

DOI: 10.11829/j.issn.1001-0629.2019-0134

许静, 齐德生. 腐殖酸钠复合吸附剂吸附玉米赤霉烯酮的筛选及效果. 草业科学, 2019, 36(9): 2441-2447.

XU J, QI D S. Effect of humic acid sodium composite adsorbent adsorption of Zearalenone. Pratacultural Science, 2019, 36(9): 2441-2447.

腐殖酸钠复合吸附剂吸附玉米 赤霉烯酮的筛选及效果

许 静¹, 齐德生²

(1. 河南省安阳市文峰区农牧水利局, 河南 安阳 455000; 2. 华中农业大学动物科学技术学院, 湖北 武汉 430070)

摘要: 通过体外试验, 将腐殖酸钠 (humic acid sodium) 与不同吸附剂进行复合, 并进行玉米赤霉烯酮 (Zearalenone, ZEN) 脱毒效果研究, 筛选出对 ZEN 吸附效果最佳的复合剂, 并对构成复合剂的 2 种吸附剂比例进行研究, 选出最佳比例, 在本研究中称为最佳复合剂 G, 进一步研究反应体系不同因素 (缓冲液 pH、温度、处理时间、复合剂 G 的添加量、玉米赤霉烯酮的初始浓度、碱解析) 对复合剂 G 吸附 ZEN 的影响。结果显示, 1) 试验中几种吸附剂中, 腐殖酸钠与活性炭 (active carbon) 复合之后, 脱毒效果高达 95.17%, 解析率约为 4.94%, 单独使用腐殖酸钠吸附 ZEN 的脱毒率为 79.53%, 通过腐殖酸钠与活性炭复合, 其脱毒效果更好, 并且复合剂 G 与 ZEN 形成的复合物非常稳定; 2) 在 37 °C 条件下添加 0.15% 的复合剂 G, 在 1 h 内达到吸附平衡, 随着溶液的 pH 升高, 吸附率逐渐升高, pH 在 7~8 之间时达到最高; 3) ZEN 初始浓度对复合剂 G 吸附 ZEN 有显著影响 ($P < 0.05$), 其等温吸附符合 Freundlich 等温式。

关键词: 腐植酸钠; 活性炭; 玉米赤霉烯酮; 脱毒

中图分类号: S432.2 文献标志码: A 文章编号: 1001-0629(2019)09-2441-07

Effect of humic acid sodium composite adsorbent adsorption of Zearalenone

XU Jing¹, QI Desheng²

(1. Bureau of Agriculture and Animal Husbandry, Wenfeng district, Anyang 45000, Henan, China;

2. Institute of Animal Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei, China)

Abstract: Using an *in vitro* test, humic acid sodium composite was tested using different adsorbents. The optimal proportion of the two adsorbents making up the composite was tested using the best composite G, and the effect of different factors (buffer pH, temperature, processing time, the amount of compound G used to add volume, initial concentration, and alkali gibberellic ketene corn analysis) on the absorption, were studied. Results show that 1) when testing several kinds of sorbents, the humic acid sodium and activated carbon composite was the best adsorbent, with a detoxification effect as high as 95.17% and a resolution ratio of about 4.94%. The humic acid sodium adsorption rate of zearalenone (ZEN) seedlings was only 79.53%. The detoxification effect was better when using the composite humic acid sodium and activated carbon, and compounds made of composite G and the ZEN form were very stable. 2) We found that the adsorption rate increased by increasing the pH of the solution at 37 °C and adding 0.15% of adsorbent G to reach the adsorption equilibrium at 60 min. The highest adsorption was observed at pH = 7~8. 3) Initial concentration of ZEN has a significant effect on the detoxification of ZEN by adsorbent G. For the detoxification of ZEN by adsorbent G, the data was better fitted to the Freundlich equation.

Keywords: humic acid sodium; activated carbon; zearalenone; detoxification

收稿日期: 2019-03-13 接受日期: 2019-06-11

基金项目: 国家重点研发计划 (2016YFD0501207); 华中农业大学校自主科技创新基金 (2662017PY051)

第一作者: 许静 (1988-), 河南内黄人, 在读硕士生, 主要从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: Yunhao0113@126.com

通信作者: 齐德生 (1965-), 河南上蔡人, 博导, 博士, 主要从事饲料毒物与抗营养因子研究。E-mail: qds@mail.hzau.edu.cn

Corresponding author: QI Desheng E-mail: qds@mail.hzau.edu.cn

联合国粮农组织调查显示, 每年全世界谷物大约有 25% 受到霉菌毒素污染^[1], 已知全世界能产生霉菌毒素的霉菌有 150 种, 产出 200 种霉菌毒素^[2], 其中玉米赤霉烯酮 (Zearalenone, ZEN) 是污染饲料的主要霉菌毒素之一。Placinta 等^[3]对二十多个国家调查研究显示, 大部分国家的谷物和动物饲料都不同程度地受到 ZEN 的污染。Stob 等^[4]最早从长霉的玉米 (*Zea mays*) 中分离得到玉米赤霉烯酮, Jean 将 ZEN 感染植物过程分为田间霉菌以及储藏霉菌两类。此后玉米赤霉烯酮的污染及危害就越来越引起人们的重视。2017 年上半年, 刘凤芝等^[5]对我国部分地区饲料和饲料原料的 ZEN 污染状况进行统计分析, 结果显示在全部 356 份样品中, ZEN 检出率高达 95%, ZEN 平均含量为 698.0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。玉米赤霉烯酮是 2, 4-二羟基苯甲酸内酯类化合物, 非类固醇结构, 具有类雌激素样性能, 可与体内雌激素受体相结合, 产生雌激素效应, 造成生殖激素紊乱, 引起流产、死胎等, 同时还会导致肝肾功能损、免疫抑制等^[6-8]。玉米赤霉烯酮 (ZEN) 能造成动物急慢性中毒, 影响动物生长性能及造成生殖疾病等, 对动物健康有严重的危害。广泛分布于小麦 (*Triticum aestivum*) 等粮食作物、畜禽饲料和土壤中, 玉米赤霉烯酮毒素能在畜产品中残留, 其危害和所造成的巨大经济损失已是不容忽视的问题。所以, 如何有效消除玉米赤霉烯酮毒素的危害是非常必要的研究课题。

霉菌毒素脱毒方法目前分为 4 种, 分别是物理脱毒、营养脱毒、生物脱毒和化学脱毒^[9-11]。在长久以来的研究中, 用物理、生物、化学和营养的方法去除饲料中的霉菌毒素, 存在很多不足, 如生产加工困难, 破坏饲料中的养分, 原料不易获得, 去毒不彻底等。目前, 生产上应用比较普遍的是物理吸附法, 但是存在吸附效果不好, 去除毒素单一等缺点, ZEN 去除问题并没有得到很好解决。腐殖酸钠是以风化煤、泥炭和褐煤为原料经特殊工艺加工制成的一种具有多种功能的大分子有机弱酸钠盐, 其结构比较复杂, 已知腐植酸分子中含有苯环、稠环和某些杂环 (如吡咯、呋喃、吡啶等), 各芳香环之间有桥键相连, 芳香环

上有各种功能基团, 主要是羧基、酚基、羟基、甲氧基、醌基等^[12]。腐殖酸钠中腐植酸干基含量超过 75%, 是一种生产绿色乳肉蛋食品用的良好兽药和饲料添加剂^[13-15]。国内外关于腐殖酸钠吸附纯品 ZEN 的基础性试验研究报道极少。为此, 研究腐殖酸钠对 ZEN 的吸附效果, 并分析不同反应体系下对腐殖酸钠去除 ZEN 的影响, 以期对腐植酸类霉菌毒素吸附剂的实际应用提供理论依据。

1 试验材料

吸附剂: 腐植酸钠、沸石 (Zeolite)、凹凸棒 (Palygorskite)、高岭土 (kaolin)、膨润土 (Bentonite)、活性炭、麦饭石 (Medical stone)、硅藻石 (Biatomite); β -葡聚糖 (β -Glucan)。玉米赤霉烯酮标准品含量大于 99%, 购自 Sigma。高效液相色谱仪 (Sinochrom ODS-BP), 美国安捷伦科技有限公司。恒温水浴振荡器、离心机; 甲醇、乙腈, 均为色谱纯, 购自 Fisher scientific。磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、磷酸; 去离子水。

2 试验方法

2.1 最佳脱毒剂筛选及反应体系条件的影响

2.1.1 腐殖酸钠与不同吸附剂复合试验

将腐殖酸钠与其他脱毒剂 (沸石、凹凸棒、高岭土、膨润土、活性炭、硅藻石, β -葡聚糖) 分别按 1:3、1:1、3:1 这 3 个比例进行复合, 空白组不添加吸附剂, 然后进行去 ZEN 试验, 每个处理 3 个重复, 取平均值, 筛选出复合之后效果最佳的吸附剂。

2.1.2 复合脱毒剂最佳比例筛选

分别将腐殖酸钠与在 2.1.1 筛选出的最佳配合物设置不同比例, 分别为 6:1、4:1、3:1、2:1、1:1、1:2、1:3、1:4、1:6, 空白组不添加吸附剂, 进行去除 ZEN 试验, 每个处理 3 个重复, 取平均值, 筛选出最佳比例, 配制成复合剂 G (G 代表最佳), 记录数据。

2.1.3 反应条件对复合物 G 吸附 ZEN 的影响

分别设置不同的吸附剂添加量 (5、10、15、20、25 mg)、pH (2、5、7、8)、震荡时间 (30、60、

90、120 min)、温度 (20、37、60 °C)，其他试验条件一致，离心之后高效液相色谱法测定上清液中玉米赤霉烯酮含量，进而计算吸附量和吸附率。

2.1.4 复合剂 G 等温吸附试验

精确称取 20 mg 复合剂 G 于离心管中，分别加入 0.5、2、3、4、5 和 6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ZEN 标准溶液 20 mL，在 pH 为 7 的条件下，37 °C 120 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的恒温振荡水浴锅上振荡反应 90 min。反应结束后于 5 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min，并收集上清液，HPLC 法测定上清液中剩余 ZEN 的含量，分别计算脱毒量和脱毒率。以脱毒反应体系中霉菌毒素的浓度为横坐标，脱毒量为纵坐标，绘制等温脱毒曲线。

2.1.5 复合剂 G-ZEN 解析试验

等温脱毒试验结束后，倾去上清液，在初始浓度为 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ZEN 离心管中分别加入 10 mL pH 为 7 的磷酸缓冲液、三氯甲烷、人工模拟胃液和人工模拟肠液作解吸液，在 37 °C 120 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的恒温振荡水浴锅上振荡处理 30 min，然后离心测定 ZEN 含量，经残液校正后，计算解吸率。解吸过程重复 3 次，求累积解吸率。

2.2 数据统计及分析

2.2.1 脱度量及脱毒率的计算

$$Q = V \times (C_0 - C) / m; \tag{1}$$

$$Y = 100 \times (C_0 - C) / C_0. \tag{2}$$

式中： Q 为脱度量 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)； Y 为脱毒率 (%)； V 为溶液的体积 (mL)； m 为腐殖酸钠的用量 (mg)； C_0 为 ZEN 初始浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)， C 分别为反应后 ZEN 的浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)。

2.2.2 ZEN 含量的测定

样品经三氯甲烷萃取、浓缩、净化后，ZEN 含量经荧光分光光度法测定^[16]。

2.2.3 统计分析

用 SPASS 软件进行数据处理和分析，方差分析显著者则进行 Duncan's 法多重比较，结果用“平均值 \pm 标准误”表示。

3 结果与分析

3.1 腐殖酸钠与其他脱毒剂复合结果

在统一试验条件下，腐殖酸钠与其他脱毒剂在 3 种比例之下进行复合之后，对 ZEN 去除效果如表 1 所列。

腐殖酸钠与沸石、麦饭石、葡聚糖、高岭土、膨润土等吸附剂进行复合，对 ZEN 去除效果较不理想，脱毒率在 10%~64%，但是腐殖酸钠与活性炭对 ZEN 的脱毒率高达 97.3%，此时腐殖酸钠与活性炭比例为 1 : 1(表 1)。因此本研究选取腐殖酸钠

表 1 腐殖酸钠与其他脱毒剂复合结果

Table 1 Results of a complex experiment between humic acid sodium and commonly used adsorbents

组分 Grouping	组比分 Ratio of grouping	脱毒率 Rate of detoxification/%	组分 Grouping	组比分 Ratio of grouping	脱毒率 Rate of detoxification/%
腐殖酸钠 + 凹凸棒 Humic acid sodium + palygorskite	3 : 1	39.4 \pm 0.43	腐殖酸钠 + 硅藻土 Humic acid sodium+diatomite	3 : 1	29.5 \pm 0.23
	1 : 1	33.6 \pm 0.51		1 : 1	26.4 \pm 0.29
	1 : 3	21.4 \pm 0.46		1 : 3	20.5 \pm 0.21
腐殖酸钠 + β -葡聚糖 Humic acid sodium + β -Glucan	3 : 1	39.4 \pm 0.77	腐殖酸钠 + 沸石 Humic acid sodium + zeolite	3 : 1	58.6 \pm 0.23
	1 : 1	51.9 \pm 0.69		1 : 1	63.2 \pm 0.54
	1 : 3	37.8 \pm 0.71		1 : 3	36.5 \pm 0.73
腐殖酸钠 + 高岭土 Humic acid sodium + kaolin	3 : 1	40.1 \pm 1.22	腐殖酸钠 + 麦饭石 Humic acid sodium + medical stone	3 : 1	20.4 \pm 0.42
	1 : 1	34.3 \pm 0.83		1 : 1	17.2 \pm 0.31
	1 : 3	22.9 \pm 1.14		1 : 3	10.5 \pm 0.47
腐殖酸钠 + 膨润土 Humic acid sodium + bentonite	3 : 1	49.3 \pm 0.56	腐殖酸钠 + 活性炭 Humic acid sodium + activated carbon	3 : 1	95.4 \pm 0.63
	1 : 1	47.1 \pm 0.45		1 : 1	97.3 \pm 0.37
	1 : 3	35.2 \pm 0.62		1 : 3	92.6 \pm 0.23

与活性炭进行复合试验。

3.2 腐殖酸钠与活性炭最佳比例筛选

由 3.1 筛选出最佳脱毒剂组合，进行不同比例的复合，研究不同比例的腐殖酸钠与活性炭复合剂去除 ZEN 效果，结果如表 2 所列。结果显示，

在考察范围内，随着腐殖酸钠比例的降低，复合剂的脱毒效果先递减，但当腐殖酸钠与活性炭比例为 2 : 1 时，对 ZEN 的脱毒率高达 99.62%，ZEN 几乎全部被去除，效果最好，所以选取腐殖酸钠：活性炭 = 2 : 1 时为最佳脱毒比例。

表 2 不同比例的腐殖酸钠与活性炭复合去除 ZEN 的效果

Table 2 Detoxification of ZEN by different proportions of sodium humic acid and an activated carbon compound

组分 Grouping	组分比 Ratio of grouping	脱毒率 Rate of detoxification/%
腐殖酸钠 + 活性炭 Humic acid sodium + activated carbon	6 : 1	95.41 ± 0.42a
腐殖酸钠 + 活性炭 Humic acid sodium + activated carbon	4 : 1	94.25 ± 0.28a
腐殖酸钠 + 活性炭 Humic acid sodium + activated carbon	3 : 1	94.98 ± 0.18a
腐殖酸钠 + 活性炭 Humic acid sodium + activated carbon	2 : 1	99.62 ± 0.83a
腐殖酸钠 + 活性炭 Humic acid sodium + activated carbon	1 : 1	96.13 ± 0.25a
腐殖酸钠 + 活性炭 Humic acid sodium + activated carbon	1 : 2	96.07 ± 0.91a
腐殖酸钠 + 活性炭 Humic acid sodium + activated carbon	1 : 3	92.62 ± 0.65a
腐殖酸钠 + 活性炭 Humic acid sodium + activated carbon	1 : 4	93.21 ± 0.95a
腐殖酸钠 + 活性炭 Humic acid sodium + activated carbon	1 : 6	91.15 ± 0.27a
腐殖酸钠 Humic acid sodium		79.53 ± 0.13b
活性炭 Activated carbon		69.17 ± 0.47c

同列不同小写字母表示不同组合间差异显著(P < 0.05)。下同。

Different lowercase letters within the same column indicate significant difference among different treatments at the 0.05 level; similarly for the following tables.

3.3 复合剂 G 体外试验结果

3.3.1 复合剂 G 添加量对吸附的影响

通过分别添加 5、10、15 mg 复合剂 G，测定不同添加量对复合剂 G 吸附 ZEN 的影响，结果如表 3 所列。

表 3 复合剂添加量对 ZEN 吸附的影响

Table 3 Effects of the amount of compound adsorbent on the detoxification of ZEN

复合剂 Compound adsorbent/mg	脱毒率 Rate of detoxification/%	脱毒量 Detoxification dosage/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
5	56.02 ± 0.08b	494.85 ± 6.10b
10	99.87 ± 0.03a	615.39 ± 8.50a
15	99.88 ± 0.04a	652.87 ± 4.91a
20	99.90 ± 0.07a	650.26 ± 1.96a
25	99.95 ± 0.03a	648.03 ± 5.47a

在考查脱毒剂量范围内，随着复合剂的增加，复合剂对 ZEN 的脱毒作用随之增强。但当复合剂用量增加到 15 mg 时，复合剂对 ZEN 的脱毒量达到最大 ($652.87 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)，继续增加复合剂用量，复合剂对 ZEN 的脱毒量从 $652.87 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 下降到 $648.03 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ($P > 0.05$)；试验结果显示，当复合剂添加量为 15 mg

时，复合剂对 ZEN 吸附效果达到最佳。

3.3.2 振荡时间对复合剂 G 吸附 ZEN 影响

通过设定不同振荡时间，测定不同振荡时间对复合剂 G 吸附 ZEN 的影响，结果如表 4 所列。

表 4 振荡时间对去除 ZEN 的影响

Table 4 Effects of interaction time on the detoxification of ZEN

时间 Time/min	脱毒率 Rate of detoxification/%	脱毒量 Detoxification dosage/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
30	58.94 ± 0.75b	119.92 ± 3.13b
60	99.08 ± 0.43a	650.12 ± 2.51a
90	99.16 ± 0.19a	650.75 ± 1.72a
120	99.36 ± 0.87a	650.98 ± 2.43a

吸附过程中处理时间对去除 ZEN 是有一定影响的。随着处理时间的增加，复合剂对 ZEN 的脱毒率和脱毒量逐渐增加，但是当到 60 min 时，复合剂对 ZEN 的脱毒率及脱毒量达到了一个动态平衡。此后继续延长到 120 min，复合剂对 ZEN 的脱毒率和脱毒量与 60 min 时差异不显著 ($P > 0.05$)。因此，本研究选取 60 min 为最佳脱毒时间。

3.3.3 pH 对复合剂 G 吸附 ZEN 影响

通过设定不同的 pH 的反应体系，测定不同 pH 对复合剂 G 吸附 ZEN 的影响，结果如表 5 所列。

表 5 溶液 pH 对去除 ZEN 的影响

Table 5 Effects of solution pH on the detoxification of ZEN

pH	脱毒率 Rate of detoxification/%	脱毒量 Detoxification dosage/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
2	69.04 ± 0.05d	362.94 ± 3.15d
5	83.26 ± 0.12c	557.23 ± 2.47c
7	99.21 ± 0.03a	650.81 ± 4.10a
8	91.25 ± 0.23b	599.16 ± 3.59b

结果显示，在 pH 2 ~ 7 范围内，随着溶液 pH 的增加，复合剂对 ZEN 的脱毒作用逐渐增加；到 pH 为 7 时达到最大，继续增加溶液 pH 值，将会导致脱毒量由 650.81 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 降到 599.16 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。由于复合剂是由无机物与有机物组成，其物化特性较为特殊，导致此类现象发生。说明了 pH 是影响脱毒剂去除 ZEN 的重要因素。

3.3.4 温度对复合剂 G 吸附 ZEN 影响

一般来说，低温有利于物理吸附，高温有利于化学吸附。温度对玉米赤霉烯酮毒素吸附的影响复杂，温度升高，腐殖酸钠分子热运动一般加快，此时大部分腐殖酸钠溶解度也会增加，不利于物理吸附。当温度为 20、37、60 °C 时，复合剂对 ZEN 的吸附量分别为 283.12、651.64、386.29 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，差异显著 ($P < 0.05$)，且与温度变化不呈线性关系 (表 6)，说明复合剂 G 对 ZEN 的吸附既有物理吸附，也存在化学吸附。

表 6 处理温度对去除 ZEN 的影响

Table 6 Effects of interaction temperature on the detoxification of ZEN

温度 Temperature/ °C	脱毒率 Rate of detoxification/%	脱毒量 Detoxification dosage/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
20	56.38 ± 0.42c	283.12 ± 1.62c
37	99.21 ± 0.79a	651.64 ± 3.46a
60	75.26 ± 0.63b	386.29 ± 4.58b

3.3.5 复合剂 G 等温吸附试验

在 37 °C 恒温、pH 7、处理时间为 60 min 条件下，考察玉米赤霉烯酮初始浓度与脱毒效果间的关系。以脱毒反应体系中 ZEN 浓度为横坐标，脱

毒量为纵坐标，得到复合剂对 ZEN 的等温脱毒曲线。复合剂对 ZEN 的脱毒量随着 ZEN 浓度的增大而逐渐增加，并且在考察浓度范围内，复合剂对 ZEN 的最大毒量高达 961.42 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (表 7)。

表 7 ZEN 初始浓度对去除 ZEN 影响

Table 7 Effects of initial concentration of ZEN on the detoxification of ZEN

ZEN 浓度 Zearalenone concentration/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	脱毒量 Detoxification dosage/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
1	652.48 ± 0.41f
2	705.73 ± 0.78e
3	756.36 ± 1.44d
4	795.04 ± 1.09c
5	853.27 ± 0.83b
6	961.42 ± 0.24a

3.3.6 复合剂 G-ZEN 复合物解析试验

三氯甲烷、PBS、人工模拟胃液、人工模拟肠液对 ZEN-复合剂中 ZEN 的解吸率分别为 3.17%、4.39%、6.39% 和 5.06%，都在 20% 以下 (表 8)，表明 ZEN8 在这些复合物中的稳定性较高，同样意味着它们对 ZEN 可能存在化学吸附。

表 8 复合剂-ZEN 复合物的稳定性

Table 8 Stability of the compound adsorbent-ZEN complex

解析溶液 Desorption solution	解析率 Desorption ratio/%
PBS Phosphate buffered saline	3.17 ± 0.25
三氯甲烷 Chloroform	4.39 ± 0.85
人工模拟胃液 Artificial simulated gastric juice	6.39 ± 0.47
人工模拟肠液 Artificial simulated intestinal fluid	5.06 ± 0.19

3.3.7 复合剂 G 等温试验结果拟合 Langmuir 与 Freundlich 方程

由回归方程的拟合度系数 (表 9) 看，复合剂对 ZEN 的等温吸附既符合 Langmuir 方程，也符合 Freundlich 方程，但 Freundlich 方程的拟合程度 ($R^2 = 0.9739$) 大于 Langmuir 方程的 ($R^2 = 0.9618$)。

4 讨论

4.1 3 种吸附剂效果评价

本研究中，在体外统一试验条件下，腐殖酸钠

表 9 Langmuir 与 Freundlich 回归方程
Table 9 Regression equation of Langmuir and Freundlich isothermal

类项 Item	方程式 Equation	R^2	P
拟合Langmuir方程式			
Simulate Langmuir Equation	$Y = 0.2979X + 2.7300$	0.9618	< 0.01
拟合Freundlich方程式			
Simulate Freundlich Equation	$Y = 0.0855X + 0.4373$	0.9739	< 0.01

与活性炭比例为 2:1 复合成复合剂 G 时, 对 ZEN 脱毒效果达到 95.62%, 而单独使用腐殖酸钠与活性炭的脱毒率分别为 78.5% 和 69.17%。这 3 种吸附剂对 ZEN 吸附效果排序为: 复合剂 G > 腐殖酸钠 > 活性炭。复合剂 G 对 ZEN 的吸附在 60 min 达到一个吸附平衡, 而腐殖酸钠需用 90 min 才达到平衡, 说明复合剂 G 能更快地吸附 ZEN。

4.2 处理因素对吸附 ZEN 效果影响

4.2.1 溶液 pH

有报道指出, 霉菌毒素脱毒剂去除霉菌毒素效果, 取决于脱毒剂的物质结构特性以及霉菌毒素的物理和化学性质^[17]。当溶液 pH 值较低时, 由于此时溶液中存在大量的 H^+ , 腐殖酸钠表面的作用位点被 H^+ 大量占据, 这就减少了腐殖酸钠与 ZEN 的作用位点; 同时, H^+ 和 ZEN 的竞争效应, H^+ 能与腐殖酸钠表面的不饱和离子发生离子交换作用, 使得对 ZEN 吸附效果差。已知 ZEN 分子中含有 2 个酚羟基, 等电点为 7.16^[18], 在溶液 pH < 7.16 时, ZEN 主要呈弱酸性, 所以当 pH = 2、5 时复合剂 G 对 ZEN 的脱毒作用较弱, 此时复合剂 G 可能以物理方式吸附 ZEN。随着 pH 的增加, 溶液中 H^+ 减少, 与复合剂 G 竞争作用减弱, 同时腐殖酸钠中酚羟基等活性基团的 H^+ 解离, 使得复合剂 G 对 ZEN 的吸附能力增强。

4.2.2 试验温度

本研究中, 吸附剂在 20 °C 和 37 °C 条件下, 37 °C 和 60 °C 条件下的吸附情况不一致。这反映出腐殖酸钠与复合剂 G 在低温下好。在 37 °C 时, 复

合剂 G 吸附率达 99%。在高于常温 37 °C 时, 腐殖酸钠吸附较差, 原因极可能是吸附是以物理吸附为主。但是在高温时, 复合剂 G 吸附率虽然吸附率有所下降, 但是也达到了 75.26%, 说明复合剂 G 极也可能存在化学吸附, 之所以吸附率会有所下降是原因可能是该化学反应是放热反应。

4.2.3 脱毒剂用量

本研究中, 在一定范围内, 随着腐殖酸钠和复合剂 G 用量的增加, 腐殖酸钠及复合剂 G 对溶液中 ZEN 的脱毒作用逐渐增强, 这与前人^[19-21]关于霉菌毒素脱毒剂对霉菌毒素脱毒效果的影响结果一致。原因可能是吸附剂的添加量影响复合剂 G 与 ZEN 的有效作用位点结合。本研究结果显示, 复合剂 G 添加剂量要少于腐殖酸钠的添加量, 复合剂 G 更节省经济。

4.2.4 吸附稳定的时间

本研究中, 腐殖酸钠吸附稳定的时间为 90 min, 而复合剂 G 吸附稳定的时间为 60 min, 此时达到了一个动态脱毒平衡。复合剂相对于单一吸附剂可以更快地达到吸附稳定。吸附平衡的时间越短, 在动物体内吸附剂对 ZEN 的吸附作用越好, 若吸附时间过长, 吸附剂可能不会充分吸附饲料中的 ZEN。

4.3 复合剂 G 对 ZEN 的吸附效果

在本研究体外试验中, 添加 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的复合剂 G 振荡 60 min 后检测结果, 发现复合剂 G 对 ZEN 吸附量随着 ZEN 初始浓度增加而增加, 考察范围内最高可达 $961.42 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 这与前人^[22]考察影响结果一致。

5 小结

在统一试验条件下腐殖酸钠、活性炭、复合剂 G 对 ZEN 脱毒率分别为 78.5%、69.17%、95.62%, 复合剂 G 对 ZEN 的吸附效果最佳, 并经解析试验证明, 复合剂 G 对 ZEN 吸附最为稳定。本研究结果为腐殖酸类 ZEN 吸附剂的实际应用提供了重要依据。

参考文献 References:

- [1] JIANLEI F, MEI S, DU H H. In vitro adsorption of Zearalenone by cetrytrimethyl ammonium bromide-modified montmorillonite

- nanocomposites. *Micro Meso Mater*, 2008(1/3): 99-113.
- [2] CHA-MER W, BENT S H, MAURICE H V, MCLAUGHLIN P M. Mechanism of action of the mycotoxin trichodermin, a 12, 1. *PNAS*, 1974, 71: 713-717.
- [3] PLACINTA C M, D'MELLO J P F, MACDONALD A M C. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology*, 1999, 31: 21-37.
- [4] JEAN P J. Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 2007, 137(3): 342-346.
- [5] 刘凤芝, 李峰, 王永丽. 2017年上半年我国部分地区饲料及饲料原料中霉菌毒素的污染状况分析. *粮食与饲料工业*, 2017(11): 46-50.
- LIU F Z, LI F, WANG Y L. Investigation of mycotoxins in feed ingredients in the first half of 2017 in some parts of China. *Cereal and Feed Industry*, 2017(11): 46-50.
- [6] JIANG S Z, YANG Z B, YANG W R. Effects of feeding purified earalenone contaminated diets with or without clay enterosorbent on growth, nutrient availability, and genital organs in post-weaning female pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2010, 23(1): 74-81.
- [7] ZHENG W L, PAN S Y, WANG G. Zearalenone impairs the male reproductive functions via inducing structural and functional alterations of sertoli cells. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2016, 42: 146-155.
- [8] 王金勇, 刘颖莉. 2011年第三季度中国饲料和原料中霉菌毒素污染调查报告. *今日养猪业*, 2012(1): 321-334.
- WANG J Y, LIU Y L. Investigation of mycotoxins in feed ingredients in the first half of 2011 in the third quarter in China. *Pigs Today*, 2012(1): 321-334.
- [9] KABAK B, DOBSON A D, VAR I. Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2006, 46(8): 593-619.
- [10] 王建华. 霉变饲料的霉菌毒素与防霉去毒技术. *动物科学与动物医学*, 1995, 12(1): 5-7.
- WANG J H. Anti-mildew of feed and detoxification of mildew feed. *Animal Science and Veterinary Medicine*, 1995, 12(1): 5-7.
- [11] 叶盛群. 腐殖酸钠去除霉菌毒素效果研究. 成都: 四川农业大学硕士学位论文, 2009.
- YE S Q. Study on removal efficacy of mycotoxins by sodium humate. Master Thesis. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2009.
- [12] 张丽珍, 陈伟, 陈本建. 腐殖酸钠对紫花苜蓿根系生长及生物量的影响. *甘肃农业大学学报*, 2016, 51(3): 114-120.
- ZHANG L Z, CHEN W, CHEN B J. Effects of sodium humate on root growth and biomass of *Medicago sativa*. *Journal of Gansu Agricultural University*, 2016, 51(3): 114-120.
- [13] 沈朝雄. 生物活性腐殖酸对仔猪生产性能影响试验. *福建畜牧兽医*, 2002, 24(1): 8.
- SHEN Z X. Study on effect of humic bio-active fertilizer on performance of weaned piglet. *Fujian Acta veterinaria et zootechnica*, 2002, 24(1): 8.
- [14] 方国天. 断奶仔猪日粮添喂腐殖酸钠的效果. *中国饲料*, 1997(7): 16.
- FANG G T. Effect of sodium humate by dietary supplement on weaning piglets. *China Feed*, 1997(7): 16.
- [15] 李国清, 罗生全. 海藻酸钠-腐殖酸钠吸附法处理重金属废水的研究. *集美大学学报*, 2007, 12(3): 226-231.
- LI G Q, LUO S Q. Study of heavy metal wastewater by sodium alginate-sodium humate adsorption. *Journal of Jimei University*, 2007, 12(3): 226-231.
- [16] RAMOS A J and HEMANDEZ E. In vitro Aflatoxin adsorption by means of a montmorillonite silicate: A study of adsorption isotherm. *Animal Feed Science and Technology*, 1996, 62(2-4): 63-269.
- [17] EI-SHARKAWY S, ABUL-HAJJ Y J. Microbial cleavage of zearalenone. *Xenobiotica*, 1998, 18(4): 365-371.
- [18] D'MELLO J P F, PLACINTA C M, MACDONALD A M C. *Fusarium* mycotoxins: A review of global implications for animal health, welfare and productivity. *Animal Feed Science and Technology*, 1999, 80: 183-205.
- [19] ABID E S, OUANES Z, HASSAN W, BAUDRIMOUT I, CREPPY E, BACHAH. Cytotoxicity, inhibition of DNA and protein syntheses and oxidative damage in cultured cells exposed to zearalenone. *Toxicology in Vitro*, 2004, 18: 467-474.
- [20] HASSEN W, GOLLI E E, BAUDRIMONT I. Cytotoxicity and Hsp 70 induction in Hep G2 cells in response to zearalenone and cytoprotection by sublethal heat shock. *Toxicology*, 2005, 207: 293-301.
- [21] GIUSEPPINA A, ROBERT H, ANGELO V. Assessing the zearalenone-binding activity of adsorbent Materials during passage through a dynamic in vitro gastrointestinal model. *Food and Chemical Toxicology*, 2003, 41(10): 1283-1290.
- [22] LANGMUIR L. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. *Journal of the American Chemical Society*, 1917, 39(9): 1848-1906.

(责任编辑 魏晓燕)