

等离子体降解花生中 黄曲霉毒素的影响因素

刘真,王世清,肖军霞,姜文利,任翠荣

(青岛农业大学 食品科学与工程学院,山东 青岛 266109)

摘要:采用低温射频等离子体技术处理黄曲霉毒素 B₁(AFB₁),通过 HPLC 分析其中 AFB₁ 的降解率,探究不同处理时间、处理功率等离子体和不同水分含量、颗粒大小、种类的花生对 AFB₁ 降解的影响。结果表明,在相同时间下等离子体处理功率越大,花生中的 AFB₁ 降解得越多,400 W 时降解率为 73.45%;在相同处理功率下,处理时间越长,花生中的 AFB₁ 降解越多,8 min 后降解率为 79.26%;在相同条件下,花生中水分含量越高,AFB₁ 的降解率越高,含水量达到 40% 时降解率达到 50%;花生的颗粒越小,AFB₁ 的降解率越高,花生粉的降解率达到近 60%;含油量越高的花生,其 AFB₁ 降解率越低,花生的含油量为 45% 时降解率只有 45%。得出等离子体技术降解 AFB₁ 时,外界条件对降解有较大影响,该结果对实际应用有指导作用。

关键词:低温射频等离子体;外界条件;黄曲霉毒素 B₁;降解率;花生

中图分类号:S 565.2 文献标识码:A 文章编号:1007-7561(2016)05-0044-05

Influence factors of the degradation of aflatoxin B₁ in peanut by plasma

LIU Zhen, WANG Shi-qing, XIAO Jun-xia, JIANG Wen-li, REN Cui-rong

(College of Food Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao Shandong 266109)

Abstract: The effect of the processing time, power, and moisture content, particle size, variety of peanut on the degradation of aflatoxin B₁ (AFB₁) was explored by treating AFB₁ with low temperature radio frequency plasma and analyzing the degradation rate by HPLC. The results showed that within the same processing time the higher the plasma processing power, the higher the degradation rate of AFB₁, which could reach up to 73.45% when the power was 400 W; within the same processing power, the longer the processing time, the higher the degradation rate of AFB₁, which could reach up to 79.26% in 8 min; under the same conditions, the higher the moisture content in the peanut, the higher the degradation rate of AFB₁, which could reach up to 50% when the moisture content was 40%; the smaller the peanut particle, the higher the degradation rate of AFB₁, which could reach up to about 60% in peanut powder; the higher the oil content in peanut, the lower the degradation rate of AFB₁, which was only 45% when peanut oil content was 45%. The results show that the external condition has noticeable influence on the degradation of AFB₁ by plasma technic, which has a guiding role for practical application.

Key words: low temperature radio frequency plasma; external condition; aflatoxin B₁; degradation rate; peanut

黄曲霉毒素(aflatoxin, AFT)是主要由黄曲霉和寄生曲霉产生的一类具有生物活性的次级代谢产

物,是一种剧毒物质,对人和动物的肝脏和中枢神经有很大的毒害作用,大量摄入会引起人和动物的急性中毒死亡,长期的小剂量摄入可引起致畸、致癌和致突变^[1]。在众多的黄曲霉毒素种类中,以黄曲霉毒素 B₁(AFB₁)的毒性为最强,具有强烈的致畸致癌作用^[2-3]。

收稿日期:2016-03-23

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31271963)

作者简介:刘真,1991年出生,女,硕士研究生。

通讯作者:王世清,1961年出生,男,教授。

花生是最容易感染黄曲霉的农作物之一,黄曲霉毒素对花生具有极高的亲和性^[4]。黄曲霉的侵染和黄曲霉毒素的产生不仅发生在花生的种植过程(包括开花、盛花、饱果、成熟、收获)中,而且在加工过程(包括原料收购、干燥、加工、仓储、运输过程)中也会产生。花生中黄曲霉毒素主要有 B₁、B₂、G₁、G₂,其中 B₁的毒性最强、产毒量最大。花生黄曲霉侵染和黄曲霉产毒主要与温度、水分有关。特别是在花生收获前的 30 至 50 天即进入饱果前到成熟饱果期,高温干旱时(土壤含水量 35% 以下),容易发生黄曲霉侵染、生长、产毒。干旱使花生荚果含水量降低,造成荚果代谢活动变弱,使花生抗侵染能力降低^[5-7]。

本研究采用的低温射频等离子体,空间富集的离子、电子、激发态的原子、分子及自由基,是极活泼的反应物种^[8],与各种污染物进行反应,使污染物分子键断裂,形成低毒或无毒的小分子物质^[9]。

本研究室在前期研究中发现,等离子体可以有效地降解黄曲霉毒素 B₁,表明该技术在解决花生中黄曲霉毒素污染方面有潜在的应用价值^[10]。但是在等离子降解花生中的 AFB₁的过程中,外界条件的改变影响等离子体降解黄曲霉毒素的降解率。因此本实验在低温射频等离子体处理条件下,通过改变降解功率、降解时间、花生的水分含量、花生的颗粒大小、花生的含油量来探究外界条件的改变对于等离子体降解花生中黄曲霉毒素的影响。为等离子体处理技术的实际应用提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

花生米 1 号:购于山东省城阳区大润发,产地为山东省泰安市;花生米 2 号:购于山东省城阳区大润发,产地为黑龙江省牡丹江市;黄曲霉菌株:来自山东省花生研究所。

1.2 试剂

AFB₁:美国 Sigma 公司;乙腈(色谱纯):德国默克公司。

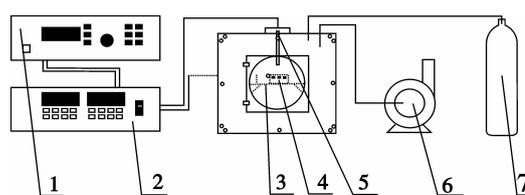
1.3 实验仪器

针筒式滤膜过滤器:天津市津腾实验设备有限公司;高效液相色谱仪(Agilent1100):美国安捷伦公

司;智能超声波清洗器(Elmasonic S450H):德国艾尔玛公司;YJ-1450 型超净工作台:苏州安泰空气技术有限公司;电热恒温鼓风干燥箱:山东省潍坊医疗器械厂;高压灭菌锅:上海中安医疗器械厂;冰箱:海信电器有限公司;电子天平:上海奥豪斯仪器有限公司;2 mL 微量进样瓶:美国 Agilent 公司。

1.4 实验装置

该实验装置由青岛农业大学食品科学与工程学院、中国科学院等离子体物理研究所联合研制,由射频电源、射频电源匹配器、等离子体发射器、真空泵等部分构成,见图 1。



1,射频电源;2,匹配器;3,物料承载板;4,物料;5,等离子体发射电极;6,真空泵;7,钢瓶

图 1 实验装置

1.5 样品前处理

1.5.1 花生染毒

花生中初始黄曲霉毒素的含量较低,要先接菌培养。黄基霉菌株活化后先将其在 PDA 上培养后转接到 SNA 液体培养基中制成黄曲霉菌悬液。花生中加入约 10% 的水,120 °C 高温灭菌 20 min。将培养好的黄曲霉菌悬液接菌到花生,28 °C 培养 24 d。培养时要注意每天将花生摇匀,保证黄曲霉毒素在花生中均匀分布,培养好后室温风干备用。

1.5.2 花生中 AFB₁的提取

经等离子体处理后的染毒花生,碾磨后,准确称取 2 g 试样至三角瓶中,按一定比例加入乙腈提取液。

1.5.3 样品提取液的净化

Romer Labs 的 MycosepTM 228 和美国 Trilogy 公司的 PuriTox SR 多功能净化柱:将提取液直接过柱,施加外力使提取液流经净化柱,收集滤液备用。

1.6 检测方法

1.6.1 AFB₁衍生方法

在样品中加入 200 μL 正己烷和 100 μL 三氟乙酸,密闭涡旋 30 s,然后在 40 °C 烘箱中衍生 15 min。

室温下氮气吹干,加入 200 μL 水 - 乙腈(70:30, V/V)溶解,涡旋 30 s,过有机滤膜后放入衬管内,放入原瓶中,用于 HPLC 检测。

1.6.2 HPLC 色谱条件

Agilent 液相系统,色谱柱:Waters Symmetry - C₁₈, 4.6 mm \times 250 mm,粒度 5 μm ;柱温:30 $^{\circ}\text{C}$;流动相,乙腈:水 = 30:70 (V/V);流速:1 mL/min;进样量:20 μL ;检测器:荧光检测器;激发波长:365 nm;发射波长:440 nm。

1.7 实验数据统计与分析

采用 SPSS 13.0 统计分析软件对实验数据进行分析。所有实验结果均以平均数 \pm 标准误差表示。

2 结果与分析

2.1 花生中毒素的含量

花生经接种染毒后,采用高效液相色谱测定其中黄曲霉毒素含量为 235 $\mu\text{g}/\text{kg}$,见图 2。

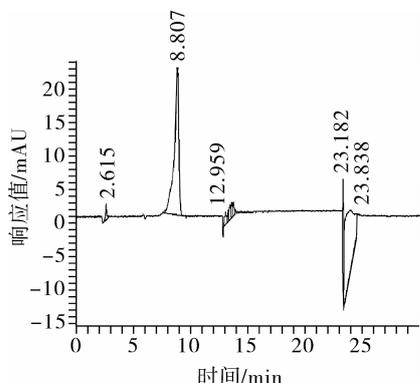


图2 花生中黄曲霉毒素含量的高效液相色谱图

2.2 等离子体功率对等离子体降解花生中 AFB₁ 的影响

图 3 为不同功率的等离子体照射下,染毒后的花生样品经过 0、100、200、300、400 W 等离子体功率处理后的降解率。结果表明,在相同处理时间下,随着处理功率的不断变大,活性粒子增多,能量变高,花生中毒素所接触离子能量变多,毒素降解程度不断提高。在 400 W 的处理功率下,毒素的降解率达到最大,降解率可以达到 73.45%。

2.3 时间对等离子体降解花生中 AFB₁ 的影响

图 4 显示在 300 W 的等离子体处理功率下,染毒后的花生样品经等离子体处理 0、2、4、6、8 min 后的降

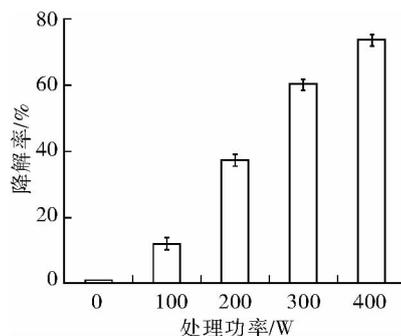


图3 花生中的 AFB₁ 在不同等离子体功率处理下的降解率。结果表明,在相同处理功率下,随着处理时间的不断增加,花生中黄曲霉毒素与等离子体发射的活性粒子接触时间变长,毒素降解程度变大。在处理 8 min 时,毒素的降解率达到最大,达到 79.26%。

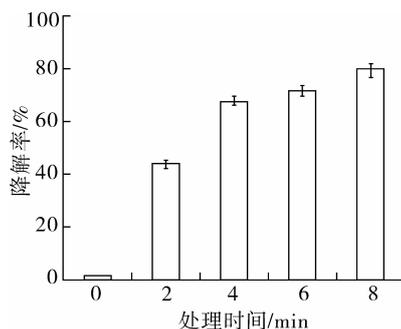


图4 不同等离子体处理时间下花生中 AFB₁ 的降解率

2.4 花生水分含量对等离子体降解 AFB₁ 的影响

2.4.1 相同水分含量不同功率下降解率的变化

取 1 g 染毒的花生试样,水分含量在 10% 左右,置于等离子体发射器中,功率设定为 0、100、200、300、400 W,处理时间为 3 min。试样经提取、净化、衍生后,进行 HPLC 分析,由峰面积与标准曲线换算出试样浓度及 AFB₁ 降解率,比较差异。结果见图 5。

由图可知,随着处理功率的变化,降解率变化幅度很小,400 W 时降解率达到最大,与空白组相比,降解率可以达到 40%。原因可能是,在等离子体处理过程中,黄曲霉毒素会与水分子发生反应,使毒素降解率升高。

2.4.2 花生水分含量对等离子体降解 AFB₁ 的影响

取 1 g 染毒的花生试样,水分含量分别为 10%、20%、30%、40%,置于等离子体发射器中,功率设定为 300 W,处理时间为 3 min。试样经提取、净化、衍生后,进行 HPLC 分析,由峰面积与标准曲线换算出

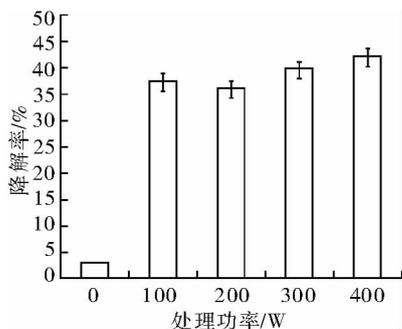


图5 花生中的 AFB₁ 在相同水分含量下的降解曲线

试样浓度及 AFB₁ 降解率。结果见图 6。

由图可知,随着含水量的提高,降解率逐渐升高,含水量在 40% 时降解率达到最大,达 50%。推测原因可能是随着含水量的增加,水分子数目增多,经等离子体电解后氢离子数目增多,加大了与毒素的反应,使降解率升高。

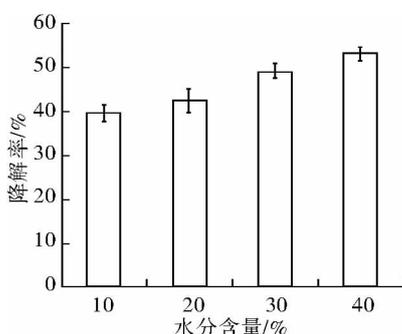


图6 花生中的 AFB₁ 在不同水分含量下的降解率

2.5 花生颗粒大小对等离子体降解 AFB₁ 的影响

通过低温射频等离子体对不同颗粒大小的花生进行黄曲霉毒素的降解处理,探究花生颗粒大小对低温射频等离子体降解过程的影响。

经等离子体 300 W 处理 3 min 后得到的降解率如图 7 所示,随着花生颗粒的不断变小,在相同条件下黄曲霉毒素的降解率不断升高,花生粉的降解率接近 60%。由此可见,在本研究的毒素浓度范围内,随着颗粒的不断减小,降解率不断升高,原因可能是,颗粒减小,增大了与等离子体接触的面积,在相同条件下,能够降解更多的黄曲霉毒素。

2.6 花生品种对等离子体降解 AFB₁ 的影响

对于两种不同产地的花生进行染毒,1 号花生产地为山东省泰安市,2 号花生产地为黑龙江省牡

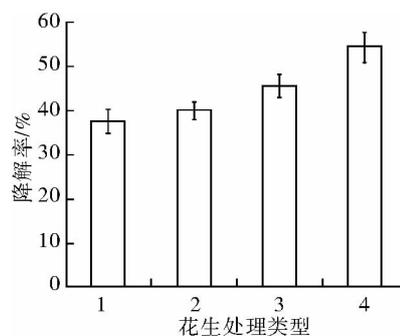


图7 不同颗粒大小花生中的 AFB₁ 的降解率

注:1,2,3,4 分别代表原花生、花生粒、花生粕、花生粉。

丹江市,两种花生之间最大的区别为 2 号花生的含油量为 45%,1 号花生的含油量为 37%。通过低温射频等离子体对两种染毒后的花生进行降解处理,探究不同花生种类对等离子体降解黄曲霉毒素的影响,结果见图 8。

由图可知,在 200 W 时两种花生中的 AFB₁ 降解率几乎相同,而在 400 W 时降解率差别较大,1 号花生的降解率可以达到 70%,2 号花生的降解率只有 45% 左右。可能是因为 2 号花生含油量高,脂肪酸含量也高,脂肪酸中有许多双键,在部分活性粒子的冲击下,发生了氧化反应,导致活性粒子与 AFB₁ 的接触密度变小。导致 2 号花生的 AFB₁ 降解率低于 1 号花生。

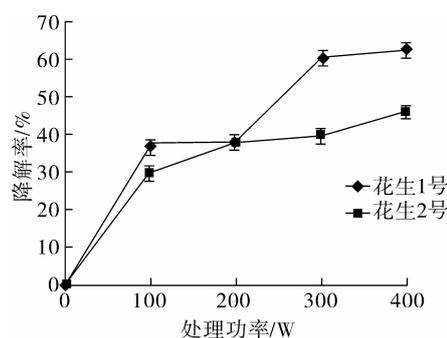


图8 不同品种花生的 AFB₁ 降解率

3 结论

本文以染毒后的花生为研究对象,低温射频等离子体为降解手段,通过 HPLC 检测,研究等离子体发射功率、处理时间、花生水分含量、颗粒大小以及品种对等离子体降解黄曲霉毒素的影响。结果表明:在相同处理时间下,随着处理功率的不断变大,毒素降解程度不断提高;在相同处理功率下,随着处理时间的延长,毒素降解程度提高;随着含水量的提高,降解率逐渐升高,含水量在 40% 时降解率达到最大,为 50%;随着花生颗粒的不断变小,在相同条

件下黄曲霉毒素的降解率不断升高,花生粉的降解率接近60%;不同品种的花生经过等离子体处理,毒素的降解率不同,含油量高的花生其毒素降解程度低。

在复杂体系 AFB₁ 的降解过程中,外界条件的改变对于降解率的影响很大,处理功率、处理时间、水分含量、颗粒大小、种类对降解都有影响,接触面积越大降解速度越快,水分子含量越多,电解出来的离子越多,与毒素反应的程度越高。综合实验研究,花生粉中的黄曲霉毒素在 300 W 的处理功率下,处理 8 min 后,降解率可以达到 79.26%。

参考文献:

- [1] 郝莹,宫小明,董静,等.黄曲霉毒素生物防治的研究进展[J].粮食与饲料工业,2011,(11):22-23.
- [2] RUSTOM I Y S. Aflatoxin in food and feed: occurrence legislation and inactivation by physical methods[J]. Food Chem, 1997, 59(1): 57-67.
- [3] AKBZS M Y, OZDEMIR M. Effect of different ozone treatments on aflatoxin degradation and physicochemical properties of pistachios [J]. J Sci Food Agric, 2006, 86(13): 2099-2104.
- [4] 段淑芬,胡文广,戴良香.花生黄曲霉毒素国家标准与绿色贸易壁垒[J].中国农学通报,2006,22(6):95-98.
- [5] 张毅,华福平,童燕,等.花生黄曲霉毒素的危害及预防[J].现代农业科技,2010(1):340.
- [6] 李建辉.花生种黄曲霉毒素的影响因子及脱毒技术研究[D].北京:中国农业科学院,2009.
- [7] 何春林,张庆珍.小型花生榨油厂对黄曲霉毒素 B1 防控与技改措施[J].食品工业,2012,33(7):111-112.
- [8] 莫玉琴.接触辉光放电等离子体在去除水体中有机污染物的应用[D].兰州:西北师范大学,2005.
- [9] 高志杰. HPLC 法同时测定食品中 4 种黄曲霉毒素[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(10):1803-1804.
- [10] WANG Shi - Qing, HUANG Guo - Qing, LI Yu - Peng, et al. Degradation of Aflatoxin B1 by Low - temperature Radio Frequency Plasma and Degradation Product Elucidation [J]. European Food Research and Technology, 2015, 241(1):103-113. 

欢迎订阅 2017 年《中国稻米》杂志

《中国稻米》是由农业部主管,中国水稻研究所主办,全国农业技术推广服务中心等单位协办的全国性水稻科学技术期刊,兼具学术性、技术性、知识性、信息性等特点。2014 年被国家新闻出版广电总局认定为首批学术类期刊,为中文核心期刊和中国科技核心期刊,还荣获全国农业期刊金犁奖技术类一等奖、浙江省优秀科技期刊二等奖等奖项。据《中国科技期刊引证报告》(核心版)统计,《中国稻米》2015 年的影响因子为 0.633。适合我国水稻产区各级技术人员及农业与粮食行政管理人员、科研教学人员和稻农阅读。本刊为双月刊,标准大 16 开本,单月 20 日出版。每期定价 10.00 元,全年 60.00 元,全国公开发行,邮发代码:32-31,国内刊号:CN33-1201/S,国际统一刊号:ISSN 1006-8082。欢迎新老读者到当地邮局订阅,也可直接汇款到本刊编辑部订阅。E-mail:zgdm@163.com,网址:www.zgdm.net。

地址:浙江省杭州市富阳区新桥水稻所路 28 号 邮政编码:311400
电话(传真):0571-63370271, 63370368