

姜黄素介导光动力抑制禾谷镰刀菌产 ZEN 毒素的研究

王敬敬^{1,2*}, 邱洁儿¹, 何甜甜¹, 杨蔼瑶¹, 徐鸣¹, 刘阳^{1,2}

(1. 佛山科学技术学院食品科学与工程学院, 广东佛山 528000)

(2. 全国名特优新农产品全程质量控制技术佛山中心, 佛山市现代农业研究中心, 广东佛山 528000)

摘要: 玉米赤霉烯酮 (Zearalenone, ZEN) 是广泛污染玉米、小麦、大米等谷物的真菌毒素之一, 主要由镰刀菌属产生。该研究选择姜黄素为光敏剂构建光动力技术 (Photodynamic Inactivation, PDI), 探究姜黄素浓度、光照能量和溶液 pH 对 PDI 抑制禾谷镰刀菌生长及其在玉米中产 ZEN 的影响。同时, 从 ZEN 毒素含量变化和禾谷镰刀菌失活两个角度分析 PDI 抑制禾谷镰刀菌产 ZEN 的机制。结果表明, 在 50.00 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素和 43.0 J/cm^2 光照能量作用下, ZEN 含量从空白对照玉米中的 1.15 mg/kg 降低至光动力处理组中的 0.58 mg/kg , 降幅达 49.56%, 且继续增加姜黄素浓度能够完全抑制 ZEN 的生成。深入分析表明, PDI 对禾谷镰刀菌的灭活作用是其抑制玉米中 ZEN 产生的主要原因, 尤其当姜黄素浓度 $\geq 70.00 \mu\text{mol/L}$, 光照能量为 43.0 J/cm^2 时, 禾谷镰刀菌被完全灭活。因此, 该研究证实光动力技术能够有效地杀灭禾谷镰刀菌, 抑制 ZEN 的产生, 为保障农产品质量安全提供了一种新方法。

关键词: 光动力技术; 禾谷镰刀菌; 玉米赤霉烯酮; 真菌毒素

文章编号: 1673-9078(2023)07-305-311

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.7.0828

Curcumin-mediated Photodynamic Inhibition of ZEN Mycotoxin Production by *Fusarium graminearum*

WANG Jingjing^{1,2*}, QIU Jieer¹, HE Tiantian¹, YANG Aiyao¹, XU Ming¹, LIU Yang^{1,2}

(1.College of Food Science and Engineering, Foshan University, Foshan 528000, China)

(2.National Technical Center (Foshan) for Quality Control of Famous and Special Agricultural Products, Foshan Research Center for Quality Safety of the Whole Industry Chain of Agricultural Products, Foshan 528000, China)

Abstract: Zearalenone (ZEN) is a mycotoxin that commonly contaminates crops like maize, wheat, and rice, and is mainly produced by *Fusarium graminearum*. In this study, a photodynamic inactivation (PDI) technique was developed using curcumin as a photoactivator, and the effects of curcumin concentration, illumination energy, and solution pH on the PDI of *F. graminearum* growth and ZEN production in maize were investigated. Additionally, the mechanism by which PDI inhibits ZEN production by *F. graminearum* was analyzed in terms of ZEN levels and *F. graminearum* inactivation. The results demonstrated that 50.00 $\mu\text{mol/L}$ of curcumin and 43.0 J/cm^2 of illumination energy reduced ZEN levels in maize from 1.15 mg/kg in the control to 0.58 mg/kg in the treatment group (a decrease of 49.56%). Furthermore, ZEN production can be completely inhibited by increasing the curcumin concentration. Further mechanistic analysis revealed that PDI inhibits ZEN production in maize by inactivating *F. graminearum*. Notably, curcumin concentrations of $\geq 70.00 \mu\text{mol/L}$ with an illumination energy of 43.0 J/cm^2 were sufficient to fully inactivate *F. graminearum*. By demonstrating that PDI is an effective method for *F. graminearum* inactivation and the inhibition of ZEN production, this work has provided a new method for quality and safety assurance in agricultural products.

Key words: photodynamic inactivation; *Fusarium graminearum*; zearalenone; mycotoxin

引文格式:

王敬敬,邱洁儿,何甜甜,等.姜黄素介导光动力抑制禾谷镰刀菌产 ZEN 毒素的研究[J].现代食品科技,2023,39(7):305-311.

WANG Jingjing, QIU Jieer, HE Tiantian, et al. Curcumin-mediated photodynamic inhibition of ZEN mycotoxin production by *Fusarium graminearum* [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(7): 305-311.

收稿日期: 2022-06-29

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32102105); 广东省基础与应用基础联合基金项目 (2020A1515110960); 佛山科学技术学院学生学术基金立项项目 (xssj202108zrb04); 佛山科学技术学院高层次人才启动项目 (CGZ07001); 佛山科学技术学院学科建设项目 (CGZ0400162)

作者简介: 王敬敬 (1986-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 食品质量与安全, E-mail: w_j2010@126.com

玉米赤霉烯酮(Zearalenone, ZEN)是一种由镰刀菌属产生的真菌毒素,是食品原料及其副产物中最常见的真菌毒素^[1]。研究表明,禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)是镰刀菌属中产真菌毒素的优势种^[2],可产生至少25种毒素,ZEN就是其中之一^[3]。ZEN污染一直是全球畜牧业和食品工业持续健康发展的重大威胁,每年由真菌毒素污染造成的经济损失高达数千亿美元。我国小麦、玉米等谷物中真菌毒素污染也很严重,尤以华东、华南、华北等地区的玉米及其副产物受ZEN污染(均值301.9~454.2 $\mu\text{g/kg}$)最为突出^[4]。

ZEN具有雌激素作用,可诱发禽畜等产生雌性激素亢进症,引起相关繁殖机能异常甚至死亡。更为重要的是,妊娠期孕妇食用了含ZEN的食物,严重地可造成胎儿流产、畸胎甚至死胎^[5]。我国是玉米生产与消费大国,近年来国内玉米消费突破2.70亿t,因此,降低玉米中ZEN污染水平保障食品安全一直是我国食品科学研究领域的重点。

目前,防控食品原料中真菌生长及其产毒的手段主要包括物理法、化学法和生物学法。以传统热杀菌为代表的物理方法较为成熟且杀菌较彻底,但能耗高且对食品风味、色泽、营养成分破坏较大。吸附剂吸附降解真菌毒素,存在吸附特异性问题,降解效果不理想;采用双氧水、强酸碱制剂浸泡杀菌并降解ZEN的化学法,往往造成化学物质残留,并对环境产生二次污染;以活性精油、生物酶制剂等为主的生物学方法,杀菌效率低、气味残留重、酶活不稳定^[6],因此,研发新型杀菌方法并将其用于食品及食品原料中真菌毒素的防控领域符合当前我省食品工业基础科学发展的迫切要求。

以发光二极管(Light-Emitting Diode, LED)为激发光源、天然活性物质为光敏剂的光动力(PDI)是一种绿色、高效的新型杀菌方法。姜黄素作为一种天然食品添加剂,是目前PDI研究领域广泛使用的光敏剂,其在安全性、经济性上优于其它光敏剂^[7,8]。姜黄素的吸收波长范围在420~480 nm之间,而蓝光LED的发射波长范围为455~460 nm,这种波长组合有利于姜黄素高效吸收光能量从而激发产生杀菌活性因子^[9]。课题组前期已经充分证实在蓝色LED光照下,姜黄素光动力具有高效杀灭细菌的作用^[10]。在此基础上,本研究拟构建姜黄素介导PDI体系,探究姜黄素浓度、光照能量、溶液pH值等因素影响PDI抑制玉米中禾谷镰刀菌产ZEN的功效,并从ZEN含量变化和禾谷镰刀菌失活两个角度分析PDI抑制禾谷镰刀菌产ZEN的作用机制。研究成果为高效防控食品原料中真菌及真菌毒素污染提供了新方法,有助于保障人民

群众的生命健康。

1 材料与方法

1.1 试验材料

玉米,购买于佛山本地农贸市场,含水量为5.75% (m/m);姜黄素,生工生物工程(上海)股份有限公司;玉米赤霉烯酮标准品, Pribolab 公司;乙腈,赛孚瑞化工邯郸有限公司;1260 安捷伦高效液相色谱仪,安捷伦仪器公司;LED 蓝光灯(50 W, 455~460 nm);马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA);马铃薯葡萄糖肉汤(PDB);胰酪大豆胨琼脂培养基(TSA)。

1.2 试验方法

1.2.1 不同温度条件对玉米中禾谷镰刀菌产ZEN的影响

为了研究禾谷镰刀菌产ZEN毒素的最适条件,对玉米中禾谷镰刀菌的培养温度进行优化。将贮存于-80℃的禾谷镰刀菌接种于马铃薯葡萄糖肉汤(Potato-Dextrose Broth, PDB)培养基中,过夜培养,调节菌液OD(Optical Density)值到0.60。将菌液与生理盐水按照1:100 (V/V)配置成400 mL菌悬液,加入100 g无菌玉米进行密封,震荡1 h,沥干,然后将玉米置于25℃、37℃下培养10 d,培养结束后50℃烘干,粉碎,过筛(60目),最后用于ZEN的提取。

称取2.00 g玉米粉置于50 mL离心管中,加入2.00 mL去离子水漩涡震荡混匀放置1 h。然后,加入4.00 mL含有1% (V/V)乙酸的乙腈溶液,震荡2 min,超声30 min。超声结束后,5 000 r/min下离心5 min,取上清液过膜,进行液相分析。

ZEN检测的液相色谱仪操作条件:荧光检测器(FLD),激发波长274 nm,发射波长440 nm;色谱柱为安捷伦 ZorbaxSB-C18 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相为乙腈/水(80/20, V/V),流速1.00 mL/min,进样体积20.00 μL ,检测10 min。

无菌玉米的制备:挑选玉米表面无破损、果实饱满、无虫蛀的玉米,然后置于无菌超净工作台中紫外灯处理2 h,将处理后的玉米进行均质处理,取均质液分别接种于胰酪大豆胨琼脂培养基(TSA)和马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)上,置于培养箱中培养后观察,无菌生长的玉米样品用于后续实验。

1.2.2 禾谷镰刀菌产生的ZEN毒素在玉米不同部位的分布状况

将污染禾谷镰刀菌的玉米置于锥形瓶中并在最适产毒温度下培养10 d,培养结束后人工分离玉米的种

皮、胚和胚乳,分别置于锥形瓶中,50℃下烘干,粉碎,过筛(60目),按照1.2.1液相色谱分析方法测定玉米不同部位的ZEN含量。

1.2.3 姜黄素光动力技术抑制玉米中禾谷镰刀菌产ZEN的研究

称取50g污染了禾谷镰刀菌的玉米加入到培养皿中,分别加入浓度为0.0、50.0、100.0、150.0、200.0 μmol/L姜黄素溶液,避光孵育30 min,蓝色LED光源照射1 h(光能量=43.0 J/cm²),沥干,25℃培养10 d,烘干提取毒素。其中,姜黄素对照组为仅经过200.0 μmol/L姜黄素处理的样品;光照对照组为仅经过蓝色LED处理的样品。

姜黄素溶液的配制:利用无水乙醇配置浓度为2 mmol/L的姜黄素贮备液,置于10 mL离心管中,并用锡箔纸包裹使其处于避光条件,放置于-20℃冰箱以备使用。

光能量的检测方法:利用能量仪在距离LED蓝光灯10 cm处测定其光能量密度(11.9 mW/cm²),经过光照时间1 h后,计算获得光照能量为43.0 J/cm²。

1.2.4 姜黄素光动力技术对ZEN的降解作用

1.2.4.1 姜黄素浓度对ZEN降解效果的影响

取适当体积的姜黄素贮备液(2 mmol/L),配置终浓度分别为0.00(光照对照组)、50.00、150.00、200.00 μmol/L的姜黄素溶液于24孔板中,然后加入ZEN纯品配置成终浓度为0.50 μg/mL的ZEN溶液,避光孵育15 min,然后置于蓝色LED下照射1 h(光能量=43.0 J/cm²),处理结束后将ZEN溶液过膜并进行液相色谱分析。

1.2.4.2 光照能量对ZEN降解效果的影响

将ZEN标准品配置成终浓度为0.50 μg/mL溶液,取一定体积置于24孔板中,添加姜黄素溶液后,避光孵育15 min,LED光照1 h,利用高效液相色谱检测ZEN含量变化,探究光照时间0、0.5、1.0、1.5、2.0 h对ZEN含量变化的影响,其中L-对照组表示100 μmol/L姜黄素处理但未经光照;CK表示未加姜黄素但经2 h蓝光处理。

1.2.4.3 酸碱度对ZEN降解效果的影响

配置姜黄素浓度为100 μmol/L并且调节其pH值分别为3、5、7、9、11,然后取一定体积的溶液于24孔板中,加入ZEN标准品至终浓度为0.50 μg/mL,避光孵育15 min,LED光照1 h,利用高效液相色谱

检测ZEN含量变化,其中,L-pH 3表示在溶液pH值3条件下,姜黄素处理但未经光照;L-pH 11表示在溶液pH值11条件下,姜黄素处理但未经光照;L+pH 3表示在溶液pH值3条件下,光照处理但未加姜黄素;L+pH 11表示在溶液pH值11条件下,光照处理但未加姜黄素。

1.2.5 姜黄素光动力技术杀灭禾谷镰刀菌的研究

利用打孔法将PDA平板上生长的禾谷镰刀菌置于PDB中,同时加入适当数量的无菌玻璃珠,28℃下培养48 h(摇床转速200 r/min)。培养结束后,吸取摇瓶培养的禾谷镰刀菌悬液,用无菌生理盐水(0.85%)调节菌液OD值至0.40。在24孔板中分别加入等量的稀释好的菌液0.50 mL,再加入终浓度为0.0、10.0、30.0、50.0、70.0 μmol/L的姜黄素,避光孵育15 min,分别探究光照时间(10、20、30、40、60 min)和姜黄素浓度(30.0、50.0、70.0 μmol/L)对禾谷镰刀菌生长的影响。PDI处理后吸取菌悬液接种于PDA培养基中,置于恒温恒湿培养箱中培养,观察真菌的生长情况。

1.2.6 数据分析方法

所有实验至少重复3次,结果以“平均值±标准差”方式表示。基于单因素方差分析(ANOVA)和t检验等方法利用SPSS 27.0软件对实验所得数据进行统计学分析($P<0.05$),并采用Origin 2019软件作图。

2 结果与分析

2.1 不同培养温度对禾谷镰刀菌产ZEN的影响

如图1a所示,将接种了禾谷镰刀菌的玉米分别置于25℃和37℃温度下培养10 d,然后提取毒素并进行高效液相色谱分析。利用高效液相色谱技术对未接种禾谷镰刀菌的空白玉米样品进行分析,发现在空白样品中未检出ZEN。然而,对培养后的实验组样品分析发现,25℃培养条件下禾谷镰刀菌产ZEN毒素的含量达到了0.43 mg/kg;而37℃培养条件下,禾谷镰刀菌产ZEN毒素的含量为0.24 mg/kg($P<0.05$)

(图1b),说明25℃环境温度更适合玉米中禾谷镰刀菌产ZEN毒素。甄玉萍等^[1]研究发现,随着培养温度的升高禾谷镰刀菌产ZEN毒素的能力先升高后下降,20℃左右为ZEN产生的最适宜温度。基于此,本研究选用的禾谷镰刀菌最适产毒温度为25℃。

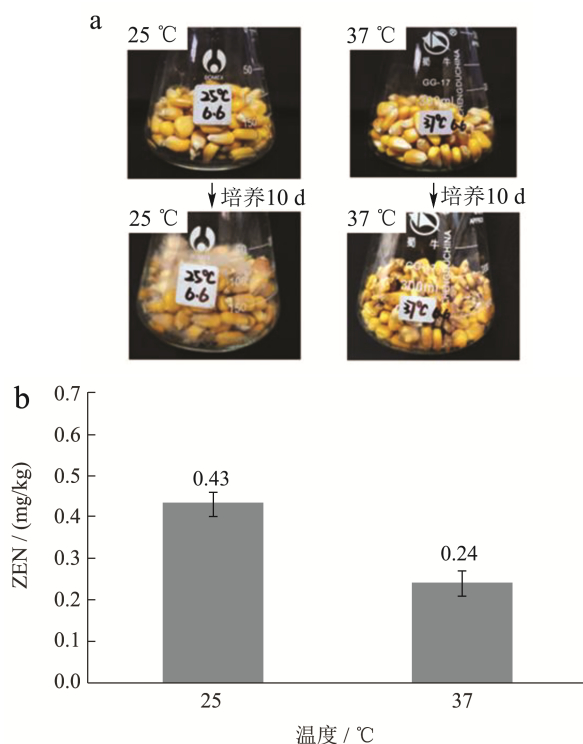


图1 不同温度下玉米中禾谷镰刀菌产ZEN毒素水平

Fig.1 Content of Zen produced by *F. graminearum* in maize at different temperatures

注: a 为将污染禾谷镰刀菌的玉米分别置于25、37 °C下贮藏10 d, b 为在25、37 °C条件下贮藏10 d后玉米中ZEN的含量。

2.2 ZEN 毒素在玉米不同部位中分布状况

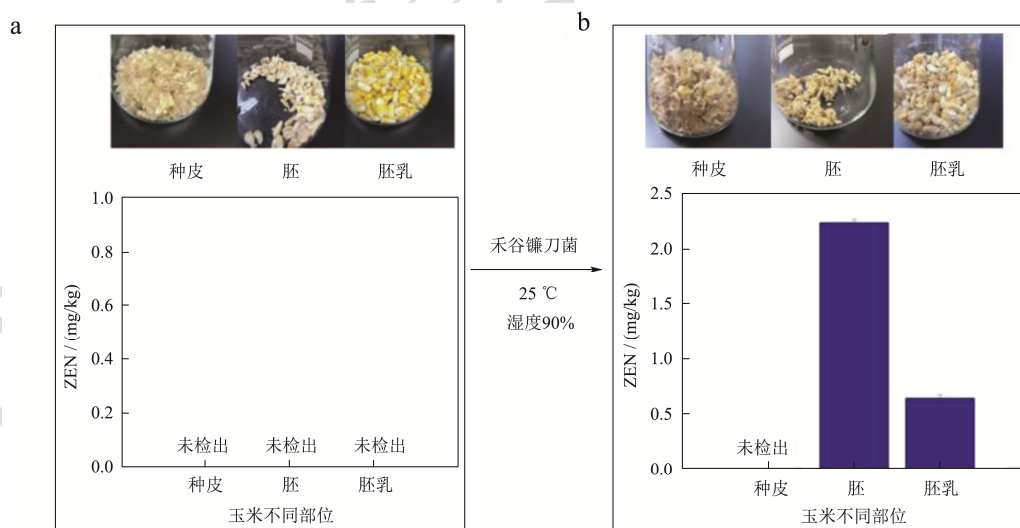


图2 贮藏第0天(a)和第10天(b)后ZEN毒素在玉米的种皮、胚、胚乳中的分布水平

Fig.2 Content distribution of Zen in seed coat, embryo and endosperm of maize after 0 d (a) and 10 d (b) storage

2.3 姜黄素介导光动力抑制玉米中产ZEN毒素的降解效果的研究

PDI 是一种新型非热杀菌技术, 包含光敏剂、氧

如图 2a 所示, 将污染禾谷镰刀菌的玉米置于 25 °C 和 90% 湿度条件下培养 10 d, 然后将所有样品分成 3 部分, 即种皮、胚和胚乳。利用高效液相色谱仪分别测定玉米种皮、胚和胚乳中的 ZEN 含量, 发现初始玉米样品中并未检测到 ZEN。经过 10 d 培养, 玉米胚中 ZEN 达到 2.24 mg/kg, 胚乳中 ZEN 达到 0.64 mg/kg ($P < 0.05$), 种皮中仍未检测到 ZEN (图 2b)。

从玉米的物质组成上看, 玉米种皮主要是由纤维素构成, 胚主要由脂肪和蛋白质构成, 胚乳主要由淀粉、蛋白质和脂肪构成, 并且, 与胚乳相比胚的脂肪含量占总玉米总脂肪含量的 80% 以上^[12]。从分子结构和理化性质上看, ZEN 的分子结构与雌激素相似^[13], 具有较好的脂溶性, 难溶于水。因此, 玉米中禾谷镰刀菌产生的 ZEN 更易存在于含脂溶性物质较高的胚中, 这一事实较好地支持了图 2b 中的现象。

此外, 完好的玉米种皮较好地保护了玉米粒免受禾谷镰刀菌等微生物的侵袭, 阻断了禾谷镰刀菌在种皮乃至胚乳中产生 ZEN 的作用。然而, 玉米粒在采后的贮藏过程中其胚部位暴露于自然环境中, 极易受到微生物侵袭产生 ZEN 毒素, 增加了胚中 ZEN 的含量。同时, 胚具有吸湿性以及呼吸旺盛等特性, 更适宜于微生物的生长, 最终引起真菌等微生物从玉米胚开始繁殖^[12,14]。鉴于此, 玉米中禾谷镰刀菌产 ZEN 毒素主要分布在玉米胚中, 其次为玉米胚乳, 而在种皮中较难产生 ZEN。

气和光源 3 个发挥功能的关键要素。当特定波长的光源照射光敏剂后, 光敏剂被激发产生包括单重态氧 (1O_2) 在内的活性氧分子 (Reactive Oxygen Species, ROS), 这些 ROS 通过攻击核酸、蛋白质等生物大分子诱发细胞死亡^[15,16]。

如图 3a 所示,与空白对照组相比,所有经姜黄素 PDI 处理的污染禾谷镰刀菌的玉米,经过 10 d 贮藏后其表面色泽并未发生明显变化,说明 PDI 未对玉米感官色泽产生负面影响。分析玉米中 ZEN 含量变化情况,发现避光处理组中 ZEN 含量达到 1.15 mg/kg,光照对照组中 ZEN 含量达到了 1.12 mg/kg,两者之间并未出现统计学上的明显差异,说明短暂光照未对禾谷镰刀菌产 ZEN 含量造成显著影响。然而,随着姜黄素浓度增加到 50.0 $\mu\text{mol/L}$ 后,玉米中 ZEN 毒素降到了 0.58 mg/kg ($P<0.05$),降低率达到了 49.56%;当姜黄素浓度继续增加到 $>100.0 \mu\text{mol/L}$ 时,所有玉米样品中均未检测到 ZEN 毒素(图 3b)。以上结果说明,PDI 技术能够显著抑制玉米中禾谷镰刀菌产生 ZEN 毒素的含量,并且这种抑制效果具有姜黄素浓度依赖性。

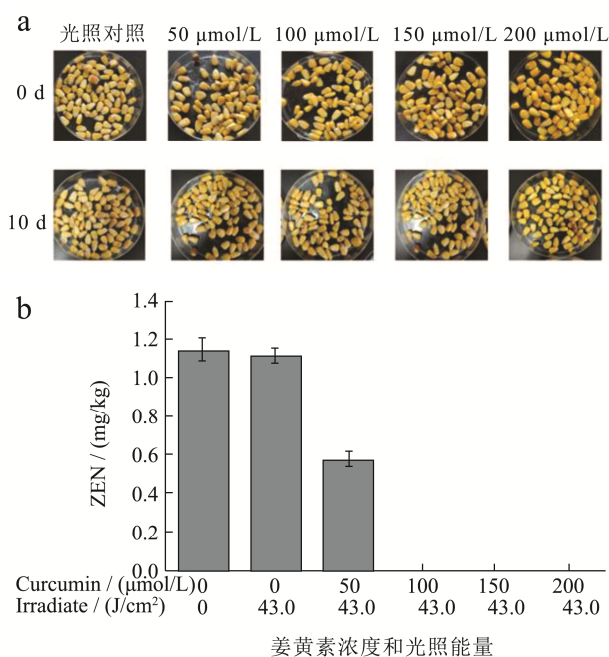


图 3 不同浓度姜黄素介导 PDI 对玉米色泽 (a) 及 ZEN 含量 (b) 的影响

Fig.3 Effects of the curcumin-mediated PDI on the color of maize (a) and the content of Zen in maize (b)

大量研究证实,光敏剂介导光动力可有效杀灭副溶血性弧菌、大肠杆菌、单增李斯特菌等细菌^[15-17],然而,有关 PDI 杀灭真菌的研究才刚刚起步。昆士兰大学 Temba 等^[18]利用姜黄素 PDI 有效灭活了菌悬液态和玉米中的黄曲霉孢子;同时,Huang 等^[19]利用相同的 PDI 一定程度杀死了灰霉菌孢子;Ghate 等^[20]在不加外源光敏剂条件下,发现常温比低温更有利于 PDI 杀灭灰葡萄孢菌和根霉。这些研究均初步证实了 PDI 具有杀灭真菌的能力,然而,聚焦 PDI 影响真菌毒素含量变化的研究相对较少。

2.4 姜黄素介导光动力对 ZEN 的降解效果的研究

本研究探究了姜黄素 PDI 对 ZEN 毒素的降解情况。如图 4a 所示,与对照组相比,所有处理样品中 ZEN 毒素的色谱峰面积均未发生明显变化,说明姜黄素浓度未对 PDI 降解 ZEN 产生明显影响;不同光照能量也未对 PDI 降解 ZEN 产生显著影响(图 4b)。如图 4c 所示,在不同酸碱度条件下所有 ZEN 毒素的色谱峰面积也未发生明显变化,表明样品溶液的酸碱度未对 PDI 降解 ZEN 造成影响。

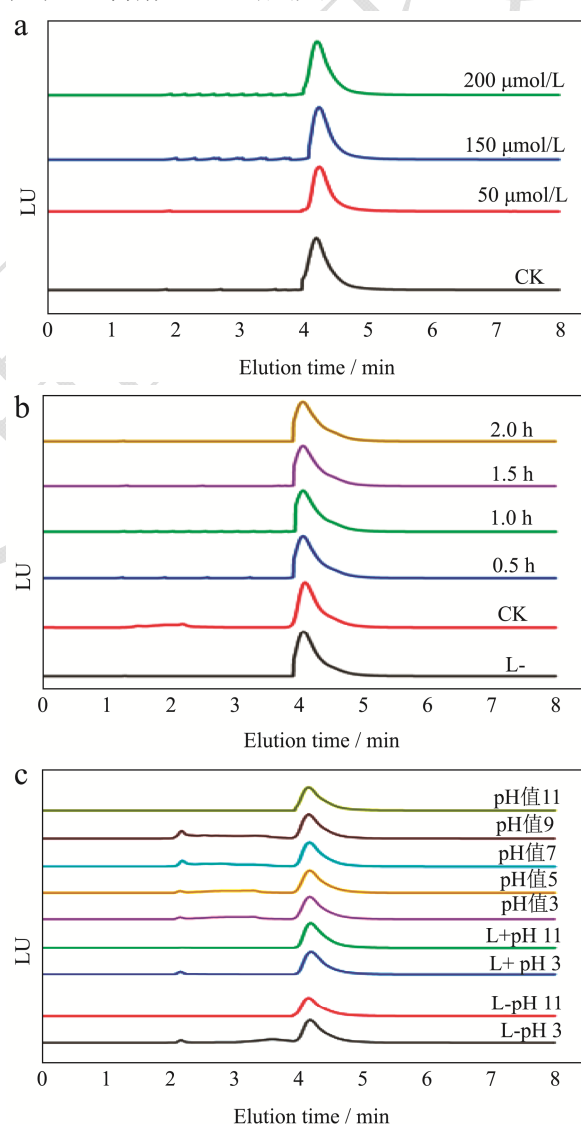


图 4 姜黄素浓度 (a)、光照能量 (b)、酸碱度 (c) 对 PDI 降低 ZEN 含量的影响

Fig.4 Effects of curcumin concentration (a), light energy (b) and pH (c) on the reduction of Zen content driven by PDI

注: ZEN 含量 0.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$; CK 为光照对照; L+为光照处理; L-为避光处理。

Venâncio 小组^[21]利用 γ -射线有效地降解了溶液中 ZEN, 并且降解产物毒性显著下降, 研究推测 γ -射线诱导 H_2O 分子和 O_2 分子产生的 $\text{HO}\cdot$ 、 $\text{HO}_2^\cdot$ 、 HO^- 、 H_2O_2 等与 ZEN 中 14 元大环内酯环的 $\text{C}=\text{C}$ 双键、 $-\text{O}-$ 化学键反应, 极大程度破坏了 ZEN 的化学结构, 改变了 ZEN 分子的毒性。然而, 本研究未发现姜黄素介导光动力降解 ZEN 的作用, 这可能与光敏剂产生的 ROS 强度有直接关系, 具体作用效果与机制仍有待进一步研究。

2.5 姜黄素介导光动力对禾谷镰刀菌杀灭效果研究

如图 5a 所示, 空白对照组和姜黄素对照组中的禾

谷镰刀菌生长完好, 真菌细胞生长密集且丰富。当姜黄素浓度为 $70.0 \mu\text{mol/L}$ 时, 随着光照能量从 14.4 J/cm^2 增加至 28.8 J/cm^2 过程中, 禾谷镰刀菌的菌落逐渐变得稀疏, 大量密集的生长状态未出现, 说明姜黄素 PDI 杀死了大量禾谷镰刀菌的细胞, 降低了细胞的生长活力 (图 5b、5c)。当光照能量增加至 43.0 J/cm^2 时, PDI 处理完全抑制了禾谷镰刀菌的生长。当固定光照能量为 43.0 J/cm^2 时, 随着光敏剂浓度从 $0.0 \mu\text{mol/L}$ 增加至 $50.0 \mu\text{mol/L}$, 禾谷镰刀菌的菌落同样变得稀疏, 尤其当姜黄素浓度 $>30.0 \mu\text{mol/L}$ 浓度后, 只能观察到极少数生长的真菌细胞 (图 5d~5f)。以上研究结果表明, 姜黄素 PDI 具有杀灭禾谷镰刀菌细胞的能力, 且这种能力表现出光照能量和光敏剂浓度依赖性。

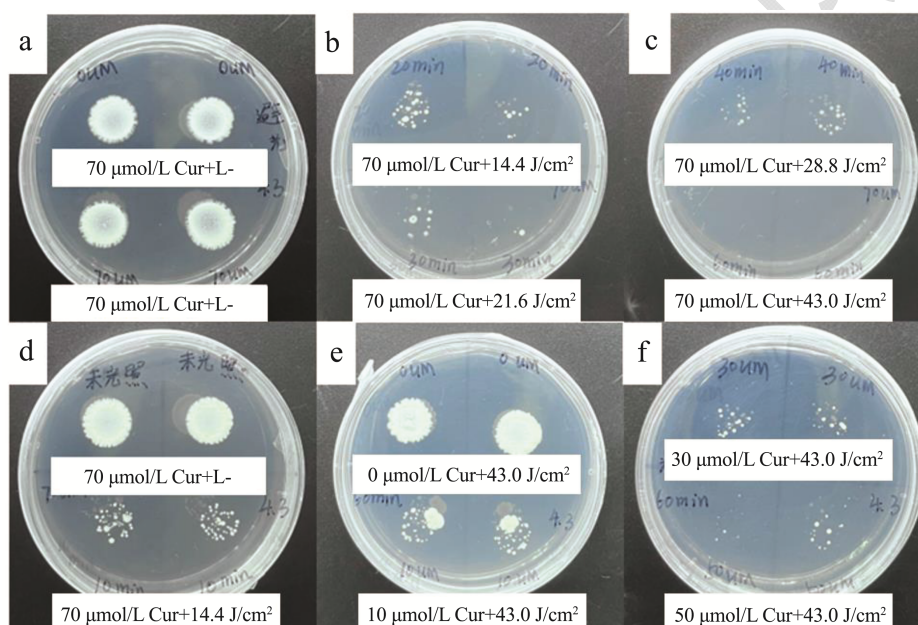


图5 姜黄素光动力技术抑制禾谷镰刀菌生长的情况

Fig.5 Inhibition of the curcumin-mediated PDI on the growth of *F. graminearum*

注: a 为避光条件下 $70 \mu\text{mol/L}$ 姜黄素单独处理对禾谷镰刀菌生长的影响; b 为 $70 \mu\text{mol/L}$ 姜黄素结合 14.4 J/cm^2 光照能量, $70 \mu\text{mol/L}$ 姜黄素结合 21.6 J/cm^2 光照能量; c 为 $70 \mu\text{mol/L}$ 姜黄素结合 28.8 J/cm^2 光照能量, $70 \mu\text{mol/L}$ 姜黄素结合 43.0 J/cm^2 光照能量; d 为避光条件下 $70 \mu\text{mol/L}$ 姜黄素单独处理, $70 \mu\text{mol/L}$ 姜黄素结合 14.4 J/cm^2 光照能量; e 为 43.0 J/cm^2 光照能量单独处理, $70 \mu\text{mol/L}$ 姜黄素结合 43.0 J/cm^2 光照能量; f 为 $30 \mu\text{mol/L}$ 姜黄素结合 43.0 J/cm^2 光照能量, $50 \mu\text{mol/L}$ 姜黄素结合 43.0 J/cm^2 光照能量。

基于以上结果, 本研究发现姜黄素介导 PDI 技术能够显著抑制玉米中禾谷镰刀菌产 ZEN 毒素的含量, 并且 PDI 主要通过杀灭禾谷镰刀菌的细胞进而阻断了 ZEN 的生物合成。然而, 从细胞和分子层面解析 PDI 失活禾谷镰刀菌的作用机制还有待于进一步研究。

3 结论

玉米中禾谷镰刀菌在 25°C 下更宜产生 ZEN, 且产生的 ZEN 主要分布在玉米胚中。在此基础上, 构建了有效失活产 ZEN 禾谷镰刀菌的姜黄素 PDI 技术,

此技术的作用效果具有光照能量和光敏剂浓度依赖性。初步优化发现在 $100 \mu\text{mol/L}$ 姜黄素、 43.0 J/cm^2 光照能量作用下, PDI 高效阻断了 ZEN 的产生。深入分析表明, PDI 主要通过杀灭禾谷镰刀菌细胞抑制了 ZEN 的产生, 其对 ZEN 本身并未产生明显的降解作用, 然而, 综合利用微生物学、分子生物学、多组学技术等解析 PDI 杀灭真菌的分子靶点和作用机制亟待解决。此外, 姜黄素理化性质不稳定、难溶于水、见光易分解等一定程度限制了姜黄素光动力的大规模应用, 因此, 开发新型天然光敏剂或者改构现有光敏剂

构建高效稳定的 PDI 技术体系显得尤为迫切。更为重要的是,姜黄素光动力杀灭真菌所需的姜黄素浓度和光照能量是其杀灭细菌的数十倍甚至上百倍,因此,研发杀菌能力强化型 PDI 技术是保障食品工业绿色、经济、可持续发展的必然要求。

参考文献

- [1] 龙森,李鹏,朱连勤,等.微生物降解玉米赤霉烯酮毒素及其机制[J].动物医学进展,2011,32(11):4.
- [2] 杜晓昱.禾谷镰刀菌产毒分析及其毒素检测方法的研究[D].福州:福建农林大学,2005.
- [3] 王裕中,米勒 J D.中国小麦赤霉病菌优势种-禾谷镰刀菌产毒素能力的研究[J].真菌学报,1994,3:229-234.
- [4] 周健庭,郑和.2021 年饲料霉菌毒素污染情况调查报告[J].养猪,2022,3:12-16.
- [5] 苗丽.常用饲料原料中玉米赤霉烯酮和呕吐毒素含量研究[D].泰安:山东农业大学,2015.
- [6] 熊凯华,程波财,胡威,等.玉米赤霉烯酮降解的研究进展[J].中国粮油学报,2010,25(1):138-143.
- [7] 曹斌斌,武娟,许川山,等.姜黄素介导的光动力冷杀菌方法对牡蛎杀菌的效果研究[J].食品科学,2016,37(5):46-49.
- [8] 刘箕箕.天冬氨酸抑制鲜切马铃薯褐变的研究[D].泰安:山东农业大学,2019.
- [9] 史明彪,张文,刘河,等.紫外-可见分光光度法定量测定姜黄素及其载体药物方法的优化[J].国际药学研究杂志,2017,44(4):366-368.
- [10] CHEN Bowen, HUANG Jiaming, LI Huihui, et al. Eradication of planktonic *Vibrio parahaemolyticus* and its sessile biofilm by curcumin-mediated photodynamic inactivation [J]. Food Control, 2020, 113: 107181.
- [11] 甄玉萍,裴世春,高建伟,等.不同培养条件对禾谷镰刀菌产玉米赤霉烯酮的影响[J].食品科学,2015,36(21):168-174.
- [12] 任婷婷,石亚丽,李书国.玉米胚食品加工技术的研究进展[J].粮食与饲料工业,2012,5:28-30.
- [13] 林晓帆,张诺,王辉,等.一种来源于 *Phialophora aartae* 的玉米赤霉烯酮内酯水解酶 ZHD11F 的酶学表征和结构特点[J].微生物学报,2022,62(11):4202-4212.
- [14] 职爱民,贾国超,郑文楠,等.玉米不同结构中玉米赤霉烯酮的污染分布规律[J].饲料工业,2017,38(3):58-60.
- [15] CHEN Bowen, HUANG Jiaming, LIU Yang, et al. Effects of the curcumin-mediated photodynamic inactivation on the quality of cooked oysters with *Vibrio parahaemolyticus* during storage at different temperature [J]. International Journal of Food Microbiology, 2021, 345: 109152.
- [16] CHAI Zhengyuan, ZHANG Fang, LIU Bingjie, et al. Antibacterial mechanism and preservation effect of curcumin-based photodynamic extends the shelf life of fresh-cut pears [J]. LWT - Food Science and Technology, 2021, 142: 110941.
- [17] Temba Benigni, Fletcher Mary, Fox Glen, et al. Curcumin-based photosensitization inactivates *Aspergillus flavus* and reduces aflatoxin B1 in maize kernels [J]. Food Microbiology, 2019, 82: 82-88.
- [18] Huang Li, Yong Ken, Fernando Chrisanthi, et al. The inactivation by curcumin-mediated photosensitization of *Botrytis cinerea* spores isolated from strawberry fruits [J]. Toxins, 2021, 13: 196.
- [19] Ghate Vinayak, Yew Isabelle, Zhou Weibiao, et al. Influence of temperature and relative humidity on the antifungal effect of 405 nm LEDs against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* and their inactivation on strawberries and tomatoes [J]. International Journal of Food Microbiology, 2021, 359: 109427.
- [20] Calado Thalita, Abrunhosa Luis, Verde Sandracabo, et al. Effect of gamma-radiation on zearalenone-degradation, cytotoxicity and estrogenicity [J]. Foods, 2020, 9: 1687.