

# 蒙脱石及改性蒙脱石对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的吸附研究

齐德生<sup>1</sup>, 刘 凡<sup>2</sup>, 于炎湖<sup>1</sup>, 何万领<sup>1</sup>, 涂华荣<sup>1</sup>

(1. 华中农业大学畜牧兽医学院; 2. 农业部环境与资源重点实验室, 武汉 430070)

**摘 要:** 分别研究了在 pH2.06 及 pH8.01 条件下及有无赖氨酸存在时蒙脱石及改性蒙脱石对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的吸附和解吸规律。结果表明, 蒙脱石和改性蒙脱石对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 均有较强的吸附性, 吸附量随黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 含量增加而增加, 两者呈直线相关。当吸附反应体系中赖氨酸含量为 0.2%、0.4% 时, 不影响蒙脱石及改性蒙脱石对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的吸附。蒙脱石和改性蒙脱石对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的吸附量大小相近, 但改性蒙脱石对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的吸附量不受边面封闭剂的影响, 且改性蒙脱石吸附黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 后, 黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的解吸率较蒙脱石低, 表明有机改性蒙脱石对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 有更高的吸附稳定性。

**关键词:** 蒙脱石; 改性蒙脱石; 黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>; 吸附

**中图分类号:** S816.71

**文献标识码:** B

**文章编号:** 0366-6964(2003)06-0620-03

饲料及饲料原料霉变并由此造成的霉菌毒素污染问题是一个全球性问题。尤以黄曲霉毒素污染最为严重。黄曲霉毒素为剧毒化合物, 并具有强烈致癌性, 对动物健康和生产性能有严重不良影响, 同时, 黄曲霉菌毒素还可在畜禽产品中残留, 给人类健康带来极大安全隐患。

有研究表明, 当饲料中黄曲霉毒素(包括 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub>)含量为 14.0 μg/kg(低于美国鸡饲料黄曲霉毒素允许量 20 μg/kg 的卫生标准)时即可对肉仔鸡生产性能造成严重影响。

近些年来, 铝硅酸盐类霉菌毒素吸附剂受到人们广泛关注, 其中以蒙脱石为主要矿物成分的膨润土更受到国内外畜牧兽医工作者重视, 但是, 由于黄曲霉毒素毒性极大且具强致癌性, 国内外关于膨润土或蒙脱石吸附纯品黄曲霉毒素的基础性试验研究报道极少。本项目根据动物胃肠道酸碱环境, 研究了蒙脱石及改性蒙脱石对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的吸附情况, 以便为铝硅酸盐类霉菌毒素吸附剂的实际应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 吸附剂

1.1.1.1 蒙脱石: 钙基蒙脱石, 蒙脱石含量 ≥ 91%,

粉碎, 过 0.250 mm 标准筛备用。

1.1.1.2 改性蒙脱石: 将 30 g 干燥、过 0.250 mm 标准筛的蒙脱石加入 100 ml 1mol/L CX 季铵盐溶液中, 于 60 ℃ 恒温水浴振荡 1 h, 离心, 倾去上清液, 再加入 100 ml 1mol/L CX 季铵盐溶液, 重复处理 1 次。用 100 ml 蒸馏水洗涤沉淀物 1 次, 离心, 产物于 105 ℃ 烘干, 磨碎, 过 0.250 mm 标准筛, 制成有机改性蒙脱石。

1.1.2 黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>(以下简称 AFB<sub>1</sub>)标准品: 含量大于 99%, 美国 SIGMA 公司生产。

1.1.3 氯仿、丙酮、苯、乙腈等所用化学试剂均为分析纯, L-赖氨酸(以下简称 Lys)为色谱纯, 水为去离子水。

### 1.2 方法

1.2.1 AFB<sub>1</sub> 含量测定方法: 样品经萃取、浓缩、净化后, 紫外分光光度法测定。

1.2.2 等温吸附试验: 精确称取 50.0 mg 吸附剂于 10 ml 带塞刻度离心管中, 分别加入 0、0.1、0.5、1.0、3.0、5.0、10.0、20.0 μg AFB<sub>1</sub> 标准品, 用 pH2.06(或 pH8.01)水溶液定容至 10 ml, 于 37 ℃ 恒温振荡水浴锅中, 按 150 r/min 频率振荡吸附 1.5 h, 其间每隔 5 min 振摇混匀 1 次。吸附反应结束后, 于 3 000 r/min 下离心 10 min, 测定上清液中 AFB<sub>1</sub> 含量, 计算吸附剂对 AFB<sub>1</sub> 吸附量。以吸附反应体系中 AFB<sub>1</sub> 浓度为横坐标, 吸附量为纵坐标, 绘制 pH2.06 及 pH8.01 下等温吸附曲线。

1.2.3 赖氨酸竞争吸附试验: 精确称取 50.0 mg 吸附剂于 10 ml 带塞刻度离心管中, 加入 20 mg(或 40

收稿日期: 2002-12-24

作者简介: 齐德生(1965-), 男, 河南上蔡人, 副教授, 博士, 主要从事饲料毒物与抗营养因子研究。Tel: 027-87281033、87282091; Fax: 027-87280408; E-mail: qds@mail.hzau.edu.cn

mg) Lys, 再分别加入 0、0.1、0.5、1.0、3.0、5.0、10.0、20.0  $\mu\text{g}$  AFB<sub>1</sub> 标准品, 用 pH2.06(或 pH8.01) 水溶液定容至 10 ml, 其余同 1.2.2 等温吸附试验。绘制 pH2.06 及 pH8.01 下加入 20 mg(或 40 mg) Lys 时的等温吸附曲线。

1.2.4 解吸试验: 吸附反应结束后, 倾去离心管上清液, 残渣物中加入 pH8.01 水溶液(相当于动物肠道碱性环境)至 10 ml, 于 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温振荡水浴锅中, 按 150 r/min 频率振荡解吸 1.5 h, 其每隔 5 min 振摇混匀 1 次。尔后, 于 3 000 r/min 下离心 10 min, 测定上清液中 AFB<sub>1</sub> 含量, 经残液校正后, 计算解吸量。如此连续解吸 4 次, 计算 4 次累积解吸量及解吸率。

1.2.5 吸附剂边面封闭后对吸附性能的影响: 精确称取 50.0 mg 吸附剂于 10 ml 带塞刻度离心管中, 用多聚磷酸钠将吸附剂边面封闭后, 加入 32  $\mu\text{g}$  AFB<sub>1</sub>, 用去离子水定容至刻度, 然后按“等温吸附试验”方法测定吸附剂对 AFB<sub>1</sub> 的吸附量。

## 2 结果

2.1 等温吸附试验 在 AFB<sub>1</sub> 含量  $\leq 0.1 \mu\text{g/ml}$  (即相当于饲料中 AFB<sub>1</sub> 含量  $\leq 100 \mu\text{g/kg}$ ) 时, 10 ml 吸附反应体系中加入 50 mg 蒙脱石(相当于饲料中添加 0.5% 的蒙脱石)可将 AFB<sub>1</sub> 全部吸附。吸附量(y)随 AFB<sub>1</sub> 含量(x)增加而增加, 两者呈直线相关。当 pH 值为 2.06 时,  $y = 16.389x + 0.447$ ,  $R^2 = 0.9967$ ; pH 值为 8.01 时,  $y = 19.490x + 0.011$ ,  $R^2 = 0.9999$ 。从直线斜率来看, 蒙脱石在碱性条件下比在酸性条件下对 AFB<sub>1</sub> 有更大吸附性。

10 ml 吸附反应体系中加入 50 mg 改性蒙脱石时, 在酸性环境中, 当 AFB<sub>1</sub> 含量  $\leq 0.05 \mu\text{g/ml}$  (即相当于饲料中 AFB<sub>1</sub> 含量  $\leq 50 \mu\text{g/kg}$ ) 时, 可将 AFB<sub>1</sub> 全部吸附; 在碱性环境中, 当 AFB<sub>1</sub> 含量  $\leq 0.01 \mu\text{g/ml}$  (即相当于饲料中 AFB<sub>1</sub> 含量  $\leq 10 \mu\text{g/kg}$ ) 时, 可将 AFB<sub>1</sub> 全部吸附。吸附量(y)与 AFB<sub>1</sub> 含量(x)亦呈直线相关。当 pH 值为 2.06 时,  $y = 18.954x + 0.067$ ,  $R^2 = 0.9999$ ; pH 值为 8.01 时,  $y = 18.977x - 0.216$ ,  $R^2 = 0.9997$ 。表明改性蒙脱石在碱性条件下和在酸性条件下对 AFB<sub>1</sub> 有相似的吸附性, 吸附能力与蒙脱石相当。

2.2 赖氨酸(Lys)对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>(AFB<sub>1</sub>) 吸附的影响 Lys 是猪禽饲料中最常添加的合成氨基酸之一, 饲料中添加量约为 0.2%。由于 Lys 分子结构

中也含有极性基团, 且在饲料中添加比例较大, 因此, 可能会影响吸附剂对 AFB<sub>1</sub> 的吸附效果, 据此, 本试验研究了 Lys 存在时蒙脱石及改性蒙脱石对 AFB<sub>1</sub> 的吸附情况。

在 pH2.06 条件下, Lys 存在与否不影响吸附量与 AFB<sub>1</sub> 含量之间的线性关系。Lys 含量为 0.0 mg/ml 时,  $y = 16.389x + 0.447$ ,  $R^2 = 0.9967$ ; Lys 含量为 2.0 mg/ml 时,  $y = 19.477x - 0.096$ ,  $R^2 = 1.0000$ ; Lys 含量为 4.0 mg/ml 时,  $y = 19.257x - 0.1738$ ,  $R^2 = 0.9999$ 。从直线斜率可以看出, Lys 的存在不影响酸性条件下蒙脱石对 AFB<sub>1</sub> 的吸附性, 相反, 对 AFB<sub>1</sub> 的吸附还略有一定的促进作用, 这可能是由于在酸性条件下, Lys 带正电荷, 它能交换蒙脱石层间  $\text{C}_a^{2+}$ , 使蒙脱石层间距扩大, 因而增加了蒙脱石对 AFB<sub>1</sub> 的有效吸附面积。

在碱性条件下, Lys 的存在不象在酸性条件下那样提高蒙脱石对 AFB<sub>1</sub> 的吸附量。当 Lys 含量为 0.0 mg/ml 时,  $y = 19.490x + 0.011$ ,  $R^2 = 0.9999$ ; Lys 含量为 2.0 mg/ml 时,  $y = 19.049x - 0.2379$ ,  $R^2 = 0.9996$ ; Lys 含量为 4.0 mg/ml 时,  $y = 18.319x + 0.005$ ,  $R^2 = 0.9994$ 。这可能是由于 Lys 为碱性氨基酸, 在碱性条件下, 平均正电荷量减少, 中性分子增加, 因此, 不足以置换蒙脱石层间阳离子, 不能扩增层间距, 因而, 不能增加蒙脱石对 AFB<sub>1</sub> 的有效吸附面积, 相反, 可能还会与 AFB<sub>1</sub> 争夺在蒙脱石上的吸附位点, 使 AFB<sub>1</sub> 吸附量有减少的趋势。

不管在酸性条件下还是碱性条件下, Lys 的存在都未使改性蒙脱石对 AFB<sub>1</sub> 的吸附量发生明显改变。酸性条件下, 当 Lys 含量为 0.0 mg/ml 时,  $y = 18.954x + 0.067$ ,  $R^2 = 0.9999$ ; Lys 含量为 2.0 mg/ml 时,  $y = 19.134x - 0.062$ ,  $R^2 = 0.9998$ ; Lys 含量为 4.0 mg/ml 时,  $y = 18.415x - 0.009$ ,  $R^2 = 0.9991$ 。碱性条件下, 当 Lys 含量为 0.0 mg/ml 时,  $y = 18.977x - 0.216$ ,  $R^2 = 0.9997$ ; Lys 含量为 2.0 mg/ml 时,  $y = 19.294x + 0.065$ ,  $R^2 = 1.0000$ ; Lys 含量为 4.0 mg/ml 时,  $y = 18.994x - 0.611$ ,  $R^2 = 0.9982$ 。

蒙脱石经改性处理后, 表面性质发生改变, 对 AFB<sub>1</sub> 的吸附性能也会发生改变。从蒙脱石和改性蒙脱石对 AFB<sub>1</sub> 的等温吸附直线方程来看, 在酸性条件下, 改性蒙脱石对 AFB<sub>1</sub> 的吸附量较蒙脱石稍高, 碱性条件下, 两者吸附量基本一致。当有 Lys 存

在时,改性蒙脱石对 AFB<sub>1</sub> 的吸附性基本不变,蒙脱石对 AFB<sub>1</sub> 的吸附性在碱性条件下基本不变,酸性条件下略有升高,表明在本试验条件下,即相当于饲料中含有 0.2%、0.4% 的合成赖氨酸时不影响蒙脱石及改性蒙脱石对 AFB<sub>1</sub> 的吸附。

**2.3 解吸试验** 蒙脱石和改性蒙脱石在 pH2.06 及 pH8.01 下吸附 AFB<sub>1</sub> 后,用 pH8.01 水溶液解吸,此类类似于蒙脱石和改性蒙脱石在动物胃及肠道吸附 AFB<sub>1</sub> 后在肠道弱碱性条件下的解吸情况。结果表明,蒙脱石在 pH2.06 下对 AFB<sub>1</sub> 吸附量为 16.4  $\mu\text{g}$ ,4 次共解吸出 AFB<sub>1</sub> 4.70  $\mu\text{g}$ ,AFB<sub>1</sub> 解吸率为 28.7%;在 pH8.01 下对 AFB<sub>1</sub> 吸附量为 19.3  $\mu\text{g}$ ,4 次共解吸出 AFB<sub>1</sub> 2.76  $\mu\text{g}$ ,AFB<sub>1</sub> 解吸率为 14.3%。改性蒙脱石在 pH2.06 下对 AFB<sub>1</sub> 吸附量为 19.1  $\mu\text{g}$ ,4 次共解吸出 AFB<sub>1</sub> 0.30  $\mu\text{g}$ ,AFB<sub>1</sub> 解吸率为 1.6%;在 pH8.01 下对 AFB<sub>1</sub> 吸附量为 19.1  $\mu\text{g}$ ,4 次共解吸出 AFB<sub>1</sub> 0.28  $\mu\text{g}$ ,AFB<sub>1</sub> 解吸率为

1.5%。可见,改性蒙脱石吸附 AFB<sub>1</sub> 后,AFB<sub>1</sub> 解吸率较低,表明改性蒙脱石对 AFB<sub>1</sub> 有更大的吸附稳定性。

**2.4 吸附剂边面封闭前后对 AFB<sub>1</sub> 吸附量** 蒙脱石边面封闭前后对 AFB<sub>1</sub> 的吸附量分别为 631.0  $\pm$  24 g/g、512.4  $\pm$  17 g/g ( $n=3$ ),前者明显高于后者 ( $P<0.05$ )。蒙脱石边面封闭后对 AFB<sub>1</sub> 的吸附量减少了 18.9%。蒙脱石边面面积占其整个表面积 10%~20%,边面被封闭后,其对 AFB<sub>1</sub> 吸附量的减少程度与此比例相当,可见,AFB<sub>1</sub> 在蒙脱石平面表面和边面表面都有吸附,且主要吸附在平面表面,这与有关 AFB<sub>1</sub> 主要在边面吸附的推测似不相符。

改性蒙脱石边面封闭前后对 AFB<sub>1</sub> 的吸附量分别为 588.3  $\pm$  20 g/g、608.1  $\pm$  27 g/g ( $n=3$ ),两者间无明显差别,说明改性蒙脱石对封闭剂不敏感,其机理有待进一步研究。

## Adsorption Law of Montmorillonite and Organic Montmorillonite for Aflatoxin B<sub>1</sub>

QI De-sheng<sup>1</sup>, LIU Fan<sup>2</sup>, YU Yan-hu<sup>1</sup>, HE Wan-ling<sup>1</sup>, TU Hua-rong<sup>1</sup>

(1. College of Animal Science, Huazhong Agricultural University;

2. Environmental and Resource Laboratory of China Agricultural Department, Wuhan 430070)

**Abstract:** The adsorption law of montmorillonite and modified montmorillonite for AFB<sub>1</sub> in solution pH2.06, pH8.01, with and without lysine were studied. Both of montmorillonite and modified montmorillonite can adsorbed AFB<sub>1</sub> greatly. The adsorption amount increased with the concentration of AFB<sub>1</sub> increasing. There was a linear correlation between the adsorption amount and the concentration of AFB<sub>1</sub>. Lysine at concentration of 0.2%, 0.4% did not affect the adsorption of AFB<sub>1</sub> on the adsorbents mentioned above. The adsorption amount of modified montmorillonite for AFB<sub>1</sub> was similar to that of montmorillonite, but the desorption rate of AFB<sub>1</sub> from the modified montmorillonite - AFB<sub>1</sub> sorption complex was lower than that of montmorillonite - AFB<sub>1</sub> sorption complex, it indicated that the modified montmorillonite - AFB<sub>1</sub> sorption complex was more stable.

**Key words:** Montmorillonite; Modified montmorillonite; AFB<sub>1</sub>; Adsorption