

# 谷物中 DON、ZEA 毒素的净化、检测、 毒性与生物脱毒技术的研究

吴 丽, 王步军\*

(中国农业科学院作物科学研究所/农业部谷物品质监督检验测试中心, 北京 100081)

**摘 要:** 禾谷镰刀菌在侵染谷物过程中所产生的次生代谢产物——单端孢霉烯族毒素[脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)、雪腐镰刀菌烯醇(nivalenol, NIV)]以及玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEA)是世界上粮食安全的一个重大问题。毒素经固液萃取技术提取后, 需要通过净化处理才能进行检测与分析。目前有多种净化技术用于毒素的净化, 如免疫亲和柱、多功能净化柱等固相萃取柱等, 以及广泛使用且简便经济的 QuEChERS 前处理技术。本文还介绍了禾谷镰刀菌毒素中 DON、ZEA 的检测方法、产毒条件、毒性以及生物脱毒技术等方面的研究进展, 旨在开发与应用更安全、高效、经济的生物脱毒技术进行毒素的防御与去除, 以提供安全、优质的粮食与食品。

**关键词:** 禾谷镰刀菌; 脱氧雪腐镰刀菌烯醇; 玉米赤霉烯酮; 检测; 毒性; 生物脱毒

## A review on the clean-up, determination, toxicity and biotransformation of deoxynivalenol and zearalenone from cereals

WU Li, WANG Bu-Jun\*

(Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Cereal Quality Supervision and Testing Center, Ministry of Agriculture, Beijing 100081, China)

**ABSTRACT:** *Fusarium graminearum* colonizes cereals and produces toxic secondary metabolites, such as trichothecenes [deoxynivalenol (DON), nivalenol (NIV)] and zearalenone(ZEA). Mycotoxins contamination of cereal grains and cereal-based products is a major problem in agricultural grains production. Clean-up is necessary step for determining the mycotoxins extracted by solid-liquid extraction. There are kinds of clean-up methods applied to purify *Fusarium* toxins, including solid phase extraction (SPE) columns, such as specific immunoaffinity clean-up columns and mycosep multifunctional columns, as well as the cheap and effective QuEChERS-base method for cleaning-up complex samples. The determination of foods and feeds contaminated by mycotoxins, toxin-producing conditions, toxicity and biological detoxification of *Fusarium graminearum* toxins were also reviewed in this paper. It is crucial to develop and explore a safe, efficient and cost effective biological detoxification technology, with the purpose of supplying safety and high quality cereals and foods.

**KEY WORDS:** *Fusarium graminearum*; deoxynivalenol; zearalenone; determination; toxicity; biotransformation

\*通讯作者: 王步军, 研究员, 主要研究方向为农产品质量与食品安全。E-mail: wangbujun@caas.cn

\*Corresponding author: WANG Bu-Jun, Professor, Cereal Quality Supervision and Testing Center, Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, No.12 Zhongguancun South Road, Haidian District, Beijing, China, 100081. E-mail: wangbujun@caas.cn

## 1 引言

我们日常食用的谷物,如小麦、玉米、大米、燕麦、荞麦等在农田生长期及储藏过程中易发生多种真菌病害,从而被真菌毒素(mycotoxins)所污染。这不仅严重影响粮食的产量与质量,而且对人畜的健康产生极大的威胁。由于真菌无处不在,以及对真菌产毒条件的控制不力,造成粮食及饲料中真菌毒素的污染问题愈来愈严重,已成为现代农业生产与粮食安全中不可忽视的重大问题。目前赤霉病是麦类生产中最主要病害之一。赤霉病(*Fusarium Head Blight*, FHB 或 Scab)是由镰刀菌属(*Fusarium species*)引起的,常见于小麦、大麦、燕麦等谷物的一种真菌病害,因其分布广泛,已成为一种世界性病害因而备受关注。小麦赤霉病由多种镰刀菌引起,主要包括以下几种菌属:禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)、黄色镰刀菌(*Fusarium culmorum*)、燕麦镰刀菌(*Fusarium avenaceum*)等<sup>[1-2]</sup>。因生态环境的差异,诱发赤霉病的优势菌种有所不同。在我国小麦赤霉病区,禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)是最主要的致病菌种之一,占小麦赤霉病发病率的94%以上<sup>[3]</sup>。禾谷镰刀菌不仅是引起麦类赤霉病的最主要菌种,还是玉米穗腐病的主要病原真菌,能够在玉米上引起赤霉菌茎腐病和穗腐烂病。禾谷镰刀菌产生的次生代谢物质——真菌毒素及其多种衍生物不仅污染谷物,引起呕吐、腹痛、头昏等急性中毒症状,还对人类及牲畜造成生殖发育毒性、免疫毒性、遗传毒性、细胞毒性、致癌等多种危害<sup>[4-7]</sup>。因此,加强对禾谷镰刀菌毒素的污染防治与脱毒技术的研究具有深远意义。本文主要对禾谷镰刀菌毒素的提取净化、检测技术、产毒条件及影响因子、毒性以及生物脱毒技术方面的研究进展进行了综述。

## 2 禾谷镰刀菌次生代谢产物-真菌毒素

禾谷镰刀菌在侵染谷物过程中会产生多种真菌毒素<sup>[8,9]</sup>。禾谷镰刀菌产生的毒素主要包括B型单端孢霉烯族毒素中的脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)、雪腐镰刀菌烯醇(nivalenol, NIV)以及玉米赤霉烯酮及其衍生物<sup>[10,11]</sup>。而脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)及玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEA)是禾谷镰刀菌产生的最主要的毒素。

## 3 毒素的提取、净化与检测技术

### 3.1 毒素的提取净化技术

由于禾谷镰刀菌毒素在小麦、玉米、高粱、燕麦等谷物及其制品中的含量很少,各种测定方法的灵敏度与准确度与样品前处理方法有密切的关系。固液萃取方法是一种最古老的提取技术,目前仍是从谷物、食品原料或其他固体材料中提取真菌毒素最重要的方法。真菌毒素一般采用有机溶剂或有机溶剂与水进行提取,主要的提取试剂为甲醇、乙腈、乙酸乙酯或与水的混合体系。最近广泛采用乙腈-水(84/16, v/v)作为同时提取多种毒素的最佳溶剂体系<sup>[12]</sup>。除了传统的固液萃取技术,有一些先进的技术如超临界流体萃取、加压液相萃取、微波萃取技术等也被应用于毒素的提取。

净化是真菌毒素定量分析必不可少的步骤,其旨在不损失待测毒素的前提下除去干扰杂质的过程,目前有不同的净化技术用于毒素的纯化。常见的针对于禾谷镰刀菌毒素净化技术包括:液-液萃取、固相萃取、免疫亲和柱和多功能净化柱净化技术。固相萃取法(solid phase extraction, SPE)是一个色谱分离过程,它的分离原理、固定相、溶剂的选择与高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)有许多相似之处。固相萃取柱通常装载合适的填料包括硅胶、硅酸镁载体、氧化铝、活性炭、C<sub>8</sub>、C<sub>18</sub>、二氧化硅等,表面选择性地吸附待测物质或杂质。目前专用于真菌毒素分离纯化的固相萃取商业化产品有两类:免疫亲和柱(immunoaffinity column, IAC)和多功能净化柱(multifunctional purification column, MFC),这两种净化柱与其他净化方法相比,具有操作简便、特异性强、灵敏度高、回收率高、快速等优点,净化效果理想。

QuEChERS(quick, easy, cheap, effective, rugged and safe)是目前一种通用性强、快速、简便且经济的前处理方法,被广泛应用于农药残留、兽药残留、毒素等的净化与检测中。配合液质、气质的高灵敏度、选择性,QuEChERS技术得到了长足的发展。其主要原理为固体样品加盐后经过乙腈萃取,接着通过液固萃取(也就是分散基质萃取),加入盐类物质脱水、乙二胺-*N*丙基硅烷(primary secondary amine, PSA)、C<sub>18</sub>、石墨化炭黑等吸附剂去除大部分干扰物,萃取液就能直接进行分析<sup>[13]</sup>。

### 3.2 毒素的检测技术

薄层色谱法(thin-layer chromatography, TLC)是最早建立的一种毒素检测方法, 具有简便、经济、对设备和检验人员要求不高等特点。但由于 TLC 法的精确度较低、操作过程繁杂且分析结果的可重复性和再现性差。尤其是近年来随着高效液相色谱仪、气相色谱仪、液质联用仪等高新仪器的应用与推广, TLC 法在毒素的定量分析与检测方面的应用愈来愈少。高效液相色谱法(HPLC)是定量分析真菌毒素最常用的方法, 其中应用最广的是反相(reversed phase, RP)液相色谱。由于荧光检测器(fluorescence detector, FLD)灵敏度高, 它是目前为止在使用 HPLC 检测 ZEA 时采用最多的一种检测器。康维钧<sup>[14]</sup>等使用反相液相色谱配置荧光检测器( $\lambda_{ex}=280\text{ nm}$ ,  $\lambda_{em}=460\text{ nm}$ ), 流动相为甲醇-水(20/80, v/v)测定玉米中的 ZEA, 方法检出限为 3 ng/g, 回收率为 84.8%~89.2%。Mateo 等<sup>[15]</sup>在对玉米、小麦等多种粮食中的 ZEA 进行对比研究时发现 FLD 的最低检出限是紫外检测器(UV detector)的 1/3 左右。近年来, 液质联用(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS)技术在毒素的检测与分析中广泛使用, 尤其适用于多种毒素的同时分析与检测。孙娟等<sup>[16]</sup>建立了使用超高效液相色谱串联质谱法同时测定谷物中 12 种真菌毒素的检测方法。对该方法进行添加回收验证, 其回收率为 60%~122.4%, 12 种真菌毒素的检出限为 0.016~1.000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。Soleimany 等<sup>[17]</sup>使用 UPLC-MS/MS 建立了一种 DON、ZEA、T-2、HT-2、伏马菌素、黄曲霉素 (AFs)、赭曲霉毒素 A (ochratoxin A, OTA)多种毒素同时测定的方法, 该方法的最低检出限为 0.01~25.00 ng/g, 最低定量限为 0.02~40.00 ng/g, 加标回收率为 83.5%~107.3%。

### 4 禾谷镰刀菌的产毒条件及影响因素

禾谷镰刀菌可产生 A、B 两类单端孢霉烯族毒素及玉米赤霉烯酮, 所产毒素的种类及产毒水平受众多环境因素如基质种类、温度、湿度、pH 值、光照时间等因素的影响<sup>[18]</sup>。对禾谷镰刀菌产毒条件的研究不仅可以确定影响毒素产生的主要因素, 还可以用于预测与评估在自然条件下真菌病害对粮食产生的危害与损失, 以便采取合理措施。

罗巧燕等<sup>[19]</sup>考察了不同的培养基、培养时间、通气量及温度对禾谷镰刀菌产毒情况的影响。其实验

结果表明, 小麦、玉米及大米 3 种固体培养基中小麦培养基中的营养成分最适宜毒素的产生; 分别设置 15、20、25、30、35、40 d 的培养时间, 以培养 30 d 毒素的含量最高; 分别在 22、25、28  $^{\circ}\text{C}$  条件下培养真菌, 25  $^{\circ}\text{C}$  条件下毒素含量最高, 此外通气量大有助于抑制毒素的产生。Ryu<sup>[20]</sup>研究了温度及培养时间对禾谷镰刀菌的菌丝生长及产毒量的影响, 通过设置不同的温度来考察 ZEA 的产量。ZEA 含量最高的培养条件为菌种先在 25  $^{\circ}\text{C}$  温度下培养两周, 然后在 15  $^{\circ}\text{C}$  条件下继续培养两周。该研究表明禾谷镰孢的最佳生长温度为 25  $^{\circ}\text{C}$  且水分活度大于 0.88, 而最佳产毒条件为 15  $^{\circ}\text{C}$ 。

## 5 真菌毒素的毒性

禾谷镰刀菌侵染谷物后产生的多种真菌毒素不仅污染谷物及其制品, 还可对人、畜产生广泛的毒性效应, 如食欲降低、体质量减轻、代谢紊乱甚至更为严重细胞毒性、免疫毒性、遗传毒性、生殖系统毒性以及致癌毒性等。

### 5.1 急性毒性

DON 急性中毒的主要表现为头晕、呕吐、站立不稳、反应迟钝、食欲下降、头痛、腹泻和中枢神经紊乱等, 严重者可导致死亡。尽管 DON 在单端孢霉烯族毒素中的毒性最小, 但是 DON 的致呕吐和厌食的潜力较其他单端孢霉烯族化合物相比更强。可引起雏鸭、猪、猫、狗、鸽子等动物的呕吐反应和拒食反应, 其中猪对 DON 最为敏感<sup>[21]</sup>。DON 的致呕吐作用机制能是由 DON 对消化道黏膜的强烈刺激反射作用于呕吐中枢而造成的, 也可能是由于 DON 能够抑制中枢神经系统中 5-羟色胺和外周 5-羟色胺受体的活性, 而 5-羟色胺是调节动物采食的重要生物胺类物质<sup>[22]</sup>。

### 5.2 生殖毒性

ZEA 与内源性雌激素在结构上相似, 故能像雌激素一样, 通过与雌激素受体(estrogen receptor, ER)竞争性的结合, 激活雌激素反应元件, 使受体发生二聚化, 从而发生一系列拟雌激素效应。其雌激素作用已经在家禽和猪试验中得到证实, 尤其是猪对 ZEA 最为敏感。ZEA 能对人和动物的繁殖周期、排卵、定植和受孕产生不利影响, 而且可降低家畜繁殖力。Sambuu 等<sup>[23]</sup>研究表明, 培养基质中添加 ZEA 1000

$\mu\text{g/L}$  能显著降低猪卵母细胞成熟率以及精子穿透力。Benzoni 等<sup>[24]</sup>的研究发现 ZEA 还能显著降低精子活力。Jiang 等<sup>[25]</sup>发现, 与饲喂基础日粮组相比, 日粮添加 ZEA 1 mg/kg 可显著增加断奶母猪生殖器官相对重量、阴户大小, 并显著降低断奶公猪生殖器官指数。有报道<sup>[26]</sup>称, 食用 ZEA 污染的食品, 可能是导致少女性早熟的因素之一。

### 5.3 细胞毒性

DON 具有很强的细胞毒性, 对原核细胞、真核细胞均具有明显的毒性作用。DON 主要作用于增长迅速、处于分裂状态的细胞, 如胃肠道黏膜细胞、淋巴细胞、胸腺细胞、骨髓造血细胞等都会受到损伤, 所引起的损伤与辐射射线引起的细胞损伤相似<sup>[27-28]</sup>。DON 的毒性作用可能是由于其抑制了肽基转移酶活性中心, 并干扰了 DNA 连接酶的活性而影响蛋白质和 DNA 的合成。此外, DNA 还可抑制脂肪合成和磷脂摄取而损害细胞膜的功能并且能抑制蛋白质的合成<sup>[29]</sup>。Yang 等报道<sup>[30]</sup>, 在巨噬细胞 RAW264.7 和单核细胞 U937 模型中, DON 诱导细胞凋亡与 MAPKs 的活性密切相关, 而 MAPKs 与细胞凋亡和存活能力密切相关。DON 在一定浓度下抑制了部分 mRNA 的翻译, 且抑制了 p38 和细胞外调节蛋白激酶 (extracellular-regulated kinase, ERK) 活性, 从而诱发了抑癌基因 p53 的磷酸化, 最终导致细胞加速死亡。Mikami 等<sup>[31]</sup>将不同浓度的 DON 作用于猪体外肝细胞, 研究结果表明 10、100  $\mu\text{g/mL}$  剂量组作用于肝细胞 6 h 出现细胞凋亡, 并验证了细胞凋亡的程度与 DON 的剂量呈依赖关系。DON 对体外培养的人源肝细胞也有明显的毒性<sup>[32]</sup>, 能够剂量依赖性地降低细胞活力、蛋白质含量和白蛋白的分泌。

### 5.4 免疫系统毒性

机体的免疫系统包括免疫器官、免疫细胞及免疫因子 3 类。DON、ZEA 毒素对免疫系统的毒性表现在对免疫器官的损伤、对免疫细胞的凋亡及影响免疫因子的分泌等方面。ZEA 能影响动物的白细胞细胞数、分化细胞数、免疫球蛋白 IgG、IgM 或 IgA 的血清浓度等免疫参数, 且高剂量的 ZEA 抑制淋巴细胞的增生和白细胞介素的产生。梁梓森等<sup>[33]</sup>研究显示, ZEA 能导致胸腺细胞和脾淋巴细胞增生抑制, 并诱导细胞凋亡的发生, 对小鼠胸腺和脾脏有明显的毒害作用。

DON 对免疫系统的毒性作用主要表现在具有明显的急性和慢性毒性作用, 引起食欲下降、呕吐、体质量减轻和代谢紊乱。DON 既是一种免疫抑制剂, 又是一种免疫促进剂。大量动物研究<sup>[34]</sup>证实, DON 可以明显抑制动物的免疫机能, 能诱导小鼠胸腺、脾、小肠黏膜集合淋巴的 T 细胞、B 细胞和  $\text{IgA}^+$  细胞发生凋亡。DON 的免疫抑制作用还表现为 DON 通过其倍半萜烯结构抑制转录、翻译和蛋白合成过程。DON 能够影响体内白细胞介素并能诱导体内免疫球蛋白分泌紊乱<sup>[35]</sup>, 免疫球蛋白是免疫病理结果的一种特征指标, 为 DON 对动物免疫系统的影响提供了一种新的路径。DON 能够显著提高小鼠 IgA 水平, 其作用机制在于 DON 能够增加由巨噬细胞和 T 淋巴细胞产生的细胞因子介导的 IgA 分泌细胞的数量<sup>[36]</sup>。这是 DON 对免疫系统的促进作用, 从而引起机体代谢的紊乱。因而, DON 等毒素对动物免疫系统的影响是多方面、多步骤、复杂的, 需要进一步研究其作用机制。

## 6 禾谷镰刀菌毒素的生物脱毒技术

以往对毒素的脱毒使用较多的是物理与化学脱毒技术。常见的谷物中真菌毒素物理脱毒方法主要有人工挑拣、水洗、压煮、脱壳、辐照、热处理、吸附剂吸附等<sup>[37]</sup>。由于真菌毒素的性质是比较稳定的, 并能耐受较高的温度, 在加工过程中很难被破坏, 从而导致谷物制品被真菌毒素污染<sup>[38-39]</sup>。化学脱毒法主要是通过毒素与酸、碱、氧化剂、有机溶剂等化学作用。然而使用化学方法脱毒时的一个主要缺点是, 尽管能够达到脱毒的目的, 但是会残留其他的有毒物质或降低谷物营养价值的化合物, 因而其应用性受到一定的限制。近年来生物技术用于毒素降解与脱毒的研究越来越多。目前的研究主要集中于以下几个方面: 筛选、利用拮抗微生物、植物产生的抑菌物质防控粮食及其制品中毒素的产生; 筛选、克隆对真菌毒素有专一降解作用的生物活性酶进行脱毒; 培育抗真菌毒素的优良农作物品种等<sup>[40]</sup>。

单端孢霉烯族毒素的生物降解机制包括分子的脱环氧化、烯基的氧化、脱乙酰化、羟基化和羰基化等。DON 的 C12、C13 位的环氧结构和 C3-OH 基团是主要致毒基团<sup>[41]</sup>, 因此这两个基团是 DON 降解中主要研究的作用位点。C12 和 C13 位的环氧结构可抑制蛋白质的合成, 这是 B 类单端孢霉烯族化合物的

致毒作用方式。ZEA 的降解机制有酯水解机制、醇化机制、加氧成酯机制等。ZEA 的二羟基苯甲酸内酯键可在内酯水解酶的作用下断裂, 形成的断裂产物不能与雌激素受体结合, 从而使毒性减弱。ZEA 内酯环 C'-6 上的羰基上加氢生成玉米赤霉烯醇 (zearalenol, ZOL), 然而生成的降解产物仍然具有毒性。因此在研究毒素的降解效果时不能仅靠检测目标毒素含量的减少来进行评价, 还需要同时进行降解产物及其毒性进行评估。

### 6.1 微生物脱毒

许多微生物对真菌具有拮抗作用或对毒素具有脱除作用, 包括食品级的乳酸菌、酵母菌、枯草芽孢杆菌、漆斑菌等, 其对真菌的拮抗作用表现在: 一方面微生物代谢产物抑制真菌生长。乳酸菌等微生物产生的一些低分子量的代谢产物如有机酸、过氧化氢、羟基脂肪酸、蛋白质物质都具有抑制真菌生长的活性<sup>[42-45]</sup>。另一方面, 乳酸菌、酵母菌等多种微生物对真菌毒素的清除作用表现在细胞壁的物理吸附作用, 并且加热和酸处理会增加细胞壁对毒素的吸附作用。细胞壁对毒素的吸附是非共价键的疏水作用, 具有可逆性, 水洗或有机溶剂浸提都能重新释放毒素, 吸附效果与菌丝体浓度有关<sup>[46-47]</sup>。

Lavermicocca 等<sup>[48]</sup>的研究表明从酸面团中分离的植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)十倍浓缩发酵液几乎完全抑制了禾谷镰刀菌 (*Fusarium graminearum*)、青霉菌(*Penicillium corylophilum*)等霉菌的孢子萌芽。Mokoena 等<sup>[49]</sup>发现乳酸菌在玉米中发酵 4 d 后能降低伏马菌素 B1 及 ZEA 的量达 68%~75%。Kimura 等<sup>[50]</sup>研究发现 *Clonostachys rosea* 能够破坏 ZEA 的内酯环, 该菌株作用于 ZEA 后, 其毒性降低很多。Cserhati 等<sup>[51]</sup>研究了 32 种红球菌 (*Rhodococcus*)对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>、伏马毒素 B<sub>1</sub>、ZEA、T<sub>2</sub>、OTA<sub>1</sub> 降解能力, 并考察了 ZEA 的降解产物的毒性, 并筛选出了同时对多种毒素降解效果最好的菌种。此外, 从鼠类、家禽、反刍动物及鱼类肠道中也分离出多种可以降解禾谷镰刀菌毒素的微生物。Fuchs<sup>[52]</sup>发现牛瘤胃微生物 BBSH797 能够降解 DON, 且代谢产物为检测到单一的 DOM-1 产物, 这在目前是 DON 毒素降解产物中毒性最低的产物<sup>[37]</sup>。

### 6.2 生物活性酶脱毒

微生物及其动物体内有许多活性酶具有破坏毒

素结构, 从而实现毒性降低的功能。Takahashi-Ando 等<sup>[53]</sup>首次发现粉红螺旋聚孢霉的菌株 (*Clonostachys rosea*)IFO 7063 能够很大程度上降低 ZEA 的毒性, 其机制是该菌通过代谢作用产生的一种碱性内酯水解酶能够降解 ZEA, 对该酶 ZHD101 编码基因进行了测序并能成功在异源宿主中实现表达。Utermark 等<sup>[54]</sup>也从粉红黏帚菌中分离出 zes2 酶, 该酶也主要通过作用于内酯键来降解 ZEA。Yu 等<sup>[55]</sup>从农田土壤中分离出一株不动杆菌属菌株 SM04, 将其接种于含 ZEA 毒素的培养基上, 采用 HPLC、LC-MS 分析液体培养基提取物, 结果表明, 培养 12 h 后的提取液中不含 ZEA 及其衍生物。将 ZEA 降解菌不动杆菌 SM04 中过氧化物酶的基因 Prx 克隆后在大肠杆菌 BL21 及酿酒酵母中都能成功表达重组后的 Prx 仍具有降解 ZEA 的能力, 表明该过氧化物酶具有降解 ZEA 的能力<sup>[56-57]</sup>。

### 6.3 天然提取物脱毒

自然界中一些植物、微生物的天然提取物, 如酚酸类物质、挥发油、蛋白质及其多肽具有杀菌与抑制真菌生长的特性<sup>[58-61]</sup>。有研究<sup>[62-63]</sup>表明这些天然提取物不仅能抑制禾谷镰刀菌的生长并能抑制毒素的产量。

Pagnussatt 等<sup>[62]</sup>研究了从螺旋藻 (*Spirulina sp.*)LEB-18 中提取的酚类物质对禾谷镰孢菌的两个谱系的 4 种菌株的孢子生长及毒素产量的影响, 结果表明含有 3%(w/v)螺旋藻 LEB-18 酚酸类物质提取物的改良马铃薯葡萄培养基能够显著抑制菌丝的生长速度、菌落半径、能够使氨基葡萄糖水平及淀粉酶的活性分别降低 40%与 62%并且能够使单端孢霉毒素 DON 与 NIV 的含量降低 68%。Oliveira 等<sup>[58]</sup>的研究表明可食用植物中的酚类提取物对黄曲霉 (*Aspergillus flavus*)的生长抑制及产毒抑制作用, 含有酚酸(30 μg/mL, w/v)的香蕉果浆、茄子(30 μg/mL, w/v)及马铃薯(酚酸含量分别为 50 μg/mL, 67 μg/mL, w/v)果浆均能降低黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 含量。这些研究表明植物中的天然提取物在未来的抑菌与脱毒方面具有潜在的广阔应用市场, 但是对其作用机制仍需进一步展开研究。

目前, 在通过分子生物学及植物育种过程寻找、鉴定小麦、玉米等植株抵抗禾谷镰刀菌数量性状遗传位点(QTLs)方面的研究已经取得了突破性进展<sup>[64-65]</sup>,

根据已经鉴定的 QTLs (Quantitative Trait Loci), 通过转基因技术人工培育出具有较强抵抗力的抗赤霉病植株, 培育出新抗性品种以减少谷物中毒素含量<sup>[66]</sup>, 也是一项具有重要意义的可行性措施。通过各种生物技术实现禾谷镰刀菌的防御与毒素的降解、消除, 以确保谷物乃至食品的质量安全具有重要意义。

#### 参考文献

- [1] De Nijs M, Rombouts F, Notermans S. *Fusarium* molds and their mycotoxins[J]. J Food Safe, 1996, 16(1): 15-58.
- [2] Abramson D, Clear R, Usleber E, et al. *Fusarium* species and 8-keto-trichothecene mycotoxins in manitoba barley 1[J]. Cereal Chem, 1998, 75(1): 137-141.
- [3] 杨继芝, 王继师, 龚国淑, 等. 不同禾谷镰刀菌对小麦产量及其主要性状的影响[J]. 河南农业科学, 2010, 9: 91-95.  
Yang J, Wang J, Gong G, et al. Effect of different fusarium graminearum on yield and its important components of wheat [J]. J Henan Agric Sci, 2010, 9: 91-95.
- [4] Zinedine A, Soriano JM, Molto JC, et al. Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: an oestrogenic mycotoxin[J]. Food Chem Toxicol, 2007, 45(1): 1-18.
- [5] Minervini F, Dell'Aquila ME. Zearalenone and reproductive function in farm animals[J]. Int J Mole Sci, 2008, 9(12): 2570-2584.
- [6] Gromadzka K, Waskiewicz A, Chelkowski J, et al. Zearalenone and its metabolites: occurrence, detection, toxicity and guidelines [J]. World Mycotoxin J, 2008, 1(2): 209-220.
- [7] Guo J, Zhang LS, Wang YM, et al. Study of embryotoxicity of *Fusarium* mycotoxin butenolide using a whole rat embryo culture model[J]. Toxicol Vitro, 2011, 25(8): 1727-1732.
- [8] Nicholson P, Simpson D, Weston G, et al. Detection and quantification of *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum* in cereals using PCR assays[J]. Physiol Mole Plant Pathol, 1998, 53(1): 17-37.
- [9] 李凤琴, 于钊钊, 邵兵, 等. 2007-2008 年中国谷物中隐蔽型脱氧雪腐镰刀菌烯醇及多组分真菌毒素污染状况[J]. 中华预防医学杂志, 2011, 45(1): 57-63.  
Li FQ, Yu CC, Shao B, et al. Natural occurrence of masked deoxynivalenol and multi mycotoxins in cereal from China harvested in 2007 and 2008 [J]. Chin J Prev Med, 2011, 45(1): 57-63.
- [10] Rotter BA. Invited review: toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin)[J]. J Toxicol Environ Health Part A, 1996, 48(1): 1-34.
- [11] Stob M, Baldwin R, Tuite J, et al. Isolation of an anabolic, uterotrophic compound from corn infected with *Gibberella zeae*[J]. Nature, 1962, 196: 1318.
- [12] Juan C, Ritieni A, Mañes J. Determination of trichothecenes and zearalenones in grain cereal, flour and bread by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Food Chem, 2012, 134(4): 2389-2397.
- [13] Arroyo-Manzanares N, Huertas-Pérez JF, Gámiz-Gracia L, et al. A new approach in sample treatment combined with UHPLC-MS/MS for the determination of multiclass mycotoxins in edible nuts and seeds[J]. Talanta, 2013, 115: 61-67.
- [14] 康维钧, 王玉平, 杨福江, 等. 反相高效液相色谱法测定玉米中玉米赤霉烯酮[J]. 分析实验室, 2007, 26(10): 66-68.  
Kang WJ, Wang YP, Yang FJ, et al. Determination of zearalenone in corn by high performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. Chin J Anal Lab, 2007, 26(10): 66-68.
- [15] Mateo J, Mateo R, Hinojo M, et al. Liquid chromatographic determination of toxigenic secondary metabolites produced by *Fusarium* strains[J]. J Chromatogr A, 2002, 955(2): 245-256.
- [16] 孙娟, 李为喜, 张妍, 等. 用超高效液相色谱串联质谱法同时测定谷物中 12 种真菌毒素[J]. 作物学报, 2014, 40: 691-701.  
Sun J, Li W, Zhang Y, et al. Simultaneous determination of twelve mycotoxins in cereals by ultra-high performance Liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Acta Agron Sin. 2014, 40(4): 691-701.
- [17] Soleimany F, Jinap S, Faridah A, et al. A UPLC-MS/MS for simultaneous determination of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone, DON, fumonisins, T-2 toxin and HT-2 toxin, in cereals[J]. Food Contr, 2012, 25(2): 647-653.
- [18] 徐德月, 王伟, 陕西平, 等. 禾谷镰刀菌产毒影响因子预测微生物学筛选[J]. 中国公共卫生, 2013, 29(1): 72-76.  
Xu D, Wang W, Shan X, et al. Screening of toxin production influence factors of *Fusarium graminearum* with predictive microbiology method [J]. Chin J Public Health, 2013, 29(1): 72-76.
- [19] 罗巧燕, 曹远银, 宋慧君, 等. 小麦赤霉病菌固体培养基产毒条件研究[J]. 河南农业科学, 2009, 5: 94-96.  
Luo Q, Cao Y, Song H, et al. Study on Toxin Producing Conditions of *Fusarium graminearum* in Solid Media [J]. J Henan Agric Sci, 2009, 5: 94-96.
- [20] Ryu D. The occurrence, production and stability of zearalenone and other *Fusarium* toxins[D]. Graduate College Univ Nebraska, 1997.
- [21] 王文龙, 刘阳, 李少英, 等. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇与人类健康[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(6): 153-157.  
Wang W, Liu Y, Li S, et al. Deoxynivalenol and human health [J]. Food Res Dev, 2008, 29(6): 153-157.

- [22] 尹杰, 伍力, 彭智兴, 等. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇的毒性作用及其机制[J]. 动物营养学报, 2012, 24(1): 48-54.  
Yin J, Wu L, Peng Z, *et al.* Deoxynivalenol: toxicity and mechanisms of action [J]. Chin J Anim Nutr, 2012, 24(1): 48-54.
- [23] Sambuu R, Takagi M, Namula Z, *et al.* Effects of exposure to zearalenone on porcine oocytes and sperm during maturation and fertilization in vitro[J]. J Reprod Dev, 2011, 57(4): 547.
- [24] Benzoni E, Minervini F, Giannoccaro A, *et al.* Influence of in vitro exposure to mycotoxin zearalenone and its derivatives on swine sperm quality[J]. Reprod Toxicol, 2008, 25(4): 461-467.
- [25] Jiang S, Yang Z, Yang W, *et al.* Effect of purified zearalenone with or without modified montmorillonite on nutrient availability, genital organs and serum hormones in post-weaning piglets[J]. Livestock Sci, 2012, 144(1): 110-118.
- [26] Massart F, Saggese G. Oestrogenic mycotoxin exposures and precocious pubertal development[J]. Int J Androl, 2010, 33(2): 369-376.
- [27] 李国林, 薛华丽, 毕阳, 等. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇的毒性及脱毒研究进展[J]. 食品工业科技, 2013, 34: 380-384.  
Li G, Xue H, Bi Y, *et al.* Research progress in toxicity and detoxification of deoxynivalenol [J]. Sci Technol Food Ind, 2013, 34: 380-384.
- [28] Harvey R, Kubena L, Huff W, *et al.* Hematologic and immunologic toxicity of deoxynivalenol (DON)-contaminated diets to growing chickens[J]. Bull Environ Contamin Toxicol, 1991, 46(3): 410-416.
- [29] Awad W, Ghareeb K, Dadak A, *et al.* Genotoxic effects of deoxynivalenol in broiler chickens fed with low protein diets[J]. Poult Sci, 2012, 91: 550-555.
- [30] Yang GH, Jarvis BB, Chung YJ, *et al.* Apoptosis induction by the satratoxins and other trichothecene mycotoxins: relationship to ERK, p38 MAPK, and SAPK/JNK activation[J]. Toxicol Appl Pharm, 2000, 164(2): 149-160.
- [31] Mikami O, Yamamoto S, Yamanaka N, *et al.* Porcine hepatocyte apoptosis and reduction of albumin secretion induced by deoxynivalenol[J]. Toxicology, 2004, 204(2): 241-249.
- [32] Königs M, Schwerdt G, Gekle M, *et al.* Effects of the mycotoxin deoxynivalenol on human primary hepatocytes[J]. Mole Nutr Food Res, 2008, 52(7): 830-839.
- [33] 梁梓森, 许利娜, 马勇江, 等. 玉米赤霉烯酮对小鼠胸腺上皮细胞的毒性作用[J]. 中国兽医学报, 2009, 29 (7): 894-897.  
Liang Z, Xu L, Ma Y, *et al.* Cytotoxicity of zearalenone for thymic epithelial cells in mice [J]. Chin J Vet Med, 2009, 29 (7): 894-897.
- [34] 王会艳, 张祥宏. 常见镰刀菌素与细胞凋亡的研究进展[J]. 卫生研究, 2000, 29(3): 181-183.  
Wang H, Zhang X. Recent progress in the study of common fusarium mycotoxins on apoptosis of cells [J]. J Hyg Res, 2000, 29(3): 181-183.
- [35] Pestka JJ, Zhou HR, Moon Y, *et al.* Cellular and molecular mechanisms for immune modulation by deoxynivalenol and other trichothecenes: unraveling a paradox[J]. Toxicol Lett, 2004, 153(1): 61-73.
- [36] Pestka JJ. Deoxynivalenol-induced IgA production and IgA nephropathy-aberrant mucosal immune response with systemic repercussions[J]. Toxicol Lett, 2003, 140: 287-295.
- [37] Jouany JP. Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds[J]. Animal Feed Sci Technol, 2007, 137(3): 342-362.
- [38] Castelo MM, Katta SK, Sumner SS, *et al.* Extrusion cooking reduces recoverability of fumonisin B1 from extruded corn grits[J]. J Food Sci, 1998, 63(4): 696-698.
- [39] Molinié A, Faucet V, Castegnaro M, *et al.* Analysis of some breakfast cereals on the French market for their contents of ochratoxin A, citrinin and fumonisin B 1: development of a method for simultaneous extraction of ochratoxin A and citrinin[J]. Food Chem, 2005, 92(3): 391-400.
- [40] 孙长坡, 代岩石, 王松雪, 等. 利用生物技术防控, 消减粮食及其制品中的真菌毒素[J]. 中国粮油学报, 2009, (11): 97-101.  
Sun C, Dai Y, Wang S, *et al.* Preventing and detoxifying mycotoxin in grains and their products by biotechnology[J]. J Chin Cereal Oil Assoc, 2009, (11): 97-101.
- [41] Pestka JJ. Deoxynivalenol: toxicity, mechanisms and animal health risks[J]. Animal Feed Sci Technol, 2007, 137(3): 283-298.
- [42] Sjögren J, Magnusson J, Broberg A, *et al.* Antifungal 3-hydroxy fatty acids from *Lactobacillus plantarum* MiLAB 14[J]. Appl Environ Microbiol, 2003, 69(12): 7554-7557.
- [43] Ström K, Schnürer J, Melin P. Co-cultivation of antifungal *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 and *Aspergillus nidulans*, evaluation of effects on fungal growth and protein expression[J]. FEMS Microbiol Lett, 2005, 246(1): 119-124.
- [44] Magnusson J, Ström K, Roos S, *et al.* Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria[J]. FEMS Microbiol Lett, 2003, 219(1): 129-135.
- [45] Mandal V, Sen SK, Mandal NC. Detection, isolation and partial characterization of antifungal compound (s) produced by *Pediococcus acidilactici* LAB 5[J]. Nat Product Commun, 2007, 2(6): 671-674.
- [46] El-Nezami H, Polychronaki N, Salminen S, *et al.* Binding rather than metabolism may explain the interaction of two food-grade lactobacillus strains with zearalenone and its derivative  $\alpha$ -zearalenol [J]. Appl Environ Microbiol, 2002, 68(7): 3545-

- 3549.
- [47] Haskard CA, El-Nezami HS, Kankaanpää PE, *et al.* Surface binding of aflatoxin B1 by lactic acid bacteria[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2001, 67(7): 3086–3091.
- [48] Lavermicocca P, Valerio F, Evidente A, *et al.* Purification and characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66(9): 4084–4090.
- [49] Mokoena MP, Chelule PK, Gqaleni N. Reduction of fumonisin B 1 and zearalenone by lactic acid bacteria in fermented maize meal[J]. *J Food Prot*, 2005, 68(10): 2095–2099.
- [50] Kimura M, Takahashi-Ando N, Nishiuchi T, *et al.* Molecular biology and biotechnology for reduction of *Fusarium* mycotoxin contamination[J]. *Pestic Biochem Physiol*, 2006, 86(3): 117–123.
- [51] Cserhádi M, Kriszt B, Krifaton C, *et al.* Mycotoxin-degradation profile of *Rhodococcus* strains[J]. *Int J Food Microbiol*, 2013, 166(1): 176–185.
- [52] Fuchs E, Binder E, Heidler D, *et al.* Structural characterization of metabolites after the microbial degradation of type A trichothecenes by the bacterial strain BBSH 797[J]. *Food Addit Contam*, 2002, 19(4): 379–386.
- [53] Takahashi-Ando N, Kimura M, Kakeya H, *et al.* A novel lactonohydrolase responsible for the detoxification of zearalenone: enzyme purification and gene cloning[J]. *Biochem J*, 2002, 365: 1–6.
- [54] Utermark J, Karlovsky P. Role of zearalenone lactonase in protection of *Gliocladium roseum* from fungitoxic effects of the mycotoxin zearalenone[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2007, 73(2): 637–642.
- [55] Yu Y, Qiu L, Wu H, *et al.* Degradation of zearalenone by the extracellular extracts of *Acinetobacter* sp. SM04 liquid cultures[J]. *Biodegradation*, 2011, 22(3): 613–622.
- [56] Tang Y, Xiao J, Chen Y, *et al.* Secretory expression and characterization of a novel peroxiredoxin for zearalenone detoxification in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Microbiol Res*, 2013, 168(1): 6–11.
- [57] Yu Y, Wu H, Tang Y, *et al.* Cloning, expression of a peroxiredoxin gene from *Acinetobacter* sp. SM04 and characterization of its recombinant protein for zearalenone detoxification[J]. *Microbiol Res*, 2012, 167(3): 121–126.
- [58] Oliveira MS, Furlong EB. Screening of antifungal and antimycotoxigenic activity of plant phenolic extracts[J]. *World Mycotoxin J*, 2008, 1(2): 139–146.
- [59] Pagnussatt F, Bretanha C, Garda-Bufferon J, *et al.* Extraction of fungal amylase inhibitors from cereal using response surface methodology[J]. *Int Res J Agric Sci Soil Sci*, 2011, 1(10): 428–434.
- [60] Souza MM, Prietto L, Ribeiro AC, *et al.* Assessment of the antifungal activity of *Spirulina platensis* phenolic extract against *Aspergillus flavus*[J]. *Ciência e Agrotecnol*, 2011, 35(6): 1050–1058.
- [61] da Cruz Cabral L, Fernández Pinto V, Patriarca A. Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods[J]. *Int J Food Microbiol*, 2013, 166(1): 1–14.
- [62] Pagnussatt FA, Kupski L, Darley FT, *et al.* *Fusarium graminearum* growth inhibition mechanism using phenolic compounds from *Spirulina* sp[J]. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 2013, 33: 75–80.
- [63] Pagnussatt FA, Del Ponte EM, Garda-Bufferon J, *et al.* Inhibition of *Fusarium graminearum* growth and mycotoxin production by phenolic extract from *Spirulina* sp[J]. *Pestic Biochem Physiol*, 2014, 108: 21–26.
- [64] Buerstmayr H, Steiner B, Hartl L, *et al.* Molecular mapping of QTLs for *Fusarium* head blight resistance in spring wheat. II. Resistance to fungal penetration and spread[J]. *Theoretic Appl Gene*, 2003, 107(3): 503–508.
- [65] Miedaner T, Wilde F, Steiner B, *et al.* Stacking quantitative trait loci (QTL) for *Fusarium* head blight resistance from non-adapted sources in an European elite spring wheat background and assessing their effects on deoxynivalenol (DON) content and disease severity[J]. *Theoretic Appl Gene*, 2006, 112(3): 562–569.
- [66] Higa-Nishiyama A, Takahashi-Ando N, Shimizu T, *et al.* A model transgenic cereal plant with detoxification activity for the estrogenic mycotoxin zearalenone[J]. *Transgen Res*, 2005, 14(5): 713–717.

(责任编辑:赵静)

## 作者简介



吴丽, 博士研究生, 主要研究方向为农产品质量与食品安全。  
E-mail: wuli5151@126.com



王步军, 博士生导师, 研究员, 主要研究方向为农产品质量安全与风险评估。  
E-mail: wangbujun@caas.cn