邬雨璇, 陶越攀, 周兴旺, 等. 空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 对黄曲霉毒素 AFB_1 降解机制及产物初探 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(15): 215−223. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070340

WU Yuxuan, TAO Yuepan, ZHOU Xingwang, et al. Preliminary Study on Degradation Mechanism and Products of Aflatoxin B_1 Using *Bacillus aerius* CGMCC No.31025[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(15): 215−223. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070340

· 生物工程 ·

空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 对黄曲霉毒素 AFB_1 降解机制及产物初探

邬雨璇[1], 陶越攀[2], 周兴旺[3], 邹谋勇[4], 张春艳[1,*], 周红丽[1,*]

（1.湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南长沙 410128;
2.湖南湘窖酒业有限公司, 湖南邵阳 422000;
3.湖南省产商品质量检验研究院, 湖南长沙 410111;
4.龙牌食品股份有限公司, 湖南湘潭 411100）

摘　要: 黄曲霉毒素 AFB_1 是一种强毒性且致癌的真菌毒素，严重威胁食品安全与人类健康。本研究旨在探究实验室保藏菌株空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 对黄曲霉毒素 B_1（Aflatoxin B_1，AFB_1）的降解特性和降解产物的鉴定。通过对发酵液进行不同处理、活性组分研究、活性物质理化性质分析等，利用高效液相色谱（High-Performance Liquid Chromatography，HPLC）测定空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 降解 AFB_1 的有效活性成分，并通过超高效液相色谱串联质谱（Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry，UPLC-MS/MS）对降解产物进行分离鉴定。结果表明：空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 对 AFB_1 的降解主要作用成分是发酵上清液，上清液中有效活性物质有较高的热稳定性；经过不同蛋白质失活处理，结果表明发酵上清液中降解毒素的有效成分可能为酶或其他活性蛋白；通过 UPLC-MS/MS 分析，得到多种降解产物，并推测降解产物主要是由于 AFB_1 母体结构中基团上的羟基化、还原和脱烷基化形成。本研究为生物法去除食品和饲料中 AFB_1 污染提供了潜在菌株与技术支撑。

关键词: 黄曲霉毒素 B_1（AFB_1）, 降解特性, 高效液相色谱法（HPLC）, 降解产物, 超高效液相色谱串联质谱（UPLC-MS/MS）

中图分类号: TS201.3　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)15−0215−09

本文网刊:

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070340

Preliminary Study on Degradation Mechanism and Products of Aflatoxin B_1 Using *Bacillus aerius* CGMCC No.31025

WU Yuxuan[1], TAO Yuepan[2], ZHOU Xingwang[3], ZOU Mouyong[4], ZHANG Chunyan[1,*], ZHOU Hongli[1,*]

（1.College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;
2.Hunan Xiangjiao Wine Industry Co., Ltd., Shaoyang 422000, China;
3.Hunan Province Commodity Quality Inspection Institute, Changsha 410111, China;
4.Dragon Brand Food Co., Ltd., Xiangtan 411100, China）

Abstract: Aflatoxin B_1 (AFB_1) is a highly toxic and carcinogenic mycotoxin that poses a serious threat to food safety and human health. This study aimed to investigate the degradation characteristics of Aflatoxin B_1 (AFB_1) by the laboratory-preserved strain *Bacillus aerius* CGMCC No.31025 and to identify its degradation products. Through various treatments of fermentation broth, studies on active components, and analysis on physicochemical properties of active substances, the pri-

收稿日期: 2025−07−28

基金项目: 湖南创新型省份建设专项（2022SK2103）; 湖南省重点领域研发计划项目（2023NK2036）。

作者简介: 邬雨璇（2000−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: 15875109526@163.com。

*** 通信作者:** 张春艳（1981−）, 女, 博士, 副教授, 研究方向: 木质纤维素原料的糖化发酵及降解机理, E-mail: zhangchy95@163.com。

周红丽（1971−）, 女, 博士, 教授, 研究方向: 发酵食品创制, E-mail: xuanxuan310@126.com。

mary active components of *B. aerius* CGMCC No.31025 degrading AFB_1 were determined using high-performance liquid chromatography (HPLC). The degradation products were separated and identified via ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). Results indicated that the primary active component responsible for AFB_1 degradation by *B. aerius* CGMCC No.31025 was the fermentation supernatant, which exhibited high thermal stability for its effective active substances. Protein inactivation treatments indicated that the active component degrading the toxin in the fermentation supernatant might be an enzyme or other active protein. UPLC-MS/MS analysis identified multiple degradation products, which were predicted to result primarily from hydroxylation, reduction and dealkylation of functional groups in the parent AFB_1 structure. This study provides potential microbial strains and technical support for the biological removal of AFB_1 contamination in food and feed.

Key words: aflatoxin B_1 (AFB_1); degradation characteristics; high performance liquid chromatography (HPLC); degradation products; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS)

黄曲霉毒素(AFT)是黄曲霉和寄生曲霉等其他相关菌株产生的双呋喃环类毒素。其衍生物有约 20 种,分别命名为 B_1、B_2、G_1、G_2、M_1、M_2 等。其中以 B_1 的毒性最大。1960 年科学家首次报道诺卡氏菌(Nocardia corynebacterioides)可降解黄曲霉毒素,这是发现的第一个可降解黄曲霉毒素的微生物,引起了全世界科学家的关注,微生物对 AFB_1 降解能力的发现为消除和降解 AFB_1 污染提供了新思路。

目前常用降解黄曲霉毒素的方法主要有物理法、化学法和生物法[1−4]。物理法通过高温加热、吸附、紫外线照射、超声和低温等离子体技术等方式[5]达到去除 AFB_1 的效果。物理脱毒方法最为快速简单,但是成本高,不利于工业化生产。化学法常用的方法有强酸强碱处理法、臭氧熏蒸法、电解水技术等[6],有极强的灭活能力,但化学法成本高,脱毒不彻底,存在化学试剂残留,具有一定副作用和危险性。生物法防控真菌污染是一种绿色环保、安全高效的方法,通过微生物对黄曲霉毒素进行吸附去除或分解代谢、利用微生物的代谢产物拮抗真菌、酶降解等途径阻控黄曲霉生长产毒[7]。不同的微生物对真菌毒素的降解途径也不同。乳酸菌主要是通过细胞壁中的肽聚糖、碳水化合物、磷壁酸等,通过物理吸附、离子交换和络合作用与毒素结合去除毒素[8]。通过代谢产物降解真菌毒素的微生物主要有芽孢杆菌、假单胞菌、非产毒曲霉等[9]。其中,芽孢杆菌是国标规定允许添加到食品中的微生物,且对 AFB_1 的降解能力普遍较强。通过查阅文献和资料发现,目前对空气芽孢杆菌的研究较少。本研究所用空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 对 AFB_1 优化后降解率为 89.41%±0.57%。Xiong 等[10]筛选了一株具有较强降解 AFB_1 能力的解淀粉芽孢杆菌 B10,在 72 h 时纯化的 B10 漆酶对 AFB_1 降解率最高达 86.3%。Zhao 等[11]直接从豆瓣酱中筛选出了一株耐盐的贝莱斯芽孢杆菌 AD8,对 AFB_1 降解率最高达 86.04%±0.46%。由此可见,空气芽孢杆菌对 AFB_1 降解能力较强。而且大多数芽孢杆菌属于益生菌,不会对机体产生伤害,具有很大的实际应用潜力[12]。

本文通过探究空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 发酵液各组分、对菌体不同处理方式、活性成分性质及金属离子的影响等方式得到各体系,初步得到有效降解组分,并通过超高效液相色谱串联质谱鉴定降解产物。以期为食品、饲料中 AFB_1 的脱除提供新方法,为探究菌株降解 AFB_1 的机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

空气芽孢杆菌(*Bacillus aerius*)CGMCC NO.31025 实验室保藏菌株;AFB_1 标准品 纯度≥99.50%,青岛普瑞邦生物工程有限公司;十二烷基硫酸钠(SDS) 分析纯,上海麦克林生化有限公司;溶菌酶 北京兰杰柯科技有限公司;蛋白酶 K 活性≥30 U/mg,广州赛国生物科技有限公司;PBS 缓冲剂 北京雷根生物技术有限公司;甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)、硫酸铵(分析纯) 国药集团化学试剂有限公司;透析袋(截留分子量 3.5 kDa) 上海源叶生物科技有限公司;营养肉汤培养基、营养琼脂培养基 广东环凯微生物科技有限公司。

PHS-3C 酸度计 上海仪电科学仪器有限公司;artorius TE214S 分析天平 长沙康源科技开发有限公司;LC-20A 高效液相色谱仪 日本 Shimadzu 公司;LDZX-50KBS 立式高压蒸汽灭菌器 上海申安医疗器械厂;SKY-2102C 双层全温摇床 苏州赛恩斯仪器有限公司;SW-CJ-1FD 单人净化工作台 苏州天创净化设备有限公司;TG16-WS 台式高速离心机 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;VL-220R 高速冷冻离心机 湖南迈克尔实验仪器有限公司;SCIENTZ-IID 超声波细胞粉碎机 宁波新芝生物科技股份有限公司;VORTEX-5 涡旋混合器 海门市其林贝尔仪器制造有限公司;LTF-8D 电热恒温水浴锅 上海龙跃仪器设备有限公司;Thermo Vanquish UHPLC 超高效液相色谱仪 赛默飞世尔科技公司。

1.2 实验方法

1.2.1 空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 降解 AFB_1 的机制研究

1.2.1.1 样品前处理 取实验室保藏菌株空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 接种于营养琼脂斜面培养基上 37 ℃ 活化培养 24 h 后,将其接种于营养肉汤

培养基中，摇床培养 150 r/min 12 h，得到空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 种子液。再将种子液以 5% 的接种量接入新的营养肉汤培养基中，以相同条件下继续培养 24 h 得到菌株发酵液。

1.2.1.2　菌株降解 AFB_1 有效活性成分研究　取空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 发酵液，在 10000 r/min 条件下离心 15 min，得到无菌上清液和菌体沉淀，收集上清液备用。将沉淀用 PBS 缓冲液洗涤 2~3 次，并重悬于 PBS 缓冲液中。一组菌体细胞悬浮液不做任何处理，另外一组使用超声波细胞粉碎机进行超声破碎，得到细胞破碎液。另取一组发酵液不做任何处理，之后将各组加入 AFB_1，并调整浓度为 0.2 μg/mL。按前期降解条件优化实验得到的最佳条件即摇床 37 ℃，160 r/min 培养 72 h[13]。HPLC 测定各组 AFB_1 质量浓度，配制质量浓度为 0.25、0.50、2.50、5.00、10.00、25.00 ng/mL 的 AFB_1 系列标准溶液，色谱条件为：InertSustain C_{18} 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为水∶甲醇∶乙腈（6∶2∶2）；调整等梯度洗脱条件为 A（甲酸）：56%、B（乙晴）：44%；调整进样量为 20 μL；流速为 1 mL/min；柱温 40 ℃；检测器为荧光检测器；检测波长为激发波长：360 nm；发射波长：440 nm。按下式计算降解率。

$$降解率(\%)=\frac{空白组AFB_1含量-实验组AFB_1含量}{空白组AFB_1含量}\times 100$$

1.2.1.3　不同处理方式对菌体降解 AFB_1 影响研究　将空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 菌株发酵液在 10000 r/min 条件下离心 15 min，得到菌体沉淀，用 PBS 缓冲液将菌体洗涤 2~3 次，离心后将菌体分成 4 组，分别重悬于 20 mL PBS 缓冲液中，每组重复 3 次。一组使用灭菌锅进行高温高压处理，得到高压灭活菌（121 ℃ 30 min）；一组用溶菌酶（>10000 U/mL）37 ℃ 处理 2 h；一组使用细胞超声破碎仪 500 W 冰浴处理 30 min，工作 5 s，暂停 5 s，之后离心得到上清液为胞内物质，沉淀细胞壁重悬于 PBS 缓冲液中；最后一组不做任何处理为菌悬液。各组分别加入 AFB_1 调整最终浓度为 0.2 μg/mL。37 ℃，160 r/min 摇床培养 72 h，HPLC 测定各组 AFB_1 质量浓度，按 1.2.1.2 公式计算降解率。

1.2.1.4　降解 AFB_1 有效活性组分的理化性质研究　取 1.2.1.1 中上清液平均分成六组，每组 3 个重复。一组用 100 ℃ 水浴加热 20 min；一组在 121 ℃，0.1 MPa 条件下处理 20 min；一组使用 1 mg/mL 蛋白酶 K 在 55 ℃ 条件下处理 30 min；一组使用 1% SDS 在室温条件下处理 30 min；一组使用 1 mg/mL 蛋白酶 K+1% SDS 在 55 ℃ 条件下处理 30 min；最后一组不做任何处理。各组分别加入 AFB_1，调整最终浓度为 0.2 μg/mL。37 ℃，160 r/min 摇床培养 72 h 后，HPLC 测定各组 AFB_1 质量浓度，按 1.2.1.2 公式计算降解率。

1.2.1.5　金属离子对空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 降解 AFB_1 的影响研究　先计算并精确称取 K^+（K_2CO_3）、Al^{3+}（$AlCl_3\cdot 6H_2O$）、Mn^{2+}（$MnSO_4\cdot H_2O$）、Cu^{2+}（$CuSO_4\cdot 5H_2O$）、Fe^{2+}（$FeSO_4\cdot 5H_2O$）、Zn^{2+}（$C_4H_6O_4Zn\cdot 2H_2O$）、Ca^{2+}（$CaCl_2$）、Mg^{2+}（$MgSO_4\cdot 7H_2O$）、Fe^{3+}（$FeCl_3\cdot 6H_2O$）、Cd^{2+}（$CdCl_2\cdot 2.5H_2O$）等金属盐，将其配制成 1 mol/L 金属离子溶液。然后分别加入培养基中，调整各金属离子的最终浓度为 0.01 mol/L。之后以 5% 的接种量接入种子液，摇床 37 ℃，160 r/min 培养 48 h。再分别加入 AFB_1 工作液，调整最终浓度为 0.2 μg/mL，继续摇床 37 ℃，160 r/min 培养 72 h，以不加入金属离子且 AFB_1 最终浓度相同的反应体系为空白组。10000 r/min 离心 10 min 取上清液，HPLC 测定各组 AFB_1 质量浓度，按 1.2.1.2 公式计算降解率。

1.2.1.6　空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 降解 AFB_1 活性物质研究　取空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 种子液以 5% 的接种量接入到 100 mL 营养肉汤培养基中，共四瓶。之后放入摇床 37 ℃，160 r/min 培养 48 h。以转速 10000 r/min，4 ℃ 离心 10 min。取上清液，冰浴条件下边研磨边分别加入硫酸铵粉末，依据前人研究结果及硫酸铵饱和度调整浓度为 50%、60%、70%、80% 和 90%[14]。充分混匀后在 4 ℃ 冰箱静置处理 24 h。充分盐析后得到粗蛋白液，之后在 4 ℃、10000 r/min 的转速离心 10 min，取沉淀用 1 mol/L 的 PBS 缓冲液复溶。装入截留量为 3500 Da 的透析袋中，透析夹夹紧，放入 0.1 mol/L PBS 缓冲液中，静置于 4 ℃ 冰箱。4 h 换液一次，透析 24~36 h。取透析液，加入 AFB_1 标准液，调整最终浓度为 0.2 μg/mL。以相同浓度 AFB_1的等体积 PBS 缓冲液为空白对照组。摇床 37 ℃，160 r/min 分别作用 24 h 和 72 h。作用结束后，取适量工作液于离心管，10000 r/min 离心 10 min，取离心后的上清液检测。最后用 HPLC 测定各组 AFB_1 质量浓度，按 1.2.1.2 公式计算降解率。

1.2.2　空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 降解 AFB_1 的降解产物解析

1.2.2.1　降解产物制备　称取 AFB_1 标准品 0.10 mg（精确至 0.01 mg），用甲醇（色谱纯）溶解并定容至 10 mL，得到浓度约为 10 μg/mL 的储备液，−20 ℃ 避光保存。以 1×10^8 CFU 的浓度将种子液接入培养基，37 ℃、160 r/min 摇床培养 48 h。取 25 μL 浓度为 10 μg/mL AFB_1 溶液加入灭菌的 10 mL EP 管中，另加 975 μL 发酵菌液，混匀，37 ℃，160 r/min 振荡培养 3 d。加入 500 μL 纯甲醇，涡旋 10 min 混匀样品。将混匀的样品溶液用离心机在 4 ℃ 低温下 12000 r/min 离心 10 min。上清液过 0.22 μm 微孔滤膜，上机检测。

1.2.2.2　UPLC-MS/MS 鉴定 AFB_1 降解产物　UPLC

条件：色谱柱：C_{18} 色谱柱（Zorbax Eclipse C_{18}（1.8 μm×2.1 mm×100 mm））柱温为 30 ℃；流速 0.3 mL/min；流动相组成 A：0.1% 甲酸水溶液，B：纯乙腈；进样量为 2 μL，自动进样器温度 4 ℃。

MS 条件：正模式：加热器温度 325 ℃；鞘气流速：45 arb；辅助气流速：15 arb；吹扫气流速：1 arb；电喷雾电压：3.5 kV；毛细管温度：330 ℃；S-Lens RF Level：55%。

负模式：加热器温度 325 ℃；鞘气流速：45 arb；辅助气流速：15 arb；吹扫气流速：1 arb；电喷雾电压：3.5 kV；毛细管温度：330 ℃；S-Lens RF Level：55%。

扫描模式：一级全扫描（Full Scan，m/z 100~1500）与数据依赖性二级质谱扫描（dd-MS2，TopN=5）；分辨率：120000（一级质谱）和 60000（二级质谱）。碰撞模式：高能量碰撞解离（HCD）。流动相梯度洗脱程序见表 1。

表 1 液相色谱流动相条件

Table 1 Liquid chromatography mobile phase conditions

时间（min）	流速（μL/min）	梯度	B乙晴（%）	A甲酸（%）
0~2	300	−	5	95
2~6	300	线性梯度	30	70
6~7	300	−	30	70
7~12	300	线性梯度	78	22
12~14	300	−	78	22
14~17	300	线性梯度	95	5
17~20	300	−	95	5
20~21	300	线性梯度	5	95
21~30	300	−	5	95

通过四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱仪 Q-Exactive（Thermo Fisher Science，USA）对样品进行一级、二级质谱数据采集。

1.2.2.3 数据分析 使用 Compound Discover 3.3 预测母体化合物经过转化反应后的代谢物质信息，进行保留时间矫正、峰识别、峰提取等工作，根据二级质谱信息利用 Thermo mzCloud 在线数据库、Thermo mzValut 本地数据库等，一级质谱信息利用 chemspider 在线数据库和 MassList 本地数据库进行物质鉴定。

1.3 数据处理

实验重复 3 次，使用 IBM SPSS Statistics 27 软件对数据进行分析，采用 One-way ANOVN 中邓肯检验分析各处理间差异显著性，$P<0.05$ 差异显著，$P<0.01$ 差异极显著；使用 Excel 2021、Origin 2021 进行分析绘图。

2 结果与分析

2.1 空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 降解 AFB_1 的特性分析

2.1.1 空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 降解 AFB_1 有效活性成分分析 据报道，微生物去除 AFB_1 主要有两种途径，一种是通过菌体自身结构的吸附作用，代表微生物有乳酸菌和酵母菌，然而最大的问题是吸附作用可逆。另一种是通过微生物代谢产生的活性物质将毒素降解为其他物质，此种为不可逆过程，在去除毒素的方法中更具优势[11]。由图 1 可看出，菌株发酵液的不同组分均对 AFB_1 有降解作用，但不同组分之间对 AFB_1 的降解能力存在显著性差异（$P<0.05$）。其中，菌株发酵液最高，对 AFB_1 的降解率达 89.41%；其次是上清液，对 AFB_1 的降解率达 79.13%，并且显著高于（$P<0.05$）菌体对 AFB_1 的降解率。由此可判断发挥主要降解作用的组分为发酵上清液，降解活性物质为菌株胞外代谢产物。这与 Wang 等[15] 从鸡盲肠中分离出的大肠杆菌 CG1061 对 AFB_1 的降解特性相似，研究发现菌株的发酵上清液对毒素的降解效果远远高于胞内提取物。Raksha 等[16] 发现土壤中的地衣芽孢杆菌 CFR1 的无细胞上清液能有效降解 AFB_1，对黄曲霉毒素降解率可达 90% 以上。Xu 等[17] 筛选发现沙克氏芽孢杆菌 L7 的发酵上清液对 AFB_1 的降解率可达 92.10%，研究表明，L7 降解 AFB_1 是由发酵上清液中的活性物质发挥主要作用。刘亚妹等[18] 发现丁酸梭菌的发酵上清液对 AFB_1 降解率可达 53.5%，显著高于菌悬液。均与本研究得出结果一致。

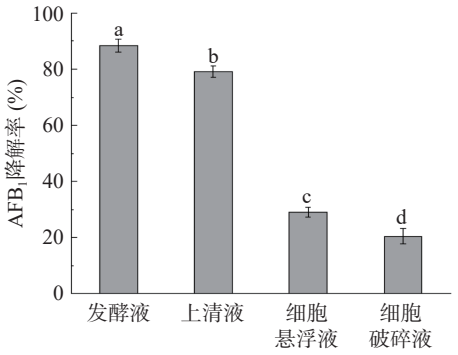


图 1 不同组分对菌体 AFB_1 降解率的影响

Fig.1 Effects of different components on the degradation rate of AFB_1 by bacteria

注：不同小写字母表示组间具有显著性差异，$P<0.05$，图 2~图 6 同。

2.1.2 不同处理方式对菌体降解 AFB_1 影响分析 由图 2 可知，菌体经过高压灭活和溶菌酶处理失活后对于 AFB_1 的降解率出现显著下降（$P<0.05$），分别下降了 17.27% 和 2.99%。细胞壁多糖和肽聚糖是吸附真菌毒素的两个主要成分。高温高压处理会使蛋白质变性，破坏菌体，影响细胞形态，破坏细胞壁结构，改变细胞膜的通透性，使酶失活[19]。溶菌酶是一种能水解细菌中黏多糖的碱性酶，它通过破坏细胞壁中的 N-乙酰胞壁酸和 N-乙酰氨基葡萄糖之间的 β-1,4 糖苷键，使细胞壁不溶性黏多糖分解成可溶性糖肽，导致细胞壁破裂内容物逸出而使细菌溶解[20]。本研究中，溶菌酶作用导致细胞壁破裂，细菌溶解，使得 AFB_1 降解率降低。超声波在液体中传播时，会产生空化效应，导致液体中的气泡振动、生长，最终破

裂。菌体经过超声破碎、高速离心之后，沉淀即为细胞壁碎片，仍有 20.50% 的降解率，上清液为胞内物质[21]。本研究中，细胞壁和胞内物质对于 AFB_1 的降解率无明显差异。虽然显著低于（P<0.05）活菌的降解率，但仍保留一定的降解能力，表明在降解过程中，一部分作用来自细胞壁的吸附，胞内活性物质也发挥了一定的降解作用。

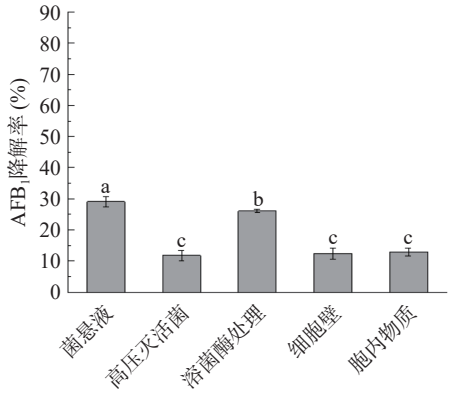


图 2　不同处理方式对菌体 AFB_1 降解率的影响

Fig.2　Effects of different treatments on AFB_1 degradation rate of bacteria

2.1.3　降解 AFB_1 有效活性组分的理化性质分析　高温热处理会直接改变蛋白质的形态，使得蛋白质变性，从而失去活性。由图 3 可知，与无处理上清液组相比，经过不同方法处理之后，AFB_1 降解率出现了不同程度的下降。热处理组虽出现降低但未出现显著差异（P>0.05）。高温高压处理组降解率降低了 12.50%，但仍有良好的降解能力，说明降解 AFB_1 的活性成分具有很好的热稳定性。

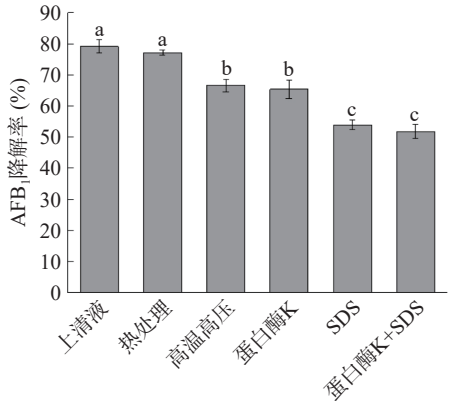


图 3　不同处理方式对 AFB_1 降解率的影响

Fig.3　Effects of different treatment methods on the degradation rate of AFB_1

蛋白酶 K 是目前普遍使用的一种非特异性的广谱蛋白酶，可与所有蛋白质发生反应，消化水解蛋白，使其失去活性，无法发挥作用，它的作用范围广泛，且稳定性好，能使大部分蛋白质失活[22]。SDS 是一种阴离子表面活性剂，可以破坏蛋白质的三、四级结构，造成蛋白质变性[23]。SDS 与蛋白酶 K 同时作用时，还可以激活蛋白酶 K 的活性[24]。分别用蛋白酶 K、SDS 以及两者组合处理后空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 对毒素的降解率均出现显著性的降低（P<0.05），表明在降解毒素的过程中酶或活性蛋白发挥了重要作用。Deng 等[25] 也同样发现在食吡啶红球菌分别用蛋白酶 K 和 SDS 处理之后，对毒素的降解率都出现了不同程度的下降。而 Chen 等[26] 还发现在蛋白酶 K 和 SDS 同时处理解淀粉芽孢杆菌的无细胞发酵上清液后，会使其完全丧失对毒素的降解能力。Wu 等[27] 发现枯草芽孢杆菌 ZJ-2019-1 的发酵上清液经煮沸后对 AFB_1 的降解率仍可以达到 79.85%。Wang 等[28] 表明镰刀菌 WCQ3361 的上清液在沸水中加热 10 min 后对 AFB_1 的降解率达到 99.40%。以上结论均表明，微生物的发酵上清液中可能存在降解 AFB_1 的热稳定性酶。Shu 等[29] 发现贝莱斯芽孢杆菌 DY3108 的发酵上清液经热处理后，降解率升高，推测可能出现了酶的热活化现象。综上所述，空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 的发酵上清液中，降解 AFB_1 的活性物质是蛋白质或酶。

2.1.4　金属离子对空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 降解 AFB_1 的影响分析　不同金属离子对酶活性的影响不尽相同，一部分金属离子对酶活性有激活作用，而一部分金属离子对酶活性有抑制作用。因此，探究不同金属离子对降解 AFB_1 的影响能够得到对 AFB_1 的降解率有提高效果的金属离子。Suo 等[30] 发现 Zn^{2+}的存在会使寡养假单胞菌对 AFB_1 的降解率产生明显的抑制作用。而 Wang等[28] 则发现 Zn^{2+}会使镰刀菌 WCQ3361 的上清液完全丧失对毒素的降解能力。石鸿辉[31] 发现 Na^+、Mn^{2+}和 K^+显著增强菌株 ZG08 上清液对 AFB_1 的降解活性，可能作为酶的激活剂或者稳定剂，有助于维持酶结构和功能的完整性。Cai 等[32] 从土壤中分离得到的寡养单胞菌 CW117 对毒素的降解过程明显受金属离子的影响，在 Li^+和 Ni^{2+}存在的环境下，菌株对 AFB_1 的降解率显著增加。由图 4 可知，不同金属离子对 AFB_1 降解率影响程度不同，除了在 K^+的作用下，AFB_1 的降解率出现略微提高外，在其他离子的作用下 AFB_1 的降解率均出现不同程度的降低。其中 Zn^{2+}、Fe^{2+}、

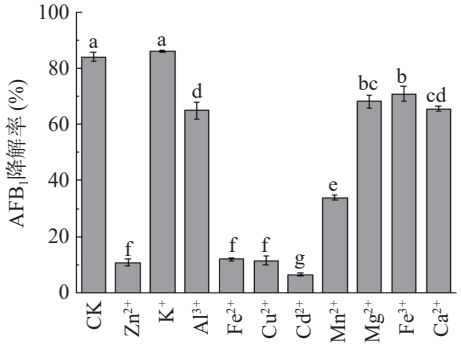


图 4　不同金属离子对 AFB_1 降解率的影响

Fig.4　Effects of different metal ions on the degradation rate of AFB_1

Cu^{2+}、Cd^{2+}这几种金属离子对 AFB_1 降解率影响较显著，极大程度上降低了 AFB_1 的降解率。Cd^{2+}对 AFB_1 降解率抑制影响作用最明显。由此推断，K^+可能作为酶的激活剂或者稳定剂，有助于维持酶结构和功能的完整性。

2.1.5 空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 降解 AFB_1 活性物质的研究 硫酸铵溶液通过调节蛋白质水合层，使蛋白质失去溶解性沉淀析出。不同蛋白质的溶解度不同，故不同浓度的硫酸铵对蛋白质的沉淀作用不同，分别使用了 50%、60%、70%、80% 和 90% 五种饱和浓度的硫酸铵沉淀上清液中的活性蛋白。

空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 的上清液经由不同饱和浓度的硫酸铵沉淀，透析之后用于降解 AFB_1。分别检测不同提取物分别作用 24 h 和 72 h 后对 AFB_1 的降解率，结果如图 5、图 6 所示。通过 24 h 的降解处理之后，80% 饱和度硫酸铵沉淀所得粗酶液对 AFB_1 的降解效果最好，降解率为 37.20%。处理 72 h 后，70% 饱和度硫酸铵沉淀所得粗酶液对 AFB_1 降解效果最好，降解率为 52.62%。并且 72 h 的 AFB_1 降解率高于 24 h。表明降解时间越长提取物对毒素的降解率越高，且所需用的硫酸铵越少。Xiong 等[10] 通过 4 种不同饱和度硫酸铵溶液提取粗蛋白，与 AFB_1 标准品共培养 24 h 后测定其对毒素的降解率，经高效液相色谱检测 AFB_1 降解效率发现，随着硫酸铵浓度的增加，粗提蛋白对 AFB_1 降解效率逐渐提升，浓度为 80% 的硫酸铵粗提蛋白可以使 AFB_1 降解 69.13%，为最高的降解率。依据文献

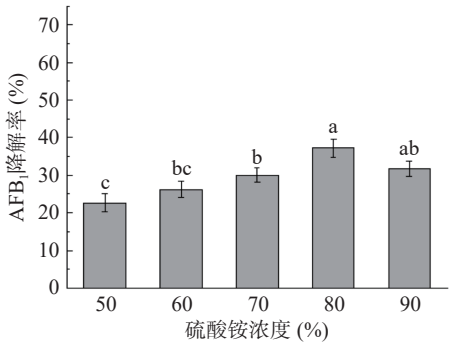


图 5 提取物作用 24 h 对 AFB_1 的降解率

Fig.5 Degradation rate of AFB_1 in extracts at 24 h

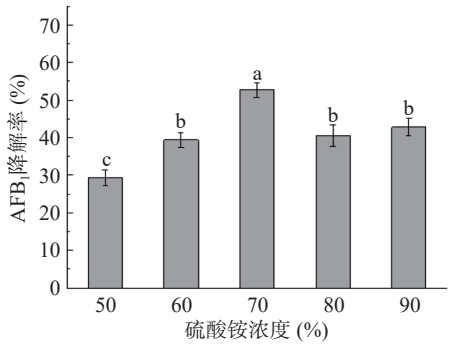


图 6 提取物作用 72 h 对 AFB_1 的降解率

Fig.6 Degradation rate of AFB_1 in extracts at 72 h

可知，24 h 内，80% 饱和度硫酸铵沉淀所得粗酶液对 AFB_1 降解效果最佳，与本文研究结果一致。

2.2 UPLC-MS/MS 鉴定 AFB_1 降解产物分析

通过 UPLC-MS/MS 鉴定空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 降解 AFB_1 产物成分的化学结构。通过样本总离子流图(图 7)分析可知，该降解体系复杂且产物多样。经数据库比对，共从降解产物中匹配到多种与 AFB_1 高度同源的物质，极有可能是经空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 降解或继续代谢后，产生的降解产物或次级代谢产物，为苝类、萘类、异黄酮类等。其中，有三种降解产物发生脱烷基化反应，分别命名为 P1($C_{33}H_{46}O_9$)、P2($C_{16}H_6O_4$)、P3($C_{21}H_{22}N_2O_5$)，如表 2。具体分析结果如图 8~图 10 所示。

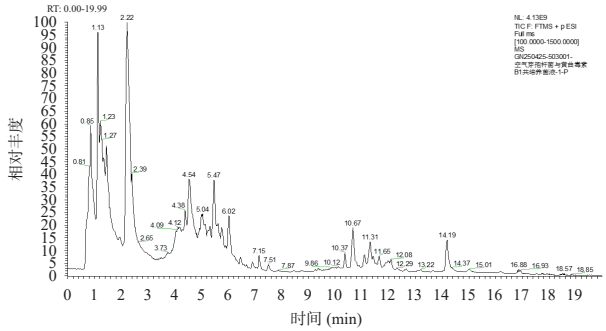


图 7 样本总离子流(TIC)图

Fig.7 Total ion current (TIC) chromatogram

表 2 物质代谢鉴定结果(正离子模式)

Table 2 Results of substance metabolism identification (positive ion mode)

化合物名称	化合物分子式	分子质量	m/z	保留时间(min)
P1	$C_{33}H_{46}O_9$	586.31182	587.31915	7.014
P2	$C_{16}H_6O_4$	262.02735	285.01657	1.193
P3	$C_{21}H_{22}N_2O_5$	382.15211	405.14133	4.995

从图 8 可看出，降解产物 P1 的保留时间为 7.014 min，母离子峰为 m/z 587.31915，分子式为 $C_{33}H_{46}O_9$，准分子离子 $[M+H]^+$。在脱烷基化反应中，AFB_1 分子首先发生特征性结构修饰，其香豆素环或呋喃环上的烷基基团被移除，形成含活性官能团的中间体。该过程通过断裂 C=O(内酯环)或 C=C 键(呋喃环)破坏了 AFB_1 与生物大分子的特异性结合位点[33]，Alberts 等[34] 报道内酯环的断裂会降低 AFB_1 的致突变性。脱烷基化中间体与 $C_{16}H_{34}O_3$ 发生分子间偶联反应，双键被破坏，生成降解产物 P1。脱烷基化过程伴随氢原子补全，最终通过共价键实现芳香环片段与脂肪链的连接。AFB_1 的毒性核心是其分子中的呋喃环(尤其是双键)，该结构易与生物体内的蛋白质、DNA 结合，导致毒性，而与 $C_{16}H_{34}O_3$ 的加成反应恰好破坏了呋喃环的双键结构，质谱图中未检测到完整呋喃环的特征碎片，且碎片裂解模式显示双键相关结构已饱和或开环，证明脱

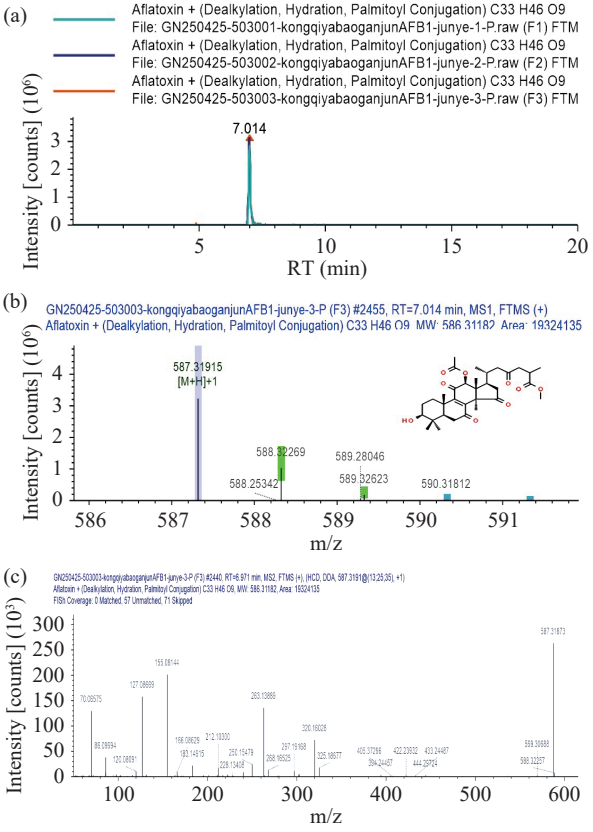


图 8　降解产物 P1 的液相色谱图、一级质谱图和二级质谱图

Fig.8　Liquid chromatogram, full-scan mass spectrum, and tandem mass spectrum (MS/MS) of degradation product P1

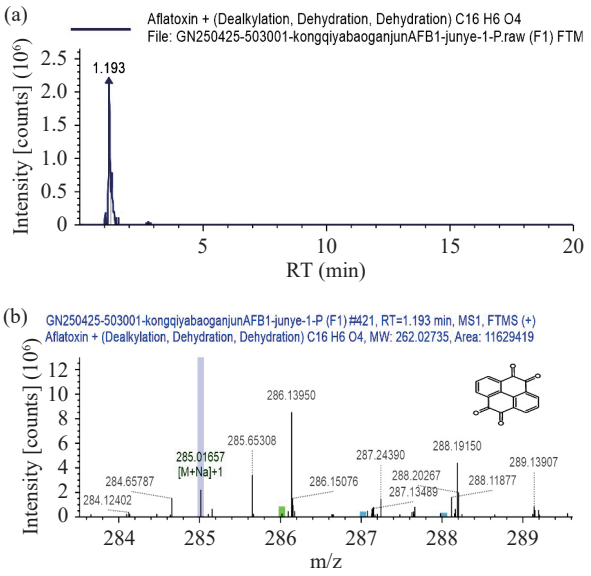


图 9　降解产物 P2 的液相色谱图和一级质谱图

Fig.9　Liquid chromatogram and full-scan mass spectrum of degradation product P2

烷基化及偶联反应成功破坏了该双键，从而降低或去除毒性。

从图 9 可看出，降解产物 P2 的保留时间为 1.193 min，母离子峰为 m/z 285.01657，分子式为 $C_{16}H_6O_4$，准分子离子 $[M+Na]^+$。在脱烷基化降解反应中，AFB_1 分子发生特征性结构断裂，该脱除过程通过断裂 C-O 键（甲氧基与母核的连接）及 C-H 键，

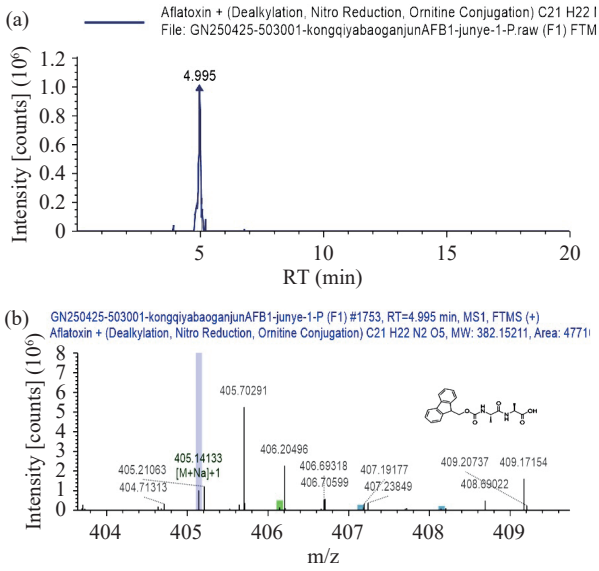


图 10　降解产物 P3 的液相色谱图和一级质谱图

Fig.10　Liquid chromatogram and full-scan mass spectrum of degradation product P3

直接移除了 AFB_1 分子中增强其脂溶性与生物靶点结合能力的烷基基团。Méndez-Albores 等[35] 对 AFB_1 酸化过程中的两种降解产物作了研究分析，其中一种是 AFD_1，非荧光化合物，缺乏内酯基团，m/z 为 286，具有酚性质，缺乏由 AFB_1 内酯环打开形式的脱羧衍生的内酯基，毒性和致突变性低于 AFB_1；程思忠[36] 得到菌株 HNGD-A6 降解 AFB_1 的降解产物 AFD_1（$C_{16}H_{14}O_5$），m/z 287.08996，是 AFB_1 母体环戊烯酮环脱去 C=O，在 C=C 上加 2H 还原所得[37]，与 P2 的分子式和 m/z 相近，通过 Ames 试验和斑马鱼试验表明，毒性和致突变性低于 AFB_1。王勇[38] 通过碱法和微波辅助碱法处理水溶液中 AFB_1 得到降解产物 $C_{16}H_{10}O_5$，m/z 283.0610，产物结构与 P2 十分相似。

从图 10 可看出，降解产物 P3 的保留时间为 4.995 min，母离子峰为 m/z 405.14133，分子式为 $C_{21}H_{22}N_2O_5$，准分子离子 $[M+Na]^+$。AFB_1 失去 1 个氧原子，形成中间体，断裂与烷基取代基相关的 C-O 键，移除毒性增强基团（烷基）并破坏原有环氧基活性位点。对照文献中目前已知的 AFB_1 降解产物，未发现与 P1 和 P3 相似的降解产物，故推测 m/z 为 587.31915 和 405.14133 的物质可能为 AFB_1 新的降解产物。

3　结论

本研究主要通过分离菌株发酵上清液和菌体，探究空气芽孢杆菌 CGMCC NO.31025 降解 AFB_1 的有效组分，发现菌株发酵上清液为降解毒素的主要组分。对菌体进行不同方式的致死处理，发现相较于失活菌体，活菌对 AFB_1 有更强的降解能力。用不同的方式处理菌株的发酵上清液，探究菌株降解毒素的特性。通过沸水浴和高温高压处理后，发现菌株的发酵上清液对毒素的降解有很好的热稳定性。经过不

同蛋白质失活处理之后，发酵上清液对 AFB_1 的降解率出现显著降低，表明发酵上清液中降解毒素的有效成分可能为酶或其他活性蛋白。经过多种金属离子处理之后发现不同金属离子对微生物降解毒素的影响不同，多数金属离子会抑制菌株对 AFB_1 的降解，使得 AFB_1 降解率降低。利用不同饱和度的硫酸铵溶液沉淀上清液中的粗酶，发现提取物对 AFB_1 处理 72 h 的降解率明显高于 24 h 的组别，处理时间越长，AFB_1 降解率越高，且其所需要的硫酸铵更少。

根据 UPLC-MS/MS 结果，分析产生了三种主要的 AFB_1 降解产物，分别为 P1 $C_{33}H_{46}O_9$（m/z 587.31915）、P2 $C_{16}H_6O_4$（m/z 285.01657）和 P3 $C_{21}H_{22}N_2O_5$（m/z 405.14133）。从三种降解产物的结构上分析，AFB_1 可能的降解途径是其母体结构的羟基化、还原以及脱烷基化等。

后续实验应结合细胞毒性实验（如 CCK-8 法）、动物模型毒理学评价（如亚急性毒性试验）等手段，建立系统的降解产物安全性评估体系。这些研究方向不仅能填补微生物降解 AFB_1 的理论空白，更能为生物脱毒技术的实际落地提供科学依据。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] 郑爱芳, 何欢, 高晔, 等. 一株防治花生采后黄曲霉污染的拮抗菌的筛选及其防控效果[J]. 中国油脂, 2024, 49(2): 56−62. [ZHENG Aifang, HE Huan, GAO Ye, et al. Screening of biocontrol bacteria against peanut postharvest *Aspergillus flavus* contamination and its prevention effect[J]. China Oils and Fats, 2024, 49(2): 56−62.]

[2] GUO Yongpeng, ZHAO Lihong, MA Qiugang, et al. Novel strategies for degradation of aflatoxins in food and feed: A review[J]. Food Research International, 2021, 140: 109878.

[3] NGUYEN T, PALMER J, LOO T, et al. Investigation of UV light treatment (254 nm) on the reduction of aflatoxin M1 in skim milk and degradation products after treatment[J]. Food Chemistry, 2022, 390: 133165.

[4] SAMUEL M S, MOHANRAJ K, CHANDRASEKAR N, et al. Synthesis of recyclable GO/Cu_3(BTC)$_2$/Fe_3O_4 hybrid nanocomposites with enhanced photocatalytic degradation of aflatoxin B1[J]. Chemosphere, 2022, 291: 132684.

[5] WU Yue, CHENG Junhu, SUN Dawen. Blocking and degradation of aflatoxins by cold plasma treatments: Applications and mechanisms[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 109: 647−661.

[6] 卢丹, 徐晴, 江凌, 等. 生物酶降解真菌毒素的研究进展[J]. 生物加工过程, 2018, 16(2): 49−56. [LU Dan, XU Qing, JIANG Ling, et al. Advances in enzymatic detoxification of mycotoxins[J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2018, 16(2): 49−56.]

[7] 钦巧眉, 毛劲, 程玲, 等. 农产品和食品中黄曲霉毒素检测与阻控技术研究现状及展望[J]. 农业工程学报, 2025, 41(10): 1−14. [QIN Qiaomei, MAO Jin, CHENG Ling, et al. Research status and prospect of the detection, prevention and control techniques for aflatoxins in agricultural products and food[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2025, 41(10): 1−14.]

[8] PUNIA B S, SHARMA N, BHARDWAJ A, et al. Lactic acid bacteria: A bio-green preservative against mycotoxins for food safety and shelf-life extension[J]. Quality Assurance and Safety of Crops & Foods, 2022, 14(2): 13−31.

[9] JI Cheng, FAN Yu, ZHAO Lihong. Review on biological degradation of mycotoxins[J]. Animal Nutrition, 2016, 2(3): 127−133.

[10] XIONG Dongwei, WEN Jun, LU Gen, et al. Isolation, purification, and characterization of a laccase-degrading aflatoxin B_1 from *Bacillus amyloliquefaciens* B10[J]. Toxins, 2022, 14(4): 250.

[11] ZHAO Chi, DONG Ling, ZHANG Fengju, et al. Screening and characterization of a salt-tolerant aflatoxin B_1-degrading strain isolated from Doubanjiang, a Chinese typical red pepper paste[J]. Food Science and Technology, 2022, 42: e122621.

[12] 张婉. 黄曲霉毒素 B_1 降解菌的筛选及降解机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2023. [ZHANG Wan. Screening of aflatoxin B_1-degrading bacteria and its degradation mechanism[D]. Changchun: Jilin University, 2023.]

[13] 陶越攀, 刘嘉欣, 周兴旺, 等. 降解黄曲霉毒素 B_1 菌株的筛选鉴定及降解条件优化[J]. 北京农学院学报, 2024, 39(2): 79−84. [TAO Yuepan, LIU Jiaxin, ZHOU Xingwang, et al. Screening and identification of aflatoxin B_1 degrading strains and optimization of degrading conditions[J]. Journal of Beijing University of Agriculture, 2024, 39(2): 79−84.]

[14] 熊东炜. 解淀粉芽孢杆菌中黄曲霉毒素降解酶的分离鉴定及降解特性研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2022. [XIONG Dongwei. Isolation, identification and degradation characteristics of aflatoxin degrading enzyme from *Bacillus amyloliquefaciens*[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2022.]

[15] WANG Lingling, WU Jun, LIU Zhiwen, et al. Aflatoxin B_1 degradation and detoxification by *Escherichia coli* CG1061 isolated from chicken cecum[J]. Frontiers in Pharmacology, 2019, 9: 1548.

[16] RAKSHA R K, VIPIN A V, HARIPRASAD P, et al. Biological detoxification of aflatoxin B_1 by *Bacillus licheniformis* CFR1[J]. Food Control, 2017, 71: 234−241.

[17] XU L, EISA A M F, SANGARE L, et al. Novel aflatoxin-degrading enzyme from *Bacillus shackletonii* L7[J]. Toxins, 2017, 9(1): 36.

[18] 刘亚妹, 丛丽娜, 陈明. 丁酸梭菌发酵培养基的优化及发酵产物对黄曲霉毒素 B_1 的降解[J]. 微生物学通报, 2023, 50(10): 4533−4543. [LIU Yamei, CONG Lina, CHEN Ming. Fermentation medium optimization of *Clostridium butyricum* and degradation of aflatoxin B_1 by fermentation products[J]. Microbiology China, 2023, 50(10): 4533−4543.]

[19] 汤力, 张开伟. 高温高压杀菌技术在无锡肉酿面筋保鲜中的应用[J]. 食品工业, 2013, 34(11): 102−105. [TANG Li, ZHANG Kaiwei. Application of high temperature and high pressure sterilization technology in preservation of Wuxi dried wheat gluten with pork stuffing[J]. The Food Industry, 2013, 34(11): 102−105.]

[20] 张乐. 具有降解真菌毒素乳酸菌的筛选、鉴定及其降解机理研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2020. [ZHANG Le. Screening, identification and degradation mechanism of lactic acid bacteria with degrading mycotoxins[D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2020.]

[21] 骆翼. 玉米赤霉烯酮的微生物脱毒研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2014. [LUO Yi. Study of detoxification of zearalenone by *Bacillus* spp.[D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2014.]

［22］ 徐国恒. 蛋白质的变性[J]. 生物学通报，2010，45(4)：23. ［XU Guoheng. Protein's transsexuality[J]. Bulletin of Biology, 2010, 45(4): 23.］

［23］ SHAO Shuai, CAI Jun, DU Xin, et al. Biotransformation and detoxification of aflatoxin B_1 by extracellular extract of *Cladosporium uredinicola*[J]. Food Science and Biotechnology, 2016, 25(6): 1789−1794.

［24］ 陈毅保. 黄曲霉毒素 B_1 降解菌的筛选及其脱毒机理研究[D]. 郑州：河南工业大学，2023. ［CHEN Yibao. Screening and detoxification mechanism of aflatoxin B_1 degrading bacteria[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2023.］

［25］ DENG Dun, TANG Jiahong, LIU Zhichang, et al. Functional characterization and whole-genome analysis of an aflatoxin-degrading *Rhodococcus pyridinivorans* strain[J]. Biology, 2022, 11(5): 774.

［26］ CHEN Guojun, FANG Qianan, LIAO Zhenlin, et al. Detoxification of aflatoxin B_1 by a potential probiotic *Bacillus amyloliquefaciens* WF2020[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 891091.

［27］ WU Jianwen, WANG Zhenlong, AN Wei, et al. *Bacillus subtilis* simultaneously detoxified aflatoxin B_1 and zearalenone[J]. Applied Sciences, 2024, 14(4): 1589.

［28］ WANG Cuiqiong, LI Zhongyuan, WANG Hui, et al. Rapid biodegradation of aflatoxin B_1 by metabolites of *Fusarium* sp. WCQ3361 with broad working temperature range and excellent thermostability[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2017, 97(4): 1342−1348.

［29］ SHU Xian, WANG Yuting, ZHOU Qing, 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): 330.

［30］ SUO Jianghua, LIANG Tingting, ZHANG Haixu, et al. Characteristics of aflatoxin B_1 degradation by *Stenotrophomonas acidaminiphila* and it's combination with black soldier fly larvae[J]. Life, 2023, 13(1): 234.

［31］ 石鸿辉. 解淀粉芽孢杆菌对玉米中黄曲霉毒素 B_1 的降解效果及其作用机制研究[D]. 杭州：浙江工商大学，2024. ［SHI Honghui. Study on degradation effect and mechanism of aflatoxin B_1 in corn by *Bacillus amyloliquefaciens*[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2024.］

［32］ CAI Mengyu, QIAN Yingying, CHEN Nan, et al. Detoxification of aflatoxin B_1 by *Stenotrophomonas* sp. CW117 and characterization the thermophilic degradation process[J]. Environmental Pollution, 2020, 261: 114178.

［33］ LI C C, LIU X D, WU J, et al. Research progress in toxicological effects and mechanism of aflatoxin B_1 toxin[J]. Peerj, 2022, 10: e13850.

［34］ 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.

［35］ MENDEZ-ALBORES A, NICOLAS-VA I, MIRANDA-RU R, et al. Mass spectrometry/mass spectrometry study on the degradation of B-aflatoxins in maize with aqueous citric acid[J]. American Journal of Agricultural and Biological Sciences, 2008, 3(2): 482−489.

［36］ 程思忠. 黄曲霉毒素 B_1 降解菌的筛选、鉴定及降解机制研究[D]. 郑州：河南工业大学，2023. ［CHENG Sizhong. Screening, identification and degradation mechanism of aflatoxin B_1 degrading bacteria[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2023.］

［37］ 许艳华. 铜绿假单胞菌降解 AFB_1 的产物鉴定、毒性评价及降解酶基因的克隆表达[D]. 郑州：河南工业大学，2023. ［XU Yanhua. Identification of AFB_1 degradation products, toxicity evaluation, and clonal expression of degradation enzymes gene from *Pseudomonas aeruginosa*[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2023.］

［38］ 王勇. 黄曲霉毒素 B_1 污染稻米的微波、吸附消减技术研究[D]. 无锡：江南大学，2014. ［WANG Yong. Study on microwave and adsorption technology: For aflatoxin B_1 reduction in rice[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2014.］