

唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌 酵米面亚种)的研究进展

Recent advances on *Burkholderia galdii* (*Pseudomonas cocovenenans* subsp. *Farinofermentans*)

汪廷彩 雷毅 周露 曾晓琮

WANG Ting-cai LEI Yi ZHOU Lu ZENG Xiao-cong

(广东省食品检验所, 广东 广州 510435)

(Guangdong Provincial Institute of Food Inspection, Guangzhou, Guangdong 510435, China)

摘要:文章对唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)命名历程、生物学特性、污染食品中毒作用机理、消毒和去毒及预防中毒措施等方面内容进行了综述,并展望了未来研究的方向。

关键词:椰毒假单胞菌酵米面亚种;唐菖蒲伯克霍尔德氏菌;命名历程;生物学特性;中毒机理;预防中毒

Abstract: In order to understand the subspecies systematically, the naming process, biological characteristics, mechanism of food poisoning, disinfection and detoxification of *Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farinofermentans* were reviewed, providing support for food safety supervision and emergency handling of food poisoning incidents. The research direction in the future is projected.

Keywords: *Pseudomonas cocovenenans* subsp. *Burkholderia galdii*; *Farinofermentans*; the naming process; biological characteristics; mechanism of food poisoning; prevention of poisoning

唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)是 1977 年中国学者在东北酵米面中毒事件中发现的食物中毒菌^[1]。该菌可产生毒黄素(Toxoflavin, TF)和米酵菌酸(Bongkrekic acid, BA),能引起高致死性的食物中毒,研究^[2]报道,发病率可高达 96%,病死率可高达 68%~89%,在个别中毒事件中死亡率甚至达 100%,是迄今为止中国发现的发病率和死亡率极高的食源性致病菌。

随着社会经济和经济发展,由该菌引起的食物中毒事件在中国已很少发生,但近年来,在中国部分保持传统饮食习惯的地区又频频出现。2012 年云南省红河州发生过玉米面汤圆引起的聚集性的食物中毒事件,中毒 9 人,死亡 5 人^[3];2014 年云南省文山州发生一起吊浆粿食物中毒事件,导致 20 人中毒,6 人死亡^[4];2018 年 7 月 29 日浙江金华发生因进食浸泡 2 d 的黑木耳食物中毒事件,3 人中毒,1 人死亡^[5];2018 年 10 月广东省河源市东源县半江镇一家庭食用因变质河粉导致米酵菌酸中毒,4 人中毒,2 人死亡^[6];2018 年 11 月广东省东莞市发生米粉米酵菌酸中毒事件,5 人急性肝衰竭,其中 3 例死亡^[7];2020 年 7 月 28 日广东省揭阳市惠来县 11 人在一家肠粉店吃完粿条不久,先后出现呕吐、腹泻等疑似食物中毒症状,其中 1 人不幸死亡,4 人送医治疗^[8];2020 年 10 月 5 日,黑龙江省鸡西市鸡东县发生酸汤子食物中毒事件,9 人中毒,最终 9 人死亡^[9]。据国家卫生健康委员会^[9]发布的消息,2010 年至今,中国已发生此类中毒 14 起,84 人中毒,37 人死亡。由此可见,全面了解该菌的生物学特性及中毒机理对于预防食物中毒极其迫切与重要,然而近几年相关综合性的介绍较少见报道。因此,文章拟综述该菌的命名历程、生物学特性、污染食品中毒作用机理、消毒和去毒研究及预防中毒措施等相关内容,以期全面了解唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种),为食物中毒事件应急处置及食品安全监管提供支持。

1 命名历程

1960 年印度尼西亚从发酵食物 Tempe bongkrek 中毒样品中分离并命名一种食物中毒菌,叫椰毒假单胞菌。Bongkrek 是印度尼西亚爪哇岛中部的一种风味食品,采

基金项目:国家重点研发计划(编号:2019YFC1606305)

作者简介:汪廷彩,男,广东省食品检验所工程师,硕士。

通信作者:曾晓琮(1987—),男,广东省食品检验所工程师,硕士。

E-mail: 13920741@qq.com

收稿日期:2021-01-17

用米根霉(*Rhizopus oryzae*)作曲种发酵椰子制成,发酵过程曾出现产毒细菌污染引起食物中毒,称为“Bongkrekk中毒”^[10]。Vanveen等^[11]于1934年首先从Bongkrekk中毒样品中分离出病原菌,称之为“Bongkrekk Bacterium”,并初步鉴定出该病原菌产生的两种毒素:Toxoflavin和Bongkrekkic acid,即毒黄素和米酵菌酸。该病原菌在20世纪60年代被命名为“*Pseudomonas cocovenenans*”(椰毒假单胞菌)。据不完全统计^[12],1951—1960年印尼爪哇岛地区发生椰毒假单胞菌污染发酵椰子食品导致的中毒死亡人数达1 000人。

中国由椰毒假单胞菌导致的食物中毒最先报道于酵米面食物中毒事件中。酵米面是中国东北地区农村调剂膳食的一种食品,略带酸味,又称臭米面,利用酵米面,可做饺子、面条等食品^[13]。酵米面的制作工艺流程包括先将粗粮(主要是玉米)加水浸泡1~30 d发酵、用水洗磨浆、再经纱布过滤及沉淀、最后去水晾干成白色玉米面粉^[13]。酵米面中毒事件在中华人民共和国成立前曾发生过,但缺乏相关资料。1953年黑龙江省首次报道了因食用酵米面食品而引起的食物中毒事件,1956年和1959年辽宁省和吉林省相继报道酵米面食物中毒事件^[14]。

1961年辽宁省卫生防疫站金家香^[15]对来自辽宁省建平县食物中毒的样品进行了病原菌研究,从中首次分离出一种“黄色菌”,且动物毒理试验发现该“黄色菌”可导致试验动物死亡,证明“黄色菌”是酵米面中毒致病的重要因素。据不完全统计^[14],中国东北三省1975年发生226起酵米面中毒事件,导致1 842人中毒,其中703人死亡,当时并未能明确中毒原因,为此中国酵米面中毒病因研究协作组专家开展了大量研究,并于1979年将发现新的食物中毒菌暂定名为酵米面黄杆菌(*Flavobacterium farinofermentans* nov sp.)^[13]。刘秀梅等^[16]于1984年报告了同样由该产毒菌引起的变质银耳食物中毒事件,导致105人致病,8人死亡。

从20世纪70年代开始,中国学者对椰毒假单胞菌及酵米面黄杆菌进行了深入的研究,涉及生化鉴定^[1]、检测方法、米酵菌酸结构的鉴定、菌体抗原结构^[17-18]、产毒机制^[19]等方面。孟昭赫等^[1]对酵米面黄杆菌、椰毒假单胞菌及其他相近菌种在形态特点、生理生化、血清学、分子杂交、培养特征、产毒试验等方面进行了研究,发现绝大部分的试验结果一致,仅在侧金盏花醇实验室上不同,酵米面黄杆菌可分解侧金盏花醇,椰毒假单胞菌不能分解。基于与国际细菌学命名原则保持一致,又反映该菌在中国的生态分布特征的考虑,1987年酵米面黄杆菌被易名为椰毒假单胞菌酵米面亚种(*Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farinofermentans*),简

称椰毒假单胞菌^[20]。

随着分子生物学技术的发展,该菌的系统学分类被重新定位。Monique等^[21]通过开展椰毒假单胞菌rRNA研究,将该菌命名为椰毒伯克霍尔德菌(*Burkholderia cocovenenans*),划归为伯克霍尔德菌属,同年Zhao等^[22]通过16S rRNA序列分析也建议划归为伯克霍尔德菌属。Coenye等^[23]通过DNA-DNA杂交和全细胞蛋白分析技术证明椰毒伯克霍尔德氏菌应归类于唐菖蒲伯克霍尔德菌(*Burkholderia gladioli*)。唐菖蒲伯克霍尔德菌是伯克霍尔德菌属中的一个种,研究^[24]显示唐菖蒲伯克霍尔德菌在自然界广泛分布,在土壤、水体和多种动物等生态位生存,常与真菌和植物共生,种内具有复杂多样性,包含3个不同的致病型,分别是唐菖蒲伯克霍尔德菌唐菖蒲致病变种(*B. gladioli* pv *gladioli*,导致树叶等腐烂的病原菌)、唐菖蒲伯克霍尔德菌洋葱致病变种(*B. gladioli* pv *alliicola*,导致洋葱腐烂的植物病原菌)、唐菖蒲伯克霍尔德菌蘑菇致病变种(*B. gladioli* pv *agaricola*,导致蘑菇腐烂的病原菌)^[25]。

邱茂锋^[26]对椰毒假单胞菌酵米面亚种及*B. cocovenenans*和*B. gladioli*进行了rDNA指纹图对比研究,研究结果显示比起*B. cocovenenans*,椰毒假单胞菌的亲缘关系更接近于*B. gladioli*。Jiao等^[25]对椰毒假单胞菌酵米面亚种与*B. gladioli*进行了DNA-DNA杂交研究,结果显示杂交相似度为81%~93%,16S rDNA序列分析椰毒假单胞菌酵米面亚种与*B. cocovenenans*和*B. gladioli*的相似度高达99.3%,并因此建议将该菌划为唐菖蒲伯克霍尔德菌的第4个病原型,即唐菖蒲伯克霍尔德菌椰毒致病变种,又称椰毒唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(*B. gladioli* pv *cocovenenans*)。

Nadine等^[27]于2012年对印尼食物中毒事件中的*B. gladioli*分离株开展了全基因组测序分析研究,并将在德国菌种保藏中心保藏的分离自印尼有毒椰子发酵食品的*B. cocovenenans* DSM11318标准株更名为*B. gladioli*^[28]。

目前,该菌在食品微生物学检验国家标准——GB 4789.29—2020被命名为:唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)[*Burkholderia gladioli* (*Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farinofermentans*)]。该标准于2020年9月11日发布,2021年3月11日实施。

2 生物学特性

2.1 形态学

唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)为革兰氏阴性需氧无芽孢短杆菌,两端钝圆,多形态,大小为0.4 μm×1.0~2.5 μm,有动力,有鞭毛呈极生、亚极

生及侧生鞭毛^[13]。使用电子显微镜,可观察到细胞壁、板样和管状结构。使用透射电镜,可观察到有异染颗粒、板层状内膜结构、脂质颗粒等特殊结构。其中板层状内膜系统仅见于如甲烷氧化菌、硝化细菌等少数菌属,其功能与光合作用及氧化磷酸化过程相关,而该菌的板层状内膜结构功能尚不清楚^[29]。

表 1 唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)培养特征^{[31-32]†}

Table 1 Culture characteristics of *Burkholderia galdii* (*Pseudomonas cocovenenans* subsp. *farinofermentans*)

培养基	培养 24 h	培养 48 h
PDA 平板	菌落 1~2 mm,灰白或乳白色,湿润、光滑、边缘整齐	中心有凸起,呈草帽状,菌落周围可见有黄绿色素扩散到基质中
SS 平板	不生长	/
卵黄琼脂平板	菌落 2~3 mm,表面光滑、湿润	菌落周围形成乳白色浑浊环,在斜射日光下可见环的表面呈虹彩现象
mPDA 平板	菌落 1~2 mm,紫色,光滑、湿润、边缘整齐	部分菌落中心可有草帽状凸起
PCFA 平板	菌落 0.5~1.0 mm,灰白色,光滑、湿润、边缘整齐	/

† “/”表示标准未要求培养 48 h。

该菌在培养过程中可由于温度、培养基、菌种保存时间等因素产生不同颜色的色素,不同色素的毒素毒性有所不同,一般可区分为毒性较强的淡黄色(柠檬色)、其次为黄绿色、毒性较弱的棕黄色^[30]。

该菌代谢多样性丰富,对碳源要求不高,在有任一可利用的有机化合物存在下即可生长繁殖,在适宜的温度和湿度条件下,短时间内可产生大量毒素,人类食用受污染的食品后极易出现食物中毒^[33]。

该菌具有很强的耐药性和顽强的生长能力,在同一培养过程中,不同浓度的抗菌素作用下,该菌的生长良好,而其他细菌及部分霉菌的生长均会受到抑制^[34]。该菌在生长过程可形成生物膜,定植于基质表面。在食品基质表面形成生物膜将对有效防控和清除该菌的污染造成困难^[35]。

2.3 生化性状

根据 GB/T 4789.29—2003,椰毒假单胞菌酵米面亚种生化性状见表 2。与 GB/T 4789.29—2003 相比较,GB 4789.29—2020 在生化特征内容方面删除了 37℃ 生长、5℃ 不生长、41℃ 不生长 3 个反应,增加了两个阴性反应:蔗糖、苯丙氨酸脱羧酶。

2.4 检测诊断方法

目前,对该菌污染食物引起中毒进行诊断和检验的标准主要有 GB 14928—1994《食物中毒诊断标准与处理总则》、WS/T 12—1996《椰毒假单胞菌酵米面亚种食物中毒诊断标准及处理原则》、GB 4789.29—2020《食品安全国家标准 食品微生物学检验 唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)检验》。

2.2 培养特性

该菌适宜生长温度为 26~37℃^[30]。该菌在马铃薯葡萄糖琼脂 PDA 平板、沙门氏菌—志贺氏菌琼脂 SS 平板、卵黄琼脂平板、改良马铃薯葡萄糖琼脂 mPDA 平板、椰毒假单胞菌酵米面亚种分离平板(有称银耳卵黄霉素琼脂)PCFA 平板上的培养特征见表 1。

表 2 唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)生化性状

Table 2 Biochemical characteristics of *Burkholderia galdii* (*Pseudomonas cocovenenans* subsp. *Farinofermentans*)

阳性	阴性
动力、甘露醇、卵磷脂酶、O/F 试验、肌醇、侧金盏花醇、葡萄糖、卫茅醇、柠檬酸盐利用、果糖、硝酸盐还原、精氨酸、木糖、尿素、石蕊牛乳、半乳糖、明胶液化、37℃ 生长、阿拉伯糖	氧化酶、脲基质、V-P、MR、H ₂ S 产生、5℃ 不生长、41℃ 不生长

此外,有采用 ELISA 检测技术^[36]、环介导等温扩增技术^[37]、MALDI-TOF-MS 及 recA 序列分析法^[38]、实时荧光 PCR 检测技术^[39]对该菌进行检测研究。相较于检验耗时需 10 d 左右的国标微生物培养法,分子生物学方法可应用于该菌的快速检测,有助于快速进行中毒诊断。

3 污染食品中毒作用机理

3.1 产毒特点

该菌具有特殊的产毒代谢过程,引起细菌性食物中毒的外毒素大多为多肽或蛋白质,而该菌产生的外毒素为米酵菌酸和毒黄素两种脂肪酸类的小分子物质,这是不同于其他细菌的明显特点。在相同条件下,米酵菌酸产生量远大于毒黄素,且米酵菌酸毒性比毒黄素强^[40],米酵菌酸是导致酵米面等食物中毒的主要原因^[41]。

该菌引起的食物中毒具有地域性特点,主要发生在

中国及东南亚地区,在西方国家地区未见报道。2015 年 1 月非洲莫桑比克报道了一起由该菌引起的食物中毒事件,导致 75 人死亡,230 人住院,病原菌来自非洲粟酒的原料玉米粉^[42]。

该菌引起的食物中毒具有明显的季节性,主要发生在夏秋季。一方面,夏秋季节温度湿度条件适合微生物生长繁殖;另一方面,酵米面、吊浆粬制作过程需要长时间发酵或浸泡,若贮存不当,则容易受到该菌的污染,更容易腐败变质导致食物中毒。

该菌引起的食物中毒大部分与某些地方特色食品有关,在中国南方多以糯米、酵米面、米泡制成的吊浆粬、汤圆、河粉等食品为主,北方以酵米面制作的格格豆、酸汤子、臭碴子等为主,这些食品的制作往往需要经过长时间发酵或浸泡,极易受到该菌的污染。刘秀梅^[43]分析了 1985—1994 年该菌中毒食品三大种类:谷物制品(糯玉米汤圆粉、玉米淀粉、发酵玉米面、凉醋粉等)、薯类制品(山芋淀粉、甘薯淀粉、马铃薯粉条等)、变质银耳。陈荣桥等^[44]在进口碎米中检出该菌,提示进口碎米存在该菌污染的安全风险。

3.2 产毒影响因素

该菌的产毒能力受多方面因素影响。孟昭赫等^[19]采用正交设计试验,研究了在不同的 pH 值、培养时间、培养温度、菌株、培养基条件下该菌的产毒能力情况,发现影响产毒能力的影响程度由大到小依次为:菌株、培养基、温度、pH 值、培养时间,且最适产毒温度为 26~28 °C,最适产毒 pH 为 6.5~8.0。在 GB/T 4789.29—2003 及 GB 4789.29—2020 中产毒培养条件规定为(26±1) °C,培养 5 d。

陈卫真等^[45]及王夏等^[46]的研究发现该菌产毒能力与内膜系统及菌体脂肪酸组成相关,内膜系统影响氧化磷酸化作用。研究^[46]发现,Co33 菌株膜系统发达,脂肪颗粒较少,氧化作用强,对毒素分解较快,表现为弱产毒株。Co14 菌株脂肪颗粒较多,膜系统不发达,氧化作用较弱,对毒素分解较弱,因此毒素聚集,产毒量高,表现为强产毒株。

Rafael 等^[47]研究表明油脂的种类和浓度对米酵菌酸的产生很重要,低于 10% (质量分数)的椰子油没有引起米酵菌酸的产生,即使 *B. cocovenenans* 菌生长到很高的浓度,40% 和 50% 的椰子油可产生多达 1.4 mg/g 米酵菌酸,在 3 种饱和脂肪酸中,只有月桂酸(12:0)、肉豆蔻酸(14:0)、棕榈酸(16:0)刺激产生了米酵菌酸,当用 4 种碳 18 自由脂肪酸在不同饱和浓度下比较时,只有油酸(18:1)刺激引起了大量的米酵菌酸产生(2.62 mg/g 干重)。

王静等^[48]研究了葡萄糖、甘油、可溶性淀粉、蔗糖对

该菌产毒性能的影响,结果葡萄糖和甘油可大幅度提高产毒能力,且质量分数 3% 的葡萄糖增强效果优于质量分数 5% 的,而可溶性淀粉、蔗糖对产毒性能影响不显著,推测是蔗糖和淀粉不能被分解利用的原因。证明了生长基质中适宜浓度的糖分对该菌产毒性能有重要影响。

Buklie 等^[49]研究了 pH 值和盐浓度对该菌产毒性能的影响,结果在椰子培养基(CCM)中,当 pH 为 6.9 时,米酵菌酸的产量远高于黄毒素,pH 为 5.5 时,检测不到黄毒素,米酵菌酸产量下降,pH 为 4.5 时,检测不出米酵菌酸和黄毒素。在同一 pH 6.9 条件下,当 NaCl 质量分数为 1% 时,米酵菌酸、黄毒素产毒量均减少,当 NaCl 质量分数为 2% 时,检测不到黄毒素。在 NaCl 质量分数为 2% 条件下,当 pH 值为 4.5 或 5.0 时,均未检测到米酵菌酸、黄毒素。证明了酸化培养基和增加盐浓度可抑制该菌的产毒。

3.3 米酵菌酸特性与中毒作用机理

3.3.1 特性与检测方法 米酵菌酸是一种带有特殊分支结构的高度不饱和三羧基脂肪酸,结构式见图 1,分子式为 $C_{28}H_{38}O_7$,分子量为 486 g/mol,易溶于氯仿、甲醇、乙醚、石油醚等有机溶剂及碱性水溶液中。强耐热,120 °C 高温处理 1 h 仍不被破坏^[50],冷冻也无法破坏。对氧化剂和日光不稳定。无气味,无味道^[51],食用过程中往往不易察觉食品是否受到米酵菌酸的污染。

有学者^[52]发现米酵菌酸能够对霉菌、酵母及某些细菌产生强烈抑制作用,可作为一种抗菌素。Moebius 等^[53]认为米酵菌酸和盐酸多西环素、红霉素和许多抗生素一样,都属于聚酮,是由细菌、真菌、植物产生的二级代谢产物,用于提高存活率。

现行米酵菌酸测定国家标准为 GB 5009.189—2016 《食品安全国家标准 食品中米酵菌酸的测定》,该标准方法规定了银耳及其制品、酵米面及其制品等食品中的米酵菌酸测定方法,方法检出限为 0.005 μg/g,定量限为

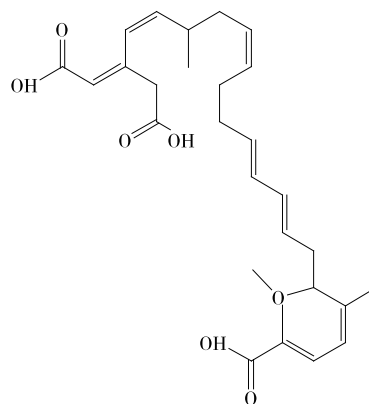


图 1 米酵菌酸结构式

Figure 1 Bongkreic acid structure

0.015 $\mu\text{g/g}$ 。2019 年 8 月国家卫生健康委发布《关于印发 2019 年度食品安全国家标准立项计划的通知(国卫办食品函[2019]671 号)》,食品中米酵菌酸的测定标准修订获得立项,牵头单位为广东省食品检验所。

目前,仅有 GB 7096—2014《食品安全国家标准 食用菌及其制品》规定银耳及其银耳制品中米酵菌酸的限量要求为 $\leq 0.25 \text{ mg/kg}$,对于其他食品中米酵菌酸的限量要求暂未查找到相关标准规范。

3.3.2 中毒症状 米酵菌酸在人体内主要经消化道黏膜吸收,随血液分布到全身,作用于肝、脑、肾等脏器^[54],发病潜伏期一般为 1~10 h^[55-56],少数达 1~2 d,主要症状表现为上腹部不适、腹泻、头痛、恶心、呕吐、全身无力,重症症状表现为昏迷、中枢神经麻痹,脑、肝、肾多器官功能衰竭,最终因呼吸衰竭而死亡^[3-7,50]。根据美国《食品毒理学手册》^[44],当米酵菌酸在人体血液中达 200~300 $\mu\text{g/L}$ 时,即可达到致死剂量。按体重 60 kg 的人血液总量约为 4 200~4 800 mL 计,人体致死剂量为 1.0~1.5 mg^[54]。人群中中毒事件研究结果反映,经口摄入含 16 mg 米酵菌酸的食物中毒临床表现较轻,经口摄入含 31 mg 米酵菌酸的食物可致死亡^[44]。根据过往中毒事件情况表明,米酵菌酸中毒至今尚无特效救治药物。

3.3.3 生物合成与中毒作用机理 Nadine 等^[57]对唐菖蒲伯克霍尔德氏菌椰毒致病变种菌 DSMZ 11318 株开展了基因组研究,菌株是从东南亚发酵椰肉食品中分离得到。研究发现了米酵菌酸的生物合成基因簇 *bonLJKF-GABCDHIM*,该基因簇编码 I 型聚酮合酶复合体,聚酮合酶复合体催化组装米酵菌酸的主骨架和 β -支链。彭子欣等^[58]在中国酵米面食物中毒株 Co14 基因组中也发现了 *bon* 基因簇,而在非产毒株的基因组中并未发现。推测是在进化过程中外来的米酵菌酸生物合成基因导致毒力发生分化,原非产毒菌株产生致病性。

Mehruha 等^[51]对米酵菌酸中毒作用机理研究表明,米酵菌酸对线粒体有独特的毒害作用机理,其抑制线粒体腺嘌呤核苷酸转运体(ANT)而非其他的电子传递链。当腺嘌呤核苷酸转运体构型受到米酵菌酸作用改变后,线粒体通透性转换孔(MPTP)开放性受到抑制,线粒体内膜上二磷酸腺苷与三磷酸腺苷(ATP)的交换受到阻碍,ATP 生成量减少,依赖 ATP 的生理机制停止工作,导致细胞无法正常获得能量而死亡。

另一方面,研究^[59-60]表明米酵菌酸会影响 ANT 构型及 MPTP 开放,可抑制细胞凋亡,在重要器官如大脑局部缺血时,具有一定保护机体的作用。米酵菌酸对抑制细胞凋亡和抗肿瘤的作用也受到关注。

3.4 毒黄素特性与中毒作用机理

3.4.1 特性与检测方法 毒黄素的分子式为 $\text{C}_7\text{H}_7\text{N}_5\text{O}_2$,结构式见图 2,分子质量是 193.21 g/mol,是一种水溶性黄色素,不溶于乙醚、二甲苯石油醚等,可溶于甲醇、乙醇、氯仿等有机溶剂,易在通气条件下产生^[61]。纯的毒黄素为亮黄色片状结晶,172~173 $^{\circ}\text{C}$ 分解,紫外线吸收峰在 256.7 nm 和 394.0 nm(ϵ 分别为 16 400,2 500)处^[62]。除了该菌外,荚壳伯克霍尔德氏菌、水稻细菌性谷枯病菌等菌种也可产生毒黄素^[63]。一方面,毒黄素可引起农作物患枯萎病^[64-65],另一方面,毒黄素有抑菌、杀菌、抗病毒、抗肿瘤性等潜在作用,利用毒黄素开发抗菌剂和抗肿瘤剂受到关注^[47,66]。

目前,定性或定量检测毒黄素的方法主要有薄层色谱法^[67-69]、分光光度法^[70-73]、高效液相色谱法^[74-76]、高效液相色谱质谱法^[74-76]、生物传感测定法等。

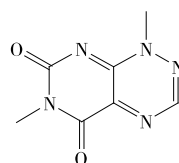


图 2 毒黄素结构式

Figure 2 Toxoflavin structure

3.4.2 中毒症状 研究显示毒黄素小鼠 LD_{50} 静脉注射为 1.7 mg/kg,口服为 8.4 mg/kg^[74,77]。毒黄素对动物造成病理学损害的器官主要有血管平滑肌^[78]、肾脏^[79]、心脏^[80]等,可引起胃腹部不适、肝肾损伤乃至中毒性休克等症状,损害人体呼吸系统和循环系统^[81-82]。

3.4.3 生物合成与中毒作用机理 如图 3 所示,产生毒黄素的基因可分为合成基因和转运基因,合成基因包括 *tox A*、*tox B*、*tox C*、*tox D*、*tox E*,转运基因包括 *tox F*、*tox G*、*tox H*、*tox I*^[83]。合成基因和转运基因的操纵子全部由 *TofI*-*TofR* 群体感应调节系统(QS)控制,该系统在毒黄素合成过程中起着重要作用^[66-67,84]。Kim 等^[85]在对水稻致病菌荚壳伯克霍尔德菌 BGR1 的研究中发现,TF 生物合成基因簇 *tox ABCDE* 的表达受到调控蛋白 ToxR 和 TF 的共同诱导而激活,*tox* 基因簇的表达也可能受到另一个由群体效应调控蛋白 ToxJ 的参与。Lee 等^[67]研究发现存在调节毒黄素产生的独立突变体 *TofM*,位于 *TofI* 和 *TofR* 之间。Suzuki 等^[86]在核黄素合成途径研究中推断出 5 个与毒黄素生物合成相关的酶促反应,菌株将在操纵子发生突变或产生 *tox A*-衍生物的情况下丧失产生毒黄素的能力^[64]。彭子欣等^[58]对唐菖蒲伯克霍尔德菌椰毒致病型菌株 Co14 基因组中毒黄素的生物合成相关基因进行了预测和分析,通过同源序列比

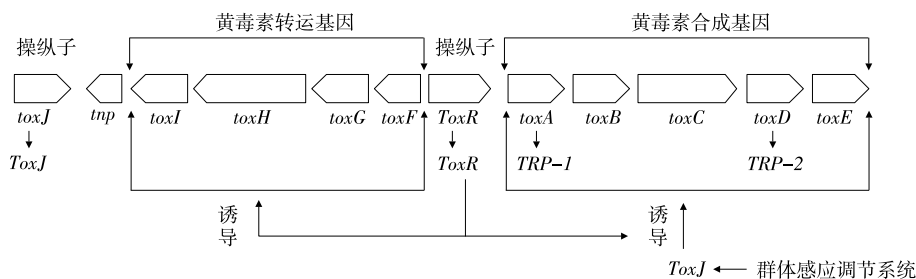


图3 基因组图

Figure 3 Gene composition map

对,在Co14染色体1上发现了TF的生物合成相关基因簇 *toxRABCDE*。

目前毒黄素的中毒机理主要认为是作用于细胞的呼吸链系统。任维栋等^[87-89]研究证明毒黄素对呼吸链电子传递体的旁路作用产生了高于正常代谢水平 H_2O_2 及对组织和血细胞自由基的影响等多种因素对人体造成中毒反应。孙凤祥等^[90]研究证明毒黄素的毒性作用主要发生在心脏,阻碍了心肌正常利用乳糖供应能量。此外,研究发现自由基损伤可能是毒黄素的重要机制之一^[91]。毒黄素中毒作用机理的研究也将有助于椰毒假单胞菌食物中毒事件的诊断与治疗。

4 消毒、去毒研究及预防中毒措施

近10余年来,唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)导致的食物中毒很少发生,对于该菌及毒素的消毒、去毒研究相对较少。可查找到的相关研究主要有:王夏等^[92-93]研究了次氯酸盐类(次氯酸钙、次氯酸钠)、氧化剂类(高锰酸钾、过氧乙酸、氢碘酸)及硫酸、乙酸、亚硫酸钠对米酵菌酸去毒的影响,研究发现次氯酸钙和过氧乙酸去毒效果较好,硫酸、次氯酸铜次之。还采用抑菌试验检测波长254 nm紫外线照射的去毒作用,结果发现未照射的阳性对照纸片(含毒素1 μg)形成直径30 mm的抑菌圈,照射60 min后不形成抑菌圈,证明短波照射具有去毒作用。

陈晓明等^[94]采用薄层层析法和动物试验研究了日晒法对鲜银耳中米酵菌酸的去毒效果,结果日晒2 d可去毒95%~97%,干银耳日晒2 d去毒57%~62%,日晒8 d后,去毒可达94%,推测由于日晒的作用,毒素分子结构被破坏,米酵菌酸转为了对线粒体亲和仅为1/2~1/4的异米酵菌酸,以致毒性不同程度地降低。俞世荣等^[95]研究了短波紫外和薰香灵的去毒效果,证实短波紫外照射具有明显的去毒作用,将采摘的银耳放置于紫外灯下照射30 min并及时烘干,基本上可去毒。1%薰香灵可在一定程度上降低该菌的产毒能力^[17]。

在预防中毒措施方面,2020年10月国家卫生健康委员会发布慎吃长时间发酵的酵米面类食品的提示^[9]:不

制作、不食用酸汤子等发酵米面食品;不食用浸泡过夜的黑木耳;购买新鲜的、生产日期近的食材;购买食物时尽量选择小包装,不囤积食物;选择低温干燥、通风的环境储存食物,避免阳光直射;发霉食品及时处理掉,绝不可冲洗或去除霉变部分后继续食用。如发生疑似中毒,应立即停止食用,尽快催吐,并及时送医院救治。

5 结语

唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)是一种发病率和致死率极高的食源性致病菌,中毒无特效救治药物,应引起高度重视。目前该菌相关的国家检验标准及检测技术不断完善,预防控制措施不断增强。然而,该菌导致的食物中毒也出现了一些新变化,在一些新类别的食品如碎米中也发现受到过该菌的污染,存在食品安全风险隐患。未来应进一步开展该菌在如大米、淀粉制品等食品类别中的污染规律、生长规律、产毒机理、生产控制措施、快速准确的检测鉴定技术等方面的研究,将对深入了解、预防、应对该菌食物中毒,对保障人们舌尖上的安全提供重要帮助。

参考文献

- [1] 孟昭赫, 苏翠华, 李兆普, 等. 酵米面黄杆菌与椰毒假单胞菌的对比研究[J]. 卫生研究, 1987(6): 17-22.
- [2] 李晓琨, 杨祖顺, 国译丹, 等. 椰毒假单胞菌酵米面亚种食物中毒的病原分离鉴定[J]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28(1): 36-39.
- [3] 刘志涛, 万蓉, 胡太芬, 等. 一起椰毒假单胞菌酵米面亚种引起的食物中毒调查分析[J]. 职业与健康, 2013, 29(5): 582-583.
- [4] 周帼萍, 梁泉, 黄庭轩, 等. 云南省文山州广南县吊浆粿食物中毒事件的病原学分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2017, 29(1): 71-75.
- [5] 申屠平平, 朱珈慧, 徐小民, 等. 一起椰毒假单胞菌酵米面亚种引起的食物中毒调查[J]. 上海预防医学, 2019, 31(6): 466-468, 478.
- [6] LI Jing-hua, ZHOU Lu, LONG Chao-yang, et al. An investigation of bongkrekeic acid poisoning caused by consumption of a nonfermented rice noodle product without noticeable signs of spoilage[J]. J Food Prot, 2019, 82(10): 1 650-1 654.

- [7] 王海燕, 宋曼丹, 王建, 等. 广东省首起米粉米酵菌酸中毒病原菌鉴定研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2019, 31(4): 394-398.
- [8] 惠来县人民政府新闻办公室. 广东惠来县 11 人食用河粉后出现疑似食物中毒症状: 已有 5 人送院, 其中 1 人经全力抢救、医治无效去世[EB/OL]. (2020-08-02) [2021-04-21]. <https://baijiahao.baidu.com/s? id= 1673922441258258801&wfr= spider&for= pc>.
- [9] 国家卫生健康委员会. 国家卫生健康委员会发布慎吃长时间发酵的酵米面食品的提示[EB/OL]. (2020-10-21) [2021-04-21]. <https://baijiahao.baidu.com/s? id= 1681135055922080392&wfr= spider&for= pc>.
- [10] 王夏, 孟昭赫, 胡文娟, 等. 米酵菌酸中毒国外研究进展[J]. 国外医学(卫生学分册), 1987(1): 1-4.
- [11] VANVEEN A G, MERTENS W K. Die giftstoffe der sogenannten bongkre- vergiftungen auf java [J]. Rec Trav Chim, 1934, 53: 257-266.
- [12] BUCKLE K, KARTADARMA E. Inhibition of bongkre acid and toxoflavin production in tempe bongkre containing pseudomonas cocovenenans[J]. Journal of Applied Microbiolog, 1990, 68(6): 571-576.
- [13] 孟昭赫. 酵米面(原称臭米面)中毒病因的研究报告: 发现一种新的食物中毒菌—酵米面黄杆菌(*Flavobacterium farinifermentans* nou.sp.)[J]. 卫生研究, 1981(2): 1-12.
- [14] 田凤丽, 马麦生, 钱震雯, 等. 椰酵伯菌毒素的研究进展[J]. 医学综述, 2007(23): 1 822-1 824.
- [15] 金家香. 发霉变质发酵米面食物中毒的病原学的初步报告[J]. 卫生防疫工作, 1963(41): 21-26.
- [16] 刘秀梅, 陈晓明, 胡文娟, 等. 变质银耳中毒的病因——实验室研究[J]. 卫生研究, 1985(4): 25-28.
- [17] 刘秀梅, 余东敏, 文卫华, 等. 米酵菌酸多克隆抗体的制备[J]. 卫生研究, 1995(2): 93-95.
- [18] 刘秀梅, 文卫华, 杨宝兰, 等. 用单克隆抗体验证椰毒假单胞菌酵米面亚种 O 抗原型的初步研究[J]. 中国食品卫生杂志, 1995(2): 21-23.
- [19] 孟昭赫, 王夏. 实验室中影响酵米面黄杆菌产毒因素的研究[J]. 中华预防医学杂志, 1987(2): 80-82.
- [20] 孟昭赫. 椰毒假单胞菌酵米面亚种食物中毒病原及预防的研究[Z]. 北京: 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 2002.
- [21] MONIQUE Gillis, TRAN Van Van, RENE Bardin, et al. Polyphasic taxonomy in the genus burkholderia leading to an emended description of the genus and proposition of *Burkholderia vietnamiensis* sp. nov. for N₂-fixing isolates from rice in vietnam[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1995, 45(2): 274-289.
- [22] ZHAO Nai-xin, QU Chun-feng, WANG En-tao, et al. Phylogenetic evidence for the transfer of *Pseudomonas cocovenenans* (van Damme et al. 1960) to the Genus *Burkholderia* as *Burkholderia cocovenenans* (van Damme et al. 1960) comb. nov. [J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1995 (6): 600-603.
- [23] COENYE T, HOLMES B, KERSFERS K, et al. *Burkholderia cocovenenans* (van Damme et al. 1960) gillis et al. 1995 and *Burkholderia vandii* urakami et al. 1994 are junior synonyms of *Burkholderia gladioli* (severini 1919) yahuuchi et al. 1993 and *Burkholderia plantarii* (azegami et al. 1987) urakami et al. 1994, respectively[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1999, 49: 37-42.
- [24] CHAIN P S G. Genomic versatility in the *Burkholderia* genus: From strains to species [D]. East Lansing: Michigan State University, 2011: 101-105.
- [25] JIAO Zhen-quan, YOSHIKI K, NORIKO M, et al. Need to differentiate lethal toxin-producing strains of *Burkholderia gladioli*, which cause severe food poisoning: Description of *B. gladioli* pathovar *Cocovenenans* and an emended description of *B. gladioli* [J]. Microbiol Immunol, 2003, 47(12): 915-925.
- [26] 邱茂峰. rDNA 指纹图谱分析方法在椰酵假单胞菌分类及流行病学中的应用研究[D]. 北京: 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 1998: 25.
- [27] NADINE M, CLAUDIA R, KIRSTIN S, et al. Biosynthesis of the respiratory toxin bongkreic acid in the pathogenic bacterium *Burkholderia gladioli* [J]. Chemistry and Biology, 2012, 19(9): 1 164-1 174.
- [28] German: German collection of microorganisms and cell cultures[EB/OL]. (2017-01-11) [2021-01-16]. https://www.dsmz.de/catalogues/details/culture/DSM-8361.html?tx_dsmzresources_pi5%5BreturnPid%5D=304.
- [29] 王静, 刘秀梅. 椰毒假单胞菌酵米面亚种及米酵菌酸的研究进展[J]. 中国食品卫生杂志, 1996(2): 43-46, 49.
- [30] 酵米面中毒病因研究协作组. 酵米面中毒病因的研究——发现一种新的食物中毒菌: 酵米面黄杆菌(*Flavobacterium farinifermentans* n.sp.)[J]. 中国医学科学院学报, 1980(2): 77-82, 147.
- [31] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. 食品卫生微生物学检验 椰毒假单胞菌酵米面亚种检验: GB/T 4789.29—2003[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会, 2003: 4-5.
- [32] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(椰毒假单胞菌酵米面亚种)检验: GB 4789.29—2020[S]. 北京: 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局, 2020: 4-5.
- [33] 沈莹, 刘军, 黄兆勇, 等. 1990—2006 年广西酵米面食物中毒流行病学分析[J]. 中国热带医学, 2007, 7(5): 814-815.
- [34] 刘秀梅, 杜春明, 王玉华, 等. 椰毒假单胞菌酵米面亚种在自然环境中的污染调查[J]. 中国公共卫生, 1991(4): 155-157.
- [35] IMATAKI O, KITA N, NAKAYAMA-IMAOHJI H, et al. Bronchiolitis and bacteraemia caused by *Burkholderia gladioli* in a non-lung transplantation patient [J]. Microbes Infect, 2014, 2(6):

- 175-176.
- [36] 刘秀梅, 文卫华, 余东敏, 等. ELISA 检测椰毒假单胞菌菌株抗原的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 1993(2): 73-75.
- [37] 马晓燕, 张蕴哲, 王羽, 等. 环介导等温扩增技术快速检测椰毒假单胞菌的研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(3): 321-324.
- [38] 赵梦馨, 周帼萍, 黄庭轩, 等. 唐菖蒲伯克霍尔德氏菌三种鉴定方法的比较[J]. 中国酿造, 2018, 37(11): 56-61.
- [39] 林捷, 方陈玉, 陆晶芳, 等. 食品中椰毒假单胞菌酵米面亚种实时荧光 PCR 检测的研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(11): 3 538-3 544.
- [40] LYNCH K H, DENNIS J J. Molecular detection of foodborne pathogens[M]. Boca Raton: CRC Press, 2009: 331-343.
- [41] 孟昭赫, 王夏. 实验室中影响酵米面黄杆菌产毒因素的研究[J]. 中华预防医学杂志, 1987(2): 80-82.
- [42] KHAN A, BHARTI P, SARAF I, et al. Two new aromatic glycosides from a soil bacterium *Burkholderia gladioli* OR1[J]. Nat Prod Commun, 2016, 11(5): 663-665.
- [43] 刘秀梅. 我国椰毒假单胞菌酵米面亚种食物中毒流行趋势浅析[J]. 中华预防医学杂志, 1996(6): 54-56.
- [44] 陈荣桥, 陈汉金, 胡均鹏, 等. 米和食用淀粉中椰毒假单胞菌酵米面亚种污染调查与风险分析[J]. 现代食品科技, 2021, 37(1): 260-267.
- [45] 陈卫真, 周方, 孟昭赫, 等. 椰毒假单胞菌毒素 k 米酵菌酸形成机理的探讨[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 1991, 11(3): 151-154.
- [46] 王夏, 孟昭赫. 酵米面黄杆菌产毒性能与菌株血清型的关系[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 1987, 7(1): 54-55.
- [47] RAFAEL A G, JOSEPH H H, KEITH H S. The effect of lipids on bongkrekic (Bongkrek) acid toxin production by *Burkholderia cocovenenans* in coconut media[J]. Food Additives and Contaminants, 1999, 16(2): 63-69.
- [48] 王静, 刘秀梅. 糖对椰毒假单胞菌产毒性能的影响研究[J]. 卫生研究, 1996(4): 46-48.
- [49] BUCKLE K A. Inhibition of bongkrek acid and toxoflavin production in tempe bongkrek containing *Pseudomonas cocovenenans*[J]. J Appl Bacteriol, 1990, 68: 571-576.
- [50] FALCONER T M, KERN S E, BRZEZINSKI J L, et al. Identification of the potent toxin bongkrekic acid in a traditional african beverage linked to a fatal outbreak [J]. Forensic Sci Int, 2016, 270: 5-11.
- [51] MEHRUBA A, AMELIA K, ALAINA R, et al. Bongkrekic acid: A review of a lesser-known mitochondrial toxin[J]. J Med Toxicol, 2017, 13(2): 173-179.
- [52] 王夏, 孟昭赫, 胡文娟, 等. 米酵菌酸中毒国外研究进展[J]. 国外医学(卫生学分册), 1987(1): 1-4.
- [53] MOEBIUS N, ROSS C, SCHERLACH K, et al. Biosynthesis of the respiratory toxin bongkrekic acid in the pathogenic bacterium *Burkholderia gladioli*[J]. Chem Biol, 2012, 19(9): 1 164-1 174.
- [54] DESHPANDE S S. Bongkrek toxins[M]// MARCEL Decker. Handbook of food toxicology. New York: Marcel Decker, 2002: 661-662.
- [55] COX J, KARTADARMA E, BUCKLE K A. *Burkholderia cocovenenans* [M]// HOCKING A D. Foodborne microorganisms of public health significance. 6th ed. Sydney: Australian Institute of Food Science & Technology, 1997: 521-530.
- [56] LYNCH K H, DENNIS J J. *Burkholderia* [M]// LIU Dong-you. Molecular detection of foodborne pathogens. Boca Raton: CRC Press, 2009: 331-343.
- [57] NADINE M, CLAUDIA R, KIRSTIN S, et al. Biosynthesis of the respiratory toxin bongkrekic acid in the pathogenic bacterium *Burkholderia gladioli*[J]. Chem Biol, 2012, 19(9): 1 164-1 174.
- [58] 彭子欣, 陈雪, 李孟寒, 等. 唐菖蒲伯克霍尔德菌椰毒致病型菌株 Co14 毒力相关基因解析[J]. 中国食品卫生杂志, 2018, 30(6): 558-562.
- [59] MALDONADO E N, DEHART D N, PATNAIK J, et al. ATP/ADP turnover and import of glycolytic ATP into mitochondria in cancer cells is independent of the adenine nucleotide translocator[J]. J Biol Chem, 2016, 291(37): 19 642-19 650.
- [60] MATSUMOTO K, SUYAMA M, FUJITA S, et al. Efficient total synthesis of bongkrekic acid and apoptosis inhibitory activity of its analogues[J]. Chem Eur J, 2015, 21(32): 11 590-11 602.
- [61] STERN K G. Oxidation-reduction potentials of toxoflavin[J]. Biochem J, 1935, 29: 500.
- [62] 田凤丽, 马麦生, 钱震雯, 等. 椰毒伯菌毒黄素的研究进展[J]. 医学综述, 2007(23): 1 822-1 824.
- [63] CHOI O, LEE Y, HAN I, et al. A simple and sensitive biosensor strain for detecting toxoflavin using β -galactosidase activity[J]. Biosens Bioelectron, 2013, 50: 256-261.
- [64] 翁晨辉, 李红艳, 陈小珍, 等. 毒黄素的合成、分离及其检测技术研究进展[J]. 生命科学, 2017, 29(4): 393-399.
- [65] AMINOV R I. The role of antibiotics and antibiotic resistance in nature[J]. Environ Microbiol, 2009, 11: 2 970-2 988.
- [66] KIM Jin-woo, KIM Jung-gun, KANG Yong-sung, et al. Quorum sensing and the LysR-type transcriptional activator ToxR regulate toxoflavin biosynthesis and transport in *Burkholderia glumae* [J]. Molecular Microbiology, 2004, 54(4): 921-934.
- [67] LEE J, PARK J, KIM S, et al. Differential regulation of toxoflavin production and its role in the enhanced virulence of *Burkholderia gladioli*[J]. Mol Plant Pathol, 2016, 17: 65-76.
- [68] JUNG W S, LEE J, KIM M I, et al. Structural and functional analysis of phytotoxin toxoflavin-degrading enzyme [J]. PLoS One, 2011, 6: 22443.
- [69] PARK J Y, LEE Y H, YANG K Y, et al. AiiA-mediated quorum quenching does not affect virulence or toxoflavin expression in *Burkholderia glumae* SL2376[J]. Lett Appl Microbiol, 2010, 51: 619-624.
- [70] DAVES Jr G D, ROBINS R K, CHENG C C. The total synthesis of toxoflavin[J]. J Am Chem Soc, 1961, 83: 3 904-3 905.

- [71] KIM J, KIM J G, KANG Y, et al. Quorum sensing and the LysR-type transcriptional activator ToxR regulate toxoflavin biosynthesis and transport in *Burkholderia glumae*[J]. Mol Microbiol, 2004, 54: 921-934.
- [72] 林黎明, 赵乃听. 萃取一分光光度法测定酵母假单胞菌的毒黄素[J]. 潍坊医学院学报, 1988(4): 28-30.
- [73] CHEN R, BARPAGHA I K, KARKI H S, et al. Dissection of quorum-sensing genes in *Burkholderia glumae* reveals non-canonical regulation and the new regulatory gene *tofM* for toxoflavin production[J]. PLoS One, 2012, 7: e52150.
- [74] ZHU De-wen, WU Zheng-yun, LUO Ai-min, et al. Characterization and detection of toxoflavin producing *Burkholderia* in rice straws and Daqu for Chinese Maotai-flavour liquor brewing[J]. J Inst Brewing, 2015, 121: 290-294.
- [75] BUCKLE K A, KARTADARMA E. Inhibition of bongkrek acid and toxoflavin production in tempe bongkrek containing *Pseudomonas cocovenenans*[J]. J Appl Bacteriol, 1990, 68: 571-576.
- [76] FENWICK M K, PHILMUS B, BEGLEY T P, et al. Toxoflavin lyase requires a novel 1-His-2-carboxylate facial triad[J]. Biochemistry, 2011, 50: 1 091-1 100.
- [77] JEONG Teonh-wa, KIM Jin-woo, KIM Suh-yun, et al. Toxoflavin produced by *Burkholderia glumae* causing rice grain rot is responsible for inducing bacterial wilt in many field crops[J]. Plant Disease, 2003, 87(8): 890-895.
- [78] WANG Zun-zhe, MA Mei-sheng, WANG Rui. Enhanced vasoconstriction of rat tail arteries by toxoflavin[J]. Br J Pharmacol, 1996, 117: 293-298.
- [79] 吴洪娟, 李锋杰, 张圣明. 毒黄素对小鼠肾脏毒性作用的超微病理观察[J]. 电子显微学报, 2012, 31(1): 51-55.
- [80] 岳启安, 赵淑梅, 张式暖, 等. 毒黄素对呼吸和循环系统的毒性研究[J]. 潍坊医学院学报, 1998(1): 3-5.
- [81] 马麦生, 田凤丽, 谭明, 等. 毒黄素中毒大鼠胃底平滑肌细胞超微结构观察[J]. 数理医药学杂志, 2009, 22(3): 280-282.
- [82] 赵怀龙, 付留杰, 唐功臣. 我国主要的食源性致病菌[J]. 医学动物防制, 2012, 28(11): 1 212-1 216.
- [83] ZHANG Hong-bo, NING Xin, HANG Hang, et al. Total synthesis of thaxtomin A and its stereoisomers and findings of their biological activities[J]. Organ Lett, 2013, 15: 5 670-5 673.
- [84] SHINGU Y, YONEYAMA K. Essential regulator gene *toxR* for toxoflavin biosynthesis of *Burkholderia glumae*[J]. J Gen Plant Pathol, 2004, 70: 108-114.
- [85] KIM J, OH J, CHOI O, et al. Biochemical evidence for ToxR and ToxJ binding to the *tox* operons of *Burkholderia glumae* and mutational analysis of ToxR[J]. J Bacteriol, 2009, 191: 4 870-4 878.
- [86] SUZUKI F, SAWADA H, AZEGAMI K, et al. Molecular characterization of the *tox* operon involved in toxoflavin biosynthesis of *Burkholderia glumae*[J]. J Gen Plant Pathol, 2004, 70: 97-107.
- [87] 任维栋, 赵乃听, 苑永华, 等. 毒黄素对黄嘌呤氧化酶作用的影响[J]. 生物化学与生物物理进展, 1992(2): 119-122.
- [88] DIXON M, JACKSON D M, RICHARDS I M. The effects of sodium cromoglycate on lung irritant receptors and left ventricular cardiac receptors in the anaesthetized dog[J]. British Journal of Pharmacology, 1979, 67(4): 569-574.
- [89] 蒋立锐, 秦志杰, 黄焕生, 等. 黄毒素对酵母菌呼吸的影响[J]. 潍坊医学院学报, 1990, 12(3): 16-19.
- [90] 孙凤祥, 任维栋, 赵乃听, 等. 黄毒素对血清乳酸脱氢酶同工酶的影响[J]. 潍坊医学院学报, 1998, 20(1): 8-9.
- [91] 丛建波, 孙存普, 赵乃听, 等. 用电子自旋共振技术观察毒黄素对小鼠组织和人血细胞自由基生成的影响[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1995(4): 296-298.
- [92] 王夏, 孟昭赫. 适用于食品加工过程中椰酵假单胞菌消毒剂的选择[J]. 中国酿造, 1986(3): 29-30.
- [93] 王夏, 孟昭赫. 酵母面黄杆菌毒素 A 去毒方法的实验室研究[J]. 中国酿造, 1986(4): 28-30.
- [94] 陈晓明, 刘秀梅, 王玉华, 等. 用日晒法去除银耳中黄杆菌毒素 A 的试验报告[J]. 卫生研究, 1986(2): 34-36.
- [95] 俞世荣, 刘秀梅, 杜春明, 等. “安全银耳”生产的研究[J]. 卫生研究, 1993(2): 101-104.

(上接第 119 页)

- [7] 王静. 杏核机械开口的试验研究及有限元分析[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2014: 7-21.
- [8] 冯群. 澳洲坚果破壳工艺参数研究及破壳机设计[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2017: 9-23.
- [10] 刘军. 南疆杏核挤压破壳截面的探讨[J]. 新疆大学学报(自然科学版), 2005(4): 65-70.
- [11] 李士凤. 杏核脱壳机工作部件的试验研究[J]. 河北农业技术师范学院学报, 1990(2): 66-71, 76.
- [12] 史瑞杰, 戴飞, 赵武云, 等. 全喂入式胡麻脱粒机机架模态分析与结构优化[J]. 中国农机化学报, 2019, 40(7): 13-18.
- [13] 朱占江, 李忠新, 杨莉玲, 等. 挤压式杏核破壳机试验研究[J]. 食品与机械, 2016, 32(10): 77-80.
- [14] 曹荣娟. 6-XP 杏核破壳机主要零件的设计依据与计算方法[J]. 河北农业技术师范学院学报, 1997(1): 24-27.
- [15] 张凤奎, 李平, 张宏, 等. 棉田耕层残膜回收机的设计与机架模态分析[J]. 塔里木大学学报, 2019, 31(3): 63-69.
- [16] 肖雄, 郭升远, 郑贤, 等. 粉垄刀具减振仿真研究[J]. 农机化研究, 2021, 43(6): 26-30.
- [17] 蔡龙腾, 张克平, 孙步功, 等. 基于 ANSYS Workbench 的苜蓿压扁辊静力学及模态分析[J]. 农机化研究, 2021, 43(5): 28-34.
- [18] 新疆维吾尔自治区农机标准化技术委员会. 杏核破壳机作业质量: DB65/T 4303.8—2020[S]. 乌鲁木齐: 新疆维吾尔自治区质量技术监督局, 2020: 2-3.