

## 분리세균에 의한 진균독소 ochratoxin A의 제거

최호영<sup>id</sup> · 송흥규<sup>\*id</sup>

강원대학교 생명과학과

## Removal of mycotoxin ochratoxin A by isolated bacteria

Ho-Yeong Choi<sup>id</sup> and Hong-Gyu Song<sup>\*id</sup>

Department of Biological Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Republic of Korea

(Received November 19, 2018; Revised January 2, 2019; Accepted January 3, 2019)

Ochratoxin A (OTA), one of mycotoxins produced mainly by *Aspergillus* is a common contaminant of stored grains, posing health hazards to human and livestock. The aim of this study is to explore ability of isolated bacteria *Bacillus subtilis* AF13 and *Streptomyces shenzhenensis* YR226 to remove OTA. AF13 and YR226 could remove 94.23 and 97.73% of OTA (100 µg/L), respectively during 24 h incubation in NB medium. When cultures of two strains were separated into washed cells and cell-free supernatant, the supernatant of both strains removed more than 90% of 100 µg/L OTA, and 98.88% of OTA could be also removed by the washed cells of YR226. OTA removal occurred in a few second by the supernatant of both strains, and treatments of autoclaving, proteinase K and chymotrypsin did not affect the OTA removal by the culture supernatants, which indicate that some thermostable and non-proteinaceous substances secreted by these bacteria may be involved in OTA removal in these two bacteria. These results suggest that AF13 and YR226 can be used to remove OTA from OTA-contaminated grains and feeds, and therefore decrease economic damage in agriculture and feed industry.

**Keywords:** *Bacillus subtilis* AF13, *Streptomyces shenzhenensis* YR226, mycotoxin, ochratoxin A (OTA), OTA removal

진균독소(mycotoxin)는 일부 사상성 진균에 의해 생성되는 2차 대사산물로서 동물에 독성을 유발하는 것으로 알려진

400개 이상의 종류가 존재한다(Bosco and Mollea, 2012). 특히 aflatoxin과 ochratoxin같은 독소가 크게 문제가 되는데 그 중 ochratoxin은 A, B와 C 형태로 존재하며, *Aspergillus* 속(*A. ochraceus*, *A. carbonarius* 등)과 *Penicillium* 속(*P. verrucosum* 등)에 의해 생성된다(Qi *et al.*, 2014). 특히 ochratoxin A (OTA)는 곡류, 올리브, 커피 등을 포함한 다양한 식품, 음료 및 사료에서 오염이 보고되었다(Birzele *et al.*, 2000; Fazekas *et al.*, 2002; Roussos *et al.*, 2006). OTA는 ochratoxin α (OTα)라고 불리는 isocoumarin 잔기와 L-β-phenylalanine이 amide 결합에 의해 연결된 구조를 가지며(van der Merwe *et al.*, 1965), amide 결합이 가수분해되어 생성되는 OTα는 무독성이며, OTA에 비해 제거 반감기가 1/10 미만으로 짧다(Li *et al.*, 1997).

OTA는 광범위한 오염 분포를 나타낼 뿐만 아니라, 인간에게 신장 독성, 기형 유발, 면역 독성, 유전 독성 및 신경 독성을 보이고(Wangikar *et al.*, 2005), 열에 안정하여 일반적인 조리 및 가공 후에도 제거되지 않아 더욱 문제가 된다. 이에 국제 암 연구기관은 OTA를 발암유발 가능물질인 2군으로 분류하였으며(IARC, 1993), 우리나라에도 진균독소 별로 별도의 기준이 존재한다(KMFDS, 2017).

진균독소의 방제를 위해 진균 생장을 억제하여 오염을 차단하는 것 이외에 진균독소에 이미 오염된 농산물의 해독도 경제적 손실 방지를 위해 중요하다(Xiong *et al.*, 2016). 해독 방법에는 세척, 열처리 등의 물리적 방법과 화학물질처리 등의 화학적 방법이 있는데 모두 고비용, 품질 저하, 불완전한 처리 등의 단점이 존재한다(Hwang and Lee, 2006; Hasheminya

\*For correspondence. E-mail: hgsong@kangwon.ac.kr;  
Tel.: +82-33-250-8545; Fax: +82-33-259-5665

and Dehghannya, 2013). 이에 비해 생물학적 방법은 미생물 및 그것이 생성하는 효소나 산물을 이용한 무독화 및 분해를 통해 식품과 사료에 존재하는 진균독소를 제거하는데(Mishra and Das, 2003; Zhou *et al.*, 2008), 영양손실과 잔류물 없이 OTA를 무독화 또는 제거할 수 있다(Petruzzi *et al.*, 2013). 현재까지 다양한 수준의 OTA 분해능 및 제거능을 가진 미생물이 보고되었으나 긴 제거 시간 및 불완전한 분해 때문에 식품 산업에서 사용 가능성이 높지 않았다(Xiong *et al.*, 2016). 따라서 본 연구에서는 보다 효율적인 OTA 제거를 위해, 새로 분리된 세균 균주의 OTA 제거능과 제거조건 등을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### OTA 제거세균 균주의 분리 및 동정

OTA 제거 활성을 가진 세균 균주 분리를 위해 OTA 생성 진균이 성장하기 좋을 것으로 예상되는 다양한 토양을 채취하여 0.85% NaCl 용액에 넣고 추출진탕기(Recipro shaker RS-1, JeioTech)로 진탕하였다[30분, 300 stroke per min (spm)]. 토양 현탁액을 OTA 제거세균 분리용 coumarin 한천배지(CA: coumarin 1 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.25 g, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 1 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.25 g, 한천 16 g, 증류수 1 L, pH 7)에 도말하여 30°C, 암조건에서 3~10일 동안 배양하고(Xiong *et al.*, 2016), 자라난 세균 집락은 새로운 CA 배지에서 3회 계대 배양을 거쳐 순수 분리하였다. 우수한 OTA 제거능을 가진 분리 균주는 (주)코스모진텍에 16S rRNA 유전자 서열분석을 의뢰하였으며 염기서열은 미국 National Center for Biotechnology Information 등록균주의 염기서열과 상동성을 비교하여 동정하였다.

### 균주의 OTA 제거능 측정

균주를 nutrient broth (NB, Difco Lab.)에서 24시간 선 배양한 배양액 5 ml를 45 ml의 NB에 계대하여 120시간 배양한 후 배양액 5 ml에 DMSO에 녹인 OTA (Cayman Chemical Co.)를 최종 농도 100 µg/L가 되게 첨가하였다. 이를 배양하면서(암조건, 37°C, 150 rpm) 일정 시간 배양 후 3개의 복식시료에 즉시 10 ml의 chloroform에 넣고 진탕하여(10분, 300 spm) 잔류 OTA의 추출을 3회 반복하였다. 이 시료를 감압 증발시킨 후 70% methanol (v/v)로 재용해하여 잔류 OTA를 high performance liquid chromatograph (HPLC; Younglin, YL9100 HPLC System)로 분석하여 균주의 OTA 제거능을 측정하였다. 분석에는 Symmetry C18 column (150 × 4.6 mm, Waters Co.)을 이용하였으며, 이동상은 물/아세트나이트릴/초산(99:99:2, v/v)이며,

column oven의 온도는 30°C, 시료 주입량은 20 µl, 유속은 1 ml/min으로 하여 형광 검출기[Agilent Technologies, 1260 Infinity, 333 nm excitation, 460 nm emission]를 이용하여 15분간 분석하였다. 검량선은 OTA 표준물질(Cayman Chemical Co.)로 작성하여 OTA를 정량하였다.

균주 배양액의 온도에 따른 균주의 OTA 제거능은 10, 20, 30, 37, 45와 75°C의 조건에서 24시간 동안 수행하였으며, 나머지 모든 실험 조건과 방법은 동일하였다. 또한 균주의 제거능이 세포 또는 배양 상등액에 의한 것인지 알기 위해 NB 배지에서 5일 동안 선 배양한 배양액을 원심분리(1,900 × g, 30분)하여 세포와 상등액을 분리하였다. 분리 세포는 0.85% NaCl 용액으로 3회 세척 후 인산염 완충액(50 mM, pH 7.0)에 재현탁하였으며(OD<sub>600</sub> 2.0), 상등액은 0.2 µm 공극의 여과막으로 여과하여 위의 방법과 동일하게 진행하여 24시간 후의 제거능을 조사하였다. 각 균주 배양 상등액의 pH는 배양 초기보다 상승하여 AF13과 YR226 균주에서 각각 약 8.3과 8.1이었다. 한편 반응 시간 별 균주 배양 상등액의 OTA 제거능을 1, 3, 5와 10 초에, 그리고 YR226 세척 세포의 제거능은 1, 3, 6, 24, 48과 72 시간에 측정하였으며, 나머지 모든 실험 조건과 방법은 위와 동일하였다.

### OTA 분해 원인물질의 특성 조사

먼저 균주의 배양 상등액을 고압멸균(121°C, 15분) 후 100 µg/L의 OTA 제거능을 측정하였다. 단백질 분해효소 처리의 효과는 배양 상등액을 37°C에서 1 mg/ml의 proteinase K (1.4 unit/ml, Sigma-Aldrich Co.)와 α-chymotrypsin (240 unit/mg protein, Sigma-Aldrich Co.)에 각각 반응 후 OTA 제거능을 측정하였다. 균주 배양액의 단백질성과 비단백질성 물질의 OTA 제거능 조사는 Mitchinson과 Pain (1985)의 방법을 수정하여 수행하였는데, 5일 동안 선 배양한 배양액을 원심분리(1,900 × g, 30분)하여 회수한 상등액 30 ml에 30% 농도로 ammonium sulfate를 첨가하여 진탕하면서 4°C에서 12시간 보관하였다. 이 용액을 원심분리(1,900 × g, 30분)하여, 단백질성 pellet과 비단백질성 상등액을 분리 후 pellet은 30 ml의 0.85% NaCl에 현탁하고 상등액은 0.22 µm 공극의 여과막으로 여과한 후 OTA를 첨가하여 제거능을 평가하였다. 모든 제거능 측정 방법은 위와 동일하였다.

모든 실험은 삼반복으로 실시하였으며 통계 분석은 SPSS v. 24.0 (IBM SASS statistics 24)를 이용하여 수행하였으며 Independent two-sample *t*-test를 통해 대조군과 처리구 사이의 통계적으로 유의한 차이를 조사하였다.

## 결과 및 고찰

### OTA 제거세균 균주의 분리 동정

Coumarin 배지를 이용하여 다양한 토양 시료에서 약 350개의 순수 분리 균주를 얻었고, 그 중 OTA 제거능이 가장 우수한 균주는 AF13과 YR226이었다. 균주의 동정은 그람 염색과 형태학적 분석 후(주코스모진택에 16S rRNA 유전자 분석을 의뢰하여 얻은 염기서열을 비교한 결과 AF13 균주는 *Bacillus subtilis* DSM 10, 그리고 YR226 균주는 *Streptomyces shenzhenensis* 172115과 99% 이상의 상동성을 보였다.

### 균주의 OTA 제거능

AF13과 YR226 균주는 NB 배지에 OTA 첨가 시 24시간 동안 100 µg/L의 OTA를 각각 94.23% ( $P < 0.01$ )와 97.73% ( $P < 0.001$ )까지 제거하였다. 이 때 잔류 OTA 농도는 각각  $3.21 \pm 0.39$  µg/L와  $0.72 \pm 0.36$  µg/L이었다. 이는 *Pediococcus parvulus* UTAD 168 균주에 의한 133 µg/L OTA의 7일간 89% 분해 (Abrunhosa *et al.*, 2014)나 돼지 창자에서 분리된 혐기성 세균 MM11에 의한 24시간 동안 100 µg/L OTA의 77.1% 분해 (Upadhaya *et al.*, 2012)보다 훨씬 더 빠르고 높은 제거능이었다.

균주 배양액을 세척 세포와 배양 상등액으로 분리하여 100 µg/L의 OTA가 첨가된 인산염 완충액에서 24시간 동안 OTA 제거능을 측정된 결과 AF13 균주는 각각 배양 상등액에 의하여 94.34%가 제거되었고, 세척 세포에 의해서는 불과 4.76%만이 제거되어 세포가 분비한 제거 원인물질이 제거에 주로 관여하는 것으로 나타났으며(Fig. 1), 이는 세포 상등액에 의해 97.6%의 OTA 생분해를 보인 *Bacillus subtilis* CW14와 매우 유사하였다(Shi *et al.*, 2014). 그러나 YR226 균주의 경우 세척 세포와 상등액에 의해 OTA가 각각 98.88과 96.74%가 제거되

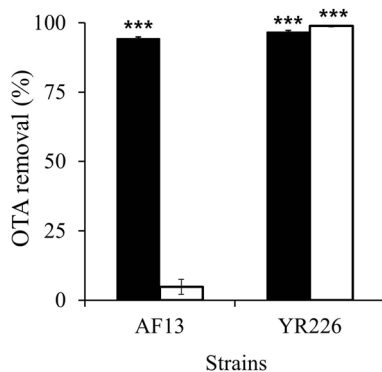


Fig. 1. OTA (100 µg/L) removal by culture supernatant (■) and washed cells (□) of AF13 and YR226 in phosphate buffer (37°C, 150 rpm, 24 h). \*\*\*, significant at  $P < 0.001$ .

어 균주가 제거에 관여하는 물질을 매우 신속히 분비하거나, OTA가 표면에서 흡착되어 제거될 수 있을 것으로 추정된다.

다양한 환경 요인이 OTA (100 µg/L) 제거능에 미치는 영향을 조사하였는데 먼저 반응시간에 따른 제거능 측정 결과 두 균주의 상등액 모두 OTA를 매우 빠른 시간 내에 제거하였다. AF13 균주는 OTA 첨가 즉시 93.35%를 제거하였고, 10초에 94.23%까지 제거하였으며 YR226 균주도 독소 주입 즉시 85.87% 그리고 10초에 97.73%까지 제거하였다(Fig. 2). 이런 즉각적인 OTA 제거는 이제까지 거의 보고된 바 없지만, *Bacillus subtilis* CW14의 배양 상등액이 6 mg/L의 OTA를 반응 2시간 이내에 80%를 약간 넘게 분해하고 그 이후에 약간씩 증가한 결과와 상당히 유사한 양상을 나타내었는데(Shi *et al.*, 2014), 이 연구에서는 반응 초기의 분해에 대해 조사하지 않았다. 본 연구의 균주들보다 다소 느리지만 *Fusarium* sp. WCQ3361의 배양 상등액이 1분 간 100 mg/L의 aflatoxin B<sub>1</sub>을 70.2% 분해하였는데 이 연구에서도 반응 초기의 분해는 조사되지 않았다 (Wang *et al.*, 2017). 한편 높은 제거능을 보인 YR226 균주의

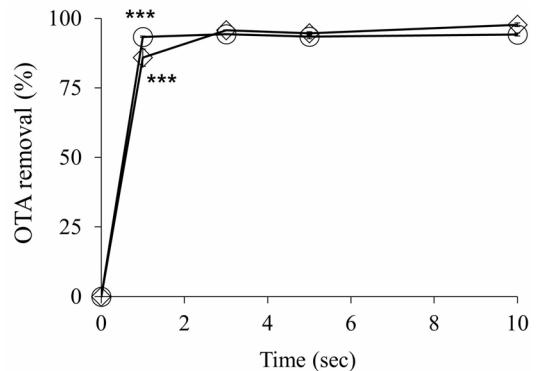


Fig. 2. Time course of OTA (100 µg/L) removal by culture supernatant of AF13 (O) and YR226 (◇) at 37°C.

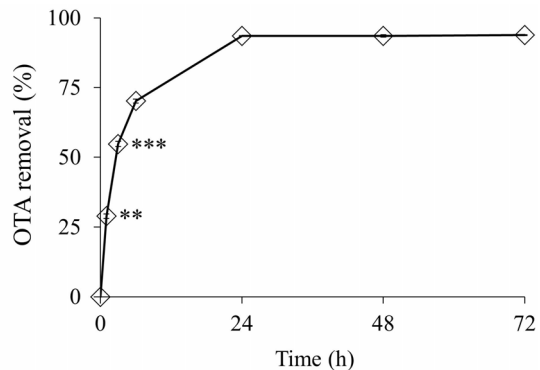


Fig. 3. Time course of OTA (100 µg/L) removal by washed cells of YR226 (◇) (37°C, 150 rpm, 72 h). \*\*, significant at  $P < 0.01$ ; \*\*\*, significant at  $P < 0.001$ .

세척 세포는 100 µg/L의 OTA 첨가 후 1시간에 28.92%의 유의성 있는 제거능을 나타냈으며, 3시간에 54.77% 그리고 24시간에 98.88%를 제거하여(Fig. 3) 유사한 농도에서 보고된 다른 균주들보다 더 빠르고 높은 제거능을 나타내었다(Upadhaya *et al.*, 2012; Abrunhosa *et al.*, 2014).

OTA 제거능에 대한 온도의 영향에 대해 평가한 결과, 10에서 75°C 사이에서 AF13과 YR226 균주는 각각 86.08과 94.05% 이상의 높은 OTA 제거 활성을 나타내었다(Fig. 4). 이는 제거에 관여하는 물질이 온도에 거의 영향을 받지 않는다는 것을 보이는데 대부분의 OTA 분해 균주들이 중온 범위에서 분해능을 나타내거나(Shi *et al.*, 2014), 좁은 온도범위에서 최대 활성이 유지되는데(Bellis *et al.*, 2015) 반해 이 두 균주는 매우 넓은 온도 조건에서도 안정된 제거능을 나타내었다. 이는 제거에 효소가 관여한다기보다 세포 표면이나 세포 생성물질이 OTA와 흡착하여 제거하거나 비단백성 물질이 분해에 관여한다고 추정할 수 있다. 또한 이는 *Fusarium sp.* WCQ3361의 배양 상등액이 0~90°C 사이에서 70% 이상의 aflatoxin B<sub>1</sub> 분해능을 유지한 결과와 유사하였다(Wang *et al.*, 2017). AF13은 37°C일 때 95.68% 그리고 YR226은 30°C에서 97.90%의 가장 높은 OTA 분해능을 보였는데, YR226 처리구의 잔류 OTA 농도는 0.6 µg/L로 우리나라에서 영·유아 식품을 제외한 모든 식품의 규제 농도를 만족시키는 수준이었다(KMFDS, 2017).

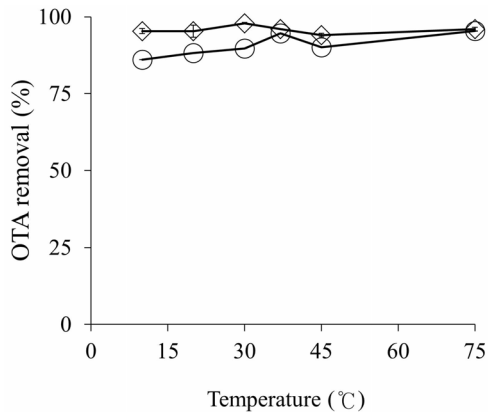


Fig. 4. Effect of temperature on OTA (100 µg/L) removal in culture of AF13 (O) and YR226 (◇) (150 rpm, 24 h).

Table 1. Effect of treatment of heat, proteinase K (1 mg/ml) and chymotrypsin (1 mg/ml) on OTA (100 µg/L) removal by culture supernatant of strains AF13 and YR226

Bacterial strain	OTA removal (%)			
	Control	Heat (121°C, 15 min)	Proteinase K (1 h)	Chymotrypsin (1 h)
AF13	95.36 ± 0.37	95.06 ± 1.15	94.93 ± 0.56	94.84 ± 0.29
YR226	96.40 ± 0.43	96.43 ± 0.85	94.91 ± 0.83	93.82 ± 1.00

## OTA 제거원인 물질의 특성 조사

두 균주 모두 고온에서도 OTA 제거능을 나타내어 배양 상등액에 대한 고압멸균의 영향을 조사하였는데 AF13과 YR226 균주의 배양 상등액은 그 보다 낮은 온도에서와 유사하게 OTA를 각각 95.06과 96.43% 제거하였다. 고압멸균보다 낮지만 10분간 끓인 *Fusarium sp.* WCQ3361의 배양 상등액에서도 aflatoxin B<sub>1</sub> 분해능이 그대로 유지되었다는 보고가 있다(Wang *et al.*, 2017). 또한 AF13과 YR226 균주 배양 상등액에 proteinase K 처리 시 OTA를 각각 94.93과 94.91% 제거하였으며, 또 다른 단백질 분해효소인 chymotrypsin 처리 시에도 두 균주의 배양 상등액이 OTA를 각각 94.84와 93.82% 제거하여 비처리 대조구와 거의 동일한 제거 활성을 나타내었다(Table 1). 이 결과들은 두 균주의 OTA 제거가 비효소적 반응에 의한 것임을 나타내는 강력한 증거가 될 수 있으며 초 수준의 매우 신속한 제거도 이를 뒷받침한다고 볼 수 있다(Fig. 2). 추가적으로 또 다른 단백질 분해효소인 pepsin에 대한 효과를 조사하기 위해 배양 상등액의 pH를 pepsin 활성의 최적조건인 2.0 수준으로 보정하였을 때 두 균주 모두 분해 활성을 잃었다. 이는 제거원인 물질이 낮은 pH에서 변성되어 활성이 저해되었다고 추측할 수 있으므로 다양한 pH 조건에서 제거능 조사가 필요하다. 본 연구의 균주들과 유사하게 넓은 온도 범위와 열처리 시에도 aflatoxin B<sub>1</sub> 분해능이 유지되는 *Fusarium sp.* WCQ3361의 배양 상등액은 단백질 분해효소 중 trypsin 처리 시 aflatoxin B<sub>1</sub> 분해능이 7% 감소하였으나 proteinase K 처리는 약 45%가 감소하여 본 연구의 두 균주와 달리 높은 열안정성을 갖는 분해효소가 관여하는 것으로 추정되었다(Wang *et al.*, 2017).

두 균주의 배양 상등액은 열이나 단백질 분해효소 처리 시 OTA 제거능이 영향을 받지 않았으므로 YR226 균주의 배양 상등액의 단백질을 ammonium sulfate로 염석하여 단백질성 물질과 비단백성 물질로 분리한 후 37°C에서 72시간 동안 OTA 제거능을 측정된 결과 단백질성과 비단백질성 물질의 제거능은 각각 7.81과 90.26%로 OTA 제거 대부분이 비단백질성 물질에 의해 일어나는 것을 확인할 수 있었지만, proteinase K와 chymotrypsin이 모든 단백질을 분해하는 것이 아니며, 30% ammonium sulfate 처리 시에도 모든 단백질이 침전되는 것이



아니기 때문에 비단백성 물질에 의해 분해가 이루어진다고 결론짓기 위해 추가적인 연구가 필요하다. OTA의 제거에 효소가 관여할 수 있으나, 밝혀진 특성은 거의 없다고 알려져 있다 (Bellis *et al.*, 2015). OTA를 가수분해하는 첫 번째로 알려진 효소는 소 췌장에서 발견된 carboxypeptidase A로 OTA를 L-phenylalanine과 ochratoxin  $\alpha$ 로 분해한다고 보고되었다 (Pitout, 1969; Ferenczi *et al.*, 2014). 한편 *Alcaligenes faecalis*의 경우 배양 상등액은 24시간 동안 1  $\mu\text{g/ml}$ 의 OTA를 전혀 분해하지 못하였지만 세포 용해 후 상등액은 OTA를 100% 분해하여 세포 내의 물질에 의해서만 분해가 일어난 것으로 추정되었다(Zhang *et al.*, 2017). 이렇게 OTA제거에 관여하는 효소에 대해서 밝혀진 것이 별로 없을 뿐만 아니라 비단백질성 물질이 관여한다는 보고는 아직 없는 것으로 알려졌다. 따라서 OTA 제거에 관여하는 물질에 대해 더 많은 연구가 필요하다.

## 적 요

진균독소의 한 종류인 ochratoxin A (OTA)는 저장 곡물에 흔한 오염물질로 주로 *Aspergillus*에 의해 생성되어 인간과 가축의 건강을 위협한다. 이 연구의 목적은 분리 세균 *Bacillus subtilis* AF13과 *Streptomyces shenzhenensis* YR226의 OTA 제거능을 조사하는 것이다. NB 배지에서 AF13과 YR226은 100  $\mu\text{g/L}$  OTA를 24시간 동안 각각 94.23과 97.73% 제거하였다. 두 균주 배양액의 원심분리 후 분리된 세척 세포와 무세포 상등액의 OTA 제거능을 측정하였는데 두 균주의 상등액 모두 100  $\mu\text{g/L}$  OTA를 수 초 내에 90% 이상 제거하였으며, YR226의 세척 세포도 OTA를 24시간에 98.88% 제거하였다. 배양 상등액의 고압멸균, proteinase K와 chymotrypsin 처리 시 그 OTA 제거능은 영향을 받지 않았으며 이는 두 균주들에 의해 분비된 열-안정성을 가진 비-단백질성 물질이 OTA 제거에 관련된 것을 추정할 수 있다. 이 결과는 AF13과 YR226 균주가 OTA로 오염된 곡물과 사료에서 OTA를 제거하는데 사용될 수 있으며 따라서 농업과 사료 산업에서 경제적 피해를 감소시킬 수 있을 것이다.

## 감사의 말

본 연구는 중소기업청의 산학협력기술개발사업의 지원으로 수행되었습니다(과제번호 C1013743-01-01).

## References

- Abrunhosa L, Inês A, Rodrigues A, Guimarães A, Pereira V, Parpot P, Mendes-Raia A, and Venâncio A.** 2014. Biodegradation of ochratoxin A by *Pediococcus parvulus* isolated from Douro wines. *Int. J. Food Microbiol.* **188**, 45–52.
- Bellis PD, Tristezza M, Haidukowski M, Fanelli F, Sisto A, Mule G, and Grieco F.** 2015. Biodegradation of ochratoxin A by bacterial strains isolated from vineyard soils. *Toxins* **7**, 5079–5093.
- Birzele B, Prange A, and Kramer J.** 2000. Deoxynivalenol and ochratoxin A in German wheat and changes of level in relation to storage parameters. *Food Addit. Contam.* **17**, 1027–1035.
- Bosco F and Mollea C.** 2012. Mycotoxins in food, pp. 169–200. In Valdez B. (ed.), Food industrial processes - Methods and equipment. InTech, Rijeka, Croatia.
- Fazekas B, Tar AK, and Zomborszky-Kovacs M.** 2002. Ochratoxin A contamination of cereal grains and coffee in Hungary in the year 2001. *Acta Vet. Hung.* **50**, 177–188.
- Ferenczi S, Cserhati M, Krifaton C, Szoboszlai S, Kukolya J, Szoke Z, Koszegi B, Albert M, Barna T, Mezes M, et al.** 2014. A new ochratoxin a biodegradation strategy using *Cupriavidus basilensis* strain. *PLoS One* **9**, e109817.
- Hasheminya SM and Dehghannya J.** 2013. Strategies for decreasing aflatoxin in livestock feed and milk. *Int. Res. J. Appl. Basic Sci.* **4**, 1506–1510.
- Hwang JH and Lee KG.** 2006. Reduction of aflatoxin B<sub>1</sub> contamination in wheat by various cooking treatments. *Food Chem.* **98**, 71–75.
- International Agency for Research on Cancer (IARC).** 1993. Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins, pp. 490–523. In IARC working group on the evaluation of carcinogenic risks to humans (ed.), IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, No. 56. Lyon, France.
- Korea Ministry of Food and Drug Safety (KMFDS).** 2017. Common standards and specification for general food, p. 41. In Food and drug administration (ed.), Food Code (No. 2017-57\_20170630), Korea.
- Li S, Marquardt RR, Frohlich AA, Vittit TG, and Crow G.** 1997. Pharmacokinetics of ochratoxin A and its metabolites in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **145**, 82–90.
- Mishra HN and Das C.** 2003. A review on biological control and metabolism of aflatoxin. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **43**, 245–264.
- Mitchinson C and Pain RH.** 1985. Effects of sulphate and urea on the stability and reversible unfolding of  $\beta$ -lactamase from *Staphylococcus aureus* implications for the folding pathway of  $\beta$ -lactamase. *J. Mol. Biol.* **184**, 331–342.
- Petruzzi L, Bevilacqua A, Baiano A, Beneduce L, Corbo MR, and Sinigaglia M.** 2013. *In vitro* removal of ochratoxin A by two strains of *Saccharomyces cerevisiae* and their performances under fermentative and stressing conditions. *J. Appl. Microbiol.* **116**, 60–70.
- Pitout MJ.** 1969. The hydrolysis of ochratoxin A by some proteolytic

- enzymes. *Biochem. Pharmacol.* **18**, 485–491.
- Qi DZ, Guo HL, Wang DB, Yi S, Jing GL, Zheng HX, and Yong NW.** 2014. Exposure assessment to ochratoxin A in Chinese wine. *J. Agric. Food Chem.* **62**, 8908–8913.
- Roussos S, Zaouia N, Salih G, Tantaoui-Elaraki A, Lamrani K, Cheheb M, Hassouni H, Verhe F, Gaime I, and Augur C.** 2006. Characterization of filamentous fungi isolated from Moroccan olive and olive cake: Toxinogenic potential of *Aspergillus* strains. *Mol. Nutr. Food Res.* **50**, 500–506.
- Shi L, Liang Z, Li J, Hao J, Xu Y, Huang K, Tian J, Hea X, and Xu W.** 2014. Ochratoxin A biocontrol and biodegradation by *Bacillus subtilis* CW 14. *J. Sci. Food Agric.* **94**, 1879–1885.
- Upadhaya S, Song J, Oark M, Seo J, Yang L, Lee C, Cho K, and Ha J.** 2012. Isolation, screening and identification of swine gut microbiota with ochratoxin A biodegradation ability. *Asian-Aus. J. Anim. Sci.* **25**, 114–121.
- van der Merwe KJ, Steyn PS, and Fourie L.** 1965. 1304. Mycotoxins. Part II. The constitution of ochratoxins A, B, and C, metabolites of *Aspergillus ochraceus* Wilh. *J. Chem. Soc.* 7083–7088.
- Wang C, Li Z, Wang H, Qiu H, Zhang M, Li S, Luo X, Song Y, Zhou H, Ma W, et al.** 2017. Rapid biodegradation of aflatoxin B<sub>1</sub> by metabolites of *Fusarium* sp. WCQ3361 with broad working temperature range and excellent thermostability. *J. Sci. Food Agric.* **97**, 1342–1348.
- Wangikar PB, Dwivedi P, Sinha N, Sharma AK, and Telang AG.** 2005. Teratogenic effects in rabbits of simultaneous exposure to ochratoxin A and aflatoxin B<sub>1</sub> with special reference to microscopic effects. *Toxicology* **215**, 37–47.
- Xiong K, Wang X, Zhi HW, Suna BG, and Lia XT.** 2016. Identification and safety evaluation of a product from the biodegradation of ochratoxin A by an *Aspergillus* strain. *J. Sci. Food Agric.* **97**, 434–443.
- Zhang H, Wang Y, Zhao C, Wang J, and Zhang X.** 2017. Biodegradation of ochratoxin A by *Alcaligenes faecalis* isolated from soil. *J. Appl. Microbiol.* **123**, 661–668.
- Zhou T, He J, and Gong J.** 2008. Microbial transformation of trichothecene mycotoxins. *World Mycotoxin J.* **1**, 23–30.