

辐照处理对柄曲霉素的降解效果研究

赵亚荣^{1,2}, 王琼珊³, 王旭^{1,2}, 刘香香^{1,2}, 王富华^{1,2,*}

(1. 广东省农业科学院农产品公共监测中心, 广东 广州 510640; 2. 农业部农产品质量安全检测与评价重点实验室, 广东 广州 510640; 3. 广东食品药品职业学院, 广东 广州 510520)

摘要: 采用不同剂量(0、3、6、9、12、15 kGy) ^{60}Co - γ 射线对柄曲霉素(sterigmatocystin, STC)溶液进行辐照处理, 研究辐照剂量、不同溶剂以及不同初始浓度对柄曲霉素辐照降解效果的影响。结果表明: ^{60}Co - γ 射线可有效降解溶液中的柄曲霉素, 且降解率随着辐照剂量的增大而增加。当辐照剂量为 3 kGy 时, STC 的降解速率依次为水>氯仿>乙腈>甲醇。当辐射剂量大于 6 kGy 时, 水、乙腈和氯仿中 STC 的降解率相近, 且甲醇中 STC 降解率也相对增加。在同一辐照剂量下, 柄曲霉素的初始浓度越低, 其降解率越高。

关键词: 辐照; 柄曲霉素; ^{60}Co - γ 射线; 降解; 高效液相色谱-串联质谱

Study on Degradation Effect of Irradiation on Sterigmatocystin

ZHAO Ya-rong^{1,2}, WANG Qiong-shan³, WANG Xu^{1,2}, LIU Xiang-xiang^{1,2}, WANG Fu-hua^{1,2,*}

(1. Public Monitoring Center for Agro-product of Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, Guangdong, China; 2. Key Laboratory of Testing and Evaluation for Agro-product Safety and Quality, Guangzhou 510640, Guangdong, China; 3. Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, Guangdong, China)

Abstract: In this study, the solutions of sterigmatocystin (STC) were irradiated by different doses (0, 3, 6, 9, 12, 15 kGy) ^{60}Co - γ ray radiation. The effects of irradiation dose, different solvents, initial concentrations on STC were investigated. The results showed that STC could be effectively degraded by ^{60}Co - γ ray and the degradation rate increased with the increase of irradiation dose. The STC degradation rate was in the order of water > chloroform > acetonitrile > methanol when the irradiation dose was 3 kGy. Degradation rate in methanol was increased relatively and similar in water, acetonitrile and chloroform at the irradiation dose of greater than 6 kGy. At the same irradiation dose, the degradation rate was higher along with lower initial concentrations of STC.

Key words: irradiation; sterigmatocystin; ^{60}Co - γ ray; degradation; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

引文格式:

赵亚荣, 王琼珊, 王旭, 等. 辐照处理对柄曲霉素的降解效果研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(14): 34-37

ZHAO Yarong, WANG Qiongshan, WANG Xu, et al. Study on Degradation Effect of Irradiation on Sterigmatocystin[J]. Food Research and Development, 2020, 41(14): 34-37

真菌毒素(mycotoxins)是真菌在合适的条件下代谢产生的有毒次级代谢产物, 其中有 30 多种真菌菌株的代谢产物对动物和人类具有致病性。目前, 真菌毒

素污染已经成为重要的食品安全问题。因此, 在人类密切关注食物和食品卫生质量安全的今天, 真菌毒素对食物的污染已成为不可忽视的问题。其中, 黄曲霉毒素 B₁(aflatoxin B₁, AFB₁)的研究最为深入, 且取得了很大的进展, 而新近的研究表明, AFB₁ 的代谢合成前体物质柄曲霉素(sterigmatocystin, STC)已逐渐成为真菌毒素研究中的另一个热点。

作者简介: 赵亚荣(1988—), 女(汉), 助理研究员, 博士, 研究方向: 真菌毒素污染与防控。

* 通信作者: 王富华(1962—), 研究员, 研究方向: 农产品质量安全。

在生物代谢过程中,STC 是 AFB₁ 的倒数第二个前体,二者共享同一条代谢途径。目前,由于缺乏相关报道或流行病学研究数据来评估其致癌性,国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)将 STC 划分为 2B 级致癌物,即被认为是对人类可能致癌的物质^[1-2]。2013 年 6 月 7 日应欧盟委员会(European Commission, EC)要求,欧盟食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)对食品和饲料样品中的 STC 对公众的健康风险发布了意见^[3]。很多研究报道发现,STC 可污染谷物、谷物加工品、坚果、奶酪和调味料等食品,并可在食物中长期存留,随后通过食物链间接地进入人体,造成食品安全问题,威胁人类和动物的健康^[4-5]。

辐照处理是一个传统的物理过程,广泛应用于农产品上的杀菌、灭虫、保鲜以及降低致敏源的致敏作用等^[6-9]。食品辐射较传统的灭菌、保鲜等方法相比,可节省能耗,且处理后无污染、无残留;同时,辐射技术可以在常温条件下进行,不会引起被辐射物品内部温度的升高,因此可较好地保持食品原有的特性。大量的研究已经表明紫外照射、 γ 射线、电子束、X 射线和微波等辐射技术可有效去除农产品中的真菌毒素。2007 年, Nagy 等研究报道 γ 射线辐照可有效降解小麦、大麦和玉米中的伏马菌素,当辐照剂量为 7 kGy 时,小麦和玉米中的伏马菌素可完全去除^[10]。Tripathi 等指出紫外照射可有效地降解 AFB₁,其降解率随紫外辐射浓度的变化而不同^[11]。本研究以 STC 为研究对象,利用不同剂量的 ^{60}Co - γ 射线对 STC 进行辐射,探索辐照对溶液中 STC 是否具有降解作用,从而为食品中 STC 的去除提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

柄曲霉素标准品(纯度 $\geq 99\%$)、甲酸、甲酸铵(纯度 $\geq 98\%$,质谱用):美国 Sigma-Aldrich 公司;乙腈、甲醇、氯仿(色谱级):美国默克公司;Milli-Q 去离子水发生器:美国 Millipore 公司。

1.2 仪器与设备

高效液相色谱仪(LC-30AD)、带电喷雾离子源三重四级杆质谱仪(LCMS-8050)、XR-ODS III C₁₈ 色谱柱(75 mm $\times$ 2.0 mm, 1.6 μm):日本岛津公司;KQ-250DE 超声仪:昆山市超声仪器有限公司;MS3 basic 涡旋仪:德国 IKA 公司;钴-60 辐照装置:广州辐锐高能技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 标准溶液的配制

STC 标准储备液:取 2 mg STC 标准品溶于 200 mL 乙腈中,配制成 10 mg/L 的 STC 标准储备液,-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

STC 标准工作液:准确移取 STC 标准储备液置于容量瓶中,用乙腈梯度稀释为 0.1、0.2、0.5、1、2、5、10、20、50 $\mu\text{g/L}$ 的标准工作液,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.3.2 标准曲线的绘制

分别取 1 mL 的 STC 标准工作液,按照高效液相色谱串联质谱(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)的方法条件进样,测得 STC 各浓度标准工作液的峰面积。以峰面积为纵坐标,STC 浓度作为横坐标绘制标准曲线,采用外标法定量。在 0.1 $\mu\text{g/L}$ ~50 $\mu\text{g/L}$ 的浓度范围内,色谱峰面积与 STC 浓度的线性关系良好,线性回归方程为 $y=540\,258x+12\,392.9$, $R^2=0.999\,8$ 。

1.3.3 测试样品的制备

不同溶剂样品制备:将 10 mg/L 的 STC 标准储备液分别用乙腈、水、甲醇和氯仿稀释至 100 $\mu\text{g/L}$,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

不同浓度溶液制备:准确移取 10 mg/L 的 STC 标准储备液置于容量瓶中,分别配制成浓度为 50、100、200 $\mu\text{g/L}$ 3 种不同浓度的溶液,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.3.4 γ 射线辐照处理及剂量测定

辐照处理在广州辐锐高能技术有限公司进行,辐照源为 ^{60}Co 装置,辐照剂量分别设定为 0、3、6、9、12、15 kGy,用重铬酸钾银剂量计跟踪比对,测定样品的实际吸收剂量。每一处理设置 3 个平行。

1.3.5 STC 的测定方法

采用高效液相色谱-串联质谱法对 STC 进行测定。色谱条件:色谱柱 C₁₈(75 mm $\times$ 2.0 mm, 1.6 μm);流动相:A 为 0.1% 甲酸水+5 mmol/L 甲酸铵,B 为乙腈;梯度洗脱程序:0~1 min, 10% B, 1 min~6 min, 90% B; 6 min~6.1 min, 10% B; 6.1 min~9 min, 10% B;流速 0.3 mL/min;柱温:40 $^{\circ}\text{C}$;进样量:5 μL 。

质谱条件:电喷雾离子源;以正离子扫描作为扫描方式;以多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)作为检测方式;离子源接口温度为 300 $^{\circ}\text{C}$;加热块温度为 400 $^{\circ}\text{C}$;脱溶剂温度为 250 $^{\circ}\text{C}$;加热气流速为 10 L/min;干燥气流速为 10 L/min;雾化气流速为 3 L/min;STC 的母离子为 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (m/z 324.6)子离子分别为 310.0(25 eV)和 281.0(36 eV),其中 m/z 310.0 为定量离子。

1.3.6 数据处理

试验样品检测重复 3 次,采用 Origin8.0 对检测结果的数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同溶剂对 STC 辐照降解效果的影响

不同溶剂对 STC 辐照降解影响结果见图 1。

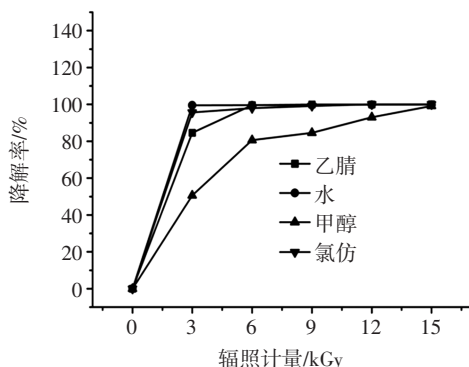


图 1 不同溶剂对柄曲霉素降解率的影响

Fig.1 Effect of different solutions on sterigmatocystin degradation rate

由图 1 可知,经过辐照处理后,4 种溶剂中 STC 的降解效果明显,并且趋势相同,其降解率均随着辐照剂量的增大而增大。当辐照剂量为 3 kGy 时,STC 的降解速率依次为水>氯仿>乙腈>甲醇,其降解率分别为 99.52%、95.60%、84.54%和 50.57%。当辐射剂量为 6 kGy 时,乙腈和水中 STC 的降解率相近,且均高于氯仿和甲醇。当辐射剂量大于 6 kGy 时,乙腈、水和氯仿中 STC 的降解率相近,且甲醇中 STC 降解率也相对增加。

2.2 不同起始浓度对 STC 辐照降解效果的影响

将 50、100 $\mu\text{g/L}$ 和 200 $\mu\text{g/L}$ 3 个不同浓度的 STC 进行辐照处理,研究 STC 不同浓度对 γ 射线辐照降解效果的影响,结果见图 2。

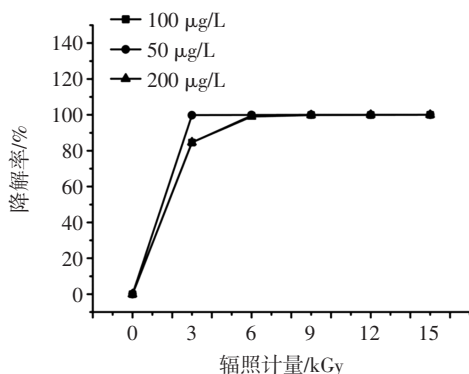


图 2 不同初始浓度对柄曲霉素降解率的影响

Fig.2 Effect of different initial concentration on sterigmatocystin degradation rate

由图 2 中可以看出,当辐射剂量为 3 kGy 和 6 kGy 时,STC 的初始浓度越低,其降解率越高,即初始浓度为 50 $\mu\text{g/L}$ 的 STC 降解率明显高于浓度为 100 $\mu\text{g/L}$ 和 200 $\mu\text{g/L}$ 。当辐照剂量高于 6 kGy 时,3 种不同初始浓度的 STC 溶液的降解率基本一致,均接近 100%。

3 讨论

水经过辐照后会产生 3 种自由基,即还原性极强的 $\text{H}\cdot$ 、氧化性极强的 $\cdot\text{OH}$ 和水合电子 $e\text{-aq}$,这 3 种自由基可加速有机化合物的降解^[12]。本试验中研究了 4 种不同溶剂中 STC 的辐照效果,发现不论辐照剂量大小,水溶液最利于 STC 的降解^[13]。与该研究结果相类似,李萌萌等研究发现赤霉病麦粒经水浸泡后可显著提高脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (deoxynivalenol, DON) 的降解率,当剂量为 10 kGy 时,其降解率可达 55.76%^[14]。其次,毒素的初始浓度和辐照剂量均会影响毒素降解的效果,当辐照剂量一定时,溶液中水受到辐照所产生的活性自由基数目一定,因此较低浓度的毒素溶液与水产生的自由基碰撞的几率高于高浓度的毒素溶液,降解率提高^[15]。

真菌毒素最易污染谷物,因此辐照对谷物中真菌毒素的降解效果以及对谷物品质的影响成为了研究的重点。研究发现 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线可有效降解谷物中的 AFB₁、玉米赤霉烯酮和赭曲霉毒素 A,且辐照后玉米中粗脂肪、粗蛋白含量、水分含量以及粗纤维含量均没有显著变化^[15-17]。目前多数研究均发现辐照处理对去除食品中真菌毒素效果明显^[18-19],但是仍有部分研究指出该方法效果不明显。Jalili 等研究了 γ 射线对黑胡椒中真菌毒素的降解效果,结果发现当辐射剂量低于 10 kGy 时,样品中真菌毒素的含量并未降低,作者分析可能是由于胡椒含水量较低所致^[20]。1970 年,Aibara 等报道辐射剂量高达 182 kGy 时,对于物质中 AFB₁ 的降解率并未超过 10%^[21]。Hooshmand 等在研究中也发现,即使采用 20 kGy 的 γ 射线进行辐照,小麦、玉米和大豆中的 AFB₁ 也并未受到显著性影响^[22]。类似地,用剂量为 25 kGy 的 γ 射线对装在薄聚乙烯袋中的花生粕进行辐照,样品中 AFB₁ 的含量并未出现显著性降低^[23]。

作为 AFB₁ 的合成前体物质,STC 在 AFB₁ 含量较高的食品中被频繁检出。同时,STC 也是某些真菌的次级代谢终产物,当食品被这类真菌侵染时,一旦环境条件适宜,便会代谢生成有毒 STC,威胁人类健康。因此,如何有效控制 STC 污染以及污染后如何去除成为以后的重点研究方向。

4 结论

^{60}Co - γ 射线可不同程度地降解溶液中的 STC,不同辐照剂量对不同溶剂的降解速率的影响不同,且降解率随着辐照剂量的增大而增加。当辐照剂量为 3 kGy 时,水溶液最有利于 STC 的降解,氯仿次之。当辐射剂量大于 6 kGy 时,水、乙腈和氯仿中 STC 的降解率相近,甲醇中 STC 降解率也相对增加。在同一辐照剂量下,柄曲霉素的初始浓度越低,其降解率越高。

参考文献:

- [1] International Agency For Research On Cancer. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to human. overall e-valuations of carcinogenicity: an updating of IARC monographs, volumes 1 to 42[J]. World Health Organizations, 1987, 7(1): 106–116
- [2] International Agency For Research On Cancer. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to human, volume 10, some naturally occurring substance[J]. World Health Organizations, 1976, 10: 1–342
- [3] PANEL E C. Scientific Opinion on the risk for public and animal health related to the presence of sterigmatocystin in food and feed[J]. EFSA Journal, 2013, 11(6): 3254
- [4] MOL H G J, PIETRI A, MACDONALD S J, et al. Survey on sterigmatocystin in food[J]. EFSA supporting publication, 2015, EN-774: 56
- [5] NIETO C H D, GRANERO A M, ZON M A, et al. Sterigmatocystin: A mycotoxin to be seriously considered[J]. Food and Chemical Toxicology, 2018, 118: 460–470
- [6] IGNATOWICZ S, BRZOSTEK G. Use of irradiation as quarantine treatment for agricultural products infested by mites and insects[J]. International Journal of Radiation Applications & Instrumentation. part C. radiation Physics & Chemistry, 1990, 35(1): 263–267
- [7] ALFAROBBI R, ANGGRAINI N. Preservation of foodstuffs with gamma ray irradiation technology for decreasing pathogen bacteria on food and maintain sustainable food security: A review[EB/OL]. [2019-7-18]. <https://ssrn.com/abstract=3201078>
- [8] 戚蓉迪, 颜伟强, 岳玲, 等. 电子束辐照对进口甜樱桃保鲜效果的影响[J]. 核农学报, 2014, 8(5): 839–844
- [9] 许舒婷, 高美须, 支玉香, 等. 电子束辐照对花生过敏原免疫原性及生化性质影响的研究[J]. 核农学报, 2012, 26(7): 1006–1011
- [10] AZIZ N H, EL-FAR F M, SHAHIN A A M, et al. Control of fusarium moulds and fumonisin B₁ in seeds by gamma-irradiation[J]. Food Control, 2007, 18(11): 1337–1342
- [11] TRIPATHI S, MISHRA H N, BOYLSTON T D. Enzymatic coupled with UV degradation of aflatoxin B₁ in red chili powder[J]. Journal of Food Quality, 2010, 33(1): 186–203
- [12] 朱佳廷, 赵永富, 刘春泉, 等. γ 辐照降解氯霉素的研究[J]. 江苏农业学报, 2006, 22(3): 289–292
- [13] 彭春红, 周林燕, 李淑荣, 等. ^{60}Co - γ 射线对赭曲霉毒素 A 辐照的降解效果[J]. 中国食品学报, 2015, 15(7): 174–179
- [14] 李萌萌, 关二旗, 卞科. ^{60}Co - 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
- [15] 朱佳廷, 冯敏, 王玲, 等. ^{60}Co - γ 射线对谷物中 3 种真菌毒素含量的控制[J]. 江苏农业学报, 2012, 28(5): 1152–1156
- [16] 尹青岗. 玉米中玉米赤霉烯酮辐照降解技术研究[D]. 重庆: 西南大学, 2009: 1–49
- [17] 迟蕾, 哈益明, 王锋, 等. 玉米中赭曲霉毒素 A 的辐照降解效果[J]. 食品科学, 2011, 32(11): 21–24
- [18] HERZALLAH S, ALSHAWABKEH K, FATAFTAH A A. Aflatoxin decontamination of artificially contaminated feeds by sunlight, γ -radiation, and microwave heating[J]. Journal of Applied Poultry Research, 2008, 17(4): 515–521
- [19] REFAI M K, AZIZ N H, EL-FAR F, et al. Detection of ochratoxin produced by A. ochraceus feedstuffs and its control by γ radiation[J]. Applied Radiation & Isotopes, 1996, 47(7): 617–621
- [20] JALILI M, JINAP S, NORANIZAN A. Effect of gamma radiation on reduction of mycotoxins in black pepper[J]. Food Control, 2010, 21(10): 1388–1393
- [21] AIBARA K, MIYAKI K. Aflatoxin and its radio sensitivity. In Radiation Sensitivity of Toxins and Animal Poisons[C]. Vienna: International Atomic Energy Agency, 1970: 41–62
- [22] HOOSHMAND H, KLOPFENSTEIN C F. Effects of gamma irradiation on mycotoxin disappearance and amino acid contents of corn, wheat, and soybeans with different moisture contents[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 1995, 47(3): 227
- [23] FEUELL J A. Aflatoxin in groundnuts Part 9: Problems of detoxification[J]. Tropical Science, 1966, 8: 61–90

收稿日期: 2019-07-18