

云南大叶种晒青毛茶提取物对产毒黄曲霉生长及产毒的影响

李浩, 谭英智, 陈柱涛, 区健发, 陈耀旭, 方祥
(华南农业大学食品学院, 广东广州 510642)

摘要: 普洱茶在发酵过程中, 微生物组成十分复杂, 尤其是黑曲霉等霉菌起到主要作用, 因此一些消费者担心普洱茶在发酵过程中受到黄曲霉毒素 (AFS) 的污染。本文通过测定菌落直径、孢子萌发及菌丝体干重等方法研究云南大叶种茶提取物对产毒黄曲霉 AS3.4408 生长的影响; 采用紫外荧光法和 HPLC 法研究云南大叶种茶提取物对产毒黄曲霉 AFS 生物合成的影响; 并将产毒黄曲霉 AS3.4408 接种到云南大叶种茶叶中, 检测茶叶中的 AFS 含量, 以求对普洱茶的安全性进行评估。研究表明, 云南大叶种茶提取物对产毒黄曲霉 AS3.4408 菌落的生长及产毒均具有显著的抑制作用, 且存在明显的剂量依赖关系; 将产毒黄曲霉 AS3.4408 接种到云南大叶种茶叶中, 菌株生长良好, 但茶叶基质经 HPLC 检测, 未检测到黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁ 和 G₂, 表明云南大叶种茶中的某种 (些) 成分对黄曲霉毒素的生物合成具有抑制作用。

关键词: 普洱茶; 黄曲霉; 黄曲霉毒素; 抑制; 生物合成

文章编号: 1673-9078(2015)11-101-106

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.11.017

Effect of Yunnan Large-Leaf *Camellia Sinensis* Extract on Growth and Aflatoxin Production of *Aspergillus flavus*

LI Hao, TAN Ying-zhi, CHEN Zhu-tao, OU Jian-fa, CHEN Yao-xu, FANG Xiang
(College of Food Science, South China Agriculture University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Various microbes are involved in the fermentation of pu-erh tea., among them *Aspergillus niger* plays a crucial role in this process. Therefore, some consumers worry about the contamination of pu-erh tea with aflatoxins (AFs). In this study, the effect of Yunnan large-leaf *Camellia sinensis* extract on the growth of *A. flavus* AS3.4408 was studied by measuring the colony diameter, spore germination, and mycelial dry weight. The effect of Yunnan large-leaf *Camellia sinensis* extract on the biosynthesis of AFs was studied using ultraviolet fluorescence analysis and HPLC. Tea containing Yunnan large-leaf *Camellia sinensis* extract was inoculated with *A. flavus* AS3.4408 and the AF content in the tea was measured in order to evaluate the safety of pu-erh tea. The results showed that the growth and AF production of *A. flavus* AS3.4408 were significantly inhibited by the Yunnan large-leaf *Camellia sinensis* extract in a dose-dependent manner. After *A. flavus* AS3.4408 was inoculated into the tea containing the Yunnan large-leaf *Camellia sinensis* extract, the strain grew well. However, the AF B₁, B₂, G₁ and G₂ were not detected by HPLC, indicating that AF biosynthesis was inhibited by some components of Yunnan large-leaf *Camellia sinensis*.

Key words: pu-erh tea; *Aspergillus flavus*; aflatoxin; inhibition; biosynthesis

普洱茶是以云南特产的大叶茶 (*Camellia sinensis* var. *assamica*) 等大叶种茶的晒青绿毛茶为原料, 经自然接种和渥堆发酵而成的茶类。在普洱茶渥堆发酵过程中, 微生物作用是普洱茶品质形成的主要原因, 霉菌和酵母起到主要作用^[1]。其中发现的曲霉种类最多, 为普洱茶品质形成过程中的优势种群, 如黑曲霉 (*A. niger*)、灰绿曲霉 (*A. glaucus*)、土曲霉 (*A. terreus*)、

收稿日期: 2015-02-08

基金项目: 广东省教育部产学研结合项目 (2012B091100429)

作者简介: 李浩 (1990-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 微生物资源与利用

通讯作者: 方祥 (1971-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品生物技术

白曲霉 (*A. candidus*)、温特曲霉烟色变种 (*A. wentii* Wegner var. *fumeu*)、帚状曲霉 (*A. penicilliodes*)、具黄曲霉 (*A. aureolatus*)、埃及曲霉 (*A. egyptiacus*)、臭曲霉 (*A. foetidus*)、日本曲霉原变种 (*A. japonicus* Saito var. *japonicus*) 以及局限灰曲霉 (*A. strictus*) 等^[1,2]。

黄曲霉毒素 (Aflatoxin, AFS) 是一类主要由黄曲霉 (*A. flavus*) 和寄生曲霉 (*A. parasiticus*) 等产毒菌株产生的次级代谢产物^[3], 其中黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁) 具有极强的毒性、致癌性和致畸性, 已被国际癌症研究所确定为 I 类致癌物。大量不同种类的曲霉在普洱

茶中被发现,而黄曲霉等产毒曲霉与这些霉菌在分类上属于同属不同种,具有相似的遗传背景和营养特性,普洱茶渥堆环境对于黄曲霉等产毒真菌的生长同样是适宜的。除了黄曲霉和寄生曲霉以外,其它一些曲霉如特曲霉(*A. nomius*)等,也能产生黄曲霉毒素。因此,一些消费者会担心普洱茶在发酵过程中可能受到黄曲霉毒素的污染。Abdulkadir等^[4]在同属于后发酵的黑茶中发现黄曲霉,Wu等^[5]调查了广州某茶叶市场70例湿仓储存普洱茶的真菌毒素污染状态,发现有8例样品的AFB₁污染水平超出5 μg/kg。而近年来研究发现,普洱茶具有抗菌抑菌作用^[6-8],还有研究发现茶多酚中的没食子酸以及鞣皮素均能够抑制黄曲霉菌产生AFB₁^[9,10],Mo等^[11]发现红茶、绿茶、生普、熟普和花茶的茶叶水提物均对黄曲霉产毒有不同程度的抑制作用,但对黄曲霉的生长没有明显的抑制作用。吴清华^[12]将黄曲霉接种到信阳毛尖茶上进行发酵,结果发现可以产黄曲霉毒素,AFB₁的最高含量仅为17.52 μg/kg。普洱茶的原料为云南大叶种毛茶,然而目前为止,未见关于用云南大叶种毛茶做抗黄曲霉生长和产毒实验来对普洱茶安全性进行评估的报道。

本实验拟通过研究云南大叶种茶提取物对产毒黄曲霉AS3.4408生长和产毒的影响,并将黄曲霉AS3.4408接种到云南大叶种茶叶中,对黄曲霉的产毒进行定量分析,综合实验数据对普洱茶受AFS污染的可能性进行评估。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黄曲霉AS3.4408,购于中国微生物研究所菌种保藏中心;云南大叶种晒青毛茶,云南勐海茶厂出厂;黄曲霉毒素(AFB₁、AFB₂、AFG₁、AFG₂)标准品,PriboLab公司;PriboFast M260黄曲霉毒素多功能净化柱,北京泰乐祺科技有限公司;低取代度β-环式糊精(RM-β-CD-L),西安敬业生物药物科技有限公司;甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯),其它试剂均为分析纯,购于北京普博生物科技有限公司。

岛津LC-15C高效液相色谱仪,日本岛津公司;光化学柱后衍生器,PriboLab公司;SW-CJ超净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;LX-B50L立式自动电热压力蒸汽灭菌器,合肥华泰医疗设备有限公司;电热鼓风干燥箱,上海一恒科学仪器有限公司;LRH-250-II微电脑控制生化培养箱,广东省医疗器械厂;TPX-20MC紫外观测台,法国Vilber Lourmat公司;Nikon ECLIPSE E400生物显微镜,日本尼康公司;

Vortex-Genie2 涡旋振荡器,美国Scientific Industries公司。

1.2 实验方法

1.2.1 培养基的配制

PDA培养基:马铃薯(去皮)200 g,葡萄糖20 g,琼脂20 g,蒸馏水1 L,自然pH,121 °C高压灭菌20 min。

PDB培养基:马铃薯(去皮)200 g,葡萄糖20 g,蒸馏水1 L,自然pH,121 °C高压灭菌20 min。

1.2.2 黄曲霉孢子悬浮液的制备

将黄曲霉AS3.4408涂布接种于PDA平板上,30 °C培养4 d得到成熟孢子,然后用无菌水(含0.1%吐温80)将孢子洗下,涡旋振荡使孢子分散均匀。在显微镜下,用血球计数板计数,再用无菌水调整孢子浓度为1×10⁶CFU/mL,备用。

1.2.3 茶叶提取物的制备

称取云南大叶种茶叶10 g,添加100 mL蒸馏水煮沸15 min,纱布过滤后冷却,冷冻干燥成粉末。

1.2.4 茶叶提取物对黄曲霉AS3.4408生长及产毒的影响

参照区健发等^[13]的方法,在PDA培养基灭菌前加入0.6%低取代度β-环式糊精,制成PDA荧光增强培养基。分别添加不同浓度(0%、0.1%、0.2%、0.5%、1%)的茶叶提取物,将AS3.4408用点种法接种至培养基,28 °C培养4 d,每天观察并测量菌落直径,计算其菌落面积。将PDA平板倒置放在362 nm紫外灯下,通过观察菌落周围的荧光强度,分析茶叶提取物对黄曲霉产毒的影响。

1.2.5 茶叶提取物对黄曲霉AS3.4408孢子萌发的影响

吸取100 μL含有不同浓度(0%、0.25%、0.5%、1%)茶叶提取物的PDB培养基于凹玻片上,接种AS3.4408孢子悬浮液,终浓度为1×10⁵CFU/mL,28 °C培养8 h。然后在显微镜下观察孢子萌发状态,计算孢子萌发率。

1.2.6 茶叶提取物对黄曲霉AS3.4408菌丝体生长及产毒的影响

取1 mL浓度为1×10⁶CFU/mL的黄曲霉AS3.4408孢子悬浮液,接入50 mL含不同浓度(0%、0.25%、0.5%、1%)茶叶提取物的PDB培养基中,28 °C,150 r/min,培养4 d。定性滤纸过滤菌丝体,收集到的菌丝体于80 °C烘干至恒重,测定菌丝体干重。收集滤液,HPLC检测黄曲霉毒素的含量。

1.2.7 黄曲霉AS3.4408在云南大叶种茶上的生长及产毒分析

称取 15 g 云南大叶种晒青毛茶于 250 mL 锥形瓶中, 添加 4.5 mL 蒸馏水, 使其最终含水量为 30%, 121 °C 高压灭菌 20 min。接种黄曲霉 AS3.4408 (终浓度为 1×10^5 CFU/g), 28 °C 培养 7 d, 每天观察黄曲霉的生长情况, 并采用 HPLC 法检测茶叶中的 AFS 含量。

1.2.8 HPLC 法测定 AFS 含量

1.2.8.1 AFS 的提取

培养滤液中 AFS 的提取^[14]: 吸取 1 mL 1.2.6 中收集到的滤液, 加三倍氯仿萃取, 萃取液于 60 °C 下用氮吹仪吹干, 溶解于甲醇中, 过黄曲霉毒素净化柱净化样品, 0.22 μm 微孔滤膜过滤。

茶叶样品中 AFS 的提取: 将茶叶样品烘干、粉碎, 称取 25 g 粉碎样品置于 250 mL 具塞锥形瓶中, 加入 100 mL 乙腈/水 (84:16) 溶液, 120 r/min 摇床震荡 60 min。静置, 定性滤纸过滤, 收集到的滤液过黄曲霉毒素净化柱净化样品, 0.22 μm 微孔滤膜过滤。

1.2.8.2 AFS 的测定

采用光化学柱后衍生-HPLC-荧光法检测 AFS 的含量。色谱柱: 黄曲霉毒素专用色谱柱 (150×4.6 mm; C-18); 流动相: 甲醇-水 (45:55); 流量: 0.8 mL/min; 进样体积: 10 μL; 荧光检测器: 激发波长: 365 nm, 发射波长: 445 nm。

1.2.8.3 加标回收率的计算

将茶叶烘干后, 分别添加终浓度为 5 ng/g、50 ng/g、500 ng/g 的 AFB₁ 标准液, 按上述方法提取检测, 每个浓度做 3 个平行, 测定加标回收率。

1.2.9 数据分析

数据处理及作图采用 Excel 2013; 方差分析采用 Duncan 新复极差分析法, 取 95% 置信区间。

2 结果与讨论

2.1 茶叶提取物对黄曲霉 AS3.4408 生长的影响

黄曲霉在培养过程中, 茶叶提取物对黄曲霉 AS3.4408 的生长具有显著的抑制作用, 且抑制作用与茶叶提取物浓度存在正相关关系, 即茶叶提取物浓度越大, 对黄曲霉 AS3.4408 的生长抑制作用越明显 (参见图 1)。培养 4 d 后, 实验组与对照组之间均有极显著性差异 ($p < 0.01$), 在 0.1%、0.2%、0.5% 和 1% 的浓度下, 茶叶提取物对黄曲霉 AS3.4408 的抑制率分别达到 11.30%、13.09%、25.77% 和 41.86% (参见表 1)。

2.2 茶叶提取物对黄曲霉 AS3.4408 产毒的定

性分析

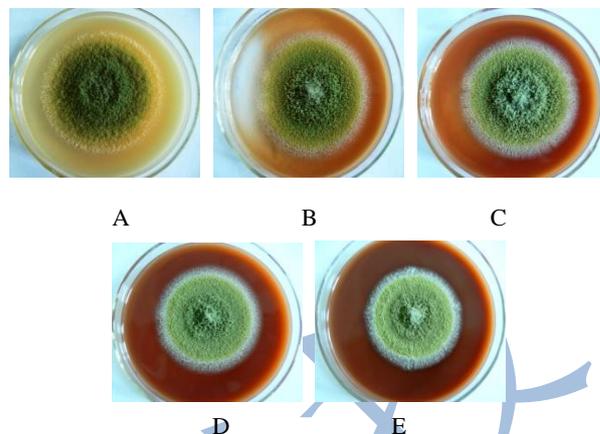


图 1 茶叶提取物对黄曲霉 AS3.4408 菌落生长的影响

Fig.1 Effect of tea extract on growth of *A. flavus* AS3.4408

注: A~E 茶叶提取物浓度依次为 0%、0.1%、0.2%、0.5%、1%。

表 1 茶叶提取物对黄曲霉 AS3.4408 菌落生长的影响

Table 1 Effect of tea extract on growth of *A. flavus* AS3.4408

组别	菌落面积/cm ²			
	1 d	2 d	3 d	4 d
0%	3.95±0.14 ^{Aa}	32.57±0.29 ^{Aa}	80.87±2.57 ^{Aa}	140.61±7.58 ^{Aa}
0.1%	3.97±0.08 ^{Aa}	31.45±2.00 ^{Aa}	72.79±0.95 ^{Bb}	124.72±19.34 ^{Bb}
0.2%	3.04±0.03 ^{ABb}	26.36±0.01 ^{Bb}	65.14±2.49 ^{Cc}	122.21±1.10 ^{Bb}
0.5%	2.20±0.31 ^{BCc}	20.41±1.37 ^{Cc}	42.13±10.83 ^{Dd}	104.38±9.12 ^{Cc}
1%	1.40±0.03 ^{Cd}	14.98±1.33 ^{Dd}	39.32±7.34 ^{Dd}	81.75±8.42 ^{Dd}

注: 数值表示为均值±标准偏差, 同一列中标有不同大写字母表示组间差异极显著 ($p < 0.01$), 标有不同小写字母表示组间差异显著 ($p < 0.05$)。

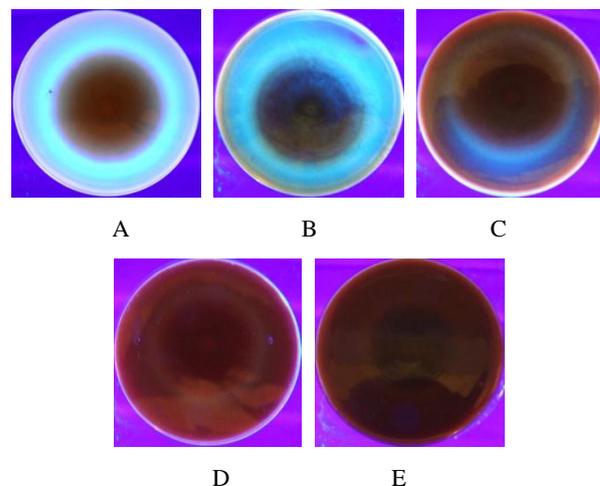


图 2 茶叶提取物对黄曲霉 AS3.4408 菌落荧光强度的影响

Fig.2 Effect of tea extract on fluorescence intensity of *A. flavus* AS3.4408

注: A~E 茶叶提取物浓度依次为 0%、0.1%、0.2%、0.5%、1%。

1%。

AFS 在紫外光照射下激发产生蓝绿色荧光，其浓度越高，荧光强度越强。在培养基中添加环式糊精，可以与 AFS 形成复合物，增强荧光强度^[15]。根据这一特性对培养结果进行分析，实验结果如图 2 所示，茶叶提取物浓度越高，黄曲霉 AS3.4408 产荧光越弱，AFS 含量越低。当茶叶提取物浓度达到 0.5% 以上，荧光完全猝灭。定性试验结果表明茶叶提取物对黄曲霉 AS3.4408 的产毒抑制效果明显。

2.3 茶水提取物对黄曲霉 AS3.4408 孢子萌发的影响

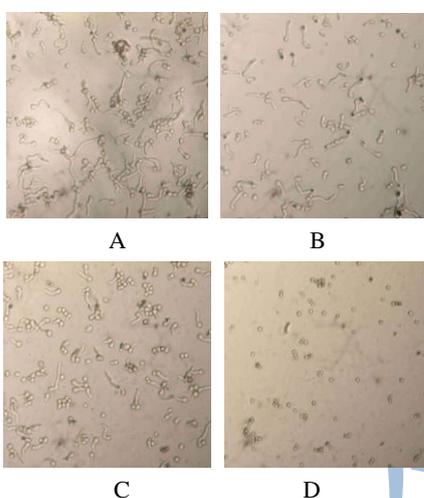


图 3 茶叶提取物对黄曲霉 AS3.4408 孢子萌发的影响 (200×)
Fig.3 Effect of tea extract on spore germination of *A. flavus* AS3.4408 (200×)

注：A~D 茶叶提取物浓度依次为 0%、0.25%、0.5%、1%。

本实验通过显微镜观察黄曲霉 AS3.4408 的孢子萌发状态，分析茶叶提取物对黄曲霉孢子萌发的影响。结果如图 3 所示，培养 8 h 后，对照组中黄曲霉的孢子长出芽管，并延伸形成菌丝体；在培养基中添加不同浓度的茶叶提取物，黄曲霉孢子萌发受到明显的抑制，当茶叶提取物浓度达到 1%，未见黄曲霉孢子萌发。通过计算孢子萌发率，在茶叶提取物浓度为 0%、0.25%、0.5% 和 1% 下，黄曲霉 AS3.4408 的孢子萌发率分别为 72.42%、56.69%、46.33% 和 0%。结果表明，茶叶提取物能明显抑制黄曲霉 AS3.4408 孢子萌发。

2.4 茶叶提取物对黄曲霉 AS3.4408 菌丝体生长及产毒的影响

由图 4 可知，茶叶提取物能抑制黄曲霉 AS3.4408 菌丝生长，且抑制作用与茶叶提取物浓度存在正相关

关系，但与对照组相比，低浓度的实验组抑制作用不显著，当茶叶提取物浓度达到 1% 时，抑制作用显著 ($p < 0.05$)。

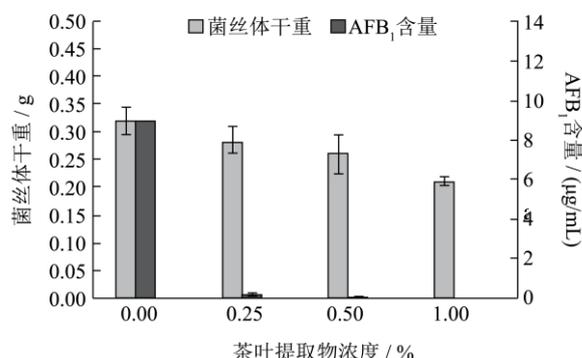


图 4 茶叶提取物对黄曲霉 AS3.4408 菌丝体生长和产毒的影响
Fig.4 Effect of tea extract on mycelial growth and AF production of *A. flavus* AS3.4408

注：不同字母表示组间差异显著 ($p < 0.05$)，相同字母表示组间差异不显著 ($p > 0.05$)。

采用 HPLC 法检测发酵液中的 AFB₁ 含量，结果如图 4 所示，茶叶提取物能明显抑制黄曲霉 AS3.4408 产毒。与对照组相比，实验组在较低的浓度下就具有显著的抑制效果，当浓度为 0.25% 时，茶叶提取物对黄曲霉产毒的抑制率可达 98.51%。结果表明，云南大叶种晒青毛茶提取物可以有效地抑制黄曲霉产毒。

Mo 等研究发现红茶、绿茶、生普、熟普和花茶的茶叶水提取物均能有效抑制黄曲霉毒素的生物合成，对黄曲霉的生长没有明显的抑制作用。茶叶提取物可以通过下调黄曲霉毒素产毒基因 *aflR* 和 *aflS* 的表达，从而抑制黄曲霉毒素的合成^[11]。因此，云南大叶种茶中的某种成分可能是通过调控 *aflR* 的表达来抑制黄曲霉毒素的生物合成。

2.5 黄曲霉 AS3.4408 在云南大叶种茶上的生长及产毒情况



图 5 黄曲霉 AS3.4408 在茶叶上的生长状况
Fig.5 Growth of *A. flavus* AS3.4408 in tea

由图 5 可知，虽然前面的实验证明茶水提取物能明显的抑制黄曲霉 AS3.4408 生长，但 AS3.4408 依旧能

在茶叶上生长，并且产生大量的孢子。

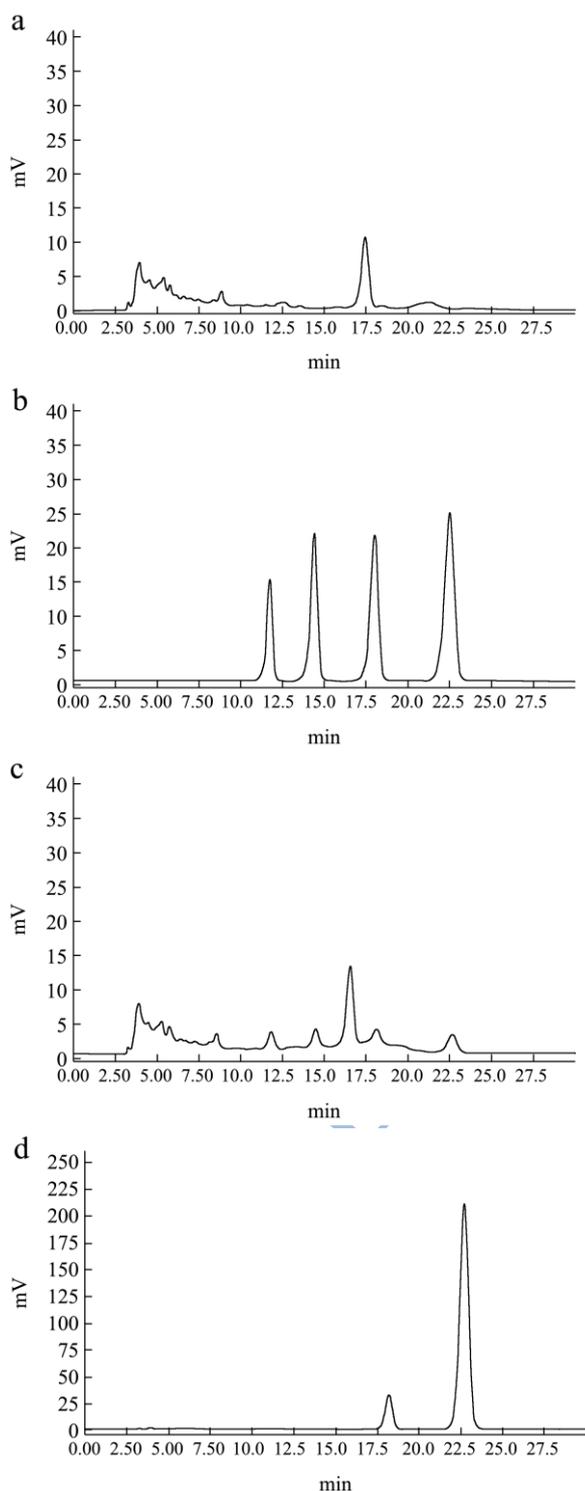


图 6 高效液相色谱图

Fig.6 HPLC chromatograms

注：a：茶叶发酵样品；b：500ng/mL AFS 标准品；c：茶叶样品加 AFS 标准品；d：玉米粉发酵样品。

在茶叶基质中添加不同浓度的 AFB₁，测定加标回收率，结果见表 2。

样品经 HPLC 检测，结果如图 6a 所示，与黄曲霉毒素标品的液相图 b 比较，发现在 AFB₁、AFB₂、

AFG₁ 和 AFG₂ 的出峰时间均未有峰出现，但是出现异常峰。将 AFS 标品添加到茶叶样品中，终浓度为 25 ng/g，提取毒素进行检测，结果如图 6c 所示，该峰不是 AFB₁、AFB₂、AFG₁ 和 AFG₂。将黄曲霉 AS3.4408 接种至玉米粉进行发酵作为对照，结果如图 6d 所示，可以看出该菌株 AS3.4408 在玉米粉基质中发酵 3 d 就可以产生大量的 AFB₁ 和 AFB₂，因此可以排除该菌株不产黄曲霉毒素的可能。实验结果表明，云南大叶种茶能有效抑制黄曲霉 AS3.4408 产 AFB₁ 和 AFB₂，AS3.4408 在云南大叶种茶中可能产生了黄曲霉毒素的前体物质，但茶叶中的某种物质抑制了合成该毒素的关键酶，有待进一步研究阐明。

表 2 茶叶中添加不同浓度 AFB₁ 的加标回收率 (n=3)

Table 2 Recoveries of different concentrations of AFB₁ in tea

AFB ₁ 浓度/(ng/g)	平均回收率/%	相对标准偏差/%
5	91.87	7.26
50	94.37	8.74
500	95.09	3.26

3 结论

本研究表明，普洱茶原料云南大叶种晒青毛茶提取物对黄曲霉 AS3.4408 的生长及产毒均具有明显的抑制作用，且存在明显的剂量依赖关系，其中对黄曲霉产毒的抑制作用尤其显著；将产毒黄曲霉 AS3.4408 接种到云南大叶种茶叶中，菌株生长良好，但在茶叶基质中，未检测到 AFB₁、AFB₂、AFG₁ 和 AFG₂，表明云南大叶种茶中的有效活性成分对黄曲霉毒素的生物合成具有明显的抑制作用。本研究发现黄曲霉 AS3.4408 在云南大叶种茶中发酵能产生其他物质，该物质可能是由于茶叶中的有效成分通过调控 *afIR* 的表达抑制黄曲霉毒素的合成而产生的一种前体物质，该物质的结构和是否有毒性均有待进一步研究。

参考文献

- [1] 周红杰,李家华,赵龙飞,等.渥堆过程中主要微生物对云南普洱茶品质形成的研究[J].茶叶科学,2004,24(3):212-218
ZHOU Hong-jie, LI Jia-hua, ZHAO Long-fei, et al. Study on main microbes on quality formation of yunnan puer tea during pile-fermentation processmodern[J]. Journal of Tea Science, 2004, 24(3): 212-218
- [2] 方祥,陈栋,李晶晶,等.普洱茶不同贮藏时期微生物种群的鉴定[J].现代食品科技,2008,24(2):105-160
FANG Xiang, CHEN Dong, LI Jing-jing, et al. Identification of microbial species in pu-erh tea with different storage time [J]. Food Science and Technology, 2008, 24(2): 105-160

- [3] Wagacha JM, Muthomi JW. Mycotoxin problem in Africa: Current status, implications to food safety and health and possible management strategies [J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 124(1): 1-12
- [4] Abdulkadir E Elshafie, Taghreed Al-Lawatia, Saif Al-Bahry. Fungi associated with black tea and tea quality in the sultanate of oman [J]. Mycopathologia, 1999, 145(2): 89-93
- [5] WU Jin-yin, YANG Guang-yu, CHEN Jian-ling, et al. Investigation for pu-erh tea contamination caused by mycotoxins in a tea market in guangzhou [J]. Journal of Basic & Applied Sciences, 2014, 10, 349-356
- [6] Wu S C, Yen G C, Wang B S. Antimutagenic and antimicrobial activities of Pu-erh tea [J]. Food Science and Technology, 2007, 40(3): 506-512
- [7] Hu Y J, Jia J J, Qiao J L, et al. Antimicrobial activity of pu-erh tea extracts in vitro and its effects on the preservation of cooled mutton [J]. Journal of Food Safety, 2010, 30(1): 177-195
- [8] 胡永金,韩小溪,薛桥丽,等.普洱茶不同提取物体外抑菌活性研究[J].现代食品科技,2013,29(8):1770-1765
HU Yong-jin, HAN Xiao-xi, XUE Qiao-li, et al. Antibacterial activity of puer tea extracts *in vitro* [J]. Food Science and Technology, 2013, 29(8): 1770-1765
- [9] 王淼焱,张浩,杨洁,等.槲皮素抑制黄曲霉毒素产生的机制初探[J].现代食品科技,2014,30(7):56-62
WANG Miao-yan, ZHANG Hao, YANG Jie, et al. Inhibition effect of quercetin on aflatoxin b1 production [J]. Food Science and Technology, 2014, 30(7): 56-62
- [10] Holmes R A, Boston R S, Payne G A. Diverse inhibitors of aflatoxin biosynthesis [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2008, 78(4): 559-572
- [11] H Z Mo, H Zhang, Q H Wu, et al. Inhibitory effects of tea extract on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* [J]. Letters in Applied Microbiology, 2013, 56: 462-466
- [12] 吴清华.茶叶中抑制黄曲霉毒素产生的组分及相关特性研究[D].陕西:西北农林科技大学,2013
WU Qing-Hua. Study on components of inhibiting production of aflatoxin in tea and related characteristics [D]. Shaanxi: Northwest A&F University, 2013
- [13] 区健发,冯沃源,陈耀旭,等.黄曲霉毒素产毒株的快速检测方法及其比较分析[J].食品与发酵工业,2010,36(4):179-182
OU Jian-fa, FENG Wo-yuan, CHEN Yao-xu, et al. Comparison and analysis of visual identification methods for aflatoxin-producing strains of *aspergillus* [J]. Food and Fermentation Industries, 2010, 36(4): 179-182
- [14] Dan Xu, Hongxin Wang, Yinzi Zhang, et al. Inhibition of non-toxigenic *Aspergillus niger* FS10 isolated from Chinese fermented soybean on growth and aflatoxin B₁ production by *Aspergillus flavus* [J]. Food Control, 2013, 32(2): 359-365
- [15] Ordazm J J, Fente C A, Va'zquez B I, et al. Development of a method for direct visual determination aflatoxin production by colonies of the *Aspergillus flavus* group [J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 83(2): 219-220