

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2022.03.020

施晶晶, 何贝贝, 刘宽博, 等. 真菌毒素吸附剂开发及吸附效果评价方法研究进展[J]. 粮油食品科技, 2022, 30(3): 177-185.

SHI J J, HE B B, LIU K B, et al. Research progress on mycotoxin adsorbent and evaluation methods of adsorption effect[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2022, 30(3): 177-185.

真菌毒素吸附剂开发及吸附效果评价方法研究进展

施晶晶, 何贝贝, 刘宽博, 王永伟✉, 王 丽, 李爱科

(国家粮食和物资储备局科学研究院 粮食品质营养研究所, 北京 100037)

摘要: 国家高度重视节粮减损工作, 强调采取多项措施降低粮食损失。真菌毒素污染造成了粮油和饲料资源的损失, 并严重威胁人类和畜禽健康。采用物理、化学和生物法可以脱除真菌毒素, 提高饲料资源的利用价值, 其中吸附剂吸附是通过吸附剂和真菌毒素稳定结合成复合体的脱毒方式。对传统吸附剂的多重改性、新型吸附材料的开发显著提升了脱毒效果。综述真菌毒素吸附剂的种类及其在粮油饲料中使用效果的评价方法, 简要介绍了铝硅酸盐类、碳材料、有机高分子、生物吸附剂和新型吸附材料等真菌毒素吸附剂的改性方法, 重点介绍了体外法、人工胃肠液体外模拟和动物试验在真菌毒素吸附剂有效性和安全性评价中的应用, 可以为新型高效真菌毒素吸附剂的开发、科学应用及其吸附机制解析提供参考。

关键词: 粮油饲料资源; 真菌毒素; 吸附剂; 脱毒效果; 改性; 体外评价; 营养物质; 体内评价

中图分类号: TS210.9 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2022)03-0177-09

Research Progress on Mycotoxin Adsorbent and Evaluation Methods of Adsorption Effect

SHI Jing-jing, HE Bei-bei, LIU Kuan-bo, WANG Yong-wei✉, WANG Li, LI Ai-ke

(Institute of Grain Quality and Nutrition Research, Academy of National Food and Strategic Reserves Administration, Beijing 100037, China)

Abstract: Chinese authorities pay high attention to food saving and loss reduction work, and emphasize to take various measures to reduce food loss. The mycotoxin pollution in grain and feed has caused food loss and seriously threatens the health of humans and livestock. The physical, chemical and biological methods can detoxify mycotoxin and improve the utilization value of feed resources. Adsorption is a detoxification method by stably combining adsorbents and mycotoxins into complexes. The multiple modification of traditional adsorbents and the development of new adsorbent materials have significantly improved the adsorption effect. This article will review the types of mycotoxin adsorbents and the evaluation methods of its adsorption effects in grain and feed. The modified methods of mycotoxin adsorbents, such as aluminosilicates, carbon materials, organic polymers, bio-adsorbents and new materials, will be briefly

收稿日期: 2022-02-07

基金项目: 中央级公益性基本科研业务费专项 (JY2012)

Supported by: Fundamental Research Funds of non-profit Central Institutes (No. JY2012)

作者简介: 施晶晶, 男, 1990 年出生, 博士, 助理研究员, 研究方向为饲料中有害物质消减技术。E-mail: sjj@ags.ac.cn.

通讯作者: 王永伟, 男, 1983 年出生, 博士, 副研究员, 研究方向为生物饲料资源开发与应用。E-mail: wyw@ags.ac.cn.

introduced. Besides, the application of in vitro method, artificial gastrointestinal fluid parenteral simulation and animal experiment in the evaluation of efficacy and safety of mycotoxin adsorbents will be highlighted, which can provide references for the development, scientific application and analysis of adsorption mechanisms of mycotoxin adsorbents.

Key words: grain and feed resources; mycotoxin; adsorbent; detoxification effect; modification; in vitro evaluation; nutrients; in vivo evaluation

真菌毒素是由产毒真菌在农产品生长、运输和储藏过程中产生的有毒次级代谢产物^[1]。在已知的 400 多种真菌毒素中,我国受黄曲霉毒素(Aflatoxin, AFT)、玉米赤霉烯酮(Zearalenone, ZEN)和呕吐毒素(Deoxynivalenol, DON)污染最为严重^[2-4]。据统计,真菌毒素污染了全球约 25% 的粮食作物。真菌毒素严重污染的粮油加工副产物等饲料资源会危害动物机体健康,诱发细胞毒性、肠道毒性、免疫毒性、生殖毒性、遗传毒性和致癌性等,多种真菌毒素的协同效应还会增强其毒性^[5-7]。此外,真菌毒素还可与葡萄糖苷、硫酸盐、乙酰基和谷胱甘肽等官能团形成隐蔽型真菌毒素,部分隐蔽型真菌毒素会在动物肠道发生水解并释放出原型毒素^[8],进一步产生毒害效应。有研究表明,通过血液循环糖基玉米赤霉醇(ZEN-14GlcA), α -糖基玉米赤霉醇(ZEL-14GlcA)和 β -糖基玉米赤霉醇(ZOL-14GlcA)等隐蔽型玉米赤霉烯酮可经过胃、肝脏和肠道等器官代谢与 ZEN 相互转化^[9]。受提取方法和洗脱流失等因素干扰,隐蔽性真菌毒素难以通过常规的检测方法分析测定。因此,真菌毒素及隐蔽型真菌毒素的危害均应受到关注。

目前,水洗法、氧化法、热处理法、生物降解法和光催化法等新型脱毒方法在产业化应用方面尚面临诸多挑战,而吸附剂物理吸附法相对经济实用,有着更为广泛的应用前景。

1 吸附剂的种类

当前,真菌毒素吸附剂主要包含了铝硅酸盐类、碳材料、有机高分子吸附剂、生物吸附剂、新型吸附材料等。

1.1 铝硅酸盐类

铝硅酸盐类吸附剂主要以我国《饲料原料目录》中列出的凹凸棒石、蒙脱石、高岭土和沸石

粉为主^[10],该类吸附剂对带极性基团的 AFT 表现出了较好的吸附性,而对弱极性的 ZEN 和 DON 吸附效果相对较弱。ZEN 和 DON 两者之间分子性质的差异导致实际吸附效果的不同,而 DON 更难被吸附脱除。

蒙脱石(Montmorillonite, MMT),主要来源于膨润土,其化学结构式 $(\text{Na,Ca})_{0.33}(\text{Al,Mg})_2[\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}]$ 。根据层间填充的元素,天然 MMT 可分为钙基和钠基。我国矿石基本都是钙基,该种 MMT 阳离子交换容量小,不利于吸附,通过增大阳离子交换容量对 MMT 进行改性是增强其吸附效果的有效方法。无机改性是最常见的改性方法,该方法通过离子交换方式在层间引入柱化剂,再经过热处理将柱化剂热解成氧化物,制备出结构稳定的柱撑 MMT,达到增大比表面积和增强吸附效果的目的。张颖莉等^[11]通过构建单金属(铝、钛、铁)和双金属(铝铁、铝钛、铁钛)柱撑 MMT,采用体外模拟的方式分析了其对 DON 的吸附效果,结果表明,在 pH 2.0 条件下,3 h 内 AlTi-MMT 对 DON 的吸附率达到 34.63%,11 h 内的解吸附率小于 8%,同时吸附动力学表明存在化学吸附,解吸附动力学结果也表明以化学吸附为主导,不易解吸附。

有机碳链的引入也可以提升 MMT 对弱极性真菌毒素的吸附力。Zhang 等^[12]通过离子交换的方式在 MMT 层板间引入阳离子表面活性剂十八烷基三甲基溴化铵($\text{C}_{21}\text{H}_{46}\text{BrN}$)进行改性,改性后对 AFB₁、ZEN、DON 吸附量(mg/g)分别达到 9.23、9.33 和 2.13。然而,由于在 MMT 层板引入季铵盐阳离子,导致了极性活性位点的减少,因此,两性离子表面活性剂不但可以提供疏水性的有机碳链,还不易置换出 MMT 层间的阳离子。Wang 等^[13]使用十二烷基二甲基甜菜碱(BS-12)和月桂酰胺丙基甜菜碱(LAB-35)改性 MMT,

改性后的 MMT 对极性 AFB₁ 比对弱极性的 ZEN 吸附效果更高, 原因是改性后的 MMT 通过离子偶极子和疏水作用协同吸附 AFB₁, 而仅通过疏水作用吸附 ZEN。王金荣等^[14]利用植物提取物穿心莲内酯改性 MMT, 在喷浆玉米皮添加 1% 脱毒剂混合放置 24 h, 对 AFB₁ 和 ZEN 的吸附率分别为 62.60% 和 43.38%。张海龙等^[15]对榴莲皮和茶籽壳进行酸浸泡和大气压冷等离子体处理制备 AFB₁ 脱毒剂, 在 AFB₁ 浓度为 1 μg/mL, 脱毒剂的添加量为 6 mg/mL 时, 吸附率可实现 100%。

凹凸棒土 (Attapulgite, ATP) 化学结构是 Mg₅Si₈O₂₀(OH)₂(OH₂)₄·4H₂O, 是一类层状三明治结构的化合物 (中间为镁氧八面体, 上下为硅氧四面体), 微观形态为针状。裴娅晓等^[16]利用 ATP 吸附玉米毛油中的 ZEN (8.026 mg/kg), 结果表明, 随着 ATP 添加量的增大, ZEN 的脱除率逐渐增加, 当加入 4%wt 时, 吸附率达到 22.21%。高岭土 (Kaolin) 化学结构是 Al₄(Si₄O₁₀)(OH)₂, 硅氧四面体和铝氢氧八面体按照 1:1 构成。Spasojević 等^[17]通过利用十八烷基二甲基苄基铵 (ODMBA) 增大高岭土的阳离子交换容量, 结果表明, 有机高岭土对 ZEN 的吸附随固相含量的增加和 ODMBA 含量的增加而增加, pH 3.0 条件下, 90% 的阳离子交换容量, 最大吸附量达 39.2 mg/g。Raj 等^[18]体内评价改性斜发沸石对 AFB₁ 的脱毒效果, 研究表明添加改性斜发沸石有助于提高肉鸡生产性能和降低组织中 AFB₁ 残留。

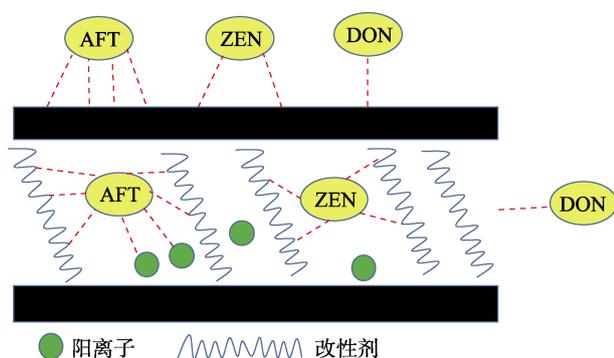


图1 铝硅酸盐类吸附剂对 AFT、ZEN 和 DON 的吸附机制
 Fig.1 The adsorption mechanism of aluminosilicate on AFT, ZEN and DON

铝硅酸盐类吸附剂与真菌毒素结合机制尚未清楚。有研究表明^[19], 吸附强极性的 AFT, 主要借助层间阳离子对 AFT 偶极相互作用和有机改性

剂对 AFT 的疏水作用。对于亲油性 ZEN, 亲油性有机质为 ZEN 提供吸附力, 疏水相互作用为主要吸附机制。但对弱极性 DON, DON 亲水性强且空间位阻大, 改性铝硅酸盐无法高效吸附, 因而探究 DON 吸附机制是解决低吸附率的关键。

1.2 碳材料

碳材料是由碳元素组成的无恒定结构的材料, 因其具有高的比表面积和多孔结构特性, 也表现出较高的体外真菌毒素吸附率。碳材料具有羧基、酚羟基、内酯基和羰基等含氧官能团, 其中酸性官能团易吸收极性物质, 碱性官能团易吸收弱极性物质。碳材料的来源和制备工艺均会影响吸附性能。根据原料来源主要分为木质类、果壳类、煤质类和石油类。Sun 等^[20]以壳聚糖和累托石为前体, 通过水热处理制备累托石负载的壳聚糖类碳纳米材料, 研究指出有机碳含量决定了吸附能力的高低, 最大吸附能力达到 13.90 mg/g。

活性炭是一种常用的食品加工助剂, 由煤炭、褐煤、泥煤等非木质为原料制成, 其结构主要由类石墨微晶和非晶质碳通过无规则的相互交错连接而成, 该结构决定了活性炭具有大量的中孔和微孔, 在油脂脱色和除臭等领域发挥了优异的吸附性能。近年来, 活性炭在真菌毒素脱除领域的研究也逐渐增多。黄伟锋等^[21]以碱炼脱酸玉米油为研究对象, 添加 2.5% 活性炭, 80 °C 条件下可在 20 min 内对 ZEN 的吸附率达到 87.11%, ZEN 含量由 4 481.06 μg/kg 降至 608.46 μg/kg。Kalagatur 等^[22]利用麻疯树种子壳制备活性炭, 该种活性炭的比表面积和微孔面积分别为 822.78 m²/g 和 255.36 m²/g, 对 ZEN 的最大吸附量达到了 23.14 g/mg。通过体外细胞试验发现, 该种活性炭能降低细胞内活性氧和 Caspase3 水平, 有效缓解 ZEN 诱导 Neuro-2A 细胞毒性, 降低了细胞的死亡率。为提升吸附材料的重复使用率和分离效果, González-Jartín 等^[23]基于磁性 Fe₃O₄ 颗粒, 以活性炭、膨润土和氧化铝构建纳米复合材料, 体外水溶液条件下对真菌毒素的去除率高达 87%, 其中对 AFT 和 ZEN 的吸附率达到 90% 以上。有研究发现活性炭对弱极性的 DON 也具有较高效的吸附特性。李静静等^[24]通过椰壳炭包覆酸化 MMT 吸附 DON, 以仔猪为试验对象饲

喂含 2 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 呕吐毒素玉米, 生长性能结果表明, 加入该种吸附剂组的仔猪平均日增重最高。万晶^[25]评价了三种改性 MMT 和炭化 MMT (FH-FCC) 对 DON 的吸附效果, 体外试验结果表明, 仅有 FH-FCC 对 DON 的吸附率达到 94.9%, 猪肠上皮细胞 (IPEC-J2) 模型研究表明 FH-FCC 可提升细胞存活率。断奶仔猪饲喂试验表明, FH-FCC 可降低血清中谷丙转氨酶、谷草转氨酶和肌酸磷酸激酶的含量, 缓解 DON 诱导的断奶仔猪应激反应和肠道损伤, 改善了猪的生长性能和血清抗氧化能力。

植物炭黑主要来源于杉木屑、松木屑或竹屑, 由炭化和活化的工艺制备^[26]。因植物炭黑廉价且安全性高, 《食品添加剂使用标准》(GB2760—2014) 规定植物炭黑可作为着色剂, 最大添加量为 5 g/kg, 最具有代表性的食品为黑色冰激凌。2020 年《中华人民共和国农业农村部公告第 258 号》规定^[27]植物炭黑可作为新型饲料添加剂用于仔猪喂养, 植物炭黑添加量为 1 000 mg/L 时, 对 500 ng/mL ZEN 吸附率可以达到 95%。刘淑杰等^[28]研究表明, 植物炭黑可缓解因 ZEN 所致的生长性能降低和肝脏损伤, 能明显改善大鼠卵巢组织形态结构, 增强了大鼠的血清抗氧化功能和免疫功能。吴杰等^[29]研究表明, 添加 1 000 mg/L 植物炭黑可以改善 DON 对断奶仔猪的生长性能和血清抗氧化能力的下降, 抑制小肠二糖酶活性异常增高。

1.3 有机高分子吸附剂

有机高分子吸附剂是一类具有多孔且高度交联的聚合物。甲壳素是乙酰葡萄糖组成的直链多糖, 可从虾、蟹和贝壳等生物质中获得, 具有无毒、生物相容性好、可降解等优点。王国珍等^[30]利用甲壳素制备成微球结构吸附玉米叶片和猪饲料中的 DON, 1%wt 甲壳素微球溶液喷洒玉米植株 (80 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 48 h 后玉米叶面中 DON 降低了 85%; 将 0.5%wt 甲壳素微球加入猪饲料 (2 350 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 经过 75 $^{\circ}\text{C}$ 混合处理 1 h, 35 $^{\circ}\text{C}$ 和湿度 65% 条件下吸附平衡 24 h, DON 的脱除率达到 70.2%。壳聚糖是甲壳素脱乙酰化后的一种多糖, Zhao 等^[31]首先利用戊二醛交联壳聚糖制备交联壳聚糖聚合物, 多种真菌毒素共存下, 该种吸附剂对 AFB₁ 和 ZEN 吸附率分别达到 73% 和

94%, 但对 DON 无吸附效果。腐殖酸 (humic acid, HA) 是芳香族及其多种官能团构成的高分子有机酸。Haus 等^[32]通过大鼠试验发现, 添加 1%wt 的 HA 可以缓解 DON 诱导的氧化应激。纤维素是由葡萄糖组成的大分子多糖, 经过碳化的纤维素微球拥有高比表面积和丰富的孔道结构; 茶多酚和单宁作为多羟基化合物可提供丰富的羟基, 具有抗氧化和抑菌功能。王国珍等^[33]通过将茶多酚和单宁分别负载于磁性纤维素碳化微球表面获得吸附剂, 加入 0.5%wt 脱毒剂处理 1 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ DON 污染的鸡饲料, 可实现 75%~92% 的脱毒率。

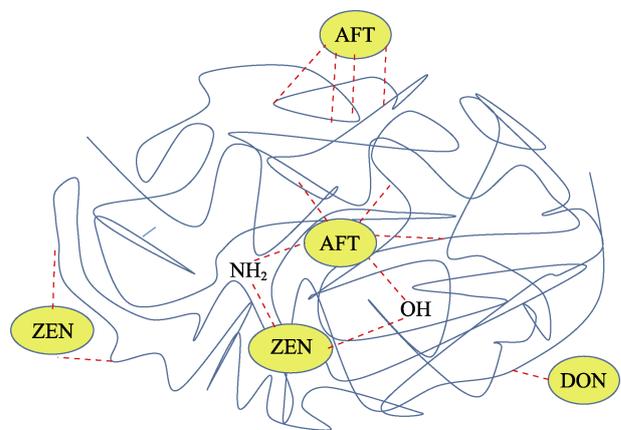


图 2 有机高分子对 AFT、ZEN 和 DON 的吸附机制
Fig.2 The adsorption mechanism of organic polymer on AFT, ZEN and DON

有机高分子吸附剂主要基于自身多孔隙结构和疏水性的特点, 孔结构中拥有丰富的氨基和羟基提供活性位点, 疏水性为 AFT 和 ZEN 提供吸附力。

1.4 生物吸附剂

生物吸附剂主要利用失活的细菌/真菌细胞表面吸附真菌毒素, 主要包含了乳酸菌 (乳杆菌、双歧杆菌、链球菌和乳球菌等) 和酵母菌 (酿酒酵母、热带假丝酵母、毕赤酵母和法菲酵母等)。不同的微生物细胞对真菌毒素表现出不同的吸附能力, 细胞壁结构中肽聚糖、碱性氨基酸、硫醇和酯类的化合物决定了其具有吸附性能^[34]。Sangsila 等^[35]体外评价 8 株戊糖乳杆菌对 ZEN 的吸附效果, ZEN 浓度为 74.70 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 菌株 JM0812 对其吸附率高达 83.17%。Liew 等^[36]对于酪乳杆菌进行了体外和体内评价, 1 h 内热处理细胞对 AFB₁ 吸附率达到 81%。酵母活细胞或失活细胞对

真菌毒素均有吸附性能, 酵母细胞壁多糖成分中葡聚糖和甘露聚糖对真菌毒素吸附效果存在差异。Lu 等^[37]发现当 ZEN 与酵母细胞壁接触时, β -1,3-葡聚糖和 β -1,6-葡聚糖的三维结构在吸附机理中起主要作用, 碱不溶性 β -1,3-葡聚糖形成复杂且高密度的枝状结构, 提供大量的结合位点用

于吸附 ZEN, 碱溶性 β -1,6-葡聚糖可增强吸附结合力。Poloni 等^[38]利用活性酿酒酵母菌株 RC0016 与含 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AFB₁ 动物饲料混合, 体外评价 RC0016 对 AFB₁ 的吸附率为 51.2%~97.5%, 解吸率为 6.3%~8.0%。此外, 黑曲霉菌、枯草芽孢杆菌、尿肠球菌和游动球菌属等也能降低真菌毒素含量。

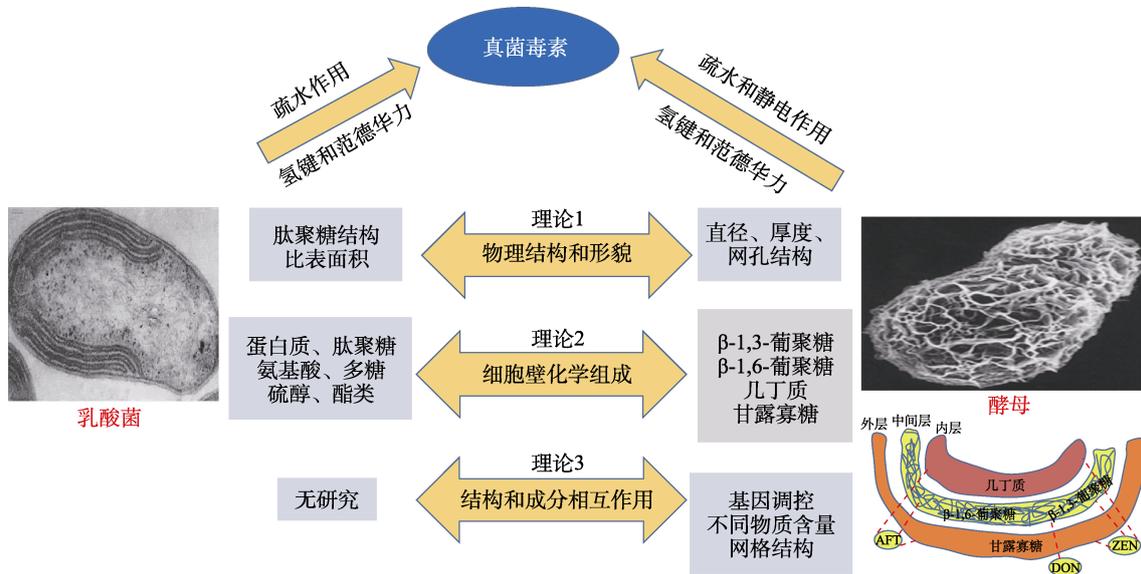


图3 生物吸附剂对真菌毒素的吸附机制

Fig.3 The adsorption mechanism of bio-adsorbents on mycotoxins

生物类吸附剂吸附机制主要基于细胞壁中活性成分为真菌毒素提供了多种吸附中心, 通过氢键、离子作用和疏水作用与真菌毒素形成化学络合物^[39]。细胞壁的结构和化学组成均在吸附过程中扮演了重要的角色, 但由于细胞壁结构和成分的复杂性, 相关机制需进一步研究^[40]。

1.5 新型吸附材料

金属有机框架化合物(Metal-Organic Framework, MOF)是由芳香酸或碱的氮、氧多齿有机配体和无机金属离子通过配位键形成的多孔配位聚合物, 是近年来备受瞩目的多孔性吸附新材料。为有效提升 AFT 和 ZEN 等非水溶性的真菌毒素吸附问题, 黄和等^[41]利用碱金属氢氧化物和环糊精(CD)制备 CD-MOF, 被 CD-MOF 包覆的 ZEN 水溶解性提升了 89 倍, 达到了(52.889 \pm 1.240 6) mg/L。在玉米、小麦、花生等固体样品和油料等液体原料中加入 1%~5%wt 的 CD-MOF, 真菌毒素的脱出率可达 85%以上。石墨烯基材料是由 sp² 杂化连接的碳原子紧密堆积成, Horky 等^[42]体外模拟氧化石墨烯对碾碎小麦中的真菌毒素的吸附效

果, 最佳 pH 5.0 的条件下, 对 AFB₁、ZEN 和 DON 的吸附量 (mg/g) 分别为 0.045、0.53 和 1.69, 对小麦粉中的 Mn、Cu 和 Zn 微量元素具有非特异性吸附特性。

2 吸附剂吸附效果评估方法

市售真菌毒素吸附剂产品的组分相对复杂, 既有单一组分, 也有复合组分。为了达到高效和广谱性的脱毒, 复合产品中同时复配铝硅酸盐类、防霉剂和降解菌/酶, 增加了脱毒剂脱毒效果评价的难度。迄今为止, 我国《食品卫生标准》(GB 2761—2017) 和《饲料卫生标准》(GB 13078—2017) 虽对真菌毒素的限量有明确规定, 但尚未发布关于吸附剂吸附效果评价规程的标准。国外仅有少数国家有真菌毒素吸附剂的法规, 如欧盟和巴西。体外评价、人工胃肠液体外模拟和动物试验是目前常用的评价方法。

2.1 体外评价

2.1.1 真菌毒素体外评价

体外评价是筛选高效吸附剂最简便的方式,

目前通常做法是通过加入一定质量的吸附剂到固定 pH 和固定浓度的真菌毒素标准品溶液里, 通过测定吸附后真菌毒素标准品的浓度来计算脱毒率。该法使用的前提是吸附剂结构稳定且不含营养性物质, 体内不易被吸收, 否则被吸附的真菌毒素很容易被解吸附, 造成体外试验与体内试验效果的显著差异。刁亚南等^[43]在 60 °C 条件下添加 2.4% CTAB 到 MMT 中制备 CTAB-MMT, 体外评价结果表明, 在 50 mL 浓度为 1 μg/mL 的 AFB₁ 溶液中加入 0.1 g CTAB-MMT, 37 °C、120 r/min 振荡 8 h, AFB₁ 吸附率达到 97.28%。体外评价操作简便, 有助于吸附剂研发过程中快速筛选出优质产品, 但是该法未考虑基质和体内等复杂环境, 无法真实反映吸附剂的实际应用效果。

2.1.2 营养成分体外评价

多数吸附剂以非特异性吸附作用机制为主, 该机制允许营养成分以类似的方式结合, 因而吸附剂是否会大量吸附营养元素是一个不可忽视的问题。Kihal 等^[44]体外评价膨润土、斜发沸石、海泡石、MMT、活性炭和酵母细胞壁对氨基酸(赖氨酸、蛋氨酸、苏氨酸)和维生素(B₁, B₂, B₃, B₆)。在氨基酸吸附过程中, 单一氨基酸的平均吸附率为 44.3%, 多个氨基酸共存下的平均吸附率降至 19.9%。单一维生素吸附实验中 MMT 对 B₁ 的吸附率高达 90.5%, 而对 B₃ 吸附率只有 4%; 多个维生素共存下所有吸附剂均对 B₁ 有较高吸附, 斜发沸石、海泡石和酵母细胞壁对 B₆ 有较高吸附, 活性炭对 B₂ 的吸附率为 0%, 膨润土对 B₃ 的吸附率为 0%。对于脂溶性维生素(A、D 和 E)而言^[45], 单一维生素吸附过程中, 膨润土和 MMT 对维生素 E 的吸附量最高, 分别为 54.5% 和 46.3%, 海泡石和活性炭吸附量最低, 分别为 16.6% 和 18.5%; 酵母细胞壁吸附对维生素 D 的吸附率为 20.2%。多种脂溶性维生素共存下, 膨润土和 MMT 对维生素 E 的吸附量, 最高分别为 61.8% 和 50.7%; 海泡石最低, 吸附率仅为 15.4%。该法易操作, 但营养物质受竞争性吸附影响较大, 无法反映真菌毒素和营养物质共存下吸附过程。

2.2 人工胃肠液体外模拟

人工胃肠液体外模拟法基于体外仿生模型,

主要通过模拟胃蛋白酶和胰蛋白酶等胃肠道消化酶的消化方式来评价吸附剂优劣。GAO 等^[46]利用单胃动物仿生消化系统评价了吸附剂对鸡饲料中 ZEN 的降解效果, 通过测定消化前后胃、小肠前段和小肠后段消化液和最终食糜等样品中 ZEN 含量计算吸附率。该方法的优点是考虑了饲料基质对毒素吸附的影响, 实现了消化过程中真菌毒素机体吸收和吸附剂吸附的动态平衡, 饲料中释放的真菌毒素既可以透过半透膜系统排出, 也可以结合到吸附剂上, 适合多种毒素共存下的吸附效果评估。但该法需专业的设备, 不易操作, 评价过程中仅引入消化酶, 未考虑其他更为复杂的因素。

2.3 体内评价法

所有的体外试验结果都需在动物试验评价中得要验证, 如部分体外评价研究表明吸附剂对氨基酸、维生素、微量元素等营养物质有一定的吸附作用, 需严谨的动物试验设计和可靠试验数据综合评定吸附剂的应用效果。动物模型的选择取决于畜禽对真菌毒素的敏感性, 如反刍动物可利用瘤胃微生物对 DON 和 ZEN 进行去乙酰化和去环化实现毒性降低。动物饲养期间需要监测生产性能、发病率、死亡率、靶器官毒性等。李瑞银等^[47]研究了饲料中含有 AFB₁ 9.39 μg/kg, ZEN 185.86 μg/kg, DON 192.43 μg/kg 条件下, 添加 0.2 g/kg 斜发沸石在西门塔尔育肥牛上的应用效果, 结果表明育肥牛的 ADG、干物质采食量(DMI)分别提高了 3.57%、1.53%, 料重比(F/G)降低了 3.27%; 干物质(DM)、中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)、粗蛋白质(CP)、钙(Ca)、总磷(TP)、粗脂肪(EE)和表观消化能有所提升; 血清 IFN-γ 和 IgM 含量分别提高了 3.69%、10.66%, 血清 IL-1 含量降低了 12.88%, 且减少了肌肉和肝脏中 AFB₁ 和 DON 残留。该法接近实际应用, 是评估吸附剂有效性最直接的途径; 但只能通过间接指标反映脱毒效果, 易受到多种因素的影响, 操作成本高。

试验设备和试验流程的差异也可造成体外评价结果的变异, 因此, 进行体外评价和体内评价综合评定能更有效解决弥补单一方法的不足。杨

凡等^[48]利用柠檬酸缓冲液(pH 3.0)和磷酸盐缓冲液(pH 6.5)分别配置浓度为1 000 μg/L的ZEN, 添加0.2%吸附剂置于不同pH的缓冲液中, 37 °C、150 r/min 恒温振荡2 h, 体外评价筛选出3种吸附率达90%的吸附剂(复合型A6>复合型A4>改性硅酸盐A3)。体内试验以母猪为研究对象, 在含有1 mg/kg ZEN的基础饲料中分别添加0.2%wt的A3、A4和A6, 以母猪血浆中ZEN及其代谢产物(α-玉米赤霉烯醇和β-玉米赤霉烯醇)的含量为特异性指标, 结合生长性能、器官指数、阴户宽度和血清生化指标, 最终确定复合型A4缓解ZEN毒性作用效果最优。该法不仅快速筛选优质吸附剂, 而且体内试验真实展现脱毒效果, 有助于吸附剂的产业化应用。

3 展望

目前, 脱毒剂产品开发应用主要面临着以下问题:(1)产品普适性: 真菌毒素种类多, 同一类真菌毒素也有很多衍生结构, 很难有一种脱毒剂能够实现广谱性脱毒。(2)吸附结果全面性: 吸附效果准确性取决于毒素含量检测结果, 复杂基质检测中忽视了隐蔽型真菌毒素, 容易造成实际脱毒效果的不确定性。(3)评价方法差异性: 真菌毒素吸附剂尚无统一的吸附效果评价方法, 体外评价和体内评价相结合的方式是目前筛选高效吸附剂的有效手段。(4)吸附机制复杂性: 对于不同真菌毒素而言, 吸附率很大程度上取决于真菌毒素分子本身的结构性质, 极性和弱极性吸附机制并不适合所有真菌毒素。因此, 获得高竞争性的吸附材料需要解析吸附剂对不同真菌毒素吸附机制, 也需要深入开展“降解菌+降解酶+吸附剂”的协同吸附降解作用。

参考文献:

[1] ELLIOTT C T, CONNOLLY L, KOLAWOLE O. Potential adverse effects on animal health and performance caused by the addition of mineral adsorbents to feeds to reduce mycotoxin exposure[J]. *Mycotoxin research*, 2020, 36(1): 115-126.

[2] HOU S, MA J, CHENG Y, et al. The toxicity mechanisms of DON to humans and animals and potential biological treatment strategies[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2021: 1-23.

[3] LI R, WEN Y, WANG F, et al. Recent advances in immunoassays

and biosensors for mycotoxins detection in feedstuffs and foods[J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2021, 12(1): 1-19.

[4] SONG J L, ZHANG G L. Deoxynivalenol and zearalenone: different mycotoxins with different toxic effects in the sertoli cells of equus asinus[J]. *Cells*, 2021, 10(8): 1898.

[5] MEIJER N, KLETER G, DE NIJS M, et al. The aflatoxin situation in Africa: Systematic literature review[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2021, 20(3): 2286-2304.

[6] TAN H, ZHOU H, GUO T, et al. Effect of temperature and pH on the conversion between free and hidden zearalenone in zein[J]. *Food Chemistry*, 2021, 360: 130001.

[7] HOU S, MA J, CHENG Y, et al. The toxicity mechanisms of DON to humans and animals and potential biological treatment strategies[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2021: 1-23.

[8] FREIRE L, SANT'ANA A S. Modified mycotoxins: An updated review on their formation, detection, occurrence, and toxic effects[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2018, 111: 189-205.

[9] LU Q, QIN J, FU Y, et al. Modified mycotoxins in foodstuffs, animal feed, and herbal medicine: A systematic review on global occurrence, transformation mechanism and analysis methods[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2020: 116088.

[10] 李琳. 吸附剂在净化霉菌毒素污染饲料进展[J]. *中国畜禽种业*, 2018, 14(7), 41-42.

LI L. Advances in the purification of mycotoxins-contaminated feed by adsorbents[J]. *China Livestock and Poultry Seed Industry*, 2018, 14(7), 41-42.

[11] 张颖莉. 无机柱撑 MMT 的制备及其对呕吐毒素的吸附研究[D]. 西安理工大学, 2019.

ZHANG Y. Preparation of inorganic pillared montmorillonite and its adsorption of vomiting toxin[D]. Xi'an University of Technology, 2019.

[12] ZHANG W, ZHANG L Y, JIANG X, et al. Enhanced adsorption removal of aflatoxin B-1, zearalenone and deoxynivalenol from dairy cow rumen fluid by modified nano-montmorillonite and evaluation of its mechanism[J]. *Animal Feed Science And Technology*, 2020, 259.

[13] WANG G F, XI Y F, LIAN C, et al. Simultaneous detoxification of polar aflatoxin B-1 and weak polar zearalenone from simulated gastrointestinal tract by zwitterionic montmorillonites[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 364: 227-237.

[14] 王金荣, 李林儒, 乔汉桢, 等. MMT 改性材料及其制备方法和应用: CN113040278A[P]. 2021.04.23.

WANG J, LI L, QIAO H, et al. Montmorillonite modified materials and their preparation methods and applications: CN113040278A[P]. 2021.04.23.

[15] 张海龙, 黄俊圻, 张维农, 等. 一种黄曲霉毒素脱毒剂及其制备方法和应用: CN113070044A[P]. 2021.03.18.

ZHANG H, HUANG J, ZHANG W, et al. An aflatoxin detoxifier

- and its preparation method and application: CN113070044A[P]. 2021.03.18.
- [16] 裴娅晓. 玉米油中玉米赤霉烯酮的控制和脱除方法研究[D]. 河南工业大学, 2016.
- PEI Y. Research on the control and removal methods of zearalenone in corn oil[D]. Henan University of Technology, 2016.
- [17] SPASOJEVIĆ M, DAKOVIĆ A, ROTTINGHAUS G E, et al. Influence of surface coverage of kaolin with surfactant ions on adsorption of ochratoxin A and zearalenone[J]. Applied Clay Science, 2021, 205: 106040.
- [18] RAJ J, VASILJEVIĆ M, TASSIS P, et al. Effects of a modified clinoptilolite zeolite on growth performance, health status and detoxification of aflatoxin B1 and ochratoxin A in male broiler chickens[J]. British Poultry Science, 2021: 1-10.
- [19] 王高锋. 双亲蒙脱石霉菌毒素吸附材料的制备与性能研究[D]. 中国矿业大学(北京), 2019.
- WANG G. Fabrication and performance study of amphiphilic montmorillonite mycotoxin adsorption materials[D]. China University of Mining and Technology (Beijing), 2019.
- [20] SUN Z, XU J, WANG G, et al. Hydrothermal fabrication of rectorite based biocomposite modified by chitosan derived carbon nanoparticles as efficient mycotoxins adsorbents[J]. Applied Clay Science, 2020, 184: 105373.
- [21] 黄伟锋, 马传国, 陈小威, 等. 响应面法优化活性炭吸附脱除玉米油中玉米赤霉烯酮[J]. 中国油脂, 2021, 46(3): 98-102.
- HUANG W, MA C, CHEN X, et al. Optimization of activated carbon adsorption to remove zearalenone from corn oil by response surface methodology[J]. China Oils & Fats, 2021, 46(3): 98-102.
- [22] KALAGATUR N K, KUMARVEL K, ALLEN J A, et al. Application of activated carbon derived from seed shells of jatropha curcas for decontamination of zearalenone mycotoxin[J]. Frontiers in Pharmacology, 2017, 8:760.
- [23] GONZÁLEZ-JARTÍN J M, DE CASTRO ALVES L, ALFONSO A, et al. Detoxification agents based on magnetic nanostructured particles as a novel strategy for mycotoxin mitigation in food[J]. Food chemistry, 2019, 294: 60-66.
- [24] 李静静, 徐子伟, 邓波, 等. 一种复合型霉菌毒素吸附剂及其制备方法: CN103521181A[P]. 2014-01-22.
- LI J, XU Z, DENG B, et al. A composite mycotoxin adsorbent and its preparation method: CN103521181A[P]. 2014-01-22.
- [25] 万晶. 霉菌毒素吸附剂对饲料中脱氧雪腐镰刀菌烯醇吸附效果研究[D]. 浙江师范大学, 2014.
- WAN J. Study on the adsorption effect of mycotoxins adsorbent on deoxynivalenol in feed[D]. Zhejiang Normal University, 2014.
- [26] 食品安全国家标准食品添加剂使用标准: GB 2760—2014[S]. National Food Safety Standard Standard for the Use of Food Additives: GB 2760—2014[S].
- [27] 刘淑杰, 邓波, 吴杰, 等. ZEN 污染饲料中添加植物炭黑对大鼠脏器组织、抗氧化指标及免疫功能的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2022, 58(1): 225-230.
- LIU S, DENG B, WU J, et al. Effects of adding plant carbon black to ZEN contaminated feed on organ tissues, antioxidant indexes and immune function of rats[J]. Chinese Journal of Animal Husbandry, 2022, 58(1): 225-230.
- [28] 刘淑杰, 邓波, 吴杰, 等. 植物炭黑对采食玉米赤霉烯酮污染饲料的大鼠生长性能和生殖系统的影响[J]. 动物营养学报, 2021, 33(10): 5827-5837.
- LIU S, DENG B, WU J, et al. Effects of plant carbon black on the growth performance and reproductive system of rats fed zearalenone-contaminated diets[J]. Journal of Animal Nutrition, 2021, 33(10): 5827-5837.
- [29] 吴杰, 邓波, 陈雪颖, 等. 植物炭黑对饲喂脱氧雪腐镰刀菌烯醇污染饲料断奶仔猪生长性能、血清抗氧化指标和肠道二糖酶活性的影响[J]. 动物营养学报, 2021, 33(10): 5917-5926.
- WU J, DENG B, CHEN X, et al. Effects of plant carbon black on growth performance, serum antioxidant indexes and intestinal disaccharidase activity of weaned piglets fed deoxynivalenol contaminated diet[J]. Journal of Animal Nutrition, 2021, 33(10): 5917-5926.
- [30] 王国珍, 何栩. 一种甲壳素微球在吸附呕吐毒素中的应用: CN11250057A[P]. 2020.03.03.
- WANG G, HE X. Application of chitin microspheres in adsorption of vomiting toxin: CN11250057A[P]. 2020.03.03.
- [31] ZHAO Z, LIU N, YANG L, et al. Cross-linked chitosan polymers as generic adsorbents for simultaneous adsorption of multiple mycotoxins[J]. Food Control, 2015, 57: 362-369.
- [32] HAUS M, ŽATKO D, VAŠKOVÁ J, et al. The effect of humic acid in chronic deoxynivalenol intoxication[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2021, 28(2): 1612-1618.
- [33] 王国珍, 邵佳琳, 祝振洲, 等. 呕吐毒素脱毒剂及其制备方法、及呕吐毒素的脱除方法: CN11202206A[P]. 2020.03.03.
- WANG G, SHAO J, ZHU Z, et al. Detoxifier for vomiting toxin and its preparation method, and method for removing vomiting toxin: CN11202206A[P]. 2020.03.03.
- [34] LUO Y, LIU X, YUAN L, et al. Complicated interactions between bio-adsorbents and mycotoxins during mycotoxin adsorption: Current research and future prospects[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 96: 127-134.
- [35] SANGSILA A, FAUCET-MARQUIS V, PFOHL-LESZKOWICZ A, et al. Detoxification of zearalenone by Lactobacillus pentosus strains[J]. Food Control, 2016, 62: 187-192.
- [36] LIEW W P, NURUL A Z, THAN L T, et al. The binding efficiency and interaction of Lactobacillus casei Shirota toward aflatoxin B₁[J]. Frontiers in microbiology, 2018, 9: 1503.
- [37] LU Q, LIANG X, CHEN F. Detoxification of Zearalenone by viable and inactivated cells of Planococcus sp[J]. Food Control, 2011, 22(2): 191-195.
- [38] POLONI V, DOGI C, PEREYRA C M, et al. Potentiation of the effect of a commercial animal feed additive mixed with different probiotic yeast strains on the adsorption of aflatoxin B₁[J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2015, 32(6): 970-976.

- [39] 陈漪汶, 李溪, 雷柳琳, 等. 活性与灭活乳酸菌吸附霉菌毒素的机制[J]. 饲料工业, 2018, 39(18): 8.
 CHEN Y, LI X, LEI L, et al. The mechanism of mycotoxin adsorption by active and inactivated lactic acid bacteria[J]. Feed Industry, 2018, 39(18): 8.
- [40] LIU Y, WU Q, WU X, et al. Structure, preparation, modification, and bioactivities of β -glucan and mannan from yeast cell wall: A review[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 173: 445-456.
- [41] 黄和, 高辉辉, 汪振炯, 等. 金属有机骨架材料用作脱除剂脱除食品原料中真菌毒素的用途[P]. 南京: CN113243479A, 2021.05.18.
 HUANG H, GAO H, WANG Z, et al. The use of metal organic framework as a remover to remove mycotoxins from food materials[P]. Nanjing: CN113243479A, May 18, 2021.
- [42] HORKY P, VENUSOVA E, AULICHOVA T, et al. Usability of graphene oxide as a mycotoxin binder: In vitro study[J]. Plos one, 2020, 15(9): e0239479.
- [43] 刁亚南, 朱连勤, 陈甫, 等. 十六烷基三甲基溴化铵改性 MMT 的制备与表征及其体外吸附霉菌毒素的效果[J]. 动物营养学报, 2020, 32(11): 5388-5396.
 DIAO Y, ZHU L, CHEN F, et al. Preparation and characterization of cetyltrimethylammonium bromide modified montmorillonite and its in vitro adsorption of mycotoxins[J]. Acta Animal Nutrition, 2020, 32(11): 5388-5396.
- [44] KIHAL A, RODRIGUEZ-PRADO M, GODOY C, et al. In vitro assessment of the capacity of certain mycotoxin binders to adsorb some amino acids and water-soluble vitamins[J]. Journal of Dairy Science, 2020, 103(4): 3125-3132.
- [45] KIHAL A, RODRÍGUEZ-PRADO M E, CRISTOFOL C, et al. Quantification of the effect of mycotoxin binders on the bioavailability of fat-soluble vitamins in vitro[J]. Animals, 2021, 11(8): 2251.
- [46] GAO J W, ZHANG H F, PEI S C, et al. In vitro degradative effect of purified zearalenone with or without adsorbents after bionic digestion[J]. Food Science and Technology, 2021.
- [47] 李瑞银, 张增贤, 张秀江, 等. 霉菌毒素吸附剂对西门塔尔育肥牛生长性能、养分表观消化率、血清抗氧化和免疫指标的影响[J]. 动物营养学报, 2021, 33(7): 3914-3924.
 LI R, ZHANG Z, ZHANG X, et al. Effects of mycotoxin adsorbent on growth performance, apparent nutrient digestibility, serum antioxidant and immune indexes of simmental fattening cattle[J]. Journal of Animal Nutrition, 2021, 33(7): 3914-3924.
- [48] 杨凡, 张俊楠, 王金全, 等. 霉菌毒素吸附剂对玉米赤霉烯酮脱毒效果的评价[J]. 动物营养学报, 2020, 32(5): 2116-2125.
 YANG F, ZHANG J, WANG J, et al. Evaluation of the detoxification effect of mycotoxins adsorbent on zearalenone[J]. Acta Animal Nutrition, 2020, 32(5): 2116-2125. 
- 备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。