

紫外光照射和 γ 射线辐照对大豆中黄曲霉毒素 B₁ 降解的比较研究

张振山

(河南工业大学粮油食品学院, 河南郑州 450001)

摘要: 以新鲜大豆为原料, 通过标准液添加获得黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁) 含量分别为 0.1、0.5 和 1.0 mg/kg 的染毒大豆, 考察了紫外光照射、 γ 射线辐照及其联合技术对大豆中 AFB₁ 的降解效果。结果表明, 利用紫外光照射降解大豆中 AFB₁ 时, 紫外光照射强度对大豆中 AFB₁ 的降解具有显著影响 ($P < 0.05$), 而大豆中水分含量和 AFB₁ 含量对 AFB₁ 降解率的影响并不显著 ($P > 0.05$), 紫外光照射前 10 min 内, 大豆中 AFB₁ 的降解率随光照时间的增加而增加, 但是当照射时间超过 10 min 后, 紫外光照射对大豆中 AFB₁ 降解率的影响并不显著 ($P > 0.05$)。利用 γ 射线辐照降解大豆中 AFB₁ 时, 大豆中 AFB₁ 降解率随 γ 射线辐照剂量和水分含量的增加而增加, 随大豆中 AFB₁ 含量的增加而降低, γ 射线辐照剂量、水分含量和 AFB₁ 含量对大豆中 AFB₁ 的降解均具有显著影响 ($P < 0.05$)。同时, 研究还发现紫外光照射和 γ 射线辐照对大豆中 AFB₁ 的降解具有耦合增效作用。

关键词: 大豆; 紫外光照射; γ 射线辐照; 黄曲霉毒素; 降解率

文章编号: 1673-9078(2014)9-217-221

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.09.036

Degradation of Aflatoxin B₁ in Soybean by Ultraviolet and γ Irradiation

ZHANG Zhen-shan

(College of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: The aim of this research was to study the effect of ultraviolet irradiation, γ irradiation, and a combination of the two on the degradation of aflatoxin B₁ (AFB₁) in soybean. In this work, fresh soybean was used as the raw material, and contaminated soybeans that contained 0.1, 0.5, and 1.0 mg AFB₁/kg soybean were obtained by adding AFB₁ to soybean. The ultraviolet irradiation intensity had a significant influence on the degradation of AFB₁ ($P < 0.05$), whereas the moisture content and AFB₁ content had no significant effects on the degradation ($P > 0.05$). The degradation of AFB₁ increased with increasing ultraviolet irradiation time up to 10 min, after which the degradation ratio remained stable. On the other hand, the degradation of AFB₁ increased with increasing γ irradiation dose and moisture content, but decreased with increasing AFB₁ content. The γ irradiation dose, moisture content, and AFB₁ content had a significant influence on the degradation of AFB₁ ($P < 0.05$). A synergistic effect between ultraviolet irradiation and γ irradiation was also observed.

Key words: soybean; ultraviolet irradiation; γ irradiation; aflatoxin; degradation ratio

大豆是我国植物油脂和植物蛋白的重要来源, 在我国社会生产中具有重要的地位。然而, 大豆在不当温度和湿度条件下储存、运输均有可能造成霉变。大豆一旦霉变将极大地影响其使用价值和经济价值。据统计, 有超过 40 种的细菌、真菌以及病毒可以感染大豆种子^[1]。霉变一方面使大豆的表观特征发生改变, 如: 表面出现霉斑、表皮发生褶皱; 另一方面, 霉变使大豆的化学成分发生了变化, 如: 油脂酸败、蛋白质变性^[2-3]。但最为严重的是霉菌在生长繁殖过程中产生了次级代谢产物, 这些次级代谢产物 (如, 黄曲霉

毒素、T-2 毒素、呕吐毒素和 F-2 毒素) 多具有致病和致癌作用。因此, 大豆霉变后的主要危害来源于霉菌毒素。黄曲霉毒素 (Aflatoxins) 是最常见也是毒性最强的霉菌毒素之一^[4], 对其进行脱除研究具有重要意义。

紫外光照射法和 γ 射线辐照法是两种物理脱毒方法, 它们均能有效控制和杀灭微生物和真菌病原体。早期的报道表明, 这两种方法对黄曲霉毒素均具有一定的降解能力^[5-7], 然而早期的这些报道主要集中于单一技术对溶液中黄曲霉毒素降解的研究^[8-9], 而以粮食本身为研究主体的报道却并不多见, 同时也并没有对这两种技术的耦合效应进行研究。本文将新鲜大豆为原料, 通过添加一定量的黄曲霉毒素 B₁ 标准液, 研究紫外光照射法和 γ 射线辐照法以及两种方法的联合作

收稿日期: 2014-03-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31101367)

作者简介: 张振山 (1981-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 油脂加工技术及理论、食品辐照与储藏

用对大豆中黄曲霉毒素B₁的降解效果。

1 材料与方法

1.1 试验材料

大豆购买于郑州华润万家超市,含水量为9.62%, AFB₁未检出;甲醇、乙腈为色谱纯,其它试剂如正己烷、氢氧化钠、无水乙醇等无特殊说明均为分析纯,黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁) 标准品购买于 Sigma-Aldrich 公司(货号与规格: A6636-5 mg)。

1.2 主要仪器

Waters 2695 高效液相色谱仪,美国 Waters 公司;紫 UV-400B 外灯,美国 Spectronics 公司;DM-365XA 紫外强度检测仪,美国 Spectronics 公司;FW-100 高速万能粉碎机,北京中兴伟业仪器有限公司;AL204 电子天平,梅特勒-托利多(上海)有限公司;DZF-6050 真空干燥箱,上海精宏实验设备有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 大豆灭菌

大豆用 80% 的甲醇水溶液和 2% 的次氯酸钠溶液进行表面杀菌,然后用蒸馏水淋洗 2~3 遍,室温下空气干燥。

1.3.2 大豆水分调整

大豆含水量被分别调整到 10%、15% 和 20%。用喷壶直接喷洒一定重量的无菌水到大豆中,并不断搅拌以便保证水分混合均匀。加水后的样品在 4 °C 下保持 3 d,以保证水分均匀充分吸收,水分含量通过国家标准 GB 5009.3-2010 进行测定。

1.3.3 大豆中 AFB₁ 的添加

准确称取 500 g 调整过水分的大豆,均匀加入适量一定浓度的 AFB₁ 甲醇-水溶液(60/40, V/V),使大豆中 AFB₁ 含量分别为 0.1、0.5 和 1.0 mg/kg

1.3.4 大豆的紫外照射

取 50 g 待处理大豆置于培养皿中,通过调节培养皿与紫外灯距离,控制紫外光到指定强度(300、600、900 μW/cm²),紫外光照射样品时间为 5~20 min。

1.3.5 大豆的 γ 射线辐照

大豆辐照委托河南省科学院同位素研究所进行加工,将 50 g 待辐照大豆用自封袋密封后,在选定辐照剂量下(5、10、20、30 kGy)进行 γ 射线辐照处理。

1.3.6 大豆中 AFB₁ 的提取与检测

取 25 g 大豆样品,粉碎后用 100 mL 70% 的甲醇溶液在 50 °C 水浴中提取 10 min,提取液用滤纸过滤后取 15

mL,加入 10 mL 石油醚脱脂,充分混匀后静置分层,取下层溶液 10 mL,加入 10 mL PBS 缓冲液稀释,用滤纸过滤,取 10 mL 稀释液以 2 mL/min 的速率通过免疫亲和柱,用 10 mL pH 7.0 的 PBS 分成 3 次淋洗亲和柱,弃去全部流出液,最后用 2 mL 色谱纯甲醇对亲和柱上富集的黄曲霉毒素进行洗脱、收集。收集液在室温下用氮气吹干,加入 200 μL 三氟乙酸进行衍生,50 °C 烘箱中衍生 5 min,用氮气再次吹干,用 1 mL 流动相溶解,过有机相滤膜,滤液用液相色谱仪进行分析。

色谱条件:色谱柱: Waters Nova-Pak C18 柱(3.9 mm i.d.×150 mm, 4 μm, 美国 Waters 公司),流动相: 乙腈+甲醇+水=20+10+70,流速: 0.8 mL/min。进样量: 20 μL,柱温: 30 °C,激发波长 365 nm,发射波长 450 nm。

1.3.7 AFB₁ 降解率的计算

$$\text{AFB}_1\text{降解率}/\% = \frac{C_1 - C}{C_0} \times 100\%$$

注: C₀ 为标准液添加后大豆中检测出的 AFB₁ 量; C₁ 为处理前从大豆中检测出的 AFB₁ 量; C 为处理后从大豆中检测出的 AFB₁ 量。

1.3.8 数据统计分析

利用 SPSS (V16.0) 统计软件进行数据分析,测定结果表示为平均数 (n≥3),采用 One-way ANOVA 对各因素进行显著性分析,以 P<0.05 为显著性水平。

2 结果与讨论

2.1 AFB₁ 检测方法的准确度

检测方法的准确度依照已有报道的方法^[10],用加标回收率来衡量。在同一大豆样品中分别添加不同剂量(0.1、0.5、1.0 mg/kg)的 AFB₁,分析测定得到的 AFB₁ 回收率见表 1。

表 1 大豆中黄曲霉毒素 B₁ 的加标回收率

Table 1 The recovery ratio of aflatoxin B₁ standard addition in soybean

添加量/(mg/kg)	添加回收率/%	变异系数/%
0.1	87.27±4.77	5.47
0.5	90.38±2.62	2.90
1.0	91.61±3.00	3.28

注: 添加回收率为平均值±标准差。

由表 1 可知,在所考察的含量范围内,大豆中 AFB₁ 的加标回收率较高,均大于 85%。加标回收率随 AFB₁ 含量的增加而增加。当添加量为 1.0 mg/kg 时,回收率达到 91.61%。此外,三种不同添加量下的回收率变异系数均较低,表明该方法的准确度可以满足大豆中 AFB₁ 的检测要求。

2.2 紫外光照射对 AFB₁ 的降解效果

2.2.1 紫外光照射强度的影响

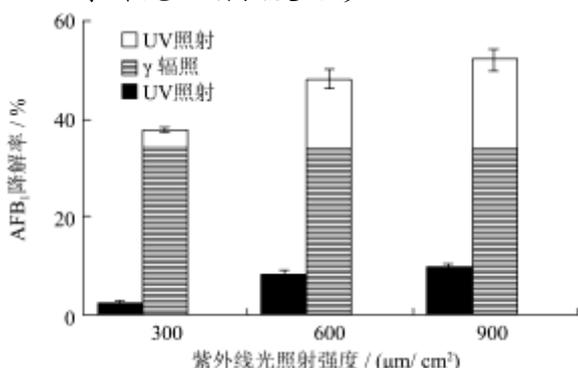


图1 不同紫外光照射强度下 AFB₁ 的降解率

Fig.1 Degradation ratio of AFB₁ at different ultraviolet irradiation intensities

图1所示的是不同紫外光照射强度对大豆中 AFB₁ 降解率的影响。从图中可以看出,在所考察的紫外光照射强度范围内,相同条件下(含水量15%, AFB₁ 含量0.5 mg/kg, 照射时间10 min),大豆中 AFB₁ 的降解率随紫外光照射强度的增加而增加,紫外光照射强度对大豆中 AFB₁ 的降解具有显著影响 (P<0.05)。这可能是由于紫外光照射激发了 AFB₁ 呋喃环上离子的跃迁,破坏了 AFB₁ 的结构,促进了 AFB₁ 的降解。紫外光照射强度越高,离子跃迁的机率越高, AFB₁ 降解率越高。2011年, Liu R J 等人通过对紫外光降解花生油中 AFB₁ 的研究发现,用照射强度为 800 μW/cm² 的紫外光对花生油照射 10 min,花生油中含量为 2 mg/kg 的 AFB₁ 可以降解约 80%,照射 30 min 就可以将 AFB₁ 彻底降解^[1]。与上述报道相比,本研究中 AFB₁ 的降解率较低,这可能是由于紫外光的穿透能力较弱,与花生油相比大豆复杂的组织结构阻碍了紫外光对大豆内部 AFB₁ 的降解。

此外,从图1中还可以发现,在相同的紫外光照射条件下,与未经 γ 射线辐照处理的大豆相比,经过辐照后的大豆(辐照剂量 20 kGy)具有更高的 AFB₁ 降解率。而且,这种差异随紫外光照射强度的增加而增加。这可能是由于 γ 射线辐照 AFB₁ 产生了某种游离基,这种游离基在紫外光照射下进一步激发了 AFB₁ 的降解。

2.2.2 紫外光照射时间的影响

图2所示的是不同紫外光照射时间对大豆中 AFB₁ 降解率的影响。从图中可以看出,相同条件下(含水量15%, AFB₁ 含量0.5 mg/kg, 照射强度 600 μW/cm²),未经 γ 射线辐照处理的大豆中 AFB₁ 降解率随紫外光照射时间的延长而增加,但是当照射时间超过 10 min 之后,大豆中 AFB₁ 降解率呈现停滞状态。这可能是由于紫外光在照射初期对大豆表面的 AFB₁ 进行了较好的降

解,但是当表面 AFB₁ 降解后,由于紫外光对大豆的穿透能力较弱,因此并不能对大豆内部的 AFB₁ 进行很好的降解。γ 射线辐照后的大豆(辐照剂量 20 kGy),大豆中 AFB₁ 降解率随紫外光照射时间增加的变化趋势与未经辐照处理的大豆一致,但是, AFB₁ 降解率较未辐照的大豆有所提升。

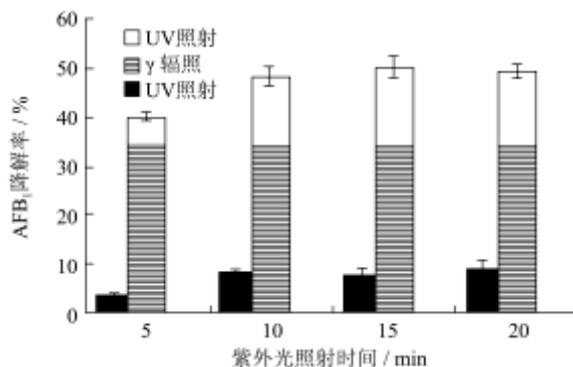


图2 不同紫外光照射时间下 AFB₁ 的降解率

Fig.2 Degradation ratio of AFB₁ at different ultraviolet irradiation time

2.2.3 大豆含水量的影响

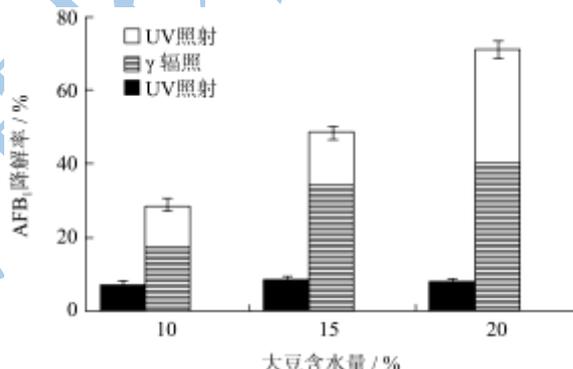


图3 不同大豆含水量下 AFB₁ 的降解率 (UV 照射)

Fig.3 Degradation ratio of AFB₁ in soybean at different moisture contents (UV irradiation)

图3所示的是紫外光照射对不同含水量的大豆中 AFB₁ 降解率的影响。从图中可以看出,相同条件下 (AFB₁ 含量 0.5 mg/kg, 照射强度 600 μW/cm², 照射时间 10 min),未经 γ 射线辐照处理的大豆中,大豆含水量对 AFB₁ 的降解率并没有显著的影响 (P>0.05)。然而,对于经过 γ 射线辐照的大豆(辐照强度 20 kGy),大豆中 AFB₁ 的降解率随含水量的增加而明显增加。这一方面可能是由于 γ 射线辐照导致大豆中 AFB₁ 含量产生了差异,另一方面可能是由于水分使 γ 射线辐照预处理产生了更多能够促使 AFB₁ 降解的游离基。

此外, Nkama I 等人在研究光照对大米中 AFB₁ 的降解时发现,大米含水量对 AFB₁ 降解率的影响与所处的光照强度有关。较低的光照强度 (43 mW/cm²) 下, AFB₁ 的降解率随含水量的增加而增加;较高的光照强

度 (64 mW/cm²) 下, AFB₁ 的降解率随含水量的增加而减少^[12]。

2.2.4 AFB₁ 含量的影响

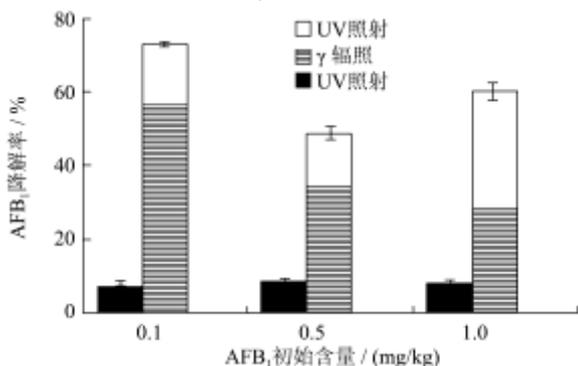


图4 不同AFB₁含量下AFB₁的降解率 (UV照射)

Fig.4 Degradation ratio of AFB₁ in soybean at different AFB₁ contents (UV irradiation)

图 4 所示的是不同 AFB₁ 含量的大豆在紫外光照射下的降解率。从图中可以看出, 相同条件下 (含水量 15%, 照射强度 600 μW/cm², 照射时间 10 min), 对于未经 γ 射线辐照处理的大豆, 大豆中 AFB₁ 含量的变化对 AFB₁ 的降解率并没有显著影响 (P>0.05)。这一现象与 Liu R J 等人报道的结果一致, Liu R J 等人在研究紫外光降解花生油中 AFB₁ 时发现, 不同的 AFB₁ 含量下 (0.05~2 mg/kg) 紫外光对 AFB₁ 的降解率几乎一致^[11]。然而, 在相同的紫外光照射条件下, 经过 γ 射线辐照 (辐照剂量 20 kGy) 处理的大豆比未经辐照处理的大豆具有更高的 AFB₁ 降解率。这表明, γ 射线辐照对紫外光降解大豆中 AFB₁ 具有增效作用, 而且这种增效作用在 AFB₁ 含量较高时更为明显。

2.3 γ 射线辐照对 AFB₁ 的降解效果

2.3.1 辐照剂量的影响

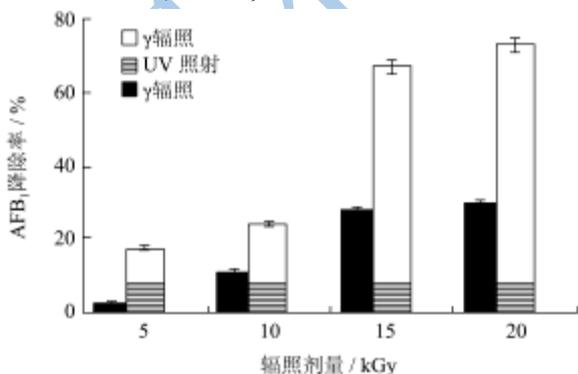


图5 不同 γ 射线辐照剂量下 AFB₁ 的降解率

Fig.5 Degradation ratio of AFB₁ at different gamma irradiation doses

图5所示的是不同γ射线辐照剂量对AFB₁降解率的影响。从图中可以看出, 在所考察的辐照剂量范围内,

相同条件下 (含水量15%, AFB₁ 含量0.5 mg/kg), 大豆中 AFB₁ 的降解率随辐照剂量的增加而明显增加 (P<0.05)。Hooshmand H 等人用 γ 射线对玉米、小麦和大豆中 AFB₁ 进行辐照降解研究时得到了相似的结果, 但是, AFB₁ 的降解率在统计学上并没有发生显著变化^[13]。

从图5中还可以看出, 经过紫外光照射 (照射强度 600 μW/cm², 照射时间 10 min) 的大豆比未经紫外光照射的大豆具有更高的 AFB₁ 降解率。这可能是由于紫外光照射 AFB₁ 产生的中间产物在 γ 射线辐照下引发了 AFB₁ 降解的链式反应。

2.3.2 大豆含水量的影响

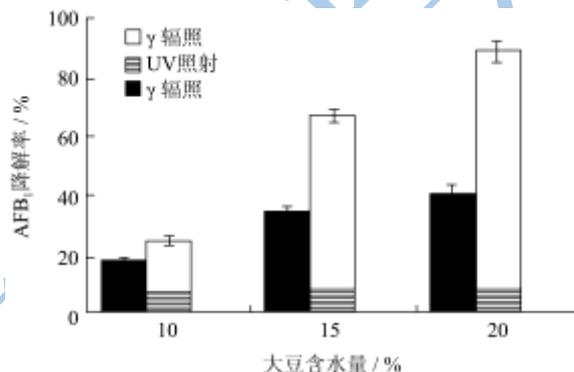


图6 不同大豆含水量下 AFB₁ 的降解率 (γ 射线辐照)

Fig.6 Degradation ratio of AFB₁ in soybean at different moisture contents (Gamma irradiation)

图6所示的是γ射线辐照对不同含水量的大豆中 AFB₁ 降解率的影响。从图中可以看出, 在相同条件下 (辐照剂量 20 kGy, AFB₁ 含量 0.5 mg/kg), 大豆中 AFB₁ 降解率随含水量的增加而增加, 大豆含水量对 AFB₁ 降解具有显著影响 (P<0.05)。这表明, 水分可能参与了大豆中 AFB₁ 的 γ 射线降解过程, 水分含量的增加有利于 AFB₁ 降解率的提升。

同时, 在所考察的任一含水量下, 经过紫外光照射 (照射强度 600 μW/cm², 照射时间 10 min) 的大豆均比未经紫外光照射大豆具有更高的 AFB₁ 降解率。水分越高差异越大, 这种差异可能来源于紫外光照射对水的解离^[14], 水分解离出的离子进一步促进了 γ 射线对大豆中 AFB₁ 的分解。紫外光照射对 γ 射线辐照降解大豆中 AFB₁ 的增效作用与大豆的含水量有关。

2.3.3 AFB₁ 含量的影响

图7所示的是γ射线辐照下, AFB₁ 含量对大豆中 AFB₁ 降解率的影响。从图中可以看出, 在相同条件下 (水分含量 15%, 辐照剂量 20 kGy), 未经紫外光照射的大豆中 AFB₁ 降解率随 AFB₁ 含量的增加而降低, AFB₁ 含量对其降解具有显著影响 (P<0.05)。在不同的 AFB₁ 含量下, 经过紫外光照射 (照射强度 600 μW/cm², 照射时间 10 min) 的大豆均比未经紫外光照射的大豆具有

较高的AFB₁降解率,可见,紫外光照射对 γ 射线辐照降解大豆中AFB₁的增效作用不受大豆中AFB₁含量变化的影响。

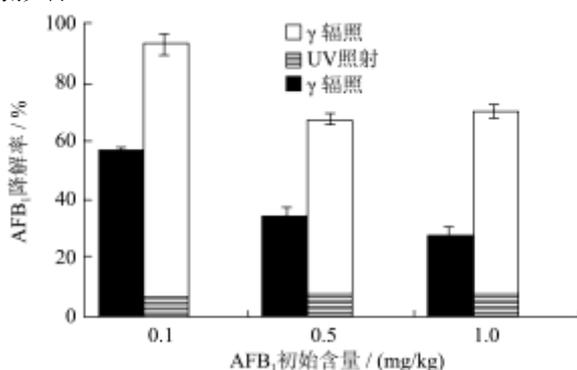


图7 不同AFB₁含量下AFB₁的降解率 (γ 射线辐照)

Fig.7 Degradation ratio of AFB₁ in soybean at different AFB₁ contents (Gamma irradiation)

3 结论

用紫外光照射对大豆中AFB₁进行降解研究发现,紫外光照射强度对大豆中AFB₁的降解具有显著影响 ($P < 0.05$), AFB₁降解率随紫外光照射强度的增加而增加,大豆含水量和AFTB₁含量对AFB₁降解率的影响并不显著 ($P > 0.05$)。用 γ 射线辐照对大豆中AFB₁进行降解研究发现, γ 射线辐照强度、大豆含水量和AFB₁含量均对大豆中AFB₁的降解率具有显著影响 ($P < 0.05$), AFB₁的降解率随 γ 射线辐照强度和AFTB₁含量的增加而增加,随AFB₁含量的增加而减少。同时,研究还发现对于大豆中AFB₁的降解,紫外光照射和 γ 射线辐照之间存在耦合增效作用。在相同的紫外光照射条件下,经过 γ 射线辐照处理的大豆比未辐照的大豆具有更高的AFB₁降解率。同样,在相同的 γ 射线辐照条件下,经过紫外光照射的大豆与未照射的大豆相比具有更高的AFB₁降解率。

参考文献

- [1] Sinclair J B. Discoloration of soybean seeds-an indicator of quality [J]. Plant Disease, 1992, 76: 1087-1091
- [2] 刘玉兰,汪学德,武莉,等.霉变大豆对毛油质量及精炼效果的影响[J].中国粮油学报,2005,20(4):82-84
LIU Yu-lan, WANG Xue-de, WU Li, et al. The influence of mildew soybean on crude oil quality and oil refining effect [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2005, 20(4): 82-84
- [3] 刘玉兰,李燕,汪学德.霉变大豆对豆粕质量的影响[J].中国油脂,2006,31(12):17-20
LIU Yu-lan, LI Yan, WANG Xue-de, et al. Influence of
- mildewed soybean on the quality of soybean meal [J]. China Oils and Fats, 2006, 31(12): 17-20
- [4] Iqbal S Z, Bhatti I A, Asi M R, et al. Effect of γ irradiation on fungal load and aflatoxins reduction in red chillies [J]. Radiation Physics and Chemistry, 2013, 82: 80-84
- [5] Liu R J, Chang M, Jin Q Z, et al. Degradation of aflatoxin B1 in aqueous medium through UV irradiation [J]. European Food Research and Technology, 2011, 233(6): 1007-1012
- [6] Mutluer B, Erkoç F U. Effects of gamma irradiation on aflatoxins [J]. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 1987, 185(5): 398-401
- [7] 朱佳廷,冯敏,严建民,等.辐照对稻米中黄曲霉毒素的降解效果[J].江苏农业科学,2012,40(12):324-326
ZHU Jia-ting, FENG Min, YAN Jian-min, et al. Degradation of aflatoxin in rice through gamma irradiation [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2012, 40(12): 324-326
- [8] Samarajeewa U, Gamage T V. Combination of solvent and radiation effects on degradation of aflatoxin B1 [J]. Mircen Journal of Applied Microbiology and Biotechnology, 1988, 4(2): 203-208
- [9] Wang F, Xie F, Xue X, et al. Structure elucidation and toxicity analyses of the radiolytic products of aflatoxin B1 in methanol-water solution [J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 192(3): 1192-1202
- [10] 迟蕾,哈益明,王峰,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
CHI Lei, HA Yi-ming, WANG Feng, et al. Effect of irradiation on degradation of ochratoxin a in maize [J]. Food Science, 2011, 32(11): 21-24
- [11] Liu R J, Jin Q Z, Huang J H, et al. Photodegradation of aflatoxin b1 in peanut oil [J]. European Food Research and Technology, 2011, 232(5): 843-849
- [12] Nkama I, Muller H G. Effects of initial moisture content and light intensity on the photo-degradation of aflatoxin B1 in contaminated rice [J]. Journal of Cereal Science, 1988, 8(3): 269-274
- [13] 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): 227-238
- [14] Guengerich F P, Johnson W W, Shimada T, et al. Langouët S. Activation and detoxication of aflatoxin B1 [J]. Mutation Research, 1998, 402(1-2): 121-128

现代食品科技