

弯曲乳酸杆菌 HB02 抑制黄曲霉生长及产毒

曹冬梅¹, 张洪英², 何成华¹, 景晟¹, 张海彬^{1*}

(1. 南京农业大学动物医学院, 江苏 南京 210095; 2. 南京市疾病预防控制中心, 江苏 南京 210003)

摘要: 用厌氧培养法对 1 株具霉菌抑制活性的弯曲乳酸杆菌 (HB02) 进行了培养, 用气相色谱和比色法测定了培养物中挥发性脂肪酸 (VFA) 及乳酸的含量, 并通过共培养法检测了该菌对黄曲霉生长和产毒的抑制效果。试验结果显示: 该菌在双层固体培养基上生长缓慢, 而在改良 MRS 液体培养基中生长较快。37 °C 培养 48 h 后培养液中乙酸 51.75 mmol · L⁻¹、丙酸 0.77 mmol · L⁻¹、丁酸 0.37 mmol · L⁻¹、乳酸 28.06 mmol · L⁻¹。乳酸试验表明, 培养基中添加的乳酸越多, 培养基 pH 值越低, 黄曲霉菌丝产量越低, 而黄曲霉毒素 B₁ 的产量则有增加的趋势, 表明乳酸所致低 pH 值只能抑制黄曲霉生长而不能抑制其产毒。当 HB02 与黄曲霉共培养时, 黄曲霉菌丝产量和黄曲霉毒素 B₁ 产量均比黄曲霉单独培养时低 ($P < 0.01$)。结论: HB02 可显著抑制黄曲霉生长及黄曲霉毒素 B₁ 的产生。

关键词: 弯曲乳酸杆菌 HB02 株; 黄曲霉; 黄曲霉毒素 B₁

中图分类号: Q949.327.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-2030 (2008) 03-0125-05

Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* by *Lactobacillus curvatus* HB02

CAO Dong-mei¹, ZHANG Hong-ying², HE Cheng-hua¹, JING Sheng¹, ZHANG Hai-bin^{1*}

(1. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2. Nanjing Center for Disease Control and Prevention, Nanjing 210003, China)

Abstract: *Lactobacillus curvatus* HB02, which could inhibit growth of fungi, was cultured on doubled-layered agar or in liquid anaerobic cultivation medium. The content of volatile fatty acid (VFA) or lactic acid in cultural medium was measured by gas chromatography or colorimeter. The inhibition of HB02 on growth and toxin generation of *Aspergillus flavus* was determined by co-culture of HB02 with the fungi. The results showed that HB02 grew faster in MRS liquid medium than in solid plate. And in the cultural medium, the content of acetic acid, propionic acid, butyric acid and lactic acid was 51.75 mmol · L⁻¹, 0.77 mmol · L⁻¹, 0.37 mmol · L⁻¹, and 28.06 mmol · L⁻¹, respectively. The further experiment showed that the more lactic acid was added in the medium, the lower the pH of medium was, and the lighter the mycelium was. While the production of aflatoxin B₁ increased with the decrease of pH, which implied that the low pH resulted from lactic acid in medium inhibited the growth of *Aspergillus flavus* but not the production of aflatoxin B₁. While the HB02 strain was co-cultured with *Aspergillus flavus*, the weight of the mycelium and the production of aflatoxin B₁ were both significantly lower than those of *Aspergillus flavus* cultured without HB02. The results implied that the mechanism of the inhibition on the growth of fungi and the production of toxin by HB02 strain resulted from many factors involving the low pH of medium, other metabolized production and interact between microorganism.

Key words: *Lactobacillus curvatus* HB02 strain; *Aspergillus flavus*; aflatoxin B₁

黄曲霉毒素 (aflatoxin) 是黄曲霉 (*Aspergillus flavus*) 与寄生曲霉 (*A. parasiticus*) 的二次代谢产物, 可分为黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂、M₁、M₂。黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁) 是危害最大、毒性最强的真菌毒素, 能引起肝坏死, 导致胚胎死亡、先天性缺陷、肿瘤, 抑制免疫系统, 从而降低生产效率^[1-3]。霉菌毒素的去毒方法有物理法、化学法和生物法。生物法由于效率高、不改变饲料适口性等优点而备受关注。随着对霉菌抑制剂及其毒素生物去毒剂的深入研究, 对具有霉菌抑制活性细菌的研究亦广泛开展^[4-6]。

笔者所在实验室分离到 1 株具霉菌抑制活性细菌——HB02, 经体内试验表明, 它可以降低镰刀菌

收稿日期: 2007-01-10

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30471277); 教育部博士点基金项目 (20040307043)

作者简介: 曹冬梅, 硕士研究生。* 通讯作者: 张海彬, 博士, 教授, 博导, 主要从事动物中毒病和真菌毒素研究,

E-mail: haibinz@njau.edu.cn.

及其毒素脱氧血腐镰刀菌烯醇 (DON) 对仔猪和育肥猪的毒性; 体外试验表明, HB02 可显著抑制黄曲霉和禾谷镰刀菌生长。经常规细菌学试验和分子生物学方法鉴定 HB02 为 1 株弯曲乳酸杆菌 (*Lactobacillus curvatus*)^[6-7]。

乳酸杆菌对黄曲霉是否有生长抑制作用, 对黄曲霉毒素的产生是否有抑制作用, 国内外报道较少^[8-10]。因此, 笔者就 HB02 对目前在饲料工业以及农业生产中污染最严重的真菌——黄曲霉的生长及产毒的抑制作用进行研究, 并探讨 HB02 对真菌产生抑制作用的可能机制。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试样品 HB02 由笔者所在实验室保存。产毒黄曲霉蟑螂 70-1 毒株 (简称黄曲霉) 由南京市疾病预防控制中心惠赠。

1.1.2 培养基 改良 MRS 培养基 (pH 6.8, 培养基再加入 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CaCO}_3$), 用于固体和液体厌氧培养及 HB02 与黄曲霉共培养试验; PYG 培养基^[7], 用于乳酸对黄曲霉生长及产毒的影响试验。

1.1.3 试剂和仪器 所用化学试剂均为分析纯。黄曲霉毒素 B₁ 标准品由江苏省动植物检验检疫局惠赠。日本岛津 GC-9A 型气相色谱仪、GR3A 型数据处理机和 UV-VIS 756MC 型分光光度计。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 首先, 对 HB02 的培养特性进行观察, 并通过对培养物的检测了解该菌产酸情况。在此基础上, 比较 2 种培养方法 (用乳酸调配的不同酸碱度的 PYG 培养基培养黄曲霉, 或在添加过量葡萄糖的改良 MRS 培养基中进行 HB02 和黄曲霉的共培养) 中黄曲霉的生长及产毒情况, 分析 HB02 对黄曲霉的生长及产毒的影响。

1.2.2 HB02 培养液的制备 将乳杆菌接种到 MRS 肉汤中 (pH 6.8), 37 °C 厌氧培养 24 h 后活菌计数, 将细菌数调整为 $1 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$, 待用。

1.2.3 双层琼脂培养法 在含有 1 mL 菌液的平皿中倾注约 10 mL 改良 MRS 培养基 (45 °C 左右), 充分混匀、凝固后再次倾注相同的培养基约 15 mL, 待凝固后即翻转平板于 37 °C 环境中培养^[11]。

1.2.4 液体厌氧培养法 将缓冲液及改良 MRS 培养基装入下端有开口的分装瓶中, 加入氧化还原指示剂刃天青, 通 CO₂ 6~8 h 以去氧。至培养液基本澄清时, 加入半胱氨酸盐酸盐, 分装于亨氏管中, 加盖异丁基塑胶塞, 并以铝盖密封后湿热灭菌 (121 °C, 15 min)。用无菌注射器进行接种培养。

1.2.5 HB02 在 MRS 液体培养基中厌氧培养的生长曲线测定 接种 HB02 于 MRS 液体培养基, 37 °C 静置培养 15~18 h 使菌种活化, 作为发酵种子备用。用无菌注射器将活化的菌种接入 MRS 液体培养基, 接种量 5% (体积分数)。混合均匀后, 用注射器取混合发酵液少量作为 0 h 的样品, 测定发酵液的 A₆₀₀ 值, 以未接种的培养基作为空白对照调零。在 37 °C 条件下厌氧发酵, 分别在 0、2、4、6、8、10、14、24、48 和 72 h 取样测定 A₆₀₀ 值, 都以未接种的培养基作为空白对照。以 A₆₀₀ 值作曲线来表示细菌的生长曲线^[12]。

1.2.6 HB02 培养物挥发性脂肪酸和乳酸含量测定 挥发性脂肪酸含量用气相色谱法测定^[13]。色谱条件: 载气为氮气, 流量 $30 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 助燃气为空气, 流量 $300 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 初始温度 100 °C, 终温度 200 °C, 程序升温为 $8 \text{ } ^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, 纸速 $3 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$, 电压 100 mV, 衰减为 11, 进样量 2 μL 。在测定每个样品后的降温过程中洗柱。乳酸含量测定参照张龙翔等^[14]的比色法。

1.2.7 霉菌孢子悬液的制备 接种黄曲霉于沙堡斜面, 28 °C 培养 10 d 后用接种针挑取斜面上的孢子于灭菌磷酸盐缓冲液 (含吐温 80 0.05%, 体积分数) 中, 然后将含有霉菌孢子的磷酸盐缓冲液通过纱布过滤以除去菌丝残体。将孢子量调整为 $1 \times 10^7 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$, 4 °C 保存待用。

1.2.8 乳酸对黄曲霉生长和产毒的影响 以 85% 乳酸将 PYG 培养基的初始 pH 值分别调整为 3.0、4.0 和 5.0, 取上述 3 种 pH 值及 pH 值为 6.8 的 PYG 培养基各 100 mL, 接种 1 mL 黄曲霉孢子悬液 ($1 \times 10^7 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$), 28 °C 静置培养 15 d。在培养的第 3、6、9、12 和 15 天测定培养液中的 pH 值、AFB₁^[12] 和黄曲霉菌丝的产量。以 pH 6.8 的 PYG 培养基作为对照组。

1.2.9 HB02 对黄曲霉生长和产毒的影响 将 1 mL HB02 培养液 ($1 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$) 和 1 mL 黄曲霉孢子悬液 ($1 \times 10^7 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$) 同时接种到 100 mL MRS 肉汤中 (含 1% 的葡萄糖), 或者先将 HB02 在 37 °C 厌氧培养 24 h, 然后再接种黄曲霉孢子悬液。将 1 mL 黄曲霉孢子悬液 ($1 \times 10^7 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$)

接种到 100 mL MRS 肉汤中作为对照。3 个组在 28 °C 培养 15 d, 在培养的第 3、6、9、12 和 15 天测定培养液中的 pH 值、AFB₁ 和黄曲霉菌丝产量。

1.2.10 黄曲霉菌丝产量的测定 首先用 Whatman No. 4 滤纸过滤培养液, 将菌丝放入平皿中, 90 °C 烘烤 24 h, 然后将菌丝放入干燥器中至恒重, 测定菌丝产量。

1.2.11 AFB₁ 产量的测定 采用薄层色谱法 (TLC)^[15]。样液中 AFB₁ 荧光强度与标准点最低检出量 (0.000 4 μg) 荧光强度一致时, 则样品中 AFB₁ 产量为 0.05 μg · mL⁻¹。若前者荧光强度大于后者, 则将样液稀释或减少点样量, 直到样液点荧光强度与最低检出量荧光强度一致为止。AFB₁ 产量 (Y) 按如下公式计算: $Y = 0.000\ 4 \times V_1 \times D / V_2 \cdot m$ 。其中: 0.000 4 为 AFB₁ 的最低检出量; m 为苯乙腈溶解时相当样品的体积; V_1 为加入苯乙腈混合液的体积; V_2 为出现最低荧光点时样液体积; D 为样液的稀释倍数。

1.3 数据统计分析

试验重复 3 次, 以菌丝和 AFB₁ 产量的平均值进行统计, 采用 SPSS10.0 中 LSD 法进行方差分析和差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 菌落形态

HB02 在双层培养基上生长缓慢, 菌落较小、圆形、淡乳白色、边缘整齐光滑, 直径 0.9 ~ 1.1 mm。

2.2 HB02 在 MRS 液体培养基中厌氧培养的生长特性

由图 1 可见, 在接种后 4 h 内, A_{600} 值变化较小, 但 4 h 后, A_{600} 值呈直线上升趋势, 进入对数生长期, 8 ~ 24 h A_{600} 值上升速度减慢, 48 h A_{600} 值出现下降, 即细菌逐渐停止生长。故后面的培养试验均在 24 h 取样。

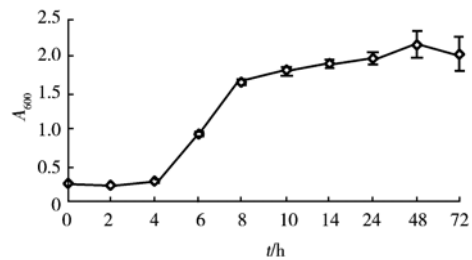


图 1 菌株 HB02 的生长曲线

Fig. 1 Growth curve of strain HB02

2.3 HB02 挥发性脂肪酸及乳酸浓度

HB02 在 MRS 液体培养基中厌氧培养 24 h 后, 提取物中含有乳酸以及种类丰富的挥发性脂肪酸。提取物中乙酸浓度最高, 达到 51.75 mmol · L⁻¹, 其次是乳酸 28.06 mmol · L⁻¹, 丙酸、丁酸只有 0.77 和 0.37 mmol · L⁻¹。

2.4 不同 pH 值对黄曲霉菌丝及黄曲霉毒素 B₁ 产量的影响

由图 2 可见, 随着 pH 值的降低, 黄曲霉菌丝产量呈下降趋势, 而 AFB₁ 的产量则呈上升趋势。统计学分析表明, 在培养的 3 ~ 15 d 中, 只有第 6 天添加乳酸培养的 pH 5.0、pH 4.0、pH 3.0 组黄曲霉菌丝产量比 pH 6.8 组的菌丝产量极显著降低 ($P < 0.01$)。而 pH 5.0、pH 4.0、pH 3.0 3 组在培养的第 6 ~ 15 天的 AFB₁ 产量均比对照组黄曲霉毒素 B₁ 的产量显著升高 ($P < 0.01$), 但 3 组之间无显著差异 ($P > 0.05$)。

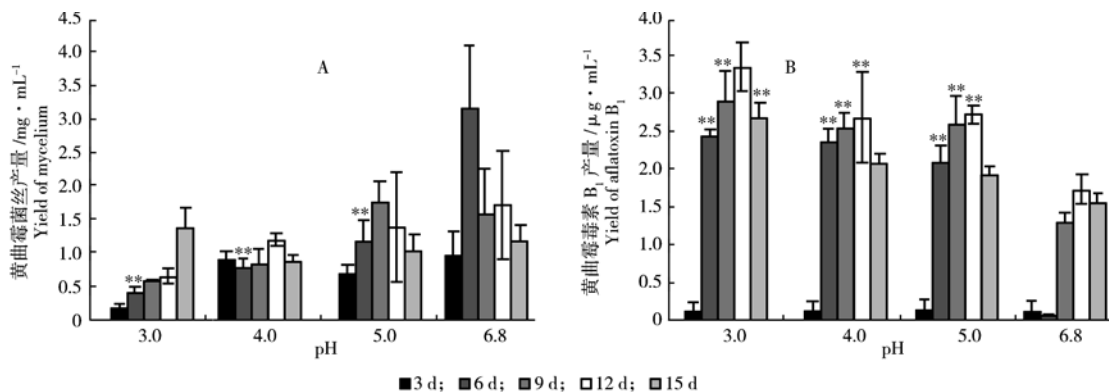


图 2 不同 pH 值对黄曲霉菌丝 (A) 及 AFB₁ (B) 产量的影响

Fig. 2 Effect of different initial pH on yield of mycelium (A) and aflatoxim B₁ (B)

** : 与对照组 (pH 6.8) 相比差异极显著 ($P < 0.01$)。*: Compared with control (pH 6.8) $P < 0.01$.

对总量数据进行分析发现, 培养 3 ~ 15 d, 黄曲霉菌丝的总产量只有在 pH 3.0 组与 pH 6.8 对照组之间有显著差异 ($P < 0.05$), 而 AFB₁ 的总产量在 4 组之间都无显著差异 ($P > 0.05$)。6 ~ 15 d 的黄曲霉菌丝的总产量在 4 组之间均无显著差异 ($P > 0.05$), 而 pH 5.0、pH 4.0、pH 3.0 组与 pH 6.8 对照组之间有显著差异 ($P < 0.05$ 、 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$)。

相关性分析结果表明 (表 1), 培养 3 ~ 12 d, pH 值与菌丝产量之间显示一定的正相关性, 即 pH 值在 3.0 ~ 6.5 之间时, 随着 pH 值的降低, 菌丝产量减少; 培养 3 ~ 15 d, pH 值与 AFB₁ 产量之间显示一定的负相关性, 即 pH 值在 3.0 ~ 6.5 之间时, 随着 pH 值的降低, AFB₁ 产量反而增多。各组在 6 ~ 12 d 中菌丝和黄曲霉毒素 B₁ 产量间呈负相关, 即菌丝产量高的反而产毒少。

表 1 pH 值、黄曲霉菌丝产量及黄曲霉毒素 B₁ 产量之间的相关系数 (R^2)

Table 1 Ratio of co-relationship among different initial pH, yield of mycelium and aflatoxin B₁

培养时间/d Culture time	pH 值和菌丝产量 Between pH value and yield of mycelium	pH 值和 AFB ₁ 产量 Between pH value and yield of aflatoxin B ₁	菌丝产量和 AFB ₁ 产量 Between yield of mycelium and aflatoxin B ₁
3	0.551 *	0.229	0.351
6	0.814	0.904	0.979
9	0.879	0.623	0.289
12	0.739	0.589	0.888
15	0.012	0.689	0.232

Note: * $P < 0.05$.

2.5 HB02 对黄曲霉生长与产毒的影响

由表 2 可见, 与只接种黄曲霉孢子的对照组相比, HB02 与黄曲霉孢子共培养的 2 组菌丝产量均极显著减少 ($P < 0.01$), 且均未检出 AFB₁, 而对照组的 AFB₁ 产量非常高, 并且在培养的第 6 ~ 9 天达到了高峰。共培养的 2 组也有差别, HB02 与黄曲霉孢子的 pH 值和菌丝产量均比先接种 HB02 的高。比较 3 组接种后 12 d 或 15 d 的菌丝产量, 发现 pH 和菌丝产量有相关性, 相关系数分别为 0.799 (12 d) 和 0.784 (15 d), 即随着 pH 值的降低, 菌丝产量减少。

3 讨论

美国 FDA (食品与药物管理局) 和 AAFCO (美国饲料管理官员协会) 在 1989 年公布的安全微生物品种共 43 种, 其中乳酸杆菌占 12 种, 中华人民共和国农业部 1999 年公布允许使用的 12 种饲用微生物中有 3 种是乳酸杆菌。在美国, 益生菌工业上应用的产品 57% 含有乳酸杆菌属^[16]。使用乳酸杆菌益生菌可以调整胃肠道微生态平衡^[17]。已有的关于乳酸杆菌的报道绝大部分集中在微生态制剂方面^[18]。从家禽肠道分离的乳酸杆菌对大肠埃希菌 O78 有抑制、杀死等拮抗作用^[19]。保加利亚乳杆菌对金黄色葡萄球菌有明显的生长抑制作用^[20]。而笔者所在实验室分离的这株弯曲乳酸杆菌 HB02 能抑制真菌生长。

研究发现该菌在改良 MRS 液体培养基中厌氧培养生长较快, 而且产乳酸能力较强, 厌氧培养 48 h 后乳酸浓度高达 28.06 mmol · L⁻¹。乳酸很可能是抑制霉菌生长的主要原因^[9]。因此, 我们用乳酸来调

表 2 弯曲乳酸杆菌 HB02 对黄曲霉生长与产毒的影响

Table 2 Growth of *Aspergillus flavus* and AFB₁ production in the present of *Lactobacillus curvatus* HB02

组别 Groups	培养时间/d Culture time	pH 值 pH value	菌丝产量/mg · mL ⁻¹ Yield of mycelium	AFB ₁ 产量/μg · mL ⁻¹ Yield of aflatoxin B ₁
1	3	3.5	—	—
	6	3.5	—	—
	9	3.5	—	—
	12	3.5	0.023 ± 0.010 **	—
	15	3.5	0.029 ± 0.008 **	—
2	3	5.0	—	—
	6	5.0	—	—
	9	5.0	0.019 ± 0.002 **	—
	12	5.0	0.048 ± 0.012 **	—
	15	5.0	0.166 ± 0.023 **	—
3	3	6.5	1.638 ± 0.430	0.80 ± 0.14
	6	6.8	0.940 ± 0.210	2.10 ± 0.15
	9	6.8	1.151 ± 0.300	2.22 ± 0.28
	12	7.0	0.861 ± 0.180	1.08 ± 0.10
	15	7.0	1.163 ± 0.260	1.12 ± 0.08

注: 1) 1. 弯曲乳酸杆菌 HB02 在 MRS 肉汤培养 24 h 后接种黄曲霉孢子 *L. curvatus* HB02 was seeded 24 h earlier than spores of *A. flavus*; 2. 弯曲乳酸杆菌 HB02 与黄曲霉孢子同时接种到 MRS 肉汤 *L. curvatus* HB02 and spores of *A. flavus* were seeded into MRS medium at the same time; 3. 仅黄曲霉孢子接种到 MRS 肉汤中 (对照组) Only spores of *A. flavus* were seeded (control).

2) **: 与对照组相比差异极显著。Compared to controls $P < 0.01$.

整培养基的酸碱度,发现在 pH 值 3.0~6.5 范围内黄曲霉的生长被抑制,且随着 pH 值的降低,黄曲霉菌丝产量减少;相反,AFB₁ 的产量则随着 pH 值的降低有增高的趋势,即单纯的乳酸造成的低 pH 值环境并不能有效地抑制黄曲霉产毒。于是,我们又将 HB02 与黄曲霉一起培养,发现与单独培养的霉菌相比,共培养的霉菌不但菌丝体产量减少,而且产毒量也大大降低。此结果提示:HB02 对黄曲霉及其产毒的抑制作用是乳酸造成的低 pH 值、其他代谢产物以及微生物间相互拮抗等多因素协同作用的结果^[8-10]。

因在共培养试验过程中加入了一定量的葡萄糖,以补充黄曲霉生长与产毒所需的糖类,所以试验组对黄曲霉生长抑制作用不是营养成分的耗竭或者说营养竞争的结果,而是乳酸菌的作用。在观察弯曲乳酸杆菌 HB02 对黄曲霉及其产毒的作用时,我们还发现黄曲霉也对乳酸杆菌的产酸也有影响,如 HB02 与黄曲霉孢子同时接种与先接种 HB02 后接种黄曲霉孢子相比,pH 升高,提示产酸减少。在观察乳酸对黄曲霉及其产毒作用时,为减少营养成分对产毒的影响,选用了成分简单的 PYG 培养基。培养基 pH 值在培养初期会降低,这是因为黄曲霉发酵培养基中的糖所致,随着代谢产物中氮量增加及菌丝的自溶,pH 值逐渐升高^[21]。由于菌丝的自溶,使得菌丝的干重并不完全随着培养时间的延长而增加,在培养的第 15 天菌丝的干重有所减少。AFB₁ 产量在培养的第 10~12 天达到高峰,随后出现下降,下降的原因可能是 AFB₁ 被菌丝自溶后释放的蛋白酶水解^[21]。

乳酸菌与黄曲霉之间关系复杂,本试验结果有助于人们理解乳酸菌抑制黄曲霉生长的可能机制,进而在实践中选用对黄曲霉生长有抑制作用的乳酸菌,以减少黄曲霉生长及黄曲霉毒素对人类的危害。

参考文献:

- [1] 张海彬,陆承平. 用改良高效液相色谱法测定饲料中酪青霉毒素 [J]. 南京农业大学学报, 2002, 25(4): 87-89
- [2] 张海彬,陆承平. 饲料中娄地青霉(*P. roqueforti*) 的检测 [J]. 畜牧与兽医, 2003, 35(1): 5-7
- [3] 李建科,张海彬. 畜产食品中有害物质残留分析及安全性评价 [J]. 畜牧与兽医, 2003, 35(2): 37-40
- [4] 蒋继志,赵雨坤,史娟,等. 几种真菌发酵液对致病疫霉的抑制作用 [J]. 微生物学通报, 2001, 28(2): 55-59
- [5] 龙建友,姬志勤,师宝君,等. 一株抗生素产生菌 No. 24 菌株发酵液抗菌谱及稳定性测定研究 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2004, 32(S1): 61-64
- [6] 张海彬,陆承平. 微生物去毒剂去除饲料中真菌毒素的猪体试验 [J]. 中国农业科学, 2002, 35(10): 115-118
- [7] 曹冬梅,何成华,景晟,等. 一株具霉菌抑制活性细菌的鉴定 [J]. 微生物学报, 2006, 46(3): 467-469
- [8] 徐进,王慧君,计融,等. 植物乳杆菌 ATCC8014 对寄生曲霉 NRRL2999 孢子形态及生长与产毒影响的研究 [J]. 卫生研究, 2003, 32(4): 334-338
- [9] Hassan G, Bullerman L B. Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* by *Lactobacillus* spp. [J]. J Food Prot, 1995, 58(11): 1249-1256
- [10] Pierides M, El-Nezami H, Peltonen K, et al. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind aflatoxin M₁ in a food model [J]. J Food Prot, 2000, 63(5): 645-650
- [11] 任锦玉. 微生态调节剂中益生菌的检测研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2002, 12(3): 259-261
- [12] 郝冬霞,刘本发,吴兆亮,等. 细胞生长测定方法与研究进展 [J]. 微生物学通报, 2001, 28(6): 82-85
- [13] 文姝,刘欣,袁杰利,等. 乳酸杆菌、双歧杆菌代谢产物的气相色谱分析 [J]. 中国微生态学杂志, 2004, 16(4): 221
- [14] 张龙翔,张庭芳,李令媛. 生化实验方法和技术 [M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 1997: 422-428
- [15] 王宏亮. 薄层层析法测定饲料中黄曲霉毒素 B₁ 方法的改进 [J]. 粮食与饲料工业, 1998(1): 40-42
- [16] 李玲. 世界饲料添加剂的进展 [J]. 饲料工业, 1995, 16(11): 5-9
- [17] Fuller R, Barrow P A, Brooker B E. Bacteria associated with the gastric epithelium of neonatal pigs [J]. Appl Environ Microbiol, 1978, 35: 582-591
- [18] 何明清,谢镜怀,朱玉兰,等. 病、健仔猪不同肠段菌群的研究 [J]. 畜牧兽医学报, 1986, 17(4): 276-283
- [19] 张辉华,曹永长,毕英佐,等. 乳酸杆菌体外对大肠埃希菌 O78 拮抗作用试验 [J]. 中国微生态学杂志, 2002, 14(6): 322-323
- [20] 王小红,谢笔钧,史贤明,等. 乳酸菌对金黄色葡萄球菌生物拮抗作用的初步研究 [J]. 食品工业科技, 2005(26): 68-70
- [21] Fan J J, Chen J H. Inhibition of aflatoxin-producing fungi by Welsh onion extracts [J]. J Food Prot, 1999, 62(4): 414-417