

真菌毒素的降解技术研究进展

纪剑, 于坚, 王良哲, 邹东, 付旭冉, 孙嘉笛, 张银志, 孙秀兰*

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 真菌毒素是一类长期困扰粮食安全的重要污染物, 尤其是对于谷物类作物具有极大的危害性, 因此, 对于真菌毒素的检测与降解已经成为粮食安全方面的重点攻克对象。根据现有的研究, 主要的降解手段有物理法、化学法以及生物法等, 此外还涌现出了多种手段协同作用降解的方式, 种类呈现多样化的趋势。因此, 为了进一步推进更加便捷、高效的真菌毒素降解方法应用到相关的粮食领域中, 减少降解剂对食品本身品质的影响, 并帮助开发新的真菌毒素降解方法。作者综述了近年来研究者在防控粮食等产品中各种真菌毒素污染所采用的不同策略, 并且分析了相应的产毒机制, 讨论了现阶段所采用的各种方法防控真菌毒素的优势和不足, 同时展望了未来食品工业对真菌毒素降解方法的发展新趋势, 提出了新的研究方向。

关键词: 真菌毒素; 生物降解; 物理降解; 化学降解; 粮食安全

中图分类号: TS 213.3 文章编号: 1673-1689(2022)05-0001-10 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2022.05.001

Research Progress in Mycotoxin Degradation Technology

Ji Jian, Yu Jian, Wang Liangzhe, Zou Dong, Fu Xuran, Sun Jiadi, Zhang Yinzhi, Sun Xiulan*

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Mycotoxins are important pollutants that have long been a serious problem of food security, especially for cereal crops. Therefore, the detection and degradation of mycotoxins has always been a focus of food safety research. According to the existing research, the main degradation methods are physicochemical and biological methods. In addition, a variety of synergistic degradation methods have emerged with a diversified trend. Therefore, the recent research efforts in different strategies used to control the contamination of various mycotoxins in food and other products were reviewed in this article, aiming to further promote the application of more convenient and efficient mycotoxin degradation methods to the relevant food fields, to reduce the impact of degradants on food quality, and to inspire new mycotoxin degradation methods. The corresponding toxin production mechanisms were analyzed, and the advantages and disadvantages of various methods to prevent and control mycotoxins at present were discussed. At the same time, the future development trend of mycotoxin degradation methods in food industry was prospected, and new research points were put forward.

Keywords: mycotoxins, biodegradation, physical degradation, chemical degradation, food security

收稿日期: 2021-01-27

基金项目: 国家自然科学基金项目(31801660, 31772069)。

作者简介: 纪剑(1988—), 男, 博士, 副研究员, 硕士研究生导师, 主要从事食品安全与代谢毒理方面的研究。E-mail: jijian@jiangnan.edu.cn

* 通信作者: 孙秀兰(1976—), 女, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事食品安全与代谢毒理方面的研究。E-mail: sxlzz@jiangnan.edu.cn

真菌毒素 (Mycotoxin) 是由各类相应的真菌所分泌的有毒代谢产物, 目前发现的真菌毒素的种类逐年攀升, 已经超过了 300 种^[1], 此外还存在超过 30 种的真菌会分泌出有害的代谢产物。据世界粮农组织 (Food and Agriculture Organization, FAO) 估计, 全世界每年超过 25% 的农作物会受到真菌毒素的侵害, 造成的经济损失难以估计。目前, 真菌毒素的污染主要集中在亚洲、南美和中北美等全球重要的粮食作物产区^[2]。美国农业部 2017 年提供的数据表明, 美国 2016 年稻谷类的真菌毒素检出率超过了 20%, 平均检出 12.43 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。在巴西、阿根廷和乌拉圭等粮食生产大国也存在不同程度的粮食真菌毒素污染^[3]。此外, 我国东部地区由于气候条件较为湿润, 小麦、水稻、玉米等粮食作物也时常会受到真菌毒素的污染。对 2013—2014 年山东省玉米的研究表明, 储藏期玉米样品中 AFTs 等真菌毒素的检出率均高于收货时的样品^[4]。此外, 根据世界粮农组织的报道, 目前对世界粮食安全威胁较大的真菌毒素有: AFB 类、赭曲霉毒素、呕吐毒素和伏马毒素等, 在非洲东部地区甚至存在少量 T-2 毒素的污染^[5]。

粮食加工储运过程是毒素产生的重要一环。粮食作物等在收获后未被完全烘干, 或者在贮运中温、湿度提升至有毒真菌适宜生长的程度, 就可能使粮食、饲料上的有毒真菌加速代谢。研究表明, 几乎在粮食库中繁衍的真菌, 即仓储类真菌, 都可能侵染谷物, 在合适的温度和水分活度大量分泌真菌毒素, 并导致谷物出现毒素富集。因此, 控制加工储运过程温湿条件可以减少真菌的生长和毒素的富集^[6]。但是, 对于已受到毒素侵染的粮食, 毒素的吸附与降解是有效的补救措施。因此, 在真菌毒素污染日趋严重的状况下, 如何有效地防控真菌毒素的泛滥、减少粮食作物中真菌毒素的量、开发出更有效的粮食储藏策略, 已成为当今粮食安全领域的研究热点^[7]。

1 常见的真菌毒素结构与毒性

黄曲霉毒素 (*A. flatoxin*, AFT) 的产毒菌株是黄曲霉等霉菌生物, 其结构为双呋喃环香豆素结构^[8-9]。根据结构的不同, 可以分为 B 族 (AFB₁、AFB₂)、G 族 (AFG₁、AFG₂) 和 M 族 (AFM₁、AFM₂)。黄曲霉毒素主要侵害动物或人类的肝脏部位, 高剂量的 AFT 可

引起肝细胞出现坏死的症状。动物如果长期受到低剂量的毒素刺激, 会导致动物的生长减缓和肝脏的异常肿大^[9-10]。

玉米赤霉烯酮 (Zearalenone, ZEN) 简称为 F-2 毒素, 对人类健康有巨大威胁, 它与雌激素的作用相似, 影响生殖功能、损害肝脏系统。妊娠期的动物采食含 ZEN 的饲料可能导致流产症状、胎儿死亡和胎儿畸形^[11]。ZEN 参与并干扰生殖过程、造成氧化应激并导致细胞和 DNA 损伤、引起细胞凋亡等。ZEN 其他的有毒衍生物还有 α -ZOL 和 β -ZOL 等^[12]。

脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (Deoxynivalenol, DON) 为雪腐镰刀菌烯醇 (Nivalenol, NIV) 的脱氧衍生物, 其他的衍生物还有 3-ADON 和 DOM 等。研究发现, 小麦在田间可以分离出 14 个属 21 种真菌, 在储藏期分离出 20 个属 51 种真菌, 这些菌与 DON 的产生都有非常紧密的联系^[13-14]。

赭曲霉毒素 (Ochratoxins, OCT) 是一组由赭曲霉 (*Aspergillus ochraceus*)、疣孢青霉 (*Penicillium verrulosum*)、纯绿青霉 (*P. viridicatum*) 及其他几种真菌产生的次级代谢产物, 其中赭曲霉毒素 A (Ochrotoxin A, OTA) 是毒性最大的。动物摄入了含有 OTA 的饲料后, 这种毒素还将可能出现在动物的肉类制品中。赭曲霉毒素主要作用部位是肝与肾, 大量的 OTA 堆积也可能引起动物的肠道坏死。还有其他衍生物如 OTB 和 OTC 等^[15]。

伏马菌素是一种霉菌毒素, 共有 FB₁、FB₂、FB₃ 等 3 种结构。伏马菌素的产毒真菌是串珠镰刀菌 (*Fusarium moniliforme*), 其次是多育镰刀菌 (*Fusarium proliferatum*)^[16]。伏马菌素对人和动物是一种强致癌因子, 动物实验和流行病学研究已证实, 伏马菌素会引起肝功能损伤, 以及马的脑白质损伤, 并与我国和南非部分地区高发的食道癌症状有关, 引起了世界研究者的广泛兴趣。但目前国内对于伏马菌素对人体健康影响尚无研究^[17-18]。

常见真菌毒素的产毒菌属及其衍生物结构见图 1。

2 常用降解方法

2.1 物理降解法

物理降解法的主要思路是利用物理射线或者改变外部环境条件, 例如热量、湿度等, 采用高温的方法对粮食中存在的少量真菌毒素进行祛除, 或者

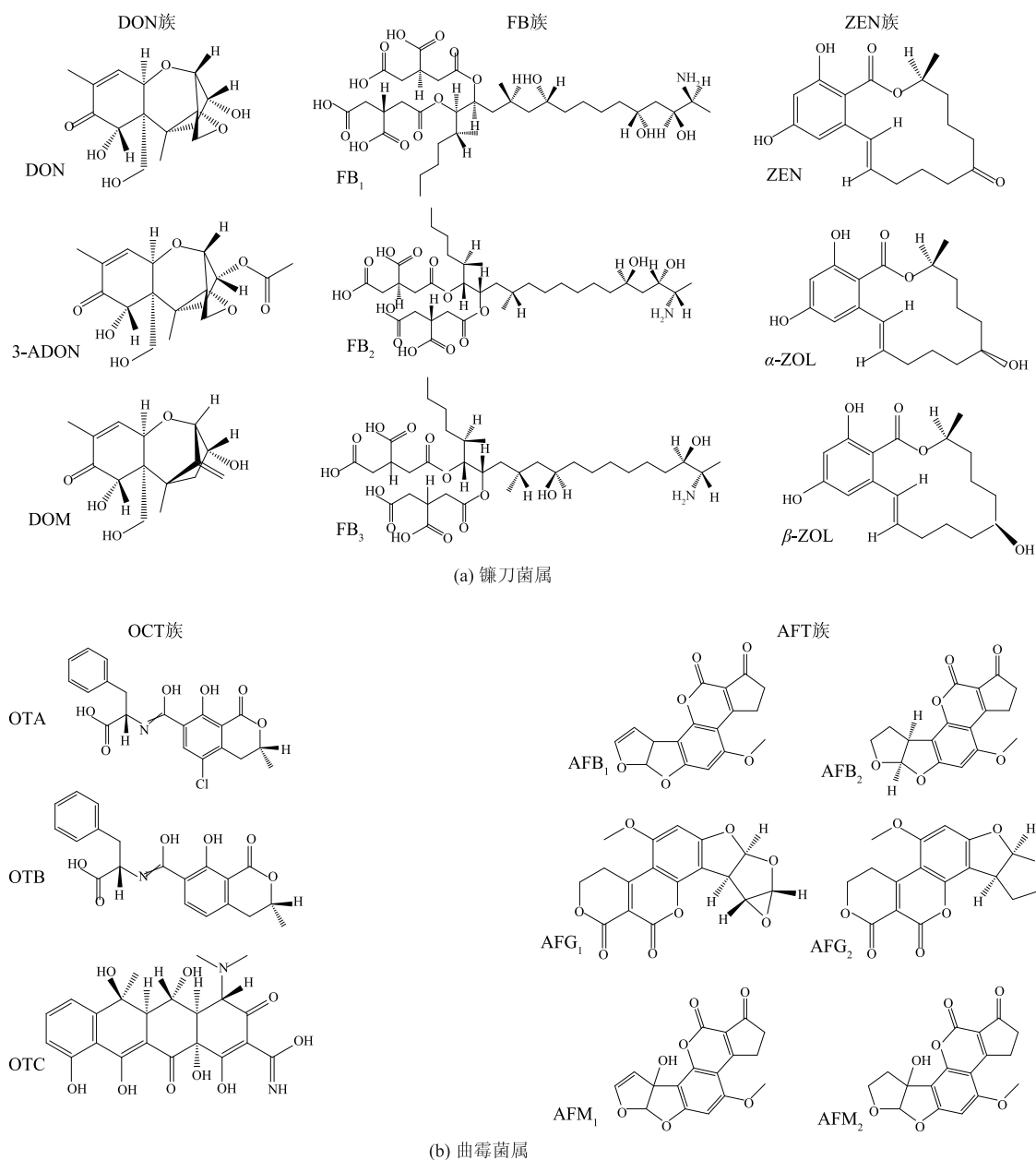


图1 常见真菌毒素的产毒菌属及其衍生物结构

Fig. 1 Common mycotoxin-producing bacteria and their derivatives

破坏产毒真菌的遗传物质导致其死亡。常见的物理降解法为辐照处理法、热处理法、微波处理法和吸附法等^[18-19]。

2.1.1 辐照法 辐照法最常用的是采用紫外线和 γ 射线等物理射线对含有有毒真菌或真菌毒素残留的食品进行照射,从而达到破坏真菌的遗传物质或真菌毒素的结构来达到毒素消解的作用^[20]。

紫外线辐照可以破坏一些产毒真菌的核酸,使真菌的繁殖能力受限。当真菌的蛋白质结构受到辐

射破坏,真菌的代谢也将发生紊乱,最终无法进行代谢的霉菌会发生死亡,从而达到控制有害真菌生长的作用。目前的研究发现^[21],紫外LED冷光技术对于花生油中的毒素B₁(AFB₁)的含量降低具有较强作用,并且对花生油的品质影响不大。此外,若采用254 nm紫外光对DON毒素质量分数为60 $\mu\text{g/g}$ 的玉米饲料进行处理^[22],并连续搅拌30 min,其中的DON质量分数也可以显著降低(13 $\mu\text{g/g}$),且其中所含维生素E素等营养物质的含量没有变化^[23],这表

明紫外线辐照对于食品中的真菌毒素具有一定的效果,并且对于食品中原有的营养物质有较好的保护作用,几乎不会引起营养物质的流失,因此,紫外辐照法在食品生产中具有非常广阔的应用前景。

γ 射线是另一种较为常见的物理辐照方法。 γ 射线是原子核进行能级跃迁后,发生退激时所释放出的射线^[24]。 γ 射线可有效破坏真菌毒素的稳定结构,对霉菌和霉菌毒素都有较大的损害, γ 射线的剂量通常为3~5 kGy/h。利用电子加速器产生的电子束以及紫外线辐照已经可以用于谷物中的DON的去毒。利用 Co^{60} - γ 射线辐照不同条件下的DON及其衍生物,结果发现DON和3-ADON等对该种射线均会产生强烈的反应,但是在干燥状态下毒素对辐照不敏感^[25]。李萌萌等^[26]认为,当10 kGy的 Co^{60} - γ 射线剂量处理0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ DON溶液时降解率达90%以上。因此, γ 射线也是一种非常适合于小麦等作物的真菌毒素去除手段,对于粮食产业的真菌毒素脱毒具有非常重要的作用,并且 γ 射线设备条件较为简单,且适合工厂等环境的使用。

但是需要注意的是, γ 射线辐照能量大,可能破坏食品原有质构,这对产品品质影响较大。因此目前对于辐照法的应用仍然无法解决食品品质下降的问题^[27]。

2.1.2 热处理法 热处理法是将食品处于高湿度条件,采用高温、负压的方式去除其中的霉菌毒素。150 $^{\circ}\text{C}$ 以上温度可以破坏部分黄曲霉毒素,其程度取决于食品中黄曲霉素的浓度、加热的时间和温度,同时也与食品湿度、pH值和离子强度相关,水分含量高的食品比水分含量低的食品更容易用加热法使真菌毒素失活^[28]。

热和碱性环境的协同作用也会增加对真菌毒素的降解效果,这是由于某些真菌毒素的适合存在条件为酸性,而在高温且碱性条件中可能会破坏适应酸性环境的基因^[29]。研究表明,如果将DON在不同温度下加热1 h,在125 $^{\circ}\text{C}$ 时DON开始发生降解,若将温度提升至250 $^{\circ}\text{C}$,DON的降解率将提升到83%以上^[30]。由于某些真菌毒素在低温、酸性环境中具有较好的稳定性,而在高热、碱性环境中不利于真菌毒素的稳定性,更易于发生分解,并且毒性降低。

热处理与负压环境协同也可以显著降解真菌毒素。采用负压处理后可以降低真菌毒素的沸点,

无须在较高温度中就可以发生沸腾^[31]。此时再加上外界的蒸发作用,使得真菌毒素更加容易与食品发生分离,并通过脱臭作用可以将其排除。目前可采用该方法对花生油中的黄曲霉毒素进行去除,可以用于工业化去除真菌毒素,且成本更为低廉^[32]。

2.1.3 微波法 微波为一种波长为0.001~1 m的电磁波,具有较强穿透的作用。其对物质降解的原理是利用微波能量使分子快速旋转,并产生强烈的轰击作用,从而下调化学键强度,并使某些化学键断裂,从而达到降解的目的^[33]。研究发现,在一定的范围内,随着微波强度(100~800 W)的上调和处理时间的延长,AFT的降解率也获得显著提升^[34]。而通过比较微波辐照处理前后玉米粉的品质发现,微波辐照对玉米粉营养品质可以产生较小的影响,而且经过微波处理后,AFB₁的结构中的二呋喃环双键基团消失,这表明微波降解后AFB₁的毒性明显下调,微波辐照后的AFB₁不会产生二次污染^[35]。

2.1.4 吸附法 吸附法是目前人们广泛认同的方法,按性质分为物理、化学与生物吸附剂,即采用物理、化学或生物的方法合成所需吸附剂^[36]。

物理吸附剂常用的有活性炭、膨润土、凹凸棒石等。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,是美国食品药品监督管理局批准的最强的霉菌毒素吸附剂。活性炭是由天然植物残渣等经过碳化后再采用化学或物理活化处理而成的,适用范围同样广泛^[37]。

化学吸附剂主要为化学合成吸附剂,如纳米合成材料等。这些材料可以通过化学合成的手段进行获取,其技术支撑有纳米技术与化学物质对有害物质的吸收等。通过化学手段合成了一种纳米微孔基材负载化学吸附剂,此类吸附剂可以有效吸收包括空气中的甲醛等有害物质^[38]。这一思路同样可适用于真菌毒素的吸附,化学合成的材料尤其是纳米材料,结构较为稳定,相比于物理吸附有更好的吸附效果^[39]。

常见的生物有机吸附剂是酵母菌细胞中碳水化合物,其中的葡甘露聚糖是一种具有很强吸附性的杂多糖,目前研究的有机吸附剂多是由 β -D葡萄糖和 β -D甘露糖以 β -1,4-糖苷键结合而成。侯然等^[40]从啤酒酵母中提取葡甘露聚糖,添加到基础粮中与AFT混合,饲喂给健康鸡。结果表明,甘露聚糖可以显著改善鸡的生长发育特性,明显下调AFT

的毒性,消除了 AFT 对动物的影响。此外还有由马申媯提出的植物蛋白和益生菌的复合制剂^[41]可以有效减少包括真菌毒素在内的多种污染物对小鼠的影响。植物蛋白和益生菌的复合制剂是目前一种新兴的吸附剂,原料来源于自然材料,安全且有助于对人体健康。

2.2 化学降解法

化学法是继物理法降解后所产生的一种新型降解方法。其主要方式为向食品中添加化学物质,使之与真菌毒素发生反应,从而将真菌毒素降解为毒性较低的物质或者无毒性物质^[42]。化学降解法的主要问题在于化学物质的残留对食品品质的影响,若采用不合适的化学降解剂,可能对食品的品质与人体健康造成严重影响。

2.2.1 还原剂法 还原剂法是通过让真菌毒素发生还原反应,使类似于内酯环的毒性结构发生断裂,最终导致毒素失去作用的降解方法。亚硫酸氢钠通过与 DON 的酮羰基或第 9 位双键反应,形成 DON 磺化衍生物——DON 磺酸盐(DONS),以减少毒素的损害^[43]。此前的研究表明,在 80 °C 条件下,采用亚硫酸氢钠高浓度溶液处理玉米 18 h, DON 降解率达 85%, DON 分子可以进一步转化为 DONS^[43]。DÄNICKE 等^[44]研究发现, DONS 在酸性条件下是稳定的,但在碱性条件下被转化为 DON,这种反转换取决于 pH、时间和温度。因此,还原剂法的应用所需要的条件较为苛刻,很难应用于工程化真菌毒素的降解^[45]。

2.2.2 碱处理法 碱处理法中常见的为氨气处理,原理是 MH3 和真菌毒素发生脱 OH 反应,使真菌毒素的环状毒性结构受到破坏,从而使其失去毒性^[46]。氨处理法中最主要的方式是氨气熏蒸法,利用氨气熏蒸法处理受到 AFB1 污染的花生时,在氨气体积分数为 10% 的条件下,经过 96 h 的熏蒸, AFB1 的降解率达到 95.06%。而在常温条件下将玉米粒和氨气一同密封,并且在仓内储存 13 d,黄曲霉毒素则可以从 1 000 μg/kg 下调至 20 μg/kg 以下^[46]。如果提升存储仓的温度,降解时间可以下调至 3 d 以内^[47]。氨气来源较广且易于回收,降解黄曲霉毒素的效率高,因此具有极大的发展潜力。但氨气可能影响人体健康及环境,而且还影响食品的品质。目前氨气熏蒸法广泛用于筒仓粮食储存过程中,因为筒仓的特殊结构有利于氨气熏蒸及回收,并且相比于其

他碱性物质,氨气的碱性较弱且较少引起人体的不良反应,而在其他方面则缺少相关应用的报道。

2.2.3 氧化剂处理法 强氧化剂(如臭氧)能够与很多化学官能团发生反应,特别是对真菌毒素的双键毒性结构有着很强的作用,在降解真菌毒素的同时还能够破坏多种毒素,且降解产物没有毒性,便于存储回收。呕吐毒素(DON)属单端孢霉烯 B 族化合物,常见的可降解 DON 的氧化物质为臭氧^[48]、过氧化氢等,其中臭氧和过氧化氢的分解产物均无毒^[49]。相比臭氧,其他氧化物质对 DON 的降解效果并不明显^[50]。总的来说,臭氧是目前最适合用于真菌毒素降解的氧化剂,并且相比于其他氧化剂具有更高的安全性,对于食品本身品质的影响也较小。

2.2.4 天然植物成分处理法 研究发现,一些天然植物成分在不影响真菌生长的情况下选择性地抑制真菌代谢物,可大大降低真菌在遗传过程中对该物质的抗性。目前有研究较多的有酚类物质、萝卜硫素、维生素及前体。这些物质属于纯天然物质,不会对环境以及人体健康造成影响,具有非常好的应用前景。

维生素是维持人和动物正常生长发育的重要营养物质。维生素 A(VA)、维生素 C(VC)、维生素 E(VE)及维生素前体物质具有强抗氧化作用,可作为保护剂抑制真菌毒素诱导基因毒性^[51]。VA、VC 和 VE 均能有效抑制暴露 OTA 和 ZEN 小鼠肾脏和肝脏中两种毒素基因加合物的形成。研究表明,VE 能降低鸡体内 OTA 和 T-2 毒素诱发的脂质的过氧化程度^[51]。此外 VE 也是人体所需的重要营养素,采用此法不仅可以减少真菌毒素的污染,而且可能增加食品的营养功能,有助于维护人体健康。

萝卜硫素(Sulforaphane, SFN)又称“菜菔硫烷”,是一种常见抗氧化物质。体外实验发现, SFN 能抑制 AFB1 对原发性肝细胞诱导的基因毒性^[52-53]。虽然 SFN 在现有的研究领域很少被提及,但是却因其独特的抗真菌毒素特性而受到粮食安全领域的研究者的关注,所以 SFN 在未来可能也会成为真菌毒素降解中的重要选择。

多酚物质具有较强的抗氧化性,对人体健康有很多益处。现有研究表明,多数酚类物质通过提升机体抗氧化能力来发挥抑制真菌毒素的毒性作用,其中较为常见的有姜黄素、花青素等^[54]。姜黄素(Curcumin, CM)可调节细胞色素氧化酶 P450 的活

性,从而减少 AFB₁-DNA 加合物的形成。多酚类物质是一种较为复杂的混合化学体系,其中含有多种生理功能,这些生理功能已经被证明具有真菌毒素的脱毒功效,因此多酚类物质的应用前景将进一步拓宽。

花青色素 (Cyanidin-3-O- β -glucopyranoside, C-3-G)在体外对 OTA 和 AFB₁ 诱导的细胞损伤具有显著的保护作用,能预防 OTA 和 AFB₁ 抑制细胞内蛋白质和 DNA 合成,降低两种毒素诱导氧化基团的产生。而与细胞凋亡有关的蛋白质 caspase-3 的活性降低后,细胞的存活率明显升高^[55]。因此研究认为,花青素具有较强的抗氧化能力,且对于抑制真菌毒素泛滥起到了关键作用。总的来说,以花青素为主的植物天然成分的广泛应用,引导研究者将目光重新聚焦于植物中的天然组分,这为新型真菌毒素降解剂的研究打开了一个全新的思路。

2.3 生物降解法

生物降解法主要是利用生物间天然的拮抗作用抑制致毒真菌的代谢过程,进而减少真菌毒素的污染;或者利用生物间的吸附作用进行降解^[56]。与物理、化学方法相比,生物降解具有效率高、针对性强等优势,是当前真菌毒素降解的研究热点。真菌毒素的生物降解法常见为微生物处理和生物酶法,前者是利用不同微生物自身的代谢或者吸附实现对毒素的清除或转化,应用较为广泛^[57];后者是通过在微生物中分离出能够降解真菌毒素的酶,利用酶的安全、高效、稳定、特异性高、经济可行性等特点,将毒素分解为低毒性或者无毒性的产物^[58]。此外,随着基因编辑技术的成熟,“细胞工厂”的概念也逐渐进入研究范围,并开始考虑将其引入到真菌毒素的降解中。

2.3.1 微生物法 可用于微生物法降解的菌株主要来源有以下 3 种:自然界筛选、诱变筛选、基因改造筛选^[59]。真菌毒素降解菌株可以采用在含毒素的环境中通过目标筛选得到,筛选方法为在培养基中添加毒素或者毒素类似物作为唯一碳源。有研究表明^[60],用绿脓杆菌 FMM-1 降解后的提取液中 DON 的降解率为 50%。此外,根据吴宛芹^[61]的研究,乳酸菌对于 DON 具有相当高的降解能力。杜京霖^[62]的研究表明,可降解真菌毒素的酵母菌主要有酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)、卡利比克毕赤酵母 (*Pichia caribbica*)、胶红酵母 (*Rhodotorula*

mucilaginosa) 和耶罗维亚酵母 (*Yarrowia lipolytica*) 等。因此,采用经过食品安全研究的菌种对有害化合物,如真菌毒素等进行降解与脱毒是食品安全防控新思路。

2.3.2 微生物酶法 酶法降解真菌毒素具有显著的优势,虽然人们对于用于工业应用的真菌降解酶的兴趣越来越大,但实际能应用的酶的数量仍然滞后,在过去的 10 年里,只有 7 项专利报道了用于真菌降解的新酶,所以微生物酶法降解技术仍然处于研究的初级阶段,具有广阔的发展前景。

生物酶法主要是采用一些具有毒素降解作用的可食用真菌或细菌,这些真菌和细菌中常常含有降解真菌毒素的基因或酶类。将其中的基因进行提取或者对降解酶进行纯化可以获得新型的更加安全的降解酶。目前已经开发出了多种适合如 ZEN 和 AFB₁ 或者 DON 的降解酶,例如 ZHD101 降解酶或 Oxa 氧化酶。但是这些酶尚未真正进入工业化生产,其安全性仍有待评价,因此目前很少有食品生产企业直接将生物中获得的霉菌直接用于真菌毒素的脱毒。对微生物酶法最重要的问题是安全性评价,需要经过动物、人体临床试验的双重验证。

目前,酶法解毒存在以下问题^[63]:缺乏对于毒素的代谢机理的研究,这限制了新酶的开发;同一食品中含有多种毒素,需要添加多种酶来发挥作用,增加了工艺调控的复杂性;一些酶通过将真菌毒素降解为毒性较弱的化合物来发挥作用,但是无法完全解毒,从而使该酶的应用受限。虽然已有关于真菌降解酶的报道,但应用于商业化的仅为降解 FB₁,大部分酶仍然因为稳定性差、酶活性不高而处于实验室研究阶段,因此需要挖掘能降解真菌毒素的新酶。此外,表达量低一直是制约降解酶推广应用的 key 问题。于心蕊^[64]开发了一种具有较高表达量的 ZEN 降解酶 XYNB+ZHD101,比单个 XYNB 和 ZHD101 酶的表达量提高了 1.2 倍。但是该方法仍未开发出生物降解酶的最大降解特性,表达量处于较低水平,需要进行改良以及安全性评价。

2.3.3 “细胞工厂”降解 近年来,随着合成生物学技术的成熟和基因编辑技术的快速完善,研究者们利用合成生物学及基因编辑技术已经成功构建出了能够生产生物化学品、生物燃料、香料、药物、工业酶和药用蛋白质等多种高附加值工业产品的细胞生物工厂,使得细胞生物在食品、药品和生化能

源等方面均具有巨大的应用潜力。目前来说,尚无将细胞工厂运用到真菌毒素的降解中的案例,但是可以参照细胞工厂生产重组蛋白质的方法生产真菌毒素降解酶^[65]。细胞工厂降解是通过基因编辑技术对原有的细胞基因进行修改,采用生物合成技术对不同的优势基因进行组合,获得更加优良的真菌毒素降解基因,并进行降解酶的生产。目前运用这种思路进行生产的工业化酶有耶氏酵母酶,是一种从耶氏酵母中分离得到的专用于脂质降解的酶,可以用于多种能源和化工材料的合成^[66]。这一思路同样可以应用于真菌毒素的降解方面,已有研究表明,某些食品级真菌如黑曲霉具有较高的降解ZEN和AFB₁的能力,采用诱变等方法可以较好地强化降解相关的基因,再通过基因合成技术可以建立专用于某种真菌毒素或联合真菌毒素的降解用细胞工厂。

2.4 协同降解

物理方法操作简单,但是降解效果有限;化学方法降解效果较好,但化学物质会破坏食品感官品质,且不适用于处理干物质,残留的化学物质也可能造成二次污染。生物法具有高效专一的特点,但伴随着成本高、见效周期长等问题,难以达到预期的经济效益,而且微生物代谢产物稳定性、毒性及对营养价值的影响未知。如何将这些方法的优点加以结合,减少方法缺陷带来的危害,于是协同作用成为降解的新思路。

2.4.1 复合光催化降解 光催化降解作为一种先进的降解技术,具有无二次污染、条件温和、成本低等优点,已成功应用于废水和气体环境中有机污染物的降解。在众多的催化剂中,二氧化钛(TiO₂)具有较高的氧化性、光稳定性、无毒性等优点,在环境污染物的降解中发挥了重要的作用。活性炭具有孔结构发达、比表面积大、吸附量大、成本低等特点,是一种常见的真菌毒素及其他污染物的吸收剂。活性炭/TiO₂的复合光催化剂具有吸附和光解的协同作用,与单一催化剂的降解活性相比,对黄曲霉毒素的降解活性提高了20%^[67]。同时,研究人员还对光催化降解的催化剂进行了研究,三元催化剂WO₃/RGO/g-C₃N₄的降解效果要优于二元和一元催化剂^[68]。采用这种复合光催化材料可以最大程度减少化学材料对食品本身品质的破坏,并且选用的材料对人体毒性极低,因此更容易被消费者接受。

2.4.2 物理方法和化学方法协同作用 针对物理方法的降解率低但残留少和化学方法降解率高但残留多的特点,开发出了物理与化学协同作用的新型降解方法。Abuagela等^[69]发现,在柠檬酸(Citric Acid)和脉冲光(Pulse Light)共同处理后,花生样品中AFB₁和AFB₂的降解率分别达到98.9%和98.1%;Alcantar-Barrios等^[70]用酒石酸对被AFB₁污染的玉米粉样品进行降解,再进行红外辐射处理,使样品AFB₁含量降低了87%;靳志强等^[71]人对微波、紫外辐照和臭氧熏蒸联用技术进行了整合使用与测试,并确定了最佳联用方式为MW-UV/·O₃(-表示串联,/表示并联),该方法不仅可以对霉变玉米进行灭霉,也可以降解产生的黄曲霉毒素,且效果优于单一方式降解效果。

2.4.3 化学方法和生物方法协同作用 多元协同技术为真菌毒素的处理提供了新的研究思路,不过由于不同方法的各自局限性,协同使用的选择搭配方式也面临更为复杂的考验,需要较长时间的探索和验证。相信随着上述理、化、生的方法的进步,不同技术综合利用的策略会应用在真菌毒素的降解中。将丁香酸甲酯作为介质,枯草芽孢杆菌漆酶对AFB₁降解活性达到98%;利用淫羊藿、薰衣草等植物的天然衍生物作为介质,可以提高漆酶的降解活性,使其可以更加适应食品中真菌毒素的降解与分离^[72]。常见真菌毒素降解方法见表1。

3 展望

通过对粮食工业中常见的真菌毒素阐述表明,真菌毒素的降解方法呈现多样化的趋势。所以寻找高效廉价的酶、微生物或者植物天然物质是降解方法能够获得广泛应用的关键。

由于目前生物降解法主要集中在生物酶的选取与高表达量的获取上,并且生物酶的种类繁多,所以需要结合多种技术手段来获取高表达量、高安全性的生物酶,因此,未来利用微生物进行真菌毒素降解可以向3个方向延伸:完善和优化计算机筛选方法,例如数据库的搜索和匹配、硅-蛋白质-蛋白质的关联等,再通过设计智能文库和对突变酶进行高通量检测,从而可以更深入地优化氨基酸序列空间,增加酶功能被修饰的程度,开发用于真菌降解且可工业化使用的新酶;利用比较基因组学、蛋

表 1 常见真菌毒素降解方法归纳

Table 1 Summary of common mycotoxin degradation methods

降解原理	分类	主要应用
物理降解法	辐照法	紫外线、 γ 射线
	热处理法	热+负压处理
	微波法	电磁波
	吸附法	植物蛋白、活性炭
化学降解法	还原剂法	亚硫酸氢钠
	碱处理法	氨气
	氧化剂处理法	臭氧
	天然植物成分法	维生素、多酚
生物降解法	微生物法	绿脓杆菌
	生物酶法	XYNB+ZHD101
	细胞工厂	耶氏酵母酶
协同降解法	复合光催化	二氧化钛(TiO ₂)
	物理法+化学法	紫外辐照+臭氧熏蒸
	化学法+生物法	丁香酸甲酯+酶

白质组的 2D 凝胶分析等新技术, 更好地鉴定真菌

毒素降解菌的遗传物质和蛋白质构成, 优化功能基因的筛选; 增加此类自然衍生替代品的识别、优化和使用。随着产毒真菌基因组学、生物合成技术等的发展, 新的人工合成降解酶逐渐发现和优化, 降解效果和安全系数也不断提升, 真菌毒素的研究将有巨大的发展空间^[73], 因此如“细胞工厂”降解等全生物信息学思路逐渐成为研究的突破口。

此外, 天然植物成分逐渐成为新的化学降解剂, 这对于化学法降解真菌毒素尤为重要。同时, 由于各种降解方法存在各自的优势与短板, 协同降解使得各种降解方法之间实现了优势互补, 优化了降解效果, 对于真菌毒素的降解具有非常重要的意义^[74]。

在真菌毒素降解方面, 未来仍然有大量的问题需要解决, 主要表现在: 1) 真毒素降解产物结构的鉴定与分析; 2) 真菌毒素的防控, 争取可以在真菌毒素污染之前进行抑制; 3) 降低降解方法的成本, 使得降解方法更加贴近于实际生产, 更加适应工业化要求。

参考文献:

- [1] YOOHEON P, SEOK LH. Cyclic depsipeptide mycotoxin exposure may cause human endocrine disruption: evidence from OECD *in vitro* stably transfected transcriptional activation assays[J]. **Reproductive Toxicology**, 2021, 11(6): 8-15.
- [2] ZUZANA B, VOJETCH A, LUKAS R. Graphene oxide as a novel tool for mycotoxin removal[J]. **Food Control**, 2021, 16(5): 121-129.
- [3] NAN Z, BOSHI L, XIALIAN C, et al. Recent advances in aptasensors for mycotoxin detection: on the surface and in the colloid [J]. **Talanta**, 2021, 223(P1): 113-123.
- [4] 李维, 蔡亮, 刘潇, 等. 2017 年 DDGS 中霉菌毒素污染分析报告[J]. 粮食与饲料工业, 2018, 12(8): 46-48.
- [5] 赵志勇. 饲料和动物源性食品中真菌毒素超限量分析与新型吸附剂脱毒研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2015.
- [6] 冯利, 王兵, 赵欢, 等. 降低饲料和饲料原料中霉菌毒素技术的研究进展[J]. 中国饲料, 2020, 7(18): 5-8.
- [7] DIMOSTHENIS K, AIKATERINIELENI V, I. NP. Recent advances in mycotoxin analysis and detection of mycotoxigenic fungi in grapes and derived products[J]. **Sustainability**, 2021, 13(5): 133-139.
- [8] 宋承钢, 王彦多, 杨健, 等. 黄曲霉毒素脱毒研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(12): 3945-3957.
- [9] 李波, 刘秀斌, 曾建国. 真菌毒素与隐蔽型真菌毒素研究进展[J]. 饲料研究, 2020, 43(4): 94-98.
- [10] 祁迪亚, 陆利霞, 刘元建, 等. 食品中黄曲霉毒素的新型降解技术进展[J]. 生物加工过程, 2021, 1(13): 1-7.
- [11] 陈露. 多酚类化合物对血清白蛋白上 α -玉米赤霉烯醇的竞争取代作用[D]. 重庆: 西南大学, 2020.
- [12] MONOCA G, ALICIA B, et al. Differential susceptibility of mycotoxin-producing fungi to distinct antifungal proteins (AFPs)[J]. **Food Microbiology**, 2021, 97(1): 199-208.
- [13] 任东亮. 呕吐毒素臭氧降解机制及其安全性评价[D]. 泰安: 山东农业大学, 2020.
- [14] 陈帅, 于英威, 杨娟, 等. 粮食中的呕吐毒素 (DON) 研究进展[J]. 粮油仓储科技通讯, 2019, 35(4): 46-49.
- [15] 王晓璐. 广谱降解饲料中主要霉菌毒素的酶作用机制及高效表达[D]. 北京: 中国农业科学院, 2020.
- [16] MACIEL, AMARAL ACTD, SILVA TDD, et al. Evaluation of Mycotoxin Production and Phytopathogenicity of the Entomopathogenic Fungi *Fusarium caatingaense* and *F. pernambucanum* from Brazil[J]. **Current Microbiology**, 2021, 7(13): 19-27.

- [17] 黄志伟,冯晋,刘利晓,等. 17种植物性饲料原料中伏马毒素(B1+B2)、赭曲霉毒素A、T-2毒素、黄曲霉毒素B1污染状况调查检测分析[J]. 畜牧与饲料科学,2020,41(4):8-12.
- [18] FRACICA C,AMELIA B,PEDERO M,et al. An in vitro study on the transport and phase II metabolism of the mycotoxin alternariol in combination with the structurally related gut microbial metabolite urolithin C[J]. **Toxicology Letters**,2021,77(2):340.
- [19] 谢岩黎,孙淑敏.“粮油真菌毒素控制与营养品质调控”特约专栏[J]. 粮油食品科技,2020,28(5):5-10.
- [20] MURATORI H D,WOO K S. Mycotoxin occurrence,toxicity,and detoxifying agents in pig production with an emphasis on deoxynivalenol[J]. **Toxins**,2021,13(2):177-189.
- [21] ANNIKA H,GUMMAR L,MATTHIS K,et al. Co-cultivation of fusarium,alternaria,and pseudomonas on wheat-ears affects microbial growth and mycotoxin production[J]. **Microorganisms**,2021,9(2):123-139.
- [22] MURATA H,YAMAGUCHI D,NAGAI A,et al. Reduction of deoxynivalenol contaminating corn silage by short-term ultraviolet irradiation;a pilot study[J]. **Journal Vetrol Medical Science**,2011,73(8):59-60.
- [23] MARCO C L,MARCO M,SIHEM F,et al. An electronic nose supported by an artificial neural network for the rapid detection of aflatoxin B₁ and fumonisins in maize[J]. **Food Control**,2021,12(11):123.
- [24] 周煜,蔡瑞,岳田利,等. 低温等离子体在食品中杀灭微生物与降解真菌毒素研究进展[J]. 食品研究与开发,2020,41(14):209-218.
- [25] KON H,PDA K S,FPM D A. The stability of deoxynivalenol and 3-acetyl deoxynivalenol to gamma irradiation[J]. **Food Additives and Contaminants**,1993,10(2),111-123.
- [26] 李萌萌,关二旗,卞科.⁶⁰Co- γ 辐照对赤霉病小麦中DON的降解效果[J]. 中国粮油学报,2015,30(10):1-5.
- [27] 郑婷婷. 玉米胚品质及其真菌毒素控制研究[D]. 郑州:河南工业大学,2020.
- [28] 胡学春,任凌云,王丽娟,等. 高温高压膨化法降解小麦中的脱氧雪腐镰刀菌烯醇及降解产物解析的研究[J]. 中国粮油学报,2020,17(12):1-6.
- [29] 郑婷婷,刘玉兰,王骛东,等. 淡碱蒸胚对玉米胚及其毛油中真菌毒素的降解消除作用[J]. 食品科学,2020,41(13):8-13.
- [30] MISHARA S,DIXIT S,DWIVEDI P,et al. Influence of temperature and pH on the degradation of deoxynivalenol (DON) in aqueous medium:Comparative cytotoxicity of DON and degraded product[J]. **Food Additives and Contaminants**,2013,75(12):31-39.
- [31] 唐晓倩. 农产品典型真菌毒素生物识别材料与快速检测方法研究[D]. 北京:中国农业科学院,2020.
- [32] 赵佳. 小麦及其加工制品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇含量变化的研究[D]. 西安:陕西科技大学,2020.
- [33] 李克,潘丽红,罗小虎,等. 电子束辐照降解玉米中玉米赤霉烯酮和呕吐毒素[J]. 食品与发酵工业,2019,45(21):73-78.
- [34] FARAG R S,RASHED M M,ABOHUGGER A A. Aflatoxin destruction by microwave heating[J]. **International Journal of Food Science Nutrition**,1996,47(3):197-208.
- [35] 王周利,王玉堂,刘学波,等. 玉米粉中黄曲霉毒素B₁微波降解技术[J]. 农业机械学报,2013,44(12):193-197.
- [36] 江苏省科学技术厅. 江苏科学家在粮食真菌毒素污染防控机制研究中取得重大进展[J]. 中国食品学报,2019,19(5):154.
- [37] 孙宝胜. 小麦中呕吐毒素分布特点及去除技术研究进展[J]. 现代面粉工业,2019,33(2):11-14.
- [38] 只长明. 纳米微孔基材负载化学吸附剂降解室内甲醛的机理研究[D]. 天津:天津商业大学,2019.
- [39] 董浩. 改性氧化石墨稀/磺化聚醚醚酮平衡气调膜的制备及其保鲜果蔬的研究[D]. 广州:华南理工大学,2019.
- [40] 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.
- [41] 马申嫣,王晶,朱家民,等. 植物蛋白-益生菌复合制剂对小鼠铅毒性的缓解作用探究[J]. 食品与发酵工业,2020,12(1):1-10.
- [42] 陈晓园,张恩东,沈乃东,等. 玉米深加工中真菌毒素污染、检测及降解研究进展[J]. 粮食与饲料工业,2019(2):48-52.
- [43] YOUNG J C. Formation of sodium bisulfite addition products with trichothecenes and alkaline hydrolysis of deoxynivalenol and its sulfonate[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,1986,34(5):919-923.
- [44] DANICKE S,KERSTEN S,VALENTA H,et al. Inactivation of deoxynivalenol-contaminated cereal grains with sodium metabisulfite:a review of procedures and toxicological aspects[J]. **Mycotoxin Research**,2012,28(4):199-218.
- [45] 白玲. 中药材土鳖虫污染真菌快速鉴定及黄曲霉毒素生物降解研究[D]. 西宁:青海大学,2020.
- [46] 赵国斌. 氨气熏蒸法降解花生中的黄曲霉毒素B₁[J]. 食品研究与开发,2014,35(3):111-113.
- [47] 王永春. 玉米干法酒精生产过程中的真菌毒素降解技术[J]. 化工设计通讯,2018,44(12):137.

- [48] 刘芳,李萌萌,卞科. 臭氧对食品中真菌毒素的降解效果及影响因素研究进展[J]. 食品与发酵工业,2019,7(1):1-6.
- [49] 王莉,罗颖鹏,罗小虎,等. 臭氧降解污染小麦中呕吐毒素的效果及降解产物推测[J]. 食品科学,2016,37(18):164-170.
- [50] 常晓娇,王峻,孙长坡,等. 二氧化氯对几种主要真菌毒素的降解效果研究[J]. 中国粮油学报,2016,31(9):113-118.
- [51] 邱涛涛,温飞燕,李彩健,等. 天然植物成分防控农产品中真菌毒素的研究进展[J]. 现代食品科技,2020,36(12):320-327.
- [52] HURTERS-PEREZ J F, ARROYO-Manzaneres N, HITZLER D, et al. Simple determination of aflatoxins in rice by ultra-high performance liquid chromatography coupled to chemical post-column derivatization and fluorescence detection[J]. **Food Chemistry**, 2018, 245(21):189-195.
- [53] 周鸿媛. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)的多代毒性及其联合毒性研究[D]. 无锡:江南大学,2018.
- [54] 孙梅峰. 中药材酸枣仁中黄曲霉毒素和体内样本中多种真菌毒素的污染与健康风险评估[D]. 镇江:江苏大学,2019.
- [55] 刘迪,张浩,张寒雪,等. 花青素和矢车菊素的生物活性及抗氧化功能研究进展[J]. 吉林医药学院学报,2021,42(1):58-60.
- [56] 王春红,张宝善,孟泉科. 常见真菌毒素对人体的危害及生物降解研究进展[J]. 陕西农业科学,2009,55(4):99-101.
- [57] 阴佳璐. 浑浊红球菌 PD630 对黄曲霉毒素 B₁ 生物降解的研究[D]. 广州:华南理工大学,2020.
- [58] 卢丹,徐晴,江凌,等. 生物酶降解真菌毒素的研究进展[J]. 生物加工过程,2018,16(2):49-56.
- [59] 吴丽樱,徐一达,王海鸣,等. 微生物脱除真菌毒素机制研究进展[J]. 食品研究与开发,2018,39(22):192-199.
- [60] AASHIQUE M, ROY A, KOSURU RY, et al. Membrane depolarization sensitizes *Pseudomonas aeruginosa* against tannic acid[J]. **Current Microbiology**, 2021, 11(21):88-95.
- [61] 吴宛芹,曲睿,艾重阳,等. 乳酸菌去除脱氧雪腐镰刀菌烯醇的研究进展[J]. 饲料工业,2019,40(16):51-59.
- [62] 杜京霖,申屠婉铃,邵亮亮,等. 生物降解玉米赤霉烯酮的优势及应用前景[J]. 粮食储藏,2020,49(2):44-48.
- [63] 杨贤松,李晨晨. 真菌毒素降解酶在大肠杆菌中的表达及活性分析[J]. 新乡学院学报,2019,36(9):25-32.
- [64] 于心蕊. 真菌毒素玉米赤霉烯酮降解酶基因资源挖掘及其催化效率分子改良研究[D]. 北京:中国农业科学院,2020.
- [65] 钱美文,谭春林,倪俊,等. 蓝细菌细胞工厂合成聚合物单体的研究进展[J]. 生物工程学报,2020,17(11):1-15.
- [66] 赵禹,刘士琦,李建,等. 解脂耶氏酵母作为微生物细胞工厂的应用研究进展[J]. 食品科学,2019,29(1):1-20.
- [67] SUN S, ZHAO R, XIE Y, et al. Photocatalytic degradation of aflatoxin B₁ by activated carbon supported TiO₂ catalyst[J]. **Food Control**, 2019, 12(12):100-112.
- [68] MAO J, ZHANG Q, LI P, et al. Geometric architecture design of ternary composites based on dispersive WO₃ nanowires for enhanced visible-light-driven activity of refractory pollutant degradation[J]. **Chemical Engineering Journal**, 2018, 12(19):334-339.
- [69] ABUAGELA M O, IQDIAM B M, MOSTAFA H, et al. Combined effects of citric acid and pulsed light treatments to degrade B-aflatoxins in peanut[J]. **Food and Bioproducts Processing**, 2019, 28(2):117-129.
- [70] ALACANTAR-BARRIOS C A, MENEZ-ALBORES A. Potential of tartaric acid in combination with infrared-microwave heating as a method for aflatoxin reduction in maize[J]. **Animal Nutrition and Feed Technology**, 2017, 17(3):123-136.
- [71] 靳志强,王顺喜. 微波、紫外线与臭氧组合技术对霉菌及其毒素的协同影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2018,46(4):147-154.
- [72] WANG X L, BAI Y G, HUANG H Q, et al. Degradation of aflatoxin B₁ and zearalenone by bacterial and fungal laccases in presence of structurally defined chemicals and complex natural mediators[J]. **Toxins**, 2019, 11(10):123-139.
- [73] QIU T, WANG H, YANG Y, et al. Exploration of biodegradation mechanism by AFB₁-degrading strain *Aspergillus niger* FS10 and its metabolic feedback[J]. **Food Control**, 2021, 121(11):107609
- [74] 于坚,孙嘉笛,纪剑,等. 区块链技术在食品溯源体系中的应用[J]. 食品工业科技,2020,17(12):1-15.