

3种吸附剂对黄曲霉毒素B₁吸附能力的研究

李娟娟, 索德成, 苏晓鸥

(中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 北京 100081)

摘要: 【目的】体外试验评价3种吸附剂(吸附剂A: 主成分为酵母细胞壁提取物; 吸附剂B: 主成分为水合铝硅酸盐; 吸附剂C为复合物, 主成分是酵母细胞壁及水合铝硅酸盐)对黄曲霉毒素B₁(AFB₁)的吸附效果, 并通过吸附剂对摄入AFB₁肉仔鸡生长性能及血清蛋白水平的影响验证体外试验结果。【方法】(1) pH为2.0、6.0、8.0的磷酸盐缓冲溶液(PBS溶液)、人工胃液和人工肠液环境下吸附剂对AFB₁的吸附能力;(2) 吸附剂对AFB₁的结合速率;(3) 吸附剂结合AFB₁形成的复合体的稳定性;(4) 240只1日龄雄性AA肉仔鸡, 随机分为8个处理, 比较吸附剂对摄入AFB₁肉仔鸡生长性能及血清蛋白水平的影响。【结果】(1) 5种酸碱条件下吸附剂结合AFB₁的能力大小顺序为B>C>A;(2) 吸附剂B在10 min内对AFB₁吸附率达到97.69%, 且60 min内一直处在96.03%以上, 而吸附剂A、C在60 min内对AFB₁的吸附能力不稳定;(3) 与吸附剂A、C相比较, 体外条件下吸附剂B与AFB₁形成的复合体解吸附率最低;(4) 与基础组比较, AFB₁组肉仔鸡采食量、体重增加显著下降, 料重比显著增加($P<0.05$), 血清总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLOB)水平均显著下降($P<0.05$)。3种吸附剂均能提高肉仔鸡生长性能, 吸附剂B能显著改善摄入AFB₁污染日粮(98.98 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)的肉仔鸡血清蛋白水平的降低, 添加吸附剂A或C效果不显著。【结论】3种吸附剂对AFB₁均有一定的吸附作用, 吸附剂B的作用效果优于吸附剂A和吸附剂C。结果提示, 将吸附剂B应用于被AFB₁污染的家禽饲料中, 与其它霉菌毒素管理措施相结合, 能降低AFB₁对肉仔鸡的危害。

关键词: 吸附剂; 黄曲霉毒素B₁; 吸附能力

Binding Assay for Aflatoxin B₁ by 3 Absorbents

LI Juan-juan, SUO De-cheng, SU Xiao-ou

(Institute of Quality Standard and Testing Technology for Agro-Product, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: 【Objective】 In this study, the *in vitro* sorption of aflatoxin B₁(AFB₁) onto different absorbents was characterized, and the *in vitro* assay result was verified by comparing growth performance and serum protein levels of broilers exposed to aflatoxin-contamination feed. Three absorbents were product A (the main component is yeast cell extracts), product B (the main component is HSCAS) and product C (the compound of yeast product and HSCAS). 【Method】 AFB₁ binding capacity by three adsorbents at pH 2.0, 6.0, 8.0, simulated gastric fluid and simulated intestinal fluid condition, were compared. AFB₁ binding speed by three absorbents *in vitro* conditions were compared. Stability of adsorbent-AFB₁ complexes *in vitro* conditions were studied. A total of 240 broilers were assigned to 8 treatments, and the effects of three adsorbents on growth performance and serum protein levels were compared. 【Result】 Product B showed the highest *in vitro* affinity for AFB₁, followed by product C and product A. Product B bounded 97.69% of the AFB₁ in solution in 10 min, and it remained over 96.03% in 60 min at pH 8.0. Product A and product C did not show the same efficacy as product B. The product B-AFB₁ complex was much stronger than the other two kinds of complex *in vitro* condition. Feed intake and weight gain decreased ($P<0.05$) and feed gain ratio increased ($P<0.05$) in the treatment fed aflatoxin-contaminated feed as compared with the control. Serum total protein (TP), albumin (ALB), globulin (GLOB) levels were significantly decreased ($P<0.05$). Product B (0.15%) increased growth performance and improved serum protein levels, product A

收稿日期: 2009-03-10; 接受日期: 2009-05-06

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAD12B03)

作者简介: 李娟娟(1983-), 女, 河北平泉人, 硕士研究生, 研究方向为饲料及畜产品安全。E-mail: juanjuanli@126.com。通信作者苏晓鸥(1963-), 满族, 辽宁沈阳人, 研究员, 研究方向为饲料及畜产品安全。Tel: 010-82106307; E-mail: suxiaou@caas.net.cn

and product C did not show so effectively as product B. 【Conclusion】 Three absorbents all showed binding capacity for AFB₁ in some extent and product B could bind AFB₁ more effectively than products A and C. These results indicated that product B could alleviate some of the toxic effect in broilers. It might prove to be beneficial in the management of aflatoxin-contaminated feedstuffs for poultry.

Key words: absorbent; AFB₁; absorption efficacy

0 引言

【研究意义】黄曲霉毒素 (aflatoxin, AF) 是一类结构相似的化合物, 在自然界广泛存在, 主要由黄曲霉菌 (*A. flavus*) 或寄生曲霉菌 (*A. parasiticus*) 产生^[1]。饲料中常见的 AF 主要有 B₁、B₂、G₁、G₂ 等 4 种形式, 其中以 AFB₁ 毒性最强, 是氰化钾的 10 倍, 砒霜的 68 倍, 因此, 在检验饲料中 AF 含量和进行饲料卫生学评价时, 一般以 AFB₁ 作为主要监测指标^[2]。AF 严重危害动物健康, 被国际癌症研究机构确定为 I 类致癌物^[3]。【前人研究进展】AF 毒性作用之一是降低采食量, 抑制动物生长^[4]。AF 能降低某些消化酶类的活性^[5], 使一些营养成分的吸收受阻, 影响动物生长^[4]。AFB₁ 经消化道吸收后, 主要蓄积在肝脏中^[6], 经细胞色素 p450 活化形成 AFB₁-8,9-环氧化物, 与 DNA 结合, 形成 AFB₁-N⁷-鸟嘌呤加合物^[7], 使 RNA 合成受阻, 降低了肝脏的合成功能, 血清白蛋白和总蛋白主要由肝脏合成, 是 AF 中毒的敏感指标^[8]。自 1960 年英格兰“火鸡 X 病”事件爆发以来, 科学工作者就一直致力于 AF 的预防、解毒、脱毒方面的研究工作^[9-13], 目前处理霉变饲料最主要的方式是使用霉菌毒素吸附剂^[14]。市场上常见的主要有铝硅酸盐类和酵母细胞壁提取物类吸附剂, 还有活性炭、活菌制剂、PVPP (一种树脂) 等其它类型吸附剂^[9, 11]。此外, 还存在由铝硅酸盐和酵母细胞壁提取物加工而成的复合吸附剂。对于吸附剂作用效果的研究, 主要方法之一是体外试验, 通过对在不同酸碱条件下吸附剂结合 AFB₁ 能力的研究、吸附速率的研究、吸附剂与毒素复合物稳定性的研究, 评价吸附剂的作用效果^[1, 8, 15]。【本研究切入点】体外方法能直观评价吸附剂对霉菌毒素的吸附性能, 作为一个初步评价手段, 主要起到“筛选”吸附剂的作用, 吸附剂作用效果需要进一步的体内试验证实^[1, 15-16]。另外, 针对品种繁多的霉菌毒素吸附剂市场, 系统比较各种吸附剂作用效果的研究较缺乏^[16]。【拟解决的关键问题】本研究一方面通过体外模拟肉鸡体内消化道环境, 研究 3 种具有代表性的吸附剂结合 AFB₁ 的能力, 吸附剂结合 AFB₁ 达到平衡的

速率, 吸附剂-AFB₁ 复合体的稳定性。另一方面通过比较 3 种吸附剂对摄入 AFB₁ 肉仔鸡血清蛋白水平的影响, 评价吸附剂在动物体内的作用效果。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 仪器 BP310S/310g 型分析天平 (德国赛多利斯公司); THZ-82A 型气浴恒温振荡器 (江苏金坛市医疗仪器厂); CF16RX 型离心机 (日本日立公司); Agilent1000 系列高效液相色谱仪 (配备荧光检测器, 美国安捷伦公司); S22PC 型可见分光光度计 (上海棱光技术有限公司)。

1.1.2 试剂 黄曲霉毒素 B₁ (aflatoxin B₁) 标准品 (美国 Alexis 公司); 甲醇、乙腈 (色谱级, Fisher 公司); 胃蛋白酶 (pepsin) (1 : 10 000, 北京拜耳迪生物技术有限公司); 胰蛋白酶 (trypsin) (1 : 250, 美国 Gibco 公司); 磷酸、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、氯化钠、盐酸、氢氧化钠 (均为分析纯, 北京化学试剂公司)。

1.1.3 吸附剂 3 种吸附剂 (均从市场上购买, 吸附剂 A: 主成分为酵母细胞壁提取物; 吸附剂 B: 主成分为水合铝硅酸盐; 吸附剂 C: 主成分为酵母培养物, 干啤酒酵母, 水合铝硅酸盐)。

1.1.4 含 AFB₁ 日粮的制备 将 AFB₁ 标准品溶于甲醇后均匀喷洒在少量玉米渣上, 混匀后以梯度稀释的方式, 制备所需日粮。经 HPLC 检测, AFB₁ 水平为 98.8 μg·kg⁻¹ (理论值为 100 μg·kg⁻¹)。

1.2 HPLC 法检测 AFB₁ 条件

色谱柱: OD-5 C₁₈ 柱, 250 mm×4.6 mm, 粒度 5 μm, SMT 公司; 流动相: 水+甲醇+乙腈 (60+20+20), 恒量流动; 流速: 1.000 ml·min⁻¹; 温度: 室温; 进样体积: 20 μl; 检测器: 荧光检测器, 激发波长 365 nm, 发射波长 420 nm。

1.3 体外试验方法

1.3.1 不同酸碱条件下吸附剂结合 AFB₁ 能力评价 取 10 ml 带塞的离心管, 按表 1 所示进行处理, 每个处理 3 个重复, 取平均值。

表 1 体外试验设计

Table 1 *In vitro* experiment design

处理 Treatment	20 μg·ml ⁻¹ AFB ₁ (ml)	吸附剂 A Product A (mg)	吸附剂 B Product B (mg)	吸附剂 C Product C (mg)
a	0.5	75	0	0
b	0.5	0	75	0
c	0.5	0	0	75
d	0.5	0	0	0

用 pH 2.0 的 PBS 溶液定容各支离心管至 10 ml, 37℃ 恒温振荡吸附 1 h 后, 4 000 r/min 离心 10 min, HPLC 法测定上清液中 AFB₁ 含量。设置不添加吸附剂处理, 消除试验过程中 AFB₁ 的非特异性吸附。用 pH 6.0、pH 8.0 的 PBS 溶液、人工胃液、人工小肠液定容, 重复以上操作。按照公式 (1) 和 (2) 分别计算吸附量 Q (μg·mg⁻¹) 和吸附率 Y (%)。

$$Q = \frac{(C_0 - C_{eq})v}{M} \quad (1)$$

$$Y = 1 - \frac{C_{eq}}{C_0} \quad (2)$$

式中, Q : 吸附量 (μg·mg⁻¹); Y : 吸附率 (%); M : 吸附剂质量 (mg); C_0 : AFB₁ 初始浓度 (μg·ml⁻¹); C_{eq} : 平衡时上清液中 AFB₁ 的浓度 (μg·ml⁻¹); v : 定容体积 (ml)。

1.3.2 吸附剂结合 AFB₁ 速率的评价 如表 1 所示进行处理, 根据 1.3.1 结果, 选择最有利于吸附剂结合 AFB₁ 的酸碱条件 (pH 8.0 的 PBS 溶液) 定容至 10 ml, 37℃ 恒温振荡, 分别在第 10、20、30、40、50、60 分钟时 4 000 r/min 离心 10 min, HPLC 法测定上清液中 AFB₁ 含量。每个处理 3 个重复, 取平均值。按照公式 (1) 和 (2) 分别计算各个时间点的吸附量 Q (μg·mg⁻¹) 和吸附率 Y (%)。

1.3.3 不同酸碱条件对吸附剂-AFB₁ 复合物稳定性的影响

(1) 如表 1 所示进行处理, 用 pH 8.0 的 PBS 溶液定容, 37℃ 恒温振荡, 1 h 后 4 000 r/min 离心 10 min, HPLC 法测定上清液中 AFB₁ 含量。计算出被吸附毒素的量 m_0 。

(2) 移去上清液, 在残渣中加入 pH 2.0 的 PBS 溶液至 10 ml, 37℃ 恒温振荡 2 h, 4 000 r/min 离心 10 min, 收集上清液。再向残渣中加入 pH 2.0 的 PBS 溶液至 10 ml, 重复以上操作, 将上清液混合, HPLC 法测定其中 AFB₁ 浓度。每处理 3 个重复, 取平均值。

(3) 分别用 pH 6.0、8.0 的 PBS 溶液、人工胃液、人工小肠液替代 pH 2.0 的 PBS 溶液, 重复第 (2) 步操作。

(4) 按照公式 (3) 计算 AFB₁ 的解吸附率 R (%)。

$$R = 100 \times \frac{m}{m_0} \quad (3)$$

式中, R : 解吸附率 (%); m : 2 次解吸附过程上清液中 AFB₁ 的含量 (μg); m_0 : 解吸附前吸附剂 AFB₁ 复合物中 AFB₁ 的含量 (μg)。

1.4 动物饲养试验方法

1.4.1 试验动物及处理 240 只健康 1 日龄 AA 雄性肉仔鸡, 随机分为 8 个处理, 每处理设 3 个重复, 每重复 10 只鸡。具体分组如下: (1) 基础日粮组 (经 HPLC 检测, 未检出 AFB₁); (2) AFB₁ 组 (经 HPLC 检测, AFB₁ 水平为 98.8 μg·kg⁻¹); (3) 基础日粮添加 1.5% 吸附剂 A 组; (4) 基础日粮添加 1.5% 吸附剂 B 组; (5) 基础日粮添加 1.5% 吸附剂 C 组; (6) 含 AFB₁ 日粮添加 1.5% 吸附剂 A 组; (7) 含 AFB₁ 日粮添加 1.5% 吸附剂 B 组; (8) 含 AFB₁ 日粮添加 1.5% 吸附剂 C 组。参考肉鸡营养需要 NRC (2004) 设计配方, 试验周期 21 d, 自由采食与饮水, 常规免疫。

1.4.2 测定指标与方法

(1) 生长性能指标: 试验第 22 天清晨空腹称重, 以重复为单位记录体重和耗料量, 计算平均日增重 (ADG)、采食量 (FI)、料重比 (F/G)。

(2) 血清蛋白指标: 试验第 22 天清晨, 每重复随机挑选 3 只鸡进行心脏采血, 分离血清, 于 -20℃ 保存。采用南京建成生物工程研究所测试盒, 按照说明书测定血清总蛋白 (TP)、白蛋白 (ALB)、球蛋白 (GLOB) 水平。

1.5 统计分析

结果以平均值±标准差表示, 采用 SAS 6.12 进行方差分析, 以 $P < 0.05$ 作为差异显著性判断标准。

2 结果与分析

2.1 体外试验结果与分析

2.1.1 不同酸碱条件下吸附剂结合 AFB₁ 能力的评价 如表 2 所示, 室温下, 不同酸碱条件下 3 种吸附剂对 AFB₁ 均有不同程度的吸附作用, 吸附能力大小顺序为 B > C > A。pH 2.0 和人工胃液条件下, 3 种吸附剂的吸附能力均较弱, 吸附量在 347.1 ~ 680.9 μg·g⁻¹, 且无显著差异 ($P > 0.05$)。pH 6.0 和 8.0 条件及人工肠液条件下, 3 种吸附剂对 AFB₁ 的吸附能力均

表 2 体外不同条件下 3 种吸附剂对 AFB₁ 吸附量的比较Table 2 Comparison of aflatoxin B₁ binding capacity by three sorbents at different *in vitro* conditions ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

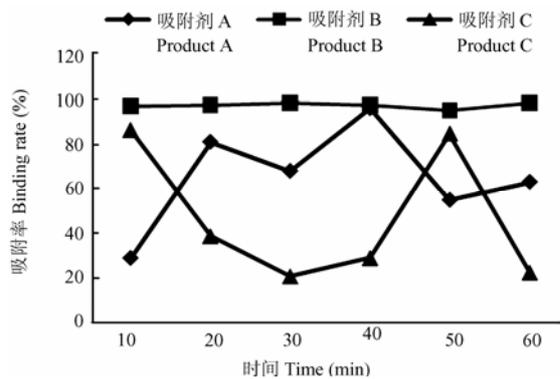
	pH 2.0 PBS	pH 6.0 PBS	pH 8.0 PBS	人工胃液 Simulated gastric fluid	人工肠液 Simulated intestinal fluid
吸附剂 A Product A	385.8±26.1cd	612.8±55.9cd	615.5±68.2cd	532.7±77.2cd	592.8±163.8cd
吸附剂 B Product B	680.9±70.3bc	1335.1±418.8a	1335.1±161.3a	347.1±54.3d	1295.1±281.6a
吸附剂 C Product C	440.6±56.7cd	914.6±115.8b	679.6±48.9bc	595.5±61.7cd	614.2±63.8cd

数据后不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 相同字母表示差异不显著 ($P > 0.05$)。下表同

Different letters mean significant difference between the treatments ($P < 0.05$), same letter means no significant difference between treatments ($P > 0.05$). The same as below

有所提高, 吸附量在 $614.2 \sim 1335.1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。在各种条件下, 吸附剂 A 对 AFB₁ 的吸附能力无显著差异 ($P > 0.05$); 吸附剂 B 在 pH 6.0 和 8.0 条件下对 AFB₁ 的吸附能力达到 $1335.1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 与 pH 2.0 和人工胃液条件下的吸附能力呈显著差异 ($P < 0.05$); 吸附剂 C 在 pH 6.0 的条件下吸附量 $679.6 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 与其它条件下的吸附能力差异显著 ($P < 0.05$)。

2.1.2 吸附剂结合 AFB₁ 达到平衡的速率研究 如图所示, pH 8.0 条件下, 3 种吸附剂对 AFB₁ 吸附达到平

图 体外 3 种吸附剂对 AFB₁ 吸附速率的比较Fig. Comparison of AFB₁ binding speed by three adsorbents at different *in vitro* conditions表 3 体外不同条件下吸附剂与 AFB₁ 复合物解吸附率的比较Table 3 Comparison of the stability of adsorbent-aflatoxin B₁ complex at different *in vitro* conditions (%)

复合物种类 Complex	pH 2.0 PBS	pH 6.0 PBS	pH 8.0 PBS	人工胃液 Simulated gastric fluid	人工肠液 Simulated intestinal fluid
吸附剂 A-AFB ₁ Product A-AFB ₁	20.09±2.66ab	0.21±0.12e	0.43±0.06e	22.42±3.91a	0.43±0.45e
吸附剂 B-AFB ₁ Product B-AFB ₁	6.01±0.83d	0.00±0.00e	0.00±0.00e	10.24±1.68c	0.00±0.00e
吸附剂 C-AFB ₁ Product C-AFB ₁	18.77±1.36b	1.33±2.31e	0.00±0.00e	11.44±1.00cd	2.97±2.95e

2.2 动物饲养试验结果与分析

2.2.1 吸附剂对肉仔鸡生长性能的影响 不同处理对肉仔鸡平均日增重 (ADG)、采食量 (FI)、料重

衡的速率不同, 吸附剂 B 大于吸附剂 A 和 C。吸附剂 B 能迅速吸附 AFB₁ 并达到平衡, 10 min 时吸附率已达到 97.69%, 且 60 min 内很稳定, 吸附率在 96.03% 以上。吸附剂 A 对 AFB₁ 的吸附达到平衡较慢, 在第 10、20、30、40、50、60 分钟时吸附率分别为 28.93%、81.82%、68.60%、97.02%、55.37% 和 63.64%, 随着时间的延长, 吸附虽未达到平衡, 但是已显出平衡的趋势。而吸附剂 C 在 60 min 内对 AFB₁ 的吸附一直处于吸附与解吸附的无规律动态变化中。

2.1.3 不同酸碱条件对吸附剂-AFB₁ 复合物稳定性的影响 如表 3 所示, 在中性及偏碱性条件下, 吸附剂与 AFB₁ 形成的复合物的稳定性强, 酸性条件下则弱。在酸性条件下, 如 pH 2.0 的 PBS 溶液和人工胃液中, 3 种吸附剂复合物的稳定性均较弱, 解吸附率在 6.01%~20.09%。而在 pH 6.0 和 8.0 的 PBS 溶液和人工肠液中, 复合物的稳定性均较高, 解吸附率在 0~2.97%。

在不同条件下, 吸附剂 B-AFB₁ 复合物的稳定性均比吸附剂 A-AFB₁ 复合物和吸附剂 C-AFB₁ 复合物高。在 pH 6.0 和 8.0 的 PBS 溶液和人工肠液中不解开吸附, 即使在 pH 2.0 的 PBS 溶液和人工胃液中, 其解吸附率也仅为 6.01% 和 10.24%。除吸附剂 C-AFB₁ 在 pH 6.0 PBS 溶液中解吸附率为 0, 其它条件下吸附剂 A 和 C 与毒素形成的复合物都有解吸附作用。

比 (F : G) 的影响见表 4。由表 4 可知, 3 种吸附剂能不同程度地改善摄入污染 AFB₁ 日粮 ($98.98 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 的肉仔鸡生长性能。与基础组比较, AFB₁ 组试验鸡

ADG 显著下降 ($P < 0.05$), F : G 显著上升 ($P < 0.05$), FI 无显著变化 ($P > 0.05$)。AFB₁ 污染日粮添加吸附剂 A、B、C 这 3 个处理的试验鸡分别比 AFB₁ 组提高了 19.63%、18.86%、19.98%, 与基础组无显著差异 ($P > 0.05$)。AFB₁ 污染日粮添加吸附剂 A、B、C, 肉仔鸡 F : G 均较 AFB₁ 组有所降低 ($P < 0.05$), 分别比 AFB₁ 组降低了 18.6%、9.8%、10.46%, 与基础组无显著差异 ($P > 0.05$)。各个处理组试验鸡的 ADG、FI、F : G 差异不显著 ($P > 0.05$)。

表 4 不同吸附剂对摄入 AFB₁ 的肉仔鸡生长性能的影响
Table 4 Effect of different adsorbents on performance of broilers fed AFB₁

处理 Treatment	平均日增重 ADG (g)	采食量 FI (g)	料重比 F : G
基础日粮 Basal feed	26.51±0.54a	849.30±3.02a	1.52±0.03bc
AFB ₁ Aflatoxin B ₁	22.77±1.16b	826.70±71.42a	1.72±0.12a
吸附剂 A Product A	27.60±2.34a	861.53±110.03a	1.48±0.06bc
吸附剂 B Product B	26.26±0.94a	857.03±62.43a	1.55±0.06bc
吸附剂 C Product C	25.14±1.74ab	862.11±32.29a	1.63±0.06ab
AFB ₁ +吸附剂 A AFB ₁ + Product A	27.24±1.41a	802.27±81.34a	1.40±0.15c
AFB ₁ +吸附剂 B AFB ₁ +Product B	27.05±0.57a	882.30±53.93a	1.55±0.06bc
AFB ₁ +吸附剂 C AFB ₁ +Product C	27.32±2.86a	877.10±29.06a	1.54±0.11bc

2.2.2 吸附剂对肉仔鸡血清蛋白水平的影响 不同处理对肉仔鸡血清总蛋白 (TP)、白蛋白 (ALB)、球蛋白 (GLOB) 水平的影响见表 5。吸附剂 B 能显著改善摄入 AFB₁ 污染日粮 (98.98 μg·kg⁻¹) 肉仔鸡血清蛋白水平的降低, 吸附剂 A 和 C 效果不显著。与基础组比较, AFB₁ 组试验鸡血清 TP、ALB 和 GLOB 水平分别降低了 38.7%、11.4%、46.2% ($P < 0.05$)。与 AFB₁ 组比较, 污染日粮添加吸附剂 A 处理组试验鸡血清 TP 和 GLOB 水平有所提高, 但差异不显著 ($P > 0.05$), 血清 ALB 水平显著提高到基础组水平 ($P < 0.05$); 污染日粮添加吸附剂 B 处理组试验鸡血清 TP、ALB、GLOB 水平分别较 AFB₁ 组提高了 33.98%、16.5%、57.4% ($P < 0.05$), 达到基础组水平; 污染日粮添加吸附剂 C 处理组试验鸡血清 ALB 达到基础日粮水平, TP 和 GLOB 水平与基础组相比较差异显著 ($P < 0.05$)。吸附剂 A、B、C 组试验鸡血清 TP、ALB、GLOB 水平与基础日粮组无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 5 不同吸附剂对摄入 AFB₁ 的肉仔鸡血清蛋白的影响
Table 5 Effect of different adsorbents on serum protein of broilers fed AFB₁

处理 Treatment	总蛋白 TP (g·L ⁻¹)	白蛋白 ALB (g·L ⁻¹)	球蛋白 GLOB (g·L ⁻¹)
基础日粮 Basal feed	29.11±3.57a	10.69±0.77a	18.89±3.88a
AFB ₁ Aflatoxin B ₁	17.85±7.02c	9.47±0.53b	10.17±4.43b
吸附剂 A Product A	27.74±3.71a	10.47±0.97a	17.28±4.52a
吸附剂 B Product B	27.69±2.86a	10.59±0.86a	17.10±3.35a
吸附剂 C Product C	28.33±2.94a	10.51±0.87a	17.82±3.10a
AFB ₁ +吸附剂 A AFB ₁ + Product A	21.13±4.44bc	10.91±0.85a	10.22±4.76b
AFB ₁ +吸附剂 B AFB ₁ +Product B	27.04±3.18a	11.03±0.60a	16.01±3.48a
AFB ₁ +吸附剂 C AFB ₁ +Product C	22.56±4.30b	11.07±0.82a	11.48±4.91b

3 讨论

经过多年的脱毒工作研究, 霉菌毒素吸附剂是公认的最有效的 AF 脱毒措施^[17-18]。对于一种有效的吸附剂, 首先, 吸附作用能快速达到平衡^[19]。动物摄入 AFB₁ 后, 迅速经胃肠道吸收经门静脉入肝脏, 通常在摄食后 0.5~1 h 肝内毒素浓度最高^[6]。因此, 短时间内尽可能多地结合 AFB₁, 是良好吸附剂的一方面^[8]。第二, 要求能牢固结合霉菌毒素, 在消化道中不解开吸附, 使吸附剂与毒素形成的复合体随粪便排出体外, 避免或降低霉菌毒素对动物的危害^[1,8]。

3.1 吸附剂 B 对 AFB₁ 具有良好的吸附效果

吸附剂 B 的主成分为铝硅酸盐。本研究中吸附剂 B 表现出良好的结合 AFB₁ 能力。从结构上看, 铝硅酸盐由硅氧四面体片和铝 (镁) 八面体片两种基本晶片通过共用氧相联结, 构成层状铝硅酸盐^[20]。在晶胞结构内, 高价 Si⁴⁺、Al³⁺ 离子可被低价阳离子同晶置换, 使单位晶层中的电荷不平衡, 出现过剩负电荷, 形成负电荷吸附中心, 从而具有吸附各种阳离子和极性分子的能力^[21]。因此, 铝硅酸盐晶层间和晶胞表面能牢牢吸附具有亲电性的 AFB₁^[19]。

本研究中, 吸附剂 B 对 AFB₁ 的吸附能力在酸性条件下偏低, 随着 pH 的增加吸附量增加, pH 6.0 和 8.0 时, 达到最高。这可能是因为当溶液偏酸性时溶液中 H⁺ 浓度较高, H⁺ 和 AFB₁ 的吸附存在竞争效应。随着 pH 的增加, H⁺ 的竞争减弱, AFB₁ 的吸附量增加。由此可推测, 吸附剂 B 在动物消化道内结合 AFB₁ 主要发生在呈弱碱性的小肠内。

Phillips 等^[22]报道, HSCAS 对 AFB₁ 的吸附作用能在 30 min 内达到平衡, Pimpukdee 等^[19]研究表明, NSP (一种铝硅酸盐吸附剂) 在 5 min 内迅速结合 AFB₁, 2 h 达到平衡。本研究中, 吸附剂 B 在 pH 8.0 条件下, 60 min 内吸附率一直处在 96% 以上, 吸附剂 B 结合 AFB₁ 达到平衡速率快, 也说明形成的复合体在该环境下很稳定。

Sarr 等^[23]以 AFB₁ 和 HSCAS 混合液给小鼠灌服, 复合体在体内没有明显的解离。史莹华等^[24]认为 AFB₁ 与铝硅酸盐形成的复合体相当稳定, 只有少量解离吸附。齐德生等^[25]的研究显示, 蒙脱石吸附 AFB₁ 后解吸附率小于 20%。本试验中, 吸附剂 B-AFB₁ 复合体在不同酸碱条件下均较稳定, 在中性和弱碱性环境下几乎不解开吸附, 意味着吸附剂 B 对 AFB₁ 的吸附可能是化学吸附为主。因此, 在动物胃酸性环境中形成的吸附剂 B-AFB₁ 复合体不会在进入动物中性偏碱的小肠环境时发生解吸附, 使 AFB₁ 被肠道吸收, 影响吸附剂的作用效果。

本研究中吸附剂 B 能很好维持摄入 AFB₁ 肉仔鸡的生长性能, 抑制血清蛋白水平的降低, 这与许多研究结论相似。据 Bailey 等^[17]报道, HSCAS (水合铝硅酸钠钙盐) 对肉仔鸡 AF 中毒有缓解作用。Ledoux 等^[26]的研究显示, 添加 1% 的主成分为 HSCAS 的吸附剂, 能使摄入 AFB₁ 污染日粮 (2.5 mg·kg⁻¹) 的肉仔鸡血清 TP、ALB、GLOB 水平达到基础日粮组水平。Pimpukdee 等^[19]研究表明, 添加 0.25% 的主成分为 HSCAS 的吸附剂, 能显著提高肉仔鸡的体增重 ($P < 0.05$)。

3.2 吸附剂 A 对 AFB₁ 的吸附效果较差

吸附剂 A 的主成分是酵母细胞壁提取物。该类吸附剂主要以酵母细胞壁上的多糖、蛋白质和脂类与霉菌毒素通过氢键和离子键的疏水作用结合^[27]。酵母细胞壁提取物作为霉菌毒素吸附剂, 其有效成分为酵母细胞内壁的葡甘露聚糖 (glucomannan, GM), GM 是一种高分子多糖, 由甘露糖之间的糖苷键组成的主链, 在主链或支链上连接少量葡萄糖分子。

Diaz 等^[1]证明在体外模拟肠道各段 pH 条件下, 酵母细胞壁提取物能有效结合 AFB₁。van Rensburg^[8]研究认为, BDY (一种酵母提取物) 对 AFB₁ 的吸附能力较差。Moschini 等^[28]比较了主成分为酵母细胞壁提取物的吸附剂 (与本研究的吸附剂 A 为同一种产品) 与两种铝硅酸盐类吸附剂对 AFB₁ 的吸附效果, 体外研究表明, 该吸附剂在体外对 AFB₁ 的吸附能力显著低于两种铝硅酸盐类吸附剂 ($P < 0.05$)。本研究体外

试验结果也表明, 吸附剂 A 对 AFB₁ 的吸附能力低于吸附剂 B, 这可能是吸附剂 A 与 AFB₁ 结合不稳固导致。而随后的稳定性试验证实了这点。

Karman 等^[29]研究表明, 酵母葡甘露聚糖能缓解 AF 污染日粮对肉仔鸡生产性能的影响, 能降低对肝脏、肾脏、脾脏等组织器官的毒性作用。在自然污染的日粮中 (AF: 168 μg·kg⁻¹) 添加 0.05% 酯化葡甘露聚糖 (EGM), 能改善霉菌毒素对肉仔鸡生长性能的影响, 但是相对器官质量没有改善^[30]。王慧容等^[31]认为, EGM 不能提高摄入霉菌毒素污染日粮 (含 AF: 450.6 μg·kg⁻¹) 的肉仔鸡体增重、采食量。Basmacioglu 等^[32]的研究发现, 添加 0.05% EGM 不能使摄入 AFB₁ 污染日粮 (2 mg·kg⁻¹) 的肉仔鸡体增重及血清中 TP、ALB 含量达到基础水平, 添加量为 0.1% 时, 能使体重增加达到基础水平, 而血清中 TP、ALB 水平虽有所提高, 但仍未达到基础日粮组水平 ($P < 0.05$)。本研究中吸附剂 A 能很好地改善摄入 AFB₁ 肉仔鸡的 ADG 和 FI, 而在抑制血清蛋白水平降低方面, 效果没有吸附剂 B 显著。研究结果不一致可能是由于污染日粮中 AFB₁ 水平较低 (98.8 μg·kg⁻¹), 吸附剂 A 的吸附作用不显著。还有可能是所选择的试验动物种类不同, 或者是所使用吸附剂的产地、剂量不同所导致。

3.3 吸附剂 C 对 AFB₁ 的吸附效果较差

吸附剂 C 是铝硅酸盐和酵母细胞壁成分提取物的复合物。本研究中, 吸附剂 C 对 AFB₁ 的吸附效果低于吸附剂 B 而优于吸附剂 A。吸附剂结合霉菌毒素的效果决定于霉菌毒素的结构和吸附剂的性质^[13], 复合类吸附剂 C 对 AFB₁ 的吸附, 既有铝硅酸盐的作用, 又有酵母细胞壁的作用, 克服了单一类型吸附剂作用的局限性, 对 AFB₁ 的吸附效果优于酵母提取物类吸附剂 A。本研究结果提示, 利用不同类型的具有吸附剂潜质的材料合理搭配加工而成的吸附剂能弥补单一某种吸附剂的弊端, 提高吸附效果^[14]。

4 结论

3 种吸附剂对 AFB₁ 均有一定的吸附能力, 吸附剂效果 B > C > A。结果提示: 将吸附剂 B 应用于被 AFB₁ 污染的家禽饲料中, 在合理添加的前提下, 能达到降低 AFB₁ 对肉仔鸡危害的目的。

References

- [1] Diaz D E, Hagler W M Jr, Hopkins B A, Whitlow L W. Aflatoxin Binders I: *In vitro* binding assay for aflatoxin B₁ by several potential

- sequestering agents. *Mycopathologia*, 2002, 156: 223-226.
- [2] 刘宗平. 动物中毒病学. 北京: 中国农业出版社, 2006: 224.
Liu Z P. *Toxicosis of Animals*. Beijing: China Agriculture Press, 2006: 224. (in Chinese)
- [3] 张艺兵, 鲍 蕾, 褚庆华. 农产品中真菌毒素的检测分析. 北京: 化学工业出版社, 2006: 5.
Zhang Y B, Bao L, Zhe Q H. *Detection and Analysis of Mycotoxins in Agricultural Products*. Beijing: Chemical Industry Press, 2006: 5. (in Chinese)
- [4] Zaghini A, Martelli G, Roncada P, Simioli M, Rizzi L. Mannan oligosaccharides and aflatoxin B₁ in feed for laying hens: effects on egg quality, aflatoxins B₁ and M₁ residues in eggs, and aflatoxin B₁ levels in liver. *Poultry Science*, 2005, 84: 825-832.
- [5] Devegowda G, Murthy T N K. Mycotoxins: Their effects in poultry and some practical solutions//Diaz D E. *The Mycotoxin Blue Book*. England: Nottingham University Press, 2005: 25-56.
- [6] 丁伯良. 动物中毒病理学. 北京: 中国农业出版社, 1996: 172.
Ding B L. *Animal Poisoning Pathology*. Beijing: China Agriculture Press, 1996: 172. (in Chinese)
- [7] 王清兰, 陶艳艳, 刘成海. 黄曲霉毒素体内吸收与代谢的干预措施研究进展. *肿瘤*, 2007, 27(5): 415-418.
Wang Q L, Tao Y Y, Liu C H. Research progress on aflatoxin *in vivo* adsorption and metabolism interventions. *Tumor*, 2007, 27(5): 415-418. (in Chinese)
- [8] van Rensburg C J, van Rensburg C E J, van Ryssen J B J. *In vitro* and *in vivo* assessment of humic acid as an aflatoxin binder in broiler chickens. *Poultry Science*, 2006, 85: 1576-1583.
- [9] 卢永红, 陈 峰, 李太翔. 饲料中霉菌毒素与脱毒剂的研究进展. *中国畜禽种业*, 2005, 9: 46-49.
Lu Y H, Chen F, Li T X. Research progress on mycotoxin and adsorbents. *Chinese Species of Livestock and Poultry Industry*, 2005, 9: 46-49. (in Chinese)
- [10] 钱 程, 霍贵成, 马 微. 鼠李糖乳酸杆菌(LGG)的功能特性及其应用前景. *食品科技*, 2005, 9: 94-98.
Qian C, Huo G C, Ma W. The functional properties of lactobacillus rhamnosus GG and its application in the future. *Food Science and Technology*, 2005, 9: 94-98. (in Chinese)
- [11] Mishra H N, Das C. A review on biological control and metabolism of aflatoxin. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 2003, 43(3): 245-264.
- [12] Jouany J P. Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 2007, 137(3/4): 342-362.
- [13] Howes A D, Newman K E. Compositions and methods for removal of mycotoxins from animal feed. U. S. Patent 6045834, 2000-04-04.
- [14] Huwig A, Freimund S, Käppeli O, Dutler H. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicology Letter*, 2001, 122: 179-188.
- [15] Sabater-Vilar M, Malekinejad H, Selman M H, van der Doelen M A, Fink-Gremmels J. *In vitro* assessment of adsorbents aiming to prevent deoxynivalenol and zearalenone mycotoxicoses. *Mycopathologia*, 2007, 163: 81-90.
- [16] Taylor D R. New research on mineral adsorbents. *Feed Management*, 2001, July/August.
- [17] Bailey R H, Kubena L F, Harvey R B, Buckley S A, Rottinghaus G E. Efficacy of various inorganic sorbents to reduce the toxicity of aflatoxin and T-2 toxin in broiler chicken. *Poultry Science*, 1998, 77: 1623-1630.
- [18] Raju M V L N, Devegowda G. Influence of esterified-glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxicosis (aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin). *British Poultry Science*, 2000, 41: 640-650.
- [19] Pimpukdee K, Kubena L F, Bailey C A, Huebner H J, Afriyie-Gyawu E, Phillips T D. Aflatoxin-induced toxicity and depletion of hepatic vitamin A in young broiler chicks: Protection of chicks in the presence of low levels of Novasil PLUS in the diet. *Poultry Science*, 2004, 83: 737-744.
- [20] 李学垣. 土壤化学及实验指导. 北京: 中国农业出版社, 1997: 131.
Li X H. *Soil Chemistry and Experimental Guidance*. Beijing: China Agriculture Press, 1997: 131. (in Chinese)
- [21] 姜桂兰, 张培萍. 膨润土加工与应用. 北京: 化学工业出版社, 2005: 20.
Jiang G L, Zhang P P. *Bentonite Processing and Application*. Beijing: Chemical Industry Press, 2005: 20. (in Chinese)
- [22] Phillips T D, Sarr A B, Grant P G. Selective chemisorption and detoxification of aflatoxins by phyllosilicate clay. *Natural Toxins*, 1995, 3(4): 204-213.
- [23] Sarr A B, Mayura K, Kubena L F, Harvey R B, Phillips T D. Effects of phyllosilicate clay on the metabolic profile of aflatoxin B₁ in Fischer-344 rats. *Toxicology Letters*, 1995, 75(1/3): 145-151.
- [24] 史莹华, 方丽云, 孙 宇, 许梓荣, 王成章. 黄曲霉毒素对猪生长性能及肝脏功能的影响. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2007, 35(6): 55-59.
Shi Y H, Fang L Y, Sun Y, Xu Z R, Wang C Z. Effects of aflatoxin on growth performance and liver function of pigs. *Journal of Northwest A*

- & F University (Nature Science Edition), 2007, 35(6): 55-59. (in Chinese)
- [25] 齐德生. 蒙脱石改性前后对 AFB₁ 和营养成分的吸附及对 AFB₁ 的脱毒效果[D]. 武汉: 华中农业大学, 2003: 50.
- Qi D S. Adsorption of montmorillonite and modified montmorillonite for AFB₁ and some nutrients and their detoxification for AFB₁ in animals[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2003: 50. (in Chinese)
- [26] Ledoux D R, Rottinghaus G E, Bermudez A J, Alonso-Debolt M. Efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broiler chicks. *Poultry Science*, 1998, 77: 204-210.
- [27] 姜 甬, 肖淑华. 不同脱毒剂脱玉米赤霉烯酮和呕吐毒素的试验. 饲料研究, 2006, (10): 12-14.
- Jiang J, Xiao S H. Assessment of adsorbents aiming to prevent deoxynivalenol and zearalenone mycotoxins. *Feed Research*, 2006, (10): 12-14. (in Chinese)
- [28] Moschini M, Gallo A, Piva G, Masoero F. The effects of rumen fluid on the *in vitro* aflatoxin binding capacity of different sequestering agents and *in vivo* release of the sequestered toxin. *Animal Feed Science and Technology*, 2008, 147: 292-309.
- [29] Karman M, Basmacioglu H, Ortatli M, Oguz H. Evaluation of the detoxifying effect of yeast glucomannan on aflatoxicosis in broilers as assessed by gross examination and histopathology. *British Poultry Science*, 2005, 46(3): 394-400.
- [30] Aravind K L, Patil V S, Devegowda G, Umakantha B, Ganpule S P. Efficacy of esterified glucomannan to counteract mycotoxicosis in naturally contaminated feed on performance and serum biochemical and hematological parameters in broilers. *Poultry Science*, 2003, 82: 571-576.
- [31] 王慧容, 刘玉兰, 范 伟, 晁 金, 李 兵, 郑 辉. 三种霉菌毒素吸附剂对肉仔鸡生产性能和免疫功能的影响. 中国饲料, 2008, (7): 27-29.
- Wang H R, Liu Y L, Fan W, Chao J, Li B, Zheng H. Effects of three mycotoxin adsorbents on production performance and immune functions in broilers fed mold-contaminated diets. *China Feed*, 2008, (7): 27-29. (in Chinese)
- [32] Basmacioglu H, Oguz H, Ergul M, Col R, Birdane Y O. Effect of dietary esterified glucomannan on performance, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to aflatoxin. *Czech Journal of Animal Science*, 2005, 50(1): 31-39.

(责任编辑 曲来娥)