	30	>99.9	[84]
<i>Alcaligenes faecalis</i>	Af-OTd	酰胺水解酶	OTA	10 $\mu\text{g/mL}$	OT $\alpha$	酶液 990 $\mu\text{L}$ 、10 $\mu\text{L}$ OTA 储备液 (1 mg/mL)	15	>99.9	[86]

注:NR 代表未报道。

物或中间体的组分探究和结构分析对于揭示微生物中的特定降解酶至关重要。其次,真菌毒素降解酶的大规模实际应用需要满足几点要求,包括安全性好、有效性高、生产成本低,以及良好的温度、pH 和有机溶剂耐受性。然而,只有少数天然酶能够满足这些需求。针对真菌毒素降解酶的分子改造已初见成效,如融合表达玉米赤霉烯酮降解酶 ZHD101 和锰过氧化物酶 PHCMNP 对 AFB<sub>1</sub> 和 ZEN 显示出良好的协同降解能力。然而,目前已知的 ZEN 或 DON 等真菌毒素降解酶的蛋白质晶体结构仍然不足。没有这些结构信息,将无法更好地明确降解酶的降解机制和反应机理。通过 X 射线衍射或计算机辅助的分子动态模拟,可以帮助解析降解酶在复合底物或产物前后结构的变化,进而更好地指导学者进行酶分子的理性改造。同时,从“表观降解”到“内在脱毒”,真菌毒素降解酶还需要不断地进行安全性评价。2014 年 5 月,欧盟食品安全局(European Food Safety Authority,EFSA)首次评估并发布了商业伏马菌素酯酶(FUMzyme<sup>®</sup>,Biomim GmbH)作为猪技术饲料添加剂的安全性和有效性。FUMzyme 是一种饲料添加剂,旨在降解用于家禽育肥饲料中的

FB。结果表明,在剂量范围(40~300 U/kg,以饲料质量计)内使用,FUMzyme 对猪是安全的且具备降解饲料内目标真菌毒素的能力。此外,添加了 FUMzyme 的饲料并没有检测得出致突变性或遗传毒性的结论,表明在猪饲料中使用添加剂 FUMzyme 对猪肉产品的消费者来说是安全的。2022 年 1 月,EFSA 对 Biomim GmbH 的另一款玉米赤霉烯酮水解酶(ZenA)的使用安全性进行了评估。ZenA 是由含有卡那霉素抗性基因的大肠杆菌 DSM32731 生产。结果表明,在饲料中添加 ZenA 对所有陆生动物物种都是安全的,具体添加量如下(以饲料质量计):鸡 100 U/kg,猪 200 U/kg,奶牛 250 U/kg,小牛犊 400 U/kg,狗 450 U/kg。然而,受限于毒性数据,大多数真菌毒素降解酶的使用安全性仍然存疑。例如,尽管来自杏鲍菇(PS419,Ery4)的漆酶能够 100%降解 0.05  $\mu\text{g/mL}$  的 AFB<sub>1</sub>,但是没有关于 Ery4 更多的毒理学数据,Ery4 无法被进一步开发和应用于降解 AFB<sub>1</sub>。因此,更多的研究需要集中在真菌毒素降解酶的鉴定、降解酶的分子改造以及降解产物的毒性评价等方面。相信在不久的将来,真菌毒素降解酶有望出现在饲料和食品行业中。

## 参考文献:

- [ 1 ] 张艺病, 鲍蕾, 褚庆华. 农产品中真菌毒素的检测分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- [ 2 ] HOLANDA D M, KIM S W. Mycotoxin occurrence, toxicity, and detoxifying agents in pig production with an emphasis on deoxynivalenol[J]. **Toxins**, 2021, 13(2): 1-12.
- [ 3 ] MARESCA M. From the gut to the brain: journey and pathophysiological effects of the food-associated trichothecene mycotoxin deoxynivalenol[J]. **Toxins**, 2013, 5(4): 784-820.
- [ 4 ] PESTKA J J. Deoxynivalenol: toxicity, mechanisms and animal health risks[J]. **Animal Feed Science and Technology**, 2007, 137(3/4): 283-298.
- [ 5 ] YAO Y, LONG M. The biological detoxification of deoxynivalenol: a review[J]. **Food and Chemical Toxicology**, 2020, 145: 1-9.
- [ 6 ] 吴娱, 王开萍, 唐正江, 等. 米曲霉 *Aspergillus oryzae* As-W.6 对脱氧雪腐镰刀菌烯醇的降解效果[J]. 食品科学, 2016, 37(17): 185-189.
- [ 7 ] FUCHS E, BINDER E M, HEIDLER D, et al. Structural characterization of metabolites after the microbial degradation of type A trichothecenes by the bacterial strain BBSH 797[J]. **Food Additives and Contaminants**, 2002, 19(4): 379-386.
- [ 8 ] GAO X, MU P, WEN J, et al. Detoxification of trichothecene mycotoxins by a novel bacterium, *Eggerthella* sp. DII-9[J]. **Food and Chemical Toxicology**, 2018, 112: 310-319.
- [ 9 ] GAO X, MU P, ZHU X, et al. Dual function of a novel bacterium, *Slackia* sp. D-G6: detoxifying deoxynivalenol and producing the natural estrogen analogue, equol[J]. **Toxins**, 2020, 12(2): 1-15.
- [ 10 ] HE W J, ZHANG L, YI S Y, et al. An aldo-keto reductase is responsible for *Fusarium* toxin-degrading activity in a soil *Sphingomonas* strain[J]. **Scientific Reports**, 2017, 7: 1-13.
- [ 11 ] HE W J, SHI M M, YANG P, et al. A quinone-dependent dehydrogenase and two NADPH-dependent aldo/keto reductases detoxify deoxynivalenol in wheat via epimerization in a *Devosia* strain[J]. **Food Chemistry**, 2020, 321: 1-10.
- [ 12 ] CARERE J, HASSAN Y I, LEPP D, et al. The enzymatic detoxification of the mycotoxin deoxynivalenol: identification of DepA from the DON epimerization pathway[J]. **Microbial Biotechnology**, 2018, 11(6): 1106-1111.
- [ 13 ] CARERE J, HASSAN Y I, LEPP D, et al. The identification of DepB: an enzyme responsible for the final detoxification step in the deoxynivalenol epimerization pathway in *Devosia mutans* 17-2-E-8[J]. **Frontiers in Microbiology**, 2018, 9: 1-9.
- [ 14 ] QIN X J, ZHANG J, LIU Y R, et al. A quinoprotein dehydrogenase from *Pelagibacterium halotolerans* ANSP101 oxidizes deoxynivalenol to 3-keto-deoxynivalenol[J]. **Food Control**, 2022, 136: 1-10.
- [ 15 ] 徐建宏, 潘艳梅, 胡晓丹, 等. 降解菌 DDS-1 产 3-AC-DON 氧化酶的酶学特性[J]. 中国农业科学, 2013, 46(11): 2240-2248.
- [ 16 ] QIN X, SU X, TU T, et al. Enzymatic degradation of multiple major mycotoxins by dye-decolorizing peroxidase from *Bacillus subtilis*[J]. **Toxins**, 2021, 13(6): 1-9.
- [ 17 ] ABID-ESSEFI S, OUANES Z, HASSEN W, et al. Cytotoxicity, inhibition of DNA and protein syntheses and oxidative damage in cultured cells exposed to zearalenone[J]. **Toxicology in vitro**, 2004, 18(4): 467-474.
- [ 18 ] 史蕊, 汪洋, 鞠星, 等. 玉米赤霉烯酮生物降解研究进展[J]. 中国粮油学报, 2013, 28(6): 111-114.
- [ 19 ] 季成. 饲料中玉米赤霉烯酮的生物降解[J]. 动物营养学报, 2014, 26(10): 2949-2955.
- [ 20 ] GAO X, XIAO Z H, LI C, et al. Prenatal exposure to zearalenone disrupts reproductive potential and development via hormone-related genes in male rats[J]. **Food and Chemical Toxicology**, 2018, 116: 11-19.
- [ 21 ] TAKAHASHI-ANDO N, KIMURA M, KAKEYA H, et al. A novel lactonohydrolase responsible for the detoxification of zearalenone: enzyme purification and gene cloning[J]. **Biochemical Journal**, 2002, 365: 1-6.
- [ 22 ] TAKAHASHI-ANDO N, OHSATO S, SHIBATA T, et al. Metabolism of zearalenone by genetically modified organisms expressing the detoxification gene from *Clonostachys rosea*[J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 2004, 70(6): 3239-3245.
- [ 23 ] YANG W C, HSU T C, CHENG K C, et al. Expression of the *Clonostachys rosea* lactonohydrolase gene by *Lactobacillus reuteri* to increase its zearalenone-removing ability[J]. **Microbial Cell Factories**, 2017, 16: 1-11.
- [ 24 ] ZHANG Z X, XU W, WU H, et al. Identification of a potent enzyme for the detoxification of zearalenone[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2020, 68(1): 376-383.
- [ 25 ] HUI R, HU X, LIU W, et al. Characterization and crystal structure of a novel zearalenone hydrolase from *Cladophialophora*

- bantiana*[J]. **Acta Crystallographica Section F-Structural Biology Communications**, 2017, 73:515-519.
- [26] ZHANG Y, LIU X M, ZHANG Y P, et al. Cloning and characterization of three novel enzymes responsible for the detoxification of zearalenone[J]. **Toxins**, 2022, 14(2):1-10.
- [27] BI K, ZHANG W, XIAO Z, et al. Characterization, expression and application of a zearalenone degrading enzyme from *Neurospora crassa*[J]. **AMB Express**, 2018, 8:1-10.
- [28] YU X, TU T, LUO H, et al. Biochemical characterization and mutational analysis of a lactone hydrolase from *Phialophora americana*[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2020, 68(8):2570-2577.
- [29] WANG M, YIN L, HU H, et al. Expression, functional analysis and mutation of a novel neutral zearalenone-degrading enzyme[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2018, 118:1284-1292.
- [30] WANG X L, BAI Y G, HUANG H Q, et al. Degradation of aflatoxin B-1 and zearalenone by bacterial and fungal laccases in presence of structurally defined chemicals and complex natural mediators[J]. **Toxins**, 2019, 11(10):1-17.
- [31] LOI M, FANELLI F, CIMMARUSTI M T, et al. *In vitro* single and combined mycotoxins degradation by Ery4 laccase from *Pleurotus eryngii* and redox mediators[J]. **Food Control**, 2018, 90:401-406.
- [32] YU Y, WU H, TANG Y, et al. Cloning, expression of a peroxiredoxin gene from *Acinetobacter* sp. SM04 and characterization of its recombinant protein for zearalenone detoxification[J]. **Microbiological Research**, 2012, 167(3):121-126.
- [33] QIN X, XIN Y Z, ZOU J H, et al. Efficient degradation of aflatoxin B-1 and zearalenone by laccase-like multicopper oxidase from *Streptomyces thermocarboxydus* in the presence of mediators[J]. **Toxins**, 2021, 13(11):1-10.
- [34] OSTRY V, MALIR F, TOMAN J, et al. Mycotoxins as human carcinogens-the IARC monographs classification[J]. **Mycotoxin Research**, 2017, 33(1):65-73.
- [35] LIU Y, GALANI Y J H, GONG Y Y, et al. A review of postharvest approaches to reduce fungal and mycotoxin contamination of foods[J]. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 2020, 19(4):1521-1560.
- [36] AL-JAAL B, SALAMA S, AL-QASMI N, et al. Mycotoxin contamination of food and feed in the Gulf Cooperation Council countries and its detection[J]. **Toxicon**, 2019, 171:43-50.
- [37] ALBERTS J F, GELDERBLOM W C A, BOTHA A, et al. Degradation of aflatoxin B-1 by fungal laccase enzymes[J]. **International Journal of Food Microbiology**, 2009, 135(1):47-52.
- [38] LOI M, FANELLI F, ZUCCA P, et al. Aflatoxin B-1 and M-1 degradation by Lac2 from *Pleurotus pulmonarius* and redox mediators[J]. **Toxins**, 2016, 8(9):1-16.
- [39] GUO Y, QIN X, TANG Y, et al. CotA laccase, a novel aflatoxin oxidase from *Bacillus licheniformis*, transforms aflatoxin B-1 to aflatoxin Q(1) and epi-aflatoxin Q(1)[J]. **Food Chemistry**, 2020, 325:1-8.
- [40] LIU D L, YAO D S, LIANG R, et al. Detoxification of aflatoxin B-1 by enzymes isolated from *Armillariella tabescens*[J]. **Food and Chemical Toxicology**, 1998, 36(7):563-574.
- [41] 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.
- [42] CAO H, LIU D, MO X, et al. A fungal enzyme with the ability of aflatoxin B-1 conversion: purification and ESI-MS/MS identification[J]. **Microbiological Research**, 2011, 166(6):475-483.
- [43] WANG J, OGATA M, HIRAI H, et al. Detoxification of aflatoxin B-1 by manganese peroxidase from the white-rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-624[J]. **FEMS Microbiology Letters**, 2011, 314(2):164-169.
- [44] YEHIA R S. Aflatoxin detoxification by manganese peroxidase purified from *Pleurotus ostreatus* [J]. **Brazilian Journal of Microbiology**, 2014, 45(1):127-133.
- [45] XIA Y, HE R, SUN Y, et al. Food-grade expression of manganese peroxidases in recombinant *Kluyveromyces lactis* and degradation of aflatoxin B-1 using fermentation supernatants[J]. **Frontiers in Microbiology**, 2022, 12:1-12.
- [46] YANG P, XIAO W, LU S, et al. Recombinant expression of *Trametes versicolor* aflatoxin B-1-degrading enzyme(TV-AFB<sub>1</sub>D) in engineering *Pichia pastoris* GS115 and application in AFB<sub>1</sub> degradation in AFB<sub>1</sub>-contaminated peanuts[J]. **Toxins**, 2021, 13(5):1-11.
- [47] XU L, AHMED M F E, SANGARE L, et al. Novel aflatoxin-degrading enzyme from *Bacillus shackletonii* L7[J]. **Toxins**, 2017, 9(1):1-15.
- [48] SHU X, WANG Y, ZHOU Q, et al. Biological degradation of aflatoxin B-1 by cell-free extracts of *Bacillus velezensis* DY3108

- with broad pH stability and excellent thermostability[J]. **Toxins**, 2018, 10(8): 1-15.
- [49] XIE Y, WANG W, ZHANG S. Purification and identification of an aflatoxin B-1 degradation enzyme from *Pantoea* sp. T6[J]. **Toxicon**, 2019, 157: 35-42.
- [50] SONG J, ZHANG S, XIE Y, et al. Purification and characteristics of an aflatoxin B-1 degradation enzyme isolated from *Pseudomonas aeruginosa*[J]. **FEMS Microbiology Letters**, 2019, 366(5): 1-7.
- [51] LI C H, LI W Y, HSU I N, et al. Recombinant aflatoxin-degrading F420H2-dependent reductase from *Mycobacterium smegmatis* protects mammalian cells from aflatoxin toxicity[J]. **Toxins**, 2019, 11(5): 1-16.
- [52] LOI M, RENAUD J B, ROSINI E, et al. Enzymatic transformation of aflatoxin B-1 by Rh\_DypB peroxidase and characterization of the reaction products[J]. **Chemosphere**, 2020, 250: 1-7.
- [53] ZHAO L H, 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(1): 147-155.
- [54] CELLI M G, COELHO A R, WOSIACKI G, et al. Patulin: incidence and control in apple products [J]. **Semina –Ciencias Agrarias**, 2009, 30(1): 135-161.
- [55] PUEL O, GALTIER P, OSWALD I P. Biosynthesis and toxicological effects of patulin[J]. **Toxins**, 2010, 2(4): 613-631.
- [56] TANG H, LI X, ZHANG F, et al. Biodegradation of the mycotoxin patulin in apple juice by orotate phosphoribosyltransferase from *Rhodotorula mucilaginosa*[J]. **Food Control**, 2019, 100: 158-164.
- [57] WANG K, ZHENG X, YANG Q, et al. S-Adenosylmethionine-dependent methyltransferase elps *Pichia caribbica* degrade patulin [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2019, 67(42): 11758-11768.
- [58] XIAO Y, LIU B, WANG Z, et al. Effective degradation of the mycotoxin patulin in pear juice by *Porcine pancreatic* lipase[J]. **Food and Chemical Toxicology**, 2019, 133: 1-6.
- [59] XING M, LI B, CHEN Y, et al. Ribonucleoside diphosphate reductase plays an important role in patulin degradation by *Enterobacter cloacae* subsp. *dissolvens*[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2020, 68(18): 5232-5240.
- [60] XING M, CHEN Y, LI B, et al. Characterization of a short-chain dehydrogenase/reductase and its function in patulin biodegradation in apple juice[J]. **Food Chemistry**, 2021, 348: 1-8.
- [61] DOR S, PRUSKY D, AFRIAT-JURNOU L. Bacterial quorum-quenching lactonase hydrolyzes fungal mycotoxin and reduces pathogenicity of *Penicillium expansum*-suggesting a mechanism of bacterial antagonism[J]. **Journal of Fungi**, 2021, 7(10): 1-16.
- [62] MOGENSEN J M, MOLLER K A, VON FREIESLEBEN P, et al. Production of fumonisins B2 and B4 in *Tolypocladium* species [J]. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, 2011, 38(9): 1329-1335.
- [63] 坚乃丹. 伏马毒素 B-1 降解酶 YD 的异源表达及其酶学性质研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2018.
- [64] TIAN Y E, CAI P L, LIN H K, et al. Elimination of *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol (DON) via microbial and enzymatic strategies: current status and future perspectives[J]. **Trends in Food Science and Technology**, 2022, 124: 96-107.
- [65] QU L, WANG L, JI H, et al. Toxic mechanism and biological detoxification of fumonisins[J]. **Toxins**, 2022, 14(3): 1-21.
- [66] AHANGARKANI F, ROUHI S, AZIZI I G. A review on incidence and toxicity of fumonisins[J]. **Toxin Reviews**, 2014, 33(3): 95-100.
- [67] SORIANO J M, GONZALEZ L, CATALA A I. Mechanism of action of sphingolipids and their metabolites in the toxicity of fumonisin B1[J]. **Progress in Lipid Research**, 2005, 44(6): 345-356.
- [68] DUVICK J, ROOD T, MADDOX J, et al. Detoxification of mycotoxins in planta as a strategy for improving grain quality and disease resistance; identification of fumonisin-degrading microbes from maize[M]. Springer Netherlands. 1998: 369-381.
- [69] HEINL S, HARTINGER D, THAMHESL M, et al. Degradation of fumonisin B1 by the consecutive action of two bacterial enzymes[J]. **Journal of Biotechnology**, 2010, 145(2): 120-129.
- [70] DORIS H, HEIDI S, CHRISTRIAN H, et al. Enzyme characteristics of aminotransferase FumI of *Sphingopyxis* sp. MTA144 for deamination of hydrolyzed fumonisin B(1)[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2011, 91(3): 757-768.
- [71] LI Z, WANG Y, LIU Z, et al. Biological detoxification of fumonisin by a novel carboxylesterase from *Sphingomonadales bacterium* and its biochemical characterization[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2021, 169: 18-27.
- [72] GARNHAM C P, BUTLER S G, TELMER P G, et al. Identification and characterization of an *Aspergillus niger* amine oxidase that detoxifies intact fumonisins[J]. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 2020, 68(47): 13779-13790.



- [73] BAMPIDIS V, AZIMONTI G, BASTOS M D, et al. Safety and efficacy of fumonisin esterase from *Komagataella phaffii* DSM 32159 as a feed additive for all animal species[J]. **EFSA Journal**, 2020, 18(7): 1-18.
- [74] ALBERTS J, SCHATZMAYR G, MOLL W D, et al. Detoxification of the fumonisin mycotoxins in maize: an enzymatic approach[J]. **Toxins**, 2019, 11(9): 1-15.
- [75] MALIR F, OSTRY V, PFOHL-LESZKOWICZ A, et al. Ochratoxin A: 50 years of research[J]. **Toxins**, 2016, 8(7): 1-49.
- [76] KOSZEGI T, POOR M. Ochratoxin A: molecular interactions, mechanisms of toxicity and prevention at the molecular level[J]. **Toxins**, 2016, 8(4): 1-25.
- [77] ALSHANNAQ A, YU J H. Occurrence, toxicity, and analysis of major mycotoxins in food[J]. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, 2017, 14(6): 1-20.
- [78] 中华人民共和国卫健委. 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量: GB 2761—2011[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.
- [79] RICHARD J L. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses: an overview[J]. **International Journal of Food Microbiology**, 2007, 119(1/2): 3-10.
- [80] LUO H, WANG G, CHEN N, et al. A superefficient ochratoxin a hydrolase with promising potential for industrial applications[J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 2022, 88(2): 1-13.
- [81] PITOUT M J. The hydrolysis of ochratoxin a by some proteolytic enzymes[J]. **Biochemical Pharmacology**, 1969, 18(2): 485-491.
- [82] ABRUNHOSA L, PATERSON R R, VENANCIO A. Biodegradation of ochratoxin a for food and feed decontamination[J]. **Toxins**, 2010, 2(5): 1078-1099.
- [83] ZHANG H, ZHANG Y, YIN T, et al. Heterologous expression and characterization of a novel ochratoxin a degrading enzyme, N-acyl-L-amino acid amidohydrolase, from *Alcaligenes faecalis*[J]. **Toxins**, 2019, 11(9): 1-8.
- [84] AZAM M S, YU D, LIU N, et al. Degrading ochratoxin a and zearalenone mycotoxins using a multifunctional recombinant enzyme[J]. **Toxins**, 2019, 11(5): 1-22.
- [85] XIONG L, PENG M, ZHAO M, et al. Truncated expression of a carboxypeptidase a from bovine improves its enzymatic properties and detoxification efficiency of ochratoxin A[J]. **Toxins**, 2020, 12(11): 1-12.
- [86] 宋佳, 范寰, 闫雪, 等. 赭曲霉毒素 A 降解酶 Af-OTd 的酶学性质分析[J]. 中国食品学报, 2022, 22(1): 31-38.
- [87] DOBRITZSCH D, WANG H, SCHNEIDER G, et al. Structural and functional characterization of ochratoxinase, a novel mycotoxin-degrading enzyme[J]. **Biochemical Journal**, 2014, 462(3): 441-452.
- [88] STANDER M A, BORNSCHEUER U T, HENKE E, et al. Screening of commercial hydrolases for the degradation of ochratoxin A[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2000, 48(11): 5736-5739.
- [89] ABRUNHOSA L, SANTOS L, VENANCIO A. Degradation of ochratoxin a by proteases and by a crude enzyme of *Aspergillus niger*[J]. **Food Biotechnology**, 2006, 20(3): 231-242.
- [90] GARCIA S O, SIBAJA K V M, NOGUEIRA W V, et al. Peroxidase as a simultaneous degradation agent of ochratoxin A and zearalenone applied to model solution and beer[J]. **Food Research International**, 2020, 131: 1-10.