

霉菌毒素检测与脱毒技术研究进展

李彦伸^{1,2*}, 卢国柱², 曲劲尧², 殷楠³, 林煜程², 尤艳莉²

(1. 国家食品安全风险评估中心, 北京 100022; 2. 烟台大学生命科学学院, 烟台 264005;
3. 南昌大学生命科学学院, 南昌 330031;)

摘要: 霉菌毒素是某些霉菌在谷物或饲料上生长繁殖过程中产生的有毒代谢物, 威胁动物乃至人类的健康。有关毒素的脱毒技术一直是国内外的一个研究热点, 其中生物法脱毒是现在最有前景的一种脱毒方法, 主要通过微生物的吸附和降解作用来达到脱毒的效果。本文结合最新的研究成果, 详细介绍了霉菌毒素的毒性、污染现状及主要的检测方法, 并对霉菌毒素物理、化学、生物脱毒技术进行了概述, 并对未来的研究方向加以展望。

关键词: 霉菌毒素; 污染现状; 检测技术; 脱毒技术

Research progress of mycotoxin detection and detoxification techniques

LI Yan-Shen^{1,2*}, LU Guo-Zhu², QU Jing-Yao², YIN Nan³, LIN Yu-Cheng², YOU Yan-li²,

(1. China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100022, China; 2. College of Life Sciences, Yantai University, Yantai 264005, China; 3. College of Life Sciences, Nanchang University, Nanchang 330031, China)

ABSTRACT: Mycotoxins are toxic metabolites produced by certain molds when growing on grain or feed. These mycotoxins bring severe toxic effects to animals and even human beings. For the control of mycotoxins contamination, detoxification technologies draw a serious of concerns of scientist all over the world. Biological detoxification for adsorption or degradation of mycotoxins is one of the most effective technologies at present. This review mainly focused on recent researches about the toxicity, pollution status and analytical methods for mycotoxins, summarized physical, chemical, and biological detoxification technologies of mycotoxins, and looked forward to the future research direction

KEY WORDS: mycotoxin; pollution status; analytical methods; detoxification treatment

1 引言

霉菌毒素是霉菌在生长繁殖过程中所产生的一类有毒性的次级代谢产物。霉菌在自然界存在广泛, 目前发现的可以产生毒素的霉菌大约有 150 余种, 产生的霉菌毒素约有 300 种^[1]。这些霉菌毒素极易污染粮食谷物, 以粮食谷物为原料的动物饲料将直接受到污染, 动物在摄取这些

饲料后会导致动物的生产性能下降、免疫机能受影响^[2], 更会通过食物链威胁消费者的身体健康。

霉菌毒素污染在全世界范围内都是一个亟待解决的问题, 现如今, 由霉菌毒素引起的食品安全问题已经成为威胁人类健康的重要因素, 霉菌毒素对农产品的污染已经被世界卫生组织列为食源性疾病的重要根源^[2]。我国是一个农业大国, 小麦、玉米、大米及花生等都是我国的主要

基金项目: 中国博士后科学基金项目(2019M650023)、国家自然科学基金(31871718)

Fund: Supported by China Postdoctoral Science Foundation Funded Project (2019M650023) and National Natural Science Foundation of China (31871718)

*通讯作者: 李彦伸, 博士, 副教授, 主要研究方向为真菌毒素代谢及迁移转化规律研究。E-mail: liyanshen@ytu.edu.cn

*Corresponding author: LI Yan-Shen, Ph.D, Associate Professor, 32nd, Qingquan Road, Yantai, Shandong Province, China. E-mail: liyanshen@ytu.edu.cn

农产品,但与此同时我国也是霉菌毒素污染问题较为严重的国家之一。2009年中国饲料和原料中霉菌毒素污染情况调查报告显示:我国94.2%的饲料和原料存在霉菌毒素污染问题,其中80%以上的饲料和原料被2种或2种以上的霉菌毒素污染,被4种及以上霉菌毒素污染的比例高达55.3%^[3]。

霉菌毒素的污染极易受到温度、湿度、虫害以及植物的应激多种因素的影响^[4]。2017年的巴尔干半岛天气炎热干旱,玉米受到霉菌毒素污染的风险大大增加^[4]。研究人员对2017年8月至11月从塞尔维亚、波斯尼亚和黑塞哥维那等地区采集的玉米样本进行了研究,结果显示:巴尔干半岛地区约有53%的玉米受到霉菌毒素的污染,其中1种以上的霉菌毒素污染的玉米占28%,黄曲霉毒素(aflatoxin, AF)、伏马菌素 B₁(fumonisin B₁, FB₁)、伏马菌素 B₂(fumonisin B₂, FB₂)的检出率较高,分别占13%、44%、24%^[4]。南美、亚洲和欧洲等其他地区也都受到霉菌毒素的极大威胁,从对全世界范围内用作牲畜饲料的农产品的检测数据来看,脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)是对牲畜最常见的威胁,另外伏马菌素(fumonisin, FB)和玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN)的检出率也较高^[5]。

近年来的研究发现,霉菌毒素污染的水平逐年提高,以黄曲霉毒素检出数据为例,2013~2014年,检测到黄曲霉毒素样本的数量从2013年的30%下降到2014年的22%^[5]。与2013年的水平相比,霉菌毒素的发生频率均有升高,其中玉米赤霉烯酮和脱氧雪腐镰刀菌烯醇的平均密集度几乎提高一倍^[5]。一份2017年第一季度霉菌毒素对畜牧业生产的影响情况调查报告显示,在全球54个国家采集得到的

3715份饲料原料中,脱氧雪腐镰刀菌烯醇的检出率为80%,其次是伏马菌素,约占71%^[6]。针对黄曲霉毒素、玉米赤霉烯酮、脱氧雪腐镰刀菌烯醇、烟曲霉毒素(fumitremorgin, FUM)和赭曲霉毒素(ochratoxin, OTA)等几种常见的霉菌毒素进行研究分析,区域范围方面,亚太区占37%,欧洲占35%,美洲占27%;饲料与原料类型方面,玉米占33%,小麦占9%,大麦占7%,大豆占5%,全价料占25%,青贮占8%,其他饲料原料占13%^[7]。

国内外许多学者对如何消除霉菌毒素对畜禽健康和生产性能的不良影响、降低霉菌毒素及其代谢产物在畜产品中的残留等方面作了大量研究。本研究就霉菌毒素危害及近年来国内外农产品霉菌毒素检测与脱毒技术研究进展进行综述,旨在为农产品中霉菌毒素的检测与脱毒处理提供参考。

2 常见霉菌毒素种类及其危害

常见的霉菌毒素大部分来源于曲霉属,镰刀菌属、青霉属。主要包括黄曲霉毒素、伏马毒素、T-2毒素、脱氧雪腐镰刀菌烯醇、玉米赤霉烯酮、赭曲霉毒素以及烟曲霉毒素等^[8,9],几种常见的霉菌毒素结构见图1。谷物由于保存不当或外界环境变化时易受到毒素的污染,通常会受到不止一种毒素的污染,从而产生协同毒性作用。例如黄曲霉毒素 B₁、赭曲霉毒素、T-2毒素(T2 toxin)、蛇形毒素(diacetoxyscirpenol, DAS)、桔青霉素(citrinin, CTN)有协同作用,T-2毒素与脱氧雪腐镰刀菌烯醇有协同作用,伏马毒素和赭曲霉毒素有相加作用。这些毒素的协同作用或相加作用带来的危害远远大于单种毒素的作用,而且毒素的协同作用的危害比相加作用的危害更大^[10]。

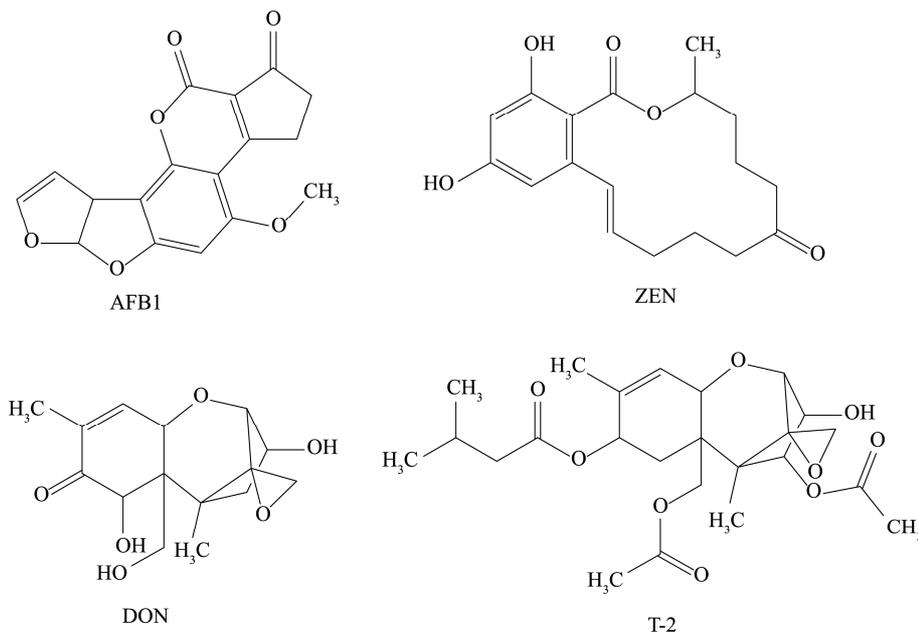


图1 常见霉菌毒素结构图

Fig.1 Chemical structure of common mycotoxins

黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮是生产中最常见的霉菌毒素^[1]。黄曲霉毒素是一类剧毒的化学物质, 主要是由黄曲霉菌产生的, 目前发现并且成功分离出的黄曲霉菌代谢产物有约 20 多种, 其中黄曲霉毒素 B₁(AFB₁)、B₂(AFB₂)、G₁(AFG₁)、G₂(AFG₂)、M₁(AFM₁)、M₂(AFM₂)是最常见的 6 种毒素, 其中“B”和“G”代表黄曲霉毒素在长波长的紫外光下发出蓝色和绿色荧光, “M”表示这些毒素首先在牛奶中被发现^[11]。黄曲霉毒素 B₁(AFB₁)是其中毒性最大的一种, 毒性是砒霜的 68 倍^[12]。黄曲霉毒素可以造成肝脏损伤, 容易导致肝癌, 其作用机制是干扰体内信息 RNA(tRNA)和 DNA 的合成, 进而干扰细胞蛋白质的合成。研究表明, 黄曲霉毒素对不同动物的影响是不同的, 禽类是对黄曲霉毒素最敏感的动物, 显著症状是食欲减退, 并伴随昏睡死亡, 解剖可见肝出血、坏死, 肾肿大, 黄曲霉毒素可抑制牛、羊、猪等动物胸腺发育, 降低 T-淋巴细胞的功能和细胞免疫功能^[13]。玉米赤霉烯酮是由镰刀菌产生的次级代谢产物, 主要污染玉米及其制品, 其毒性作用主要是影响动物的繁殖机能^[14]。猪是对玉米赤霉烯酮最敏感的动物, 据研究当玉米赤霉烯酮浓度超过 1~5 mg/Kg 就会引起初情期前的母猪出现假发情, 严重时导致直肠、阴道、子宫脱出, 相比较反刍动物对玉米赤霉烯酮的敏感性较低, 但高剂量的玉米赤霉烯酮(12 mg/kg)会导致动物的生殖障碍^[1]。

3 霉菌毒素的检测方法

霉菌的种类非常丰富, 但并不是所有的霉菌都能产生毒素, 有的外观下并未明显霉变的霉菌也有可能产生毒素。因此单靠肉眼和实验室检测手段来评估毒素污染情况是不准确的, 就需要完整准确的毒素检测方法。检测方法根据检测原理的不同可以分为免疫法和色谱法 2 种^[15]。免疫法包括胶体金试纸条法、酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)^[16]。免疫法的特异性高、灵敏度高且操作简便, 不需要仪器设备辅助。色谱法主要有薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)、气相色谱法(gas chromatography, GC)、液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、液相色谱法—串联质谱法(liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)^[17]。

3.1 酶联免疫法

免疫法中应用最广泛的是胶体金试纸条法和酶联免疫法。酶联免疫是将抗原与抗体的免疫反应和酶的催化作用结合, 其灵敏度比胶体金试纸条法更高。酶联免疫法的原理概括为: (1)将已知的抗原(抗体)吸附在固定相载体表面并使之保持活性; (2)将特定酶与抗体(抗原)连接成酶标抗体或抗原; (3)把受检抗体(抗原)和酶标抗原(抗体)按不同的顺序与固相载体表面的抗原(抗体)反应; (4)通过洗涤去除未结合的酶标抗原(抗体), 使最终结合在固定相载体

上的酶量与待测样品中受检物质的量成一定的比例; (5)加入与酶反应的底物, 底物被酶催化后变为有色物质, 依据颜色深浅程度来表征被检物质的含量^[18]。

酶联免疫法根据反应模式, 分为直接 ELISA、间接 ELISA、夹心 ELISA 和竞争 ELISA^[19]。霉菌毒素属于小分子化合物, 通常采用竞争 ELISA 反应模式进行检测。具体过程为, 一抗与未纯化的样品一起孵育并相互结合, 未结合的会与板上的检测原结合, 后续中二抗加入使其与一抗结合, 因此当样品中的抗原和抗体越多时, 产生的信号就会越衰弱。竞争 ELISA 法检测样品需要离心前处理, 无需纯化。但该方法特异性较低^[19]。

李思齐等^[20]通过 ELISA 法测定了青贮饲料中的 5 种常见毒素 DON、T-2、AFB₁、ZEN、OTA 的含量, 结果表明 DON、T-2 毒素的检出率均达到 100%, 另外 3 种毒素 AFB₁、ZEN、OTA 的检出率分别为 55.56%、27.78%、5.56%。秦露等^[21]建立了一种间接竞争酶联免疫吸附(ic-ELISA)的方法, 检测了肉豆蔻、干姜和姜黄 3 种中药材中的赭曲霉毒素, 结果使用该方法检测肉豆蔻、干姜和姜黄中 OTA 的灵敏度(IC₅₀)分别为 0.146、0.157、0.153 ng/mL, 检出限(limit of detection, LOD)分别为 0.040、0.032、0.031 ng/mL, 并用 LC-MS/MS 对结果进行了准确验证。

3.2 薄层色谱法

薄层色谱分析法(TLC)是我国目前检测霉菌毒素的一种国家标准方法, 在 GB/T 19540-2004《饲料中玉米赤霉烯酮的测定》中规定, 薄层色谱法可应用于检测饲用谷物及饲料中的霉菌毒素, 并规定此法可以作为检测玉米赤霉烯酮的仲裁法, 检出限为 0.02 μg/kg^[22]。薄层色谱法分毒素提取、毒素浓缩、薄层分离、薄层分析 4 部分^[23]。首先用不同的提取剂将霉菌毒素提取出来, 并采用柱层析等方法将毒素净化, 根据霉菌毒素的荧光性质的不同, 通过薄层板分离开来(经紫外线照射, 霉菌毒素将呈现荧光特性), 隔一段时间根据薄层板上的荧光斑点与标准比较来定量毒素, 缺点是前处理较为繁琐, 提取提纯过程比较复杂, 而且造成一定的损失, 准确度不高。除此之外, 薄层层析法的专一性不好, 例如在紫外波长 365 nm 下黄曲霉毒素可以发出蓝紫色荧光, 但是单靠此特点来计算其含量结果并不准确, 因为还存在其他的荧光物质^[22]。

赵磊等^[24]以市售的普洱茶和毛尖茶为样品, 比较了薄层层析法(TLC)和酶联免疫法(ELISA)对茶叶中黄曲霉毒素 B₁的检测准确性。结果发现薄层层析法在精密度、重现性、稳定性和特异性等方面均优于 ELISA, 但操作较为复杂, 费时长。冯莉^[25]通过薄层层析法对已被污染玉米中的黄曲霉毒素进行了检测, 得出该方法的最低检出限量为 0.0004 μg。罗雪云等^[26]用三氯甲烷提取了玉米、小麦及其制品中的玉米赤霉烯酮, 用正己烷和乙腈溶液初步分配,

用薄层层析法半定量, 得出该方法的最低检出限为 50 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 。吴文达等^[27]以石油醚、乙醚、冰醋酸(70:28:2, *V:V:V*)作为展开剂定性检测玉米赤霉烯酮, 得到其比移值 (*R_f*)约为 0.26。Nicol 等^[28]使用薄层色谱法检测谷物中的玉米赤霉烯酮的含量, 确定了其检出限为 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 并且使用该方法有效避免了玉米赤霉烯酮代谢物的干扰。由于灵敏度和准确度的不足, 薄层色谱法在霉菌毒素检测上的应用比较少。

3.3 液相色谱法

液相色谱法(HPLC)采用高压输液系统, 将不同极性的溶剂及缓冲液泵入装有固定相的色谱柱, 根据溶解度及吸附的不同在柱内分离, 实现对样品的分析。根据前处理的不同, 基本分为液液萃取、 C_{18} 硅胶柱纯化、多功能净化柱纯化, 免疫亲和柱纯化^[29,30]。高效液相色谱法准确性好, 灵敏度高, 得到广泛应用。

Zhao 等^[31]采用 HPLC 对中国西北地区小麦中的 DON 污染率进行了测定, 结果准确可靠。毛黎娟等^[32]建立了一种测定黄瓜中胶霉毒素残留的高效液相色谱法, 以乙腈-水体积比 84:16 作为提取剂, 甲醇-水梯度洗脱, 紫外检测器选定波长为 269 nm。经测定该方法对黄瓜样品中胶霉毒素检测的线性范围为 0.101~10.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 对样品的回收率为 99.5%~108.6%, 相对标准偏差为 1.4%~5.0%。沈潇冰^[33]建立了一种快速高效的同时检测玉米面中细菌毒素和霉菌毒素的方法, 使用 MycoSep228 多功能净化柱做前处理, HPLC 进行分离并检测, 将紫外检测器、光化学柱后衍生器和荧光检测器串联, 实现了对 1 种细菌毒素、8 种霉菌毒素(杂色曲霉素、展青霉素、玉米赤霉烯酮、脱氧雪腐镰刀菌烯醇、黄曲霉毒素 B_1 、黄曲霉毒素 B_2 、黄曲霉毒素 G_1 、黄曲霉毒素 G_2)的同时检测。

3.4 液相色谱法—串联质谱法

液相色谱法—串联质谱法(LC-MS/MS)是采用高选择性质谱技术进行检测的一种技术, 包括色谱分离和质谱检测两部分, 这使其同时具有液相色谱技术中良好的分离能力与质谱技术中准确的定量定性能力^[34,35]。随着技术的日渐成熟, 液质联用越来越多的被应用于化合物的分析确证。现如今质谱的发展朝着多级质谱, 更高分辨率, 更高灵敏度的方向发展, 将来必定会在各领域中扮演更加重要的角色。

Shao 等^[36]通过液质联用技术检测了宠物饲料中的 9 种霉菌毒素的受污染情况。邹良军等^[37]通过超高效液相色谱法—串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)检测了红枣中的腾毒素(tentoxin, TEN)、链格孢毒素(altenuene, ALT)、链格孢酚甲基乙醚(alternariol monomethyl ether, AME)和链格孢酚(alternariol, AOH)4 种

链格孢霉毒素(ATs), 发现在 0.2~200 $\mu\text{g}/\text{L}$ 质量浓度范围内有良好的线性关系($r^2>0.999$)。王丽娟等^[38]应用 QuEChERS(Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe)结合 HPLC-MS/MS 同时测定了粮谷中的 16 种霉菌毒素的残留。王瑞国等^[39]用 UPLC-MS/MS 快速检测了动物饲料中黄曲霉毒素 B_1 、赭曲霉毒素 A、T-2 毒素、玉米赤霉烯酮、脱氧雪腐镰刀菌烯醇 5 种毒素的含量, 以 84%乙腈水作为提取液, 0.1 mmol/L 乙酸铵/0.1%甲酸-水和 0.1%甲酸-甲醇作为流动相, 质谱采用了多反应监测模式。该方法的定量限为 0.3~4 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 。邵玉芳^[40]基于高效液相色谱-串联质谱法, 探究了稀释和免疫亲和柱两种前处理方法的毒素检测效果, 发现 2 种方法均符合霉菌毒素的分析要求, 稀释法的精密度和重现性更好, 免疫亲和柱灵敏度更高, 检测限和基质效应更低, 更加适用于霉菌毒素的多重检测。崔晓娜等^[41]使用 QuEChERS-高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱, 同时对 17 种霉菌毒素进行了准确测定, 乙腈水(含 0.1%甲酸)作为提取液, 采用 QuEChERS 方法净化后, 以 0.1%甲酸水溶液和乙腈为流动相, C_{18} 色谱柱为固定相, 质谱采用多反应监测模式进行分析, 经分析该方法的检出限为 0.5~3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量下限为 1.0~10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

4 霉菌毒素的脱毒方法

目前, 探究各种霉菌毒素的预防和脱毒工作变得尤为重要。防霉和脱毒措施主要针对实际生产工作中的规范管理。脱毒方法主要有物理脱毒、化学脱毒和生物脱毒 3 种方式。物理脱毒主要是指吸附以及分离, 化学脱毒是利用化学物质作用改变霉菌毒素结构, 生物脱毒主要是指微生物的酶吸附以及生物降解。针对霉菌毒素脱毒, 目前广为应用的方法是霉菌毒素吸附剂^[42]。在实际应用方面, 目前为了防止饲料中霉菌毒素对畜禽造成的危害, 主要通过向饲料中添加霉菌毒素脱毒剂来达到清除霉菌毒素的目的。对于质量较优的饲料可以降低添加量, 主要起到预防和保健的作用, 对于霉变的饲料可以根据饲料霉变程度酌情增加添加量^[43]。科研人员也在努力寻找更有效的吸附剂, 在近几年利用微生物发酵获得的吸附产品开始逐渐替代传统的吸附材料。生物脱毒也成为未来最有潜力的霉菌毒素脱毒研究的方向。

4.1 物理方法脱毒

物理脱毒法主要包括高温灭活、吸附法、水洗法、剔除法、辐射法^[44]。吸附法是应用最为广泛的方法, 相关吸附剂按性质分为无机吸附剂和有机吸附剂。

4.1.1 无机吸附剂脱毒

无机吸附剂有活性炭、膨润土、凹凸棒石以及蒙脱石等。蒙脱石是一种硅铝酸盐吸附剂, 是应用最广泛的一种吸附剂, 美国食品药品监督管理局(Food and Drug

Administration, FDA)批准的最强的霉菌毒素吸附剂就是一种硅铝酸盐衍生物^[45]。

Pirouz 等^[46]使用磁性氧化石墨烯纳米复合材料作为吸附剂以减少天然污染的棕榈仁饼中的镰刀菌毒素, 对 DON, ZEN, HT-2(HT2 toxin)和 T-2 的吸附分别达到 69.57%、67.28%、57.40%和 37.17%的水平。李红梅等^[47]分别用添加了 0.5%钠基膨润土和未添加钠基膨润土的含黄曲霉毒素的饲料来饲养 300 只 1 日龄商业雏鸡, 发现添加 0.5%钠基膨润土的实验组使肉鸡肝脏相对重量、心脏、肌胃分别恢复到 3.57%、0.57%、1.43%, 死亡率由 40%降低至 16.6%。南京农业大学的陈凌杰向 1 日龄肉鸡的基础日粮中添加不同比例的凹凸棒石 ZEN 吸附剂。饲养 24d, 与对照组相比后发现, 各实验组肉鸡的血清和鸡胸中玉米赤霉烯酮残留量均显著降低 (linear, $P < 0.001$; quadratic, $P < 0.001$)^[48]。陈光明等^[49]探讨了蒙脱石的吸附效果, 将蒙脱石分别与黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮两种霉菌毒素反应液按 0.2%的比例混合(目前市场上脱毒剂与饲料混合的比例多为 0.2%), 用 ELISA 法检测混合液中的剩余毒素含量, 结果发现蒙脱石对黄曲霉毒素和玉米赤霉烯酮的吸附率分别为 88%和 7.5%。

4.1.2 有机吸附剂脱毒

有机吸附剂主要是近几年发现的酵母菌细胞中的功能性碳水化合物。其中葡甘露聚糖是一种很有效的吸附性杂多糖, 是由 β -D 葡萄糖和 β -D 甘露糖以 β -1, 4 糖苷键结合而成^[44]。吸附脱毒的方法虽简单有效, 但是有关吸附剂的吸附机理还要更深的研究。吸附的效果仅仅是转移, 如果需要彻底消除毒素, 需要进一步降解。

侯然然^[50]以啤酒工业废弃酵母为原料, 从中提取葡甘露聚糖, 添加入基础日粮中与黄曲霉毒素一并饲养给健康公雏, 以鸡的各器官指数为表征, 结果表明在 0.1 mg/kg AFB₁ 日粮中加入 0.1%的葡甘露聚糖可以显著改善肉鸡的生长性能, 可以明显减轻黄曲霉毒素的毒性, 基本消除黄曲霉毒素对动物的不良影响。苏军等^[51]研究葡配甘露聚糖对玉米中镰刀菌毒素的吸附作用。结果发现, 饲喂被镰刀菌毒素污染的饲料之后仔猪的生产性能明显降低, 采食量和日增重程度均降低显著 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 饲料中的有机物质、蛋白质、钙、磷的表观消化率也有显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。在镰刀菌毒素污染饲料中添加 0.2%葡配甘露聚糖吸附剂可以使情况得到改善, 在 25%比例的污染玉米饲料中添加 0.2%EGM 吸附剂的保护效果最好。

4.1.3 吸附效果影响因素

吸附剂的吸附效果主要与吸附剂种类, 吸附材料微观孔径、电荷分布、电荷总量、接触面积以及毒素的物化性质有关^[52]。Malachová 等^[53]通过制备载铜、载锌、载银离子分别来改良蒙脱石, 经验证改良后的蒙脱石吸附剂的阳离子交换能力有明显增强, 表现出了较强的抗菌特性。凹凸棒吸附剂产品的改良同样见效明显, 米璇等^[54]以凹凸

棒土为载体, 硫酸铝为活性前驱体, 通过浸渍法制得铝改性凹凸棒, 用于吸附废水中的氟离子, 发现当改良后的凹凸棒土添加量为 12.5 g/L, pH 值为 5.6, 吸附时间为 240 min 时, 氟离子的吸附量为 3.7708 mg/g, 去除率达到了 94.27%。无机吸附剂的物理吸附方式受到吸附剂孔径大小, 接触面积等影响, 而且特异性不强。

4.2 化学法脱毒

化学法脱毒是通过一些化学反应如碱化、水解、氧化、还原等通过破坏霉菌毒素的化学结构来达到脱毒效果的脱毒方法。在现有的脱毒方法选择上, 化学法并不是最好的选择, 主要原因是由于化学试剂的加入会使得粮食或饲料中的某些营养物质受到一定的破坏。

已有研究的具有良好的脱毒效果的有机化学试剂种类很多, 比如腐殖酸钠、臭氧和氨水等。腐殖酸钠是一种有机弱酸盐, 从风化煤、褐煤、泥炭当中提取, 由于含有羟基、酚羟基和羧基等较多活性基团。因此有较强的吸附、交换、络合、螯合能力^[55]。臭氧用于脱毒由于其绿色、环保、安全的优点受到广泛的青睐。由于其强氧化性可以较好的氧化霉菌毒素, 并产生无毒性的氧化产物。但可能会使粮食或饲料的品质受到影响^[56]。铵盐或氨气也可使黄曲霉毒素的化学结构发生改变, 从而有效降解饲料中的黄曲霉毒素^[57]。

叶胜群^[55]将腐殖酸钠与自然霉变玉米在人工模拟动物胃、肠液条件下混合处理, 用 ELISA 法测定其中的 AFB₁、ZEN 和 DON 的含量, 并计算脱毒率。发现腐殖酸钠对自然霉变玉米种的常见毒素均有一定的脱毒作用, AFB₁、ZEN 和 DON 3 种毒素在人工胃液中的去除率分别为 25%、23.69%和 10.27%, 在人工肠液中的去除率分别为 52.32%、38.66%和 14.41%。刁恩杰^[58]研究发现, 臭氧气体通过亲电攻击黄曲霉毒素中 8、9 位双键的呋喃环(见图 2)使之形成臭氧氧化物及其衍生物从而降解黄曲霉毒素, 采用了干法处理和湿法处理两种方法, 均有显著效果。相同条件下处理 30 h 时, 干法处理可将花生中的 AFB₁ 从 (85.83±3.36) μ g/kg 显著降低到(14.70±1.92) μ g/kg ($P < 0.05$), 脱毒率为 82.88%; 湿法处理可将花生中的 AFB₁ 从 (84.25±3.23) μ g/kg 显著降低到(8.61±0.74) μ g/kg ($P < 0.05$), 脱毒率达到 89.78%, 且湿法脱毒效果优于干法。张美美等^[59]用人工感染 2550 μ g/kg AFB₁ 的玉米进行氨化处理, 经与未作处理的对照组比较发现 AFB₁ 的含量显著降低。且氨化处理的最佳条件为 0.3 Mpa, 处理时间为 3 h。氨化作用对黄曲霉毒素的降解作用效果明显, 但这种方法对其他毒素的作用效果较差。

4.3 生物法脱毒

4.3.1 微生物吸附

微生物法因其特异性强、高效环保、避免二次污染等

优点成为当今的研究热点,被认为是食物和饲料解毒的最佳方式。微生物吸附作用是指微生物本身(利用细胞壁的某种成分或结构)吸附霉菌毒素,主要是通过形成菌体-毒素复合体来发挥作用。细菌中的乳酸菌、真菌中的酵母菌等益生菌都有这方面的研究应用^[60]。

(1) 细菌吸附

细菌吸附脱毒的研究中,乳酸菌是研究最多的一个,其脱毒机理主要是通过细胞壁中 N-乙酰胞壁酸和 N-乙酰葡萄糖胺为主要成分的肽聚糖对 AFB₁ 进行物理吸附,这类微生物因可用作食品发酵添加剂^[61]而被广泛应用。

Hernandez-Mendoza 等^[62]筛选出干酪乳杆菌,经验证对黄曲霉毒素的吸附率为 49.2%。主要是通过产生胞壁酸和 AFB₁ 结合形成稳定的毒素-菌体复合物来达到脱毒的效果。Abrunhosa 等^[63]根据对赭曲霉毒素 A 的敏感程度从肠道和植物中筛选出 29 株乳杆菌和乳球菌,结果显示,嗜酸乳杆菌 CH-5、植物乳杆菌 BS、GG、干酪乳杆菌、鼠李糖乳杆菌 GG 吸附能力最强,除去超过 50% 初始浓度的赭曲霉毒素 A。随后的检测并没有检测到降解产物,也证明乳酸菌脱毒的方式主要是吸附。Sangsila^[64]在使用乳酸菌去除玉米赤霉烯酮的实验中,发现乳酸菌的吸附能力受到毒素初始浓度的影响,且是随着初始浓度的增强而提高。Taheur 等^[65]从开菲尔培养物中分离出对黄曲霉毒素吸附和生物转化能力强的乳酸杆菌,并发现当 pH 值为 4.8 时,其在牛奶中能吸附 82% 黄曲霉毒素,在解吸实验后仍保留 65% 的黄曲霉毒素。由此可见,乳酸菌中可用于毒素吸附的菌主要是乳杆菌。在细菌吸附中,乳杆菌属和双歧杆菌属、丙酸杆菌属和乳球菌属在结合黄曲霉毒素方面的能力最强^[66]。

(2) 真菌吸附

酵母细胞壁中含有甘露聚糖、葡聚糖、几丁质等特殊成分,能够对毒素产生吸附作用。这些物质与 2 里所讲的有机吸附剂相同。吸附脱毒有一定的缺陷,首先是由于吸附大多是以非共价的方式结合,因此特异性不强。二是吸附过程容易受到环境的影响。三是吸附后形成的菌体-毒素复合物很难被机体吸收。无法从根本上消除毒性。

刘畅^[67]首次筛选出吸附效果良好的酿酒酵母,对黄曲霉毒素的吸附率达到了 81.16%。并在实验中证明了该酵母菌对黄曲霉毒素是物理吸附,且此过程是可逆的,甲醇和乙腈可以使其解吸。Martinez 等^[68]从虹鳟鱼肠和鱼饲料中分离出菌株——汉逊德巴利酵母 RC031,经研究该菌在温度为 25℃,作用 1 h 的条件下对黄曲霉毒素的吸附率达到 21%。在 Wang^[69]的研究里,还发现某些镰刀菌属也可以通过吸附作用来达到脱除霉菌毒素的效果。Repe-kien 等^[70]研究了 3 种酵母 *Saccharomyces cerevisiae* S.1.5(T)、*Metschnikowia pulcherrima* M.1、*Kluyveromyces marxianus* K.7.1(T)对呕吐毒素的吸附作用,发现 3 种酵母菌使

面粉中 0.6 mg/kg 的 DON 分别降低至 0.10、0.12 和 0.05 mg/kg,使混合猪草料中 0.40 mg/kg AF 分别降低至 0.13、0.08 和 0.10 mg/kg。

4.3.2 微生物降解

微生物降解是指微生物利用代谢产物或分泌的蛋白酶破坏毒素分子的毒性结构,并产生无毒无害的降解产物。其降解机制主要是破坏霉菌毒素的毒性结构位点,比如黄曲霉毒素有三个毒性结构位点^[61]。如图 2,第一个是呋喃环上的 8、9 位双键,是毒素与蛋白和核酸形成复合物的作用位点,是基因突变以及致癌致畸的主要功能基团;第二个是内酯环部分的 10、11、15 号位点,该处易受到水解作用,因此是较活跃的毒素降解位点;第三个是环戊烯酮环上的 1、2、3、14 号位点,该位点易被取代基取代,从而也决定了黄曲霉毒素的毒性。

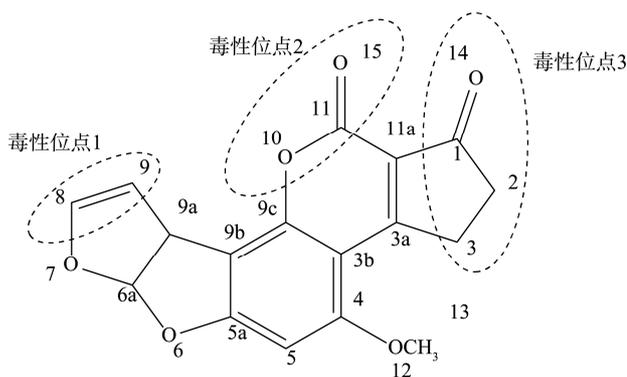


图 2 黄曲霉毒素 B₁ 的毒性结构位点^[61]
Fig.2 Toxic structure site of aflatoxin B₁

Wang 等^[69]从白腐真菌中纯化出的锰过氧化物酶(manganese peroxidase, MnP)主要是作用于 AFB₁ 的 8、9-不饱和碳-碳键生成 AFB₁-二氢二醇从而实现脱毒的目的。有研究发现 AFT 降解酶(aflatoxin-detoxzyme, ADTZ)同样作用于 AFB₁ 的 8、9-不饱和碳-碳键,在生成 AFB₁-二氢二醇的基础上进一步打开呋喃环^[46]。

(1) 酶制剂降解

随着各项研究的深入和成熟,许多酶制剂的脱毒产品相应而生。结合现代分子生物学、基因工程等技术,可实现脱毒酶的规模化生产。研究者们从不同的微生物中提取和纯化得到了可用于降解霉菌毒素的脱毒酶制剂,避免了微生物吸附脱毒的缺点,更加安全高效、环境友好且特异性较强。

根据计成^[71]的总结,分枝杆菌、橙色黄杆菌、芽孢杆菌以及红珠串红球菌等能有效降解黄曲霉毒素,且经证实降解成分是细菌代谢产生的酶。暨南大学微生物技术研究所的 Liu 等^[72]从真菌假蜜环菌细胞内发现了一种可用于降解黄曲霉毒素的酶,并命名为 ADTZ,经毒理学实验证明降解后的产物致突变率明显降低。Hong 等^[73]又将 ADTZ

进行了质谱检测和数据对比, 推测该酶是黄曲霉毒素氧化酶(AFO), 又通过高性能薄层色谱分析, 发现其降解机制是通过水解黄曲霉毒素的双呋喃环状体系。作用位点正是呋喃环上的 8、9 位双键^[74]。Zhao 等^[75]从细菌橙色粘球菌 ANSM068 中制备并纯化出一种胞外酶, 称为粘细菌黄曲霉毒素降解酶(*mucobacteria aflatoxin-degrading enzyme*, MADE)。纯酶(100 U/mL)在培养 48 h 后对 AFG₁ 和 AFM₁ 的降解率分别达到了 96.96% 和 95.80%。该酶在 pH 为 5.0 至 7.0 的范围内以及 30~45 °C 的温度下表现出高活性。另一种氧化酶——漆酶, 也是一种良好的脱毒酶制剂。Scarpari 等^[76]从变色粘菌中提取出一种漆酶, 研究其在体外和体内对 AFB₁ 的降解效果。结果显示, 在体外, 酶活力为 1.8 U/mL 的漆酶与 AFB₁ 处理 48 h 后降解率为 70%; 在体内, 酶活力为 1.8 U/mL 的漆酶与 AFB₁ 处理 7 d 后降解率为 30%(磨碎的种子中为 43%)。又加做了毒理学实验, 表明降解产物对细胞活力无影响。这些降解酶在种类上除了氧化酶外, 还有蛋白水解酶、内酯水解酶等也是高效的解毒酶。

(2) 生物发酵液降解

脱毒酶是来自微生物分泌的可确定物质, 其作用机理也可以通过结构分析辅助来研究。但相较于脱毒酶, 微生物的发酵液因其成分丰富拥有更好的降解潜力, 因此微生物的发酵粗提液已成为新的研究热点和难点。微生物的发酵作用会产生某种物质, 可以破坏毒素分子的毒性结构。目前已经陆续发现了很多细菌和真菌的发酵粗提液对霉菌毒素具有降解作用, 如嗜麦芽窄食单胞菌、枯草芽孢杆菌、衣芽孢杆菌、恶臭假单胞菌等细菌和假蜜环菌、黑曲霉等真菌, 主要是通过发酵粗提液的酶促反应机制脱除毒性^[59]。

1) 细菌发酵液降解

细菌中除了上述的乳酸菌有吸附毒素的作用之外, 芽孢杆菌也被用于脱毒, 王明清等^[77]筛选出一株可以高效降解 AFB₁ 的蜡样芽孢杆菌 A3042, 提取该菌的上清液、菌悬液、胞内液, 发现对 AFB₁ 的降解率分别为 91.7%、11.4%

和 7.6%。上清液的降解率最高, 研究结果表明其脱毒并不是依赖菌体的吸附作用, 而是由于分泌的胞外物质降解。唐彧等^[78]筛选了 9 株可同时降解 ZEN 和 AFB₁ 的菌株, 其中有一株降解能力最强, 经鉴定该菌株是谷氨酸棒状杆菌。将该菌株的发酵液、上清液及菌悬液分别与 ZEN 和 AFB₁ 共同培养 96 h 后, 发酵液、上清液及菌悬液对毒素的降解率分别为: ZEN: 54%、50%、13%; AFB₁: 52%、58%、16%。并证明了该谷氨酸棒状杆菌脱除毒素是由胞外的活性物质发挥作用的。梁含等^[79]筛选了枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌和植物乳杆菌 3 种作为发酵菌种, 发酵温度 37°C 的条件下, 10 mL 菌液或组合菌液、40 mL 无菌水加入到 100 g 饲料中, 并未加发酵液处理的当空白对照。用 ELISA 试剂盒法检测发酵饲料中的 DON 毒素的含量。结果各组合的降解情况如表 1。值得一提的是, 枯草芽孢杆菌和植物乳杆菌组合时, 对 DON 毒素的降解率最大, 证明两种菌具有协同作用。

2) 真菌发酵液降解

Wang 等^[80]从已经发霉的花生中分离得到一株镰刀菌 WCQ3361, 经研究该菌株与 AFB₁ 共同作用 24 h, 可使黄曲霉毒素降解率达 95.38%。成分鉴定证明其有效作用成分是蛋白质, 后续的毒理学实验证明降解产物的毒性显著降低。张晓雪^[81]对一株具有降解 AFB₁ 效果的黑曲霉 FS-Z1 进行了诱变以及蒙脱石固定化, 通过紫外(UV)照射及酪蛋白特定培养基进行初筛和复筛, 成功筛选出了对 AFB₁ 脱除率较高的菌株, 使其对 AFB₁ 的降解效果提升了 34.1%, 在脱毒实验中, 发现该菌株 FS-UV1 的孢子悬液对 AFB₁ 没有脱毒效果, 但其菌丝体对 AFB₁ 具有一定的吸附脱毒效果, 发酵液对 AFB₁ 具有降解作用。模拟胃肠道体外实验的结果显示, FS-UV1 与 AFB₁ 脱离 2 h 时, 脱除率高达 86.61%。且模拟胃肠液的 pH 值对脱毒效果并无影响。大鼠体内实验同样效果明显, 并不会对大鼠造成任何不良影响。表 2 总结了微生物对霉菌毒素的脱毒作用, 主要有吸附和降解 2 种机制。

表 1 组合菌种发酵对麸皮中 DON 的降解^[76]
Table 1 Degradation of DON in bran in combination of bacteria fermentation

组合	平均降解率/%		
	48 h	72 h	96 h
枯草芽孢杆菌菌株 MSC46	51	51	53
解淀粉芽孢杆菌菌株 EnB-alf13	39	42	38
植物乳杆菌菌株 Sourdough-H04	40	43	48
枯草芽孢杆菌菌株 MSC46+解淀粉芽孢杆菌菌株 EnB-alf13	49	40	23
枯草芽孢杆菌菌株 MSC46+植物乳杆菌菌株 Sourdough-H04	71	60	67
解淀粉芽孢杆菌菌株 EnB-alf13+植物乳杆菌菌株 Sourdough-H04	24	45	47
枯草芽孢杆菌菌株 MSC46+解淀粉芽孢杆菌菌株 EnB-alf13+植物乳杆菌菌株 Sourdough-H04	36	38	47

表 2 不同菌株对霉菌毒素的脱毒情况
Table 2 Detoxification of mycotoxins by different strains

菌株	脱毒方式	脱毒效果	文献
干酪乳杆菌 L30	吸附	对 AFB ₁ 的去除率 49.2%	[62]
开菲尔乳杆菌	吸附	pH 为 4.8 时对牛奶中的 AFB ₁ 吸附率达 82%	[65]
乳杆菌	吸附	对 OTA 的去除率超过 50%	[63]
橙色粘球菌 ANSM068	降解	纯酶对 AFG ₁ 和 AFM ₁ 的降解率分别达到了 96.96%和 95.80%，且在温度 30~45 °C，pH 为 5~7 时活性最高。	[75]
变色栓菌	降解	对 AFB ₁ 去除率为 30%	[76]
蜡样芽孢杆菌 A3042	降解	对 AFB ₁ 去除率为 91.7%	[77]
谷氨酸棒杆菌	降解	处理 96 h 后，对 ZEN 和 AFB ₁ 的去除率分别为 54%和 52%	[78]
枯草芽孢杆菌菌株 MSC46	降解	对 DON 去除率为 53%	[79]
解淀粉芽孢杆菌菌株 EnB-alf13	降解	对 DON 去除率为 42%	[79]
植物乳杆菌菌株 Sourdough-H04	降解	对 DON 去除率为 48%	[79]
酿酒酵母 Y1	吸附	对 AFB ₁ 去除率为 81.16%	[67]
汉逊德巴利酵母 RC031	吸附	在温度为 25 °C，作用 1h 的条件下对黄曲霉毒素的吸附率达到 21%	[68]
啤酒糖酵母 S.1.5(T)	吸附	对 DON 和 AF 的去除率分别为 83.3%和 67.5%	[70]
美极梅奇酵母 M.1	吸附	对 DON 和 AF 的去除率均为 80%	[70]
拮抗酵母菌 K.7.1(T)	吸附	对 DON 和 AF 的去除率分别为 91.6%和 75%	[70]
假蜜环菌	降解	致突变率明显降低	[72]
镰刀菌 WCQ3361	降解	对 AFB ₁ 去除率为 95.38%	[80]
黑曲霉 FS-UV1	降解	对 AFB ₁ 去除率为 86.61%	[81]

5 结 论

霉菌毒素的研究是目前国内外研究的热点之一，本项目对目前国内外霉菌毒素的毒性及污染现状、检测和脱毒技术进行了介绍。霉菌毒素种类多，与人类以及动物的健康和生产密切相关，我们应该把握重点，尤其是危害严重的黄曲霉毒素、玉米赤霉烯酮、呕吐毒素等霉菌毒素，建立高灵敏、高特异性、快速和便捷的检测方法及霉菌毒素长效监测机制。脱毒是属于生产中的后期工作，从现有研究结果来看，由于各种霉菌毒素分子有各种不同的理化性质，单一的吸附剂无法将所有的霉菌毒素吸附，并且在吸附霉菌毒素的同时也吸附了饲料中的矿物质、维生素等营养成分，因而将各种脱毒方法相结合，不同吸附剂按比例进行调配加以改良，开发具有高效、广谱、绿色等优点的复合型霉菌毒素脱毒剂是未来的发展趋势。生物方法脱毒是一个研究热点，更深入的研究主要是针对微生物脱毒法的一些不足，如菌株作用周期长、脱毒酶分离纯化过程复杂、功能活性不稳定、酶作用条件苛刻等。在多学科交叉发展的趋势下，引入分子生物学以及基因工程手段将更加

促进毒素脱毒的研究发展。如针对产毒基因的基因编辑和修饰，抑制毒素的产生。还可以通过基因工程手段锁定脱毒酶的核酸序列，将活性高的解毒酶基因进行克隆和高效表达，实现规模化生产。随着科技的发展，各种新技术的应用，霉菌毒素脱毒产品将有望实现产业化，从而为农牧业的发展及保障消费者的身体健康做出重要贡献。

参考文献

- [1] 李成成, 杨维仁. 饲料中霉菌毒素的危害及其防治方法研究进展: 2010 山东饲料科学技术交流大会[Z]. 2010.
Li CC, Yang WR. Research progress on the harm of mycotoxin in feed and its control methods: 2010 Shandong feed science and technology exchange conference [Z]. 2010.
- [2] 杨彦琼. 新型复合吸附剂对黄曲霉毒素 B₁ 的吸附脱毒研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2012.
Yang YQ. Study on adsorption and detoxification of aflatoxin B₁ by a new composite adsorbent [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012.
- [3] 张丞, 刘颖莉, 吴裕本, 等. 2009 年中国饲料和原料中霉菌毒素污染情况调查总结报告[J]. 饲料与畜牧, 2010, (4): 30-33.
Zhang C, Liu YL, Wu YB, et al. Report on survey of mycotoxin contamination in feed and raw materials in China in 2009 [J]. Feed Animal

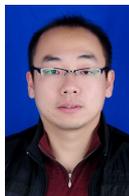
- Husband, 2010, (4): 30–33.
- [4] 附文: 2017 年巴尔干半岛地区玉米霉菌毒素污染状况调查[J]. 国外畜牧学(猪与禽), 2018, 38, (5): 6.
Rider: Investigation on mycotoxin contamination in maize in the Balkans in 2017 [J]. *Foreign Anim Husb (Pigs Poult)*, 2018, 38, (5): 6.
- [5] 佚名. 世界 80% 的地区存在严重的霉菌毒素危险[J]. 家禽科学, 2015, (4): 58.
Anonymous. Severe mycotoxin risk exists in 80% of the world [J]. *Poult Sci*, 2015, (4): 58.
- [6] 唐彩琰, Emmy K. 霉菌毒素风险水平依然很高[J]. 国外畜牧学(猪与禽), 2017, 37(7): 125.
Tang CY, Emmy K. Mycotoxin risk levels remain high [J]. *Foreign Anim Husb (Pigs Poult)*, 2017, 37(7): 125.
- [7] 王金勇, Karin NH. 2011 年全球霉菌毒素调查报告[J]. 中国畜牧杂志, 2012, 48(14): 49–52.
Wang JY, Karin NH. Global mycotoxin survey report in 2011 [J]. *Chin J Anim Husb*, 2012, 48(14): 49–52.
- [8] 张俊楠, 王金全, 杨凡, 等. 饲料霉菌毒素生物降解研究进展[J]. 饲料工业, 2019, 40(21): 51–58.
Zhang JN, Wang JQ, Yang F, *et al.* Advances in biodegradation of mycotoxin in feed [J]. *Feed Ind*, 2019, 40(21): 51–58.
- [9] 张雪洁, 安娜, 高艺璇, 等. 真菌毒素的脱毒进展[J]. 药学研究, 2019, 38(2): 95–99.
Zhang XJ, An N, Gao YX, *et al.* Advances in detoxification of mycotoxins [J]. *Pharm Res*, 2019, 38(2): 95–99.
- [10] 韩文格, 高建峰. 浅析饲料中霉菌毒素的管理[J]. 养禽与禽病防治, 2019, (3): 44–46.
Han WG, Gao JF. Management of mycotoxin in feed [J]. *Poult Breed Prev Poult Dis*, 2019, (3): 44–46.
- [11] Bhatnagar D, Cleveland TE, Cotty PJ, *et al.* Mycological aspects of aflatoxin formation [Z]. 1993.
- [12] Dirk HH, 马玺, 赵玉华. 霉菌毒素及脱毒方法概述[J]. 国外畜牧科技, 2000, (4): 18–20.
Dirk HH, Ma X, Zhao YH. Overview of mycotoxin and its detoxification methods [J]. *Foreign Anim Husb Technol*, 2000, (4): 18–20.
- [13] 杨忠诚, 刘镜, 龚铭, 等. 饲料中黄曲霉毒素的危害及脱毒方法[J]. 贵州畜牧兽医, 2016, 40(3): 18–20.
Yang ZC, Liu J, Gong M, *et al.* The harm and detoxification method of aflatoxin in feed [J]. *Guizhou Anim Husb Vet Sci*, 2016, 40(3): 18–20.
- [14] 裴娅晓. 玉米油中玉米赤霉烯酮的控制和脱除方法研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2016.
Pei YX. Study on control and removal method of corn gibberellone from corn oil [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2016.
- [15] 王志恒, 张蕾, 刘冰, 等. 畜产品中霉菌毒素残留危害及检测技术[J]. 今日畜牧兽医, 2019, 35(9): 1–3.
Wang ZH, Zhang L, Liu B, *et al.* Hazard of mycotoxin residues in livestock products and their detection techniques [J]. *Today Anim Husb Vet Med*, 2019, 35(9): 1–3.
- [16] 王重阳, 吴小慧, 张喆昌, 等. 酶联免疫法检测混合植物油中黄曲霉毒素 B₁ 含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(4): 881–885.
Wang CY, Wu XH, Zhang ZC, *et al.* Aflatoxin B₁ in mixed vegetable oil was determined by enzyme-linked immunoassay [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(4): 881–885.
- [17] 姚会平. 液相色谱串联质谱法对食品中霉菌毒素的检测探讨[J]. 食品安全导刊, 2019, (21): 125.
Yao HP. Study on the determination of mycotoxin in food by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Chin Food Saf Magaz*, 2019, (21): 125.
- [18] 贾涛. 酶联免疫法检测饲料中黄曲霉毒素 B₁[J]. 饲料广角, 2013, (13): 34–35.
Jia T. Aflatoxin B₁ in feed was detected by enzyme-linked immunoassay [J]. *Feed Chin*, 2013, (13): 34–35.
- [19] 赵军. 赭曲霉毒素 A 直接竞争 ELISA 试剂盒的研制[D]. 郑州: 郑州大学, 2018.
Zhao J. Ochratoxin A directly competing for ELISA kit [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2018.
- [20] 李思齐, 吕素芳, 李峰, 等. 鲁北地区全株玉米青贮饲料霉菌毒素检测分析[J]. 中国草食动物科学, 2018, 38(5): 27–29.
Li SQ, Lv SF, Li F, *et al.* Detection and analysis of mycotoxin in whole maize silage in north Shandong [J]. *Chin Herb Sci*, 2018, 38(5): 27–29.
- [21] 秦露, 张磊, 蒋佳伊, 等. 基于酶联免疫分析法高通量筛查中药材中赭曲霉毒素 A 的污染研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(23): 5072–5077.
Qin L, Zhang L, Jiang JY, *et al.* High throughput screening of ochratoxin A in Chinese medicinal materials based on enzyme-linked immunoassay [J]. *Chin J Chin Mat Med*, 2019, 44(23): 5072–5077.
- [22] 张治成. 饲料中霉菌毒素的毒害机理、检测方法和控制措施[J]. 现代畜牧科技, 2019, (6): 58–59.
Zhang ZC. Toxicity mechanism, detection methods and control measures of mycotoxin in feed [J]. *Mod Anim Husb Sci Technol*, 2019, (6): 58–59.
- [23] 赵晶晶, 张振华, 刘青. 粮油中真菌毒素检测技术及其应用解析[J]. 现代食品, 2019, (12): 98–100.
Zhao JJ, Zhang ZH, Liu Q. Technology and application analysis of mycotoxin in grain oil [J]. *Mod food*, 2019, (12): 98–100.
- [24] 赵磊, 吴明宸, 于亚楠, 等. 酶联免疫和薄层层析法检测茶叶中黄曲霉毒素 B₁ 的评价[J]. 黑龙江医药, 2018, 31(6): 1190–1194.
Zhao L, Wu MH, Yu YN, *et al.* Evaluation of aflatoxin B₁ in tea by enzyme-linked immunity and thin layer chromatography [J]. *Heilongjiang Med*, 2018, 31(6): 1190–1194.
- [25] 冯莉. 薄层色谱法检测玉米中黄曲霉毒素 B₁[J]. 现代畜牧科技, 2018, (8): 20.
Feng L. Determination of aflatoxin B₁ in maize by thin layer chromatography [J]. *Mod Anim Husb Sci Technol*, 2018, (8): 20.
- [26] 罗雪云, 胡霞, 李玉伟. 小麦、小麦制品及玉米中玉米赤霉烯酮的薄层色谱测定[J]. 卫生研究, 1993, (2): 112–115.
Luo XY, Hu X, Li YW. Determination of gibberellone in wheat, wheat products and maize by TLC [J]. *Hyg Res*, 1993, (2): 112–115.
- [27] 吴文达, 王宝杰, 蔡兰芬, 等. 薄层色谱和高效液相色谱联合检测玉米赤霉烯酮的方法研究[J]. 畜牧与兽医, 2010, 42(7): 17–20.
Wu WD, Wang BJ, Can LF, *et al.* A study on the combined determination of gibberellone by TLC and HPLC [J]. *Anim Husb Vet Med*, 2010, 42(7): 17–20.
- [28] Nicol RW. Analysis of Fusarium toxins in maize and wheat using thin layer chromatography [J]. *Mycopathologia*, 1998, 142(2): 107–113.
- [29] 侯月娥, 姜瑞丽, 李旭宁, 等. 饲料和原料中玉米赤霉烯酮的危害及检测方法探讨[J]. 当代畜牧, 2014, (3): 30–33.
Hou YE, Jang RL, Li XN, *et al.* Study on the harm and detection method of corn gibberellone in feed and raw materials [J]. *Contemp Anim Husb*, 2014, (3): 30–33.
- [30] 尹青岗, 王锋, 周洪杰, 等. 高效液相色谱法对玉米中玉米赤霉烯酮的测定[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(7): 138–141.
Yin QG, Wang F, Zhou HJ, *et al.* Determination of gibberellone in maize by high performance liquid chromatography [J]. *J Cere Oils Ass*, 2009, 24(7): 138–141.
- [31] Zhao Y, Guan X, Zong Y, *et al.* Deoxynivalenol in wheat from the Northwestern region in China [J]. *Food Addit Contam Part B Surveill*, 2018, (4): 281–285.

- [32] 毛黎娟, 章初龙. 高效液相色谱法检测黄瓜中的胶霉毒素[J]. 浙江农业科学, 2018, 59(9): 1603-1606.
Mao LJ, Zhang CL. High performance liquid chromatography (HPLC) for the determination of colloidal toxin in cucumber [J]. Zhejiang Agric Sci, 2018, 59(9): 1603-1606.
- [33] 沈潇冰. 多功能净化柱—高效液相色谱法对玉米面中 9 种毒素同时检测的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2018.
Shen XB. Simultaneous detection of 9 toxins in corn flour by high performance liquid chromatography with multi-function purification column [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2018.
- [34] 黄思瑜. 液质联用技术在食品真菌毒素检测中的应用[J]. 现代食品, 2019, (7): 173-175.
Huang SY. Application of liquid - mass spectrometry in the detection of food mycotoxins [J]. Mod Food, 2019, (7): 173-175.
- [35] 徐霞. 食品真菌毒素检测中液质联用技术的应用[J]. 食品安全导刊, 2019, (24): 113.
Xu X. Application of liquid - mass combination technology in food mycotoxin detection [J]. Chin Food Saf Magaz, 2019, (24): 113.
- [36] Shao M, Li L, Gu Z, *et al.* Mycotoxins in commercial dry pet food in China [J]. Food Addit Contam: Part B. 2018, DOI: 10.1080/19393210.2018.1475425
- [37] 邹良君, 邢丽杰, 罗瑞峰, 等. 一种用于农产品检测的快速样品前处理技术超高效液相色谱-串联质谱法检测红枣中 4 种链格孢霉毒素[J]. 化学世界, 2019, 60(12): 889-896.
Zou LJ, Xing LJ, Luo RF, *et al.* A rapid sample pretreatment technique for the detection of agricultural products for the determination of 4 species of strepterothoxins in Chinese jujube by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chem world, 2019, 60(12): 889-896.
- [38] 王丽娟, 李超, 陈嘉杰, 等. QuEChERS 结合高效液相色谱-串联质谱法测定粮谷中 16 种真菌毒素[J]. 酿酒科技, 2020, 3: 86-92.
Wang LJ, Li C, Chen JJ, *et al.* QuEChERS combined with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of 16 fungal toxins in grains [J]. Liquor-Mak Sci Technol, 2020, 3: 86-92.
- [39] 王瑞国, 林刚, 李桐, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速检测动物饲料中 5 种霉菌毒素[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(11): 3286-3293.
Wang RG, Lin G, Li T, *et al.* Rapid detection of 5 mycotoxins in animal feed by super high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(11): 3286-3293.
- [40] 邵玉芳, 邵世勤. 不同前处理方法对测定动物饲料中多种霉菌毒素的影响[J]. 饲料研究, 2019, 42(7): 67-71.
Shao YF, Shao SQ. Effects of different pretreatment methods on the determination of mycotoxins in animal feed [J]. Feed Res, 2019, 42(7): 67-71.
- [41] 崔晓娜, 郭礼强, 葛爱民, 等. QuEChERS-高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱同时测定饲料中 17 种霉菌毒素[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(3): 177-181.
Cui XN, Guo LQ, Ge AM, *et al.* Simultaneous determination of 17 mycotoxins in feed by quechers-high performance liquid chromatography-four-stage rod time-of-flight mass spectrometry [J]. Jiangsu Agric Sci, 2018, 46(3): 177-181.
- [42] 乔宏兴, 姜亚乐, 王永芬, 等. 黄曲霉毒素的危害及其脱毒方法研究进展[J]. 动物医学进展, 2017, 38(1): 89-93.
Qiao HX, Jang YL, Wang YF, *et al.* Advances in studies on the harm and detoxification methods of aflatoxin [J]. Prog Vet Med, 2017, 38(1): 89-93.
- [43] 高潮, 郑云峰, 王祖平, 等. 饲料中霉菌毒素脱毒剂的发展趋势[J]. 饲料研究, 2014, (5): 7-10.
Gao C, Zheng YF, Wang ZP, *et al.* Development trend of mycotoxin detoxification in feed [J]. Feed Res, 2014, (5): 7-10.
- [44] 李孟孟, 翟双双, 王文策, 等. 饲料中霉菌毒素的危害及其降解方法研究进展[J]. 中国家禽, 2016, 38(5): 37-41.
Li MM, Zhai SS, Wang WC, *et al.* Research progress on the harm and degradation methods of mycotoxin in feed [J]. Chin Poult, 2016, 38(5): 37-41.
- [45] 王瑞琦, 刘睿杰, 常明, 等. 粮油食品中黄曲霉毒素物理脱毒方法的研究进展[J]. 粮食与饲料工业, 2013, (7): 56-59.
Wang RQ, Liu RJ, Chang M, *et al.* Research progress on physical detoxification methods of aflatoxin in cereals, oils and foodstuffs [J]. Cere Feed Ind, 2013, (7): 56-59.
- [46] Pirouz AA, Selamat J, Iqbal SZ, *et al.* The use of innovative and efficient nanocomposite (magnetic graphene oxide) for the reduction on of Fusarium mycotoxins in palm kernel cake [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): e12453.
- [47] 李红梅, 张勇. 钠基膨润土和黄曲霉毒素吸附剂对肉鸡生长性能屠体性能及免疫性能的影响[J]. 当代畜牧, 2009, (7): 20-22.
Li HM, Zhang Y. Effects of sodium bentonite and aflatoxin adsorbents on growth performance, carcass performance and immune performance of broilers [J]. Contemp Anim Husb, 2009, (7): 20-22.
- [48] 陈凌杰. 凹凸棒石玉米赤霉烯酮吸附剂在肉鸡饲料中的应用研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2017.
Chen LJ. Research on application of attapulgite corn gibberellone adsorbent in broiler feed [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2017.
- [49] 陈光明, 谢玲玲, 王莹, 等. 蒙脱石对黄曲霉毒素 B₁(AFB₁)和玉米赤霉烯酮(ZEN)的体外吸附效果[J]. 畜牧与饲料科学, 2016, 37(2): 7-9.
Chen GM, Xie LL, Wang Y, *et al.* In vitro adsorption effect of montmorillonite on aflatoxin B₁(AFB₁) and zea gibberellone (ZEN) [J]. Anim Husb Feed Sci, 2016, 37(2): 7-9.
- [50] 侯然然. 酵母细胞壁中葡甘露聚糖的提取及其霉菌毒素吸附效果[D]. 北京: 中国农业科学院, 2007.
Hou RR. Extraction of glucomannan from yeast cell wall and its effect on mycotoxin adsorption [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2007.
- [51] 苏军, 陈代文, 余冰, 等. 镰刀菌毒素对断奶仔猪的抗营养效应及葡配甘露聚糖吸附剂的保护作用[J]. 中国畜牧杂志, 2006, (19): 26-29.
Su J, Chen DW, Yu B, *et al.* The antinutritional effect of fusarium toxin on weaned piglets and the protective effect of glucomannan adsorbents [J]. Chin J Anim Sci, 2006, (19): 26-29.
- [52] Di-Natale F, Gallo M, Nigro R. Adsorbents selection for aflatoxins removal in bovine milks [J]. J Food Eng, 2009, 95(1): 186-191.
- [53] Malachová K, Praus P, Rybková Z, *et al.* Antibacterial and antifungal activities of silver, copper and zinc montmorillonites [J]. Appl Clay Sci, 2011, 53(4): 642-645.
- [54] 米璇, 郭睿, 王文姬. 铝改性凹凸棒土吸附剂在含氟废水中的应用[J]. 非金属矿, 2019, 42(4): 86-89.
Mi X, Guo R, Wang WJ. Application of aluminum-modified attapulgite adsorbent in fluorine-containing wastewater [J]. Non-Metallic Mines, 2019, 42(4): 86-89.
- [55] 叶盛群. 腐殖酸钠去除霉菌毒素效果的研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2009.
Ye SQ. Effect of sodium humate on mycotoxin removal [D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2009.
- [56] 李萌萌, 关二旗, 卞科. 真菌毒素的臭氧降解研究进展[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2015, 36(1): 100-105.

- Li MM, Guan EQ, Bian K. Advances in ozone degradation of mycotoxins [J]. *J Henan Univ Technol (Nat Sci Ed)*, 2015, 36(1): 100–105.
- [57] Decontamination of aflatoxin B₁-contaminated corn by ammonium persulphate during fermentation [J]. *J Sci Food Agric*, 2002, 82(5): 546–552.
- [58] 刁恩杰. 花生中黄曲霉毒素 B₁ 臭氧降解及安全性评价[D]. 泰安: 山东农业大学, 2015.
- Diao EJ. Ozone degradation and safety evaluation of aflatoxin B₁ in peanuts [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2015.
- [59] 张美美, 蒋梦宇, 孙悠然, 等. 不同氨化处理黄曲霉毒素 B₁ 脱毒效果及其对奶牛瘤胃体外发酵的影响[J]. *中国畜牧兽医*, 2019, 46(1): 130–139.
- Zhang MM, Jiang MY, Sun YR, *et al.* Aflatoxin B₁ detoxification and its effect on rumen fermentation of dairy cows [J]. *Chin Anim Husb Vet Med*, 2019, 46(1): 130–139.
- [60] 赵春霞, 王轶, 程薇, 等. 复合菌系降解黄曲霉毒素 B₁ 的效果及组成多样性研究[J]. *食品科学*, 2017, 38(9): 106–112.
- Zhao CX, Wang Y, Cheng W, *et al.* Effects and composition diversity of aflatoxin B₁ degraded by complex bacteria [J]. *Food Sci*, 2017, 38(9): 106–112.
- [61] 赵萌, 高婧, 褚华硕, 等. 黄曲霉毒素 B₁ 的分子致毒机理及其微生物脱毒研究进展[J]. *食品科学*, 2019, 40(11): 235–245.
- Zhao M, Gao J, Chu HS, *et al.* Advances in molecular toxicity mechanism and microbial detoxification of aflatoxin B₁ [J]. *Food Sci*, 2019, 40(11): 235–245.
- [62] Hernandez-Mendoza A, Guzman-De-Peña D, Garcia HS. Key role of teichoic acids on aflatoxin B₁ binding by probiotic bacteria [J]. *J Appl Microbiol*, 2009, (2): 395–403.
- [63] Abrunhosa L, Inês A, Rodrigues AI, *et al.* Biodegradation of ochratoxin A by *Pediococcus parvulus* isolated from Douro wines [J]. *Int J Food Microbiol*, 2014, 188: 45–52.
- [64] Sangsila A, Faucet-Marquis V, Pfohl-Leszkowicz A, *et al.* Detoxification of zearalenone by *Lactobacillus pentosus* strains [J]. *Food Control*, 2016, 62: 187–192.
- [65] Taheur FB, Fedhila K, Chaieb K, *et al.* Adsorption of aflatoxin B₁, zearalenone and ochratoxin A by microorganisms isolated from Kefir grains [J]. *Int J Food Microbiol*, 2017, 251: 1–7.
- [66] 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): 57–64.
- Chen YW, Li X, Lei LL, *et al.* Mechanism of adsorption of mycotoxin by active and inactivated lactic acid bacteria [J]. *Feed Ind*, 2018, 39(18): 57–64.
- [67] 刘畅. 益生菌对黄曲霉毒素 B₁ 吸附作用的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2010.
- Liu C. Study on adsorption of aflatoxin B₁ by probiotics [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2010.
- [68] Martínez MP, Pereyra MLG, Juri MGF, *et al.* Probiotic characteristics and aflatoxin B₁ binding ability of *Debaryomyces hansenii* and *Kazaschtania exigua* from rainbow trout environment [J]. *Aquacult Res*, 2018, 49(1): DOI: 10.1111/are.13614.
- [69] Wang J, Ogata M, Hirai H, *et al.* Detoxification of aflatoxin B₁ by manganese peroxidase from the white-rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-624 [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2010, 314(2): 164–169.
- [70] Repe-Kien J, Levinskait L, Pa-Kevi IA, *et al.* Toxin-producing fungi on feed grains and application of yeasts for their detoxification [J]. *Polish J Vet Sci*, 2013, 16(2): 391–393.
- [71] 计成. 饲料中霉菌毒素生物降解的研究进展[J]. *中国农业科学*, 2012, 45(1): 153–158.
- Ji C. Advances in biodegradation of mycotoxin in feed [J]. *Sci Agric Sin*, 2012, 45(1): 153–158.
- [72] Liu DL, Yao DS, Liang YQ, *et al.* Production, purification, and characterization of an intracellular aflatoxin-detoxifying enzyme from *Armillariella tabescens* (E-20) [J]. *Food Chem Toxicol Int J*, 2001, 39(5): 461–466.
- [73] Hong C, Liu D, Mo X, *et al.* A fungal enzyme with the ability of aflatoxin B₁ conversion: Purification and ESI-MS/MS identification [Z].
- [74] Wu YZ, Lu F, Jiang H, *et al.* The furofuran-ring selectivity, hydrogen peroxide-production and low K_m value are the three elements for highly effective detoxification of aflatoxin oxidase [J]. *Food Chem Toxicol*, 2015, 76: 125–131.
- [75] Zhao LH, Guan S, Gao X, *et al.* Preparation, purification and characteristics of an aflatoxin degradation enzyme from *Myxococcus fulvus* ANSM068 [J]. *J Appl Microbiol*, 2010, 110(1): 147–155.
- [76] Scarpari M, Bello C, Pietricola C, *et al.* Aflatoxin control in maize by *Trametes versicolor* [J]. *Toxins (Basel)*, 2014, 6(12): 3426–3437.
- [77] 王明清, 张初署, 于丽娜, 等. 降解黄曲霉毒素 B₁ 芽孢杆菌的筛选与鉴定[J]. *山东农业科学*, 2018, 50(11): 71–75.
- Wang MQ, Zhang CS, Yu LN, *et al.* Screening and identification of bacillus aflatoxin B₁ [J]. *Shandong Agric Sci*, 2018, 50(11): 71–75.
- [78] 唐彧, 张琼琼, 郭永鹏, 等. 一株同时降解玉米赤霉烯酮和黄曲霉毒素 B₁ 的谷氨酸棒状杆菌及其降解特性研究[J]. *饲料工业*, 2019, 40(20): 34–39.
- Tang Y, Zhang QQ, Guo YP, *et al.* *Corynebacterium glutamate*, which degrades gibberellone and aflatoxin B₁ simultaneously, and its degradation characteristics [J]. *Feed Ind*, 2019, 40(20): 34–39.
- [79] 梁含, 马召稳, 于思颖, 等. 呕吐毒素降解菌的筛选、鉴定及应用[J]. *中国畜牧杂志*, 2019 12: 1–9.
- Liang H, Ma ZW, Yu SY, *et al.* Screening, identification and application of vomiting toxin degrading bacteria [J]. *Chin J Anim Sci*, 2019, 12: 1–9.
- [80] Wang C, Li Z, Wang Z, *et al.* Rapid biodegradation of aflatoxin B₁ by metabolites of *Fusarium* sp. WCQ3361 with broad working temperature range and excellent thermostability [J]. *J Sci Food Agric*, 2017, 97: 1342–1348.
- [81] 张晓雪. 诱变黑曲霉及其固定化对黄曲霉毒素 B₁ 的脱毒作用及安全性评价[D]. 无锡: 江南大学, 2015.
- Zhang XX. Evaluation on the detoxification and safety of aspergillus Niger and its immobilization on aflatoxin B₁ [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2015.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



李彦伸, 博士, 副教授, 主要研究方向为真菌毒素代谢及迁移转化规律研究。
E-mail: liyanshen@ytu.edu.cn