

黄曲霉毒素 B₁ 降解产物及降解 安全性评价研究进展

莫紫梅

(广西-东盟食品检验检测中心, 南宁 530021)

摘要:为推动黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁) 降解技术的应用, 寻求高效、快捷、安全的 AFB₁ 降解技术, 促进食品中黄曲霉毒素的防治工作, 对 AFB₁ 降解技术(物理降解技术、化学降解技术、生物降解技术)产生的降解产物以及降解后食品安全性评价研究的现状进行了论述, 概括了降解技术的不足之处, 并对降解技术的发展趋势进行展望。物理降解技术较适合大规模应用, 但微波、脉冲电场、低温等离子体等技术仍处于研发阶段, 无法确保该技术的安全性与可靠性。化学降解技术的研究比较常见, 但存在食品感官品质变差, 营养成分损失或破坏, 易引入新的化学残留等不足。生物降解技术具有性质温和, 不造成食品中营养成分大量损失且绿色环保等优点, 但仍处于实验室研发阶段。在今后的研究中, 应加强寻找新型纳米材料发展光降解技术、或各种技术联合使用、或利用基因工程联合酶法脱毒等新型技术, 同时应更深入地研究降解机制、降解产物、降解路径以及降解产物的安全性。

关键词:黄曲霉毒素; 降解产物; 安全性评价; 物理降解技术; 化学降解技术; 生物降解技术

中图分类号: TS201.6; TQ646

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2024)06-0098-09

Research progress on degradation products and degradation safety evaluation of aflatoxin B₁

MO Zimei

(Guangxi-ASEAN Food Inspection Center, Nanning 530021, China)

Abstract: In order to promote the application of aflatoxin B₁ (AFB₁) degradation technology, seek efficient, fast and safe AFB₁ degradation technology, and promote the prevention and control of aflatoxin in food, the research status of degradation products produced by AFB₁ degradation technology (physical degradation technology, chemical degradation technology, biological degradation technology) and food safety evaluation after degradation were discussed. The shortcomings of degradation technology were summarized, and the development trend of degradation technology was prospected. Physical degradation technology is more suitable for large-scale application, but microwave, pulsed electric field, low temperature plasma and other technologies are still in the research and development stage, which cannot ensure the safety and reliability of the technology. The study of chemical degradation technology is relatively common, but there are some shortcomings, such as poor sensory quality of food, loss or destruction of nutrients, and easy introduction of new chemical residues. Biological degradation technology has the advantages of mild nature, no loss of nutrients in food and green environmental protection, but it is still in the laboratory research and development stage. In the future research, the search for new nanomaterials to develop photodegradation technology, the combination of various technologies, and the use of genetic engineering combined with enzyme detoxification

收稿日期: 2023-06-21; 修回日期: 2024-02-23

基金项目: 广西市场监管局科技计划项目(GXSJKJ2022-19, GXSJKJ2024-13); 广西重点研发计划(桂科 AB20238018)

作者简介: 莫紫梅(1984), 女, 副主任技师, 硕士, 研究方向为食品质量安全(E-mail)269636574@qq.com。

method and other new technologies should be strengthened. At the same time, the degradation mechanism, degradation products, degradation pathways and the safety of degradation products should be further studied.

Key words: aflatoxin; degradation product; safety evaluation; physical degradation technology; chemical degradation technology; biological degradation technology

黄曲霉毒素(AFT)是一类由曲霉属(包括黄曲霉菌、黑曲霉菌、寄生曲霉菌、赭曲霉菌、花生曲霉菌等)、青霉属(产黄青霉菌、微柔毛贝氏青霉菌)等真菌产生的一类具有生物活性的次生代谢产物^[1-2]。目前,已知AFT及其衍生物有20多种,其中黄曲霉毒素B₁(AFB₁)最常见且污染水平最高,广泛分布于各类农产品中。AFB₁含有呋喃双键及香豆素内酯环结构,并且两个羰基氧化性高,容易产生氢键(其结构见图1)。AFB₁毒性位点有3个,即毒性位点1(C8-C9位,即致毒和致癌的主要位点呋喃双键,其可以与蛋白质、DNA、RNA形成加合物从而致使机体紊乱)、毒性位点2(10,11,15号位,为可致癌的香豆素内酯环结构)和毒性位点3(C1-C2位,14号位,为具有一定毒性的环戊烯酮环),目前很多AFB₁降解技术及机制的研究也是从这3个毒性位点着手的^[3]。

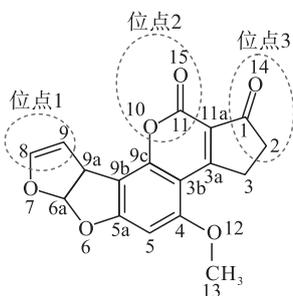


图1 AFB₁的结构

随着人们生活水平和健康意识的提高,食品中黄曲霉毒素的去除技术成为当前的研究热点之一。通过AFB₁降解实现脱毒的方法主要有物理技术、化学技术和生物技术。目前,针对AFB₁降解的前处理技术、降解技术、检测技术都有较多的研究及论述,而对各降解技术下产生的降解产物,以及对食品品质安全、毒理安全等方面的研究较少。降解产物的生成是一个复杂的过程,与食品基质、研究体系中所使用的溶剂、降解技术等有关。

本文对AFB₁在3种降解技术下的降解产物及降解安全性评价进行综述,并对今后的发展趋势提出展望,以期为推动AFB₁降解技术的应用,寻求高效、快捷、安全的AFB₁降解技术提供参考。

1 物理降解技术下的降解产物及安全性评价

1.1 降解产物

物理降解技术是指采用物理技术灭活产毒的生

物或破坏AFB₁结构,从而实现AFB₁的降解,这些技术主要有紫外光照射、射线(⁶⁰Co、 γ 射线、电子束)辐照、微波、热处理、吸附技术等^[4-5]。

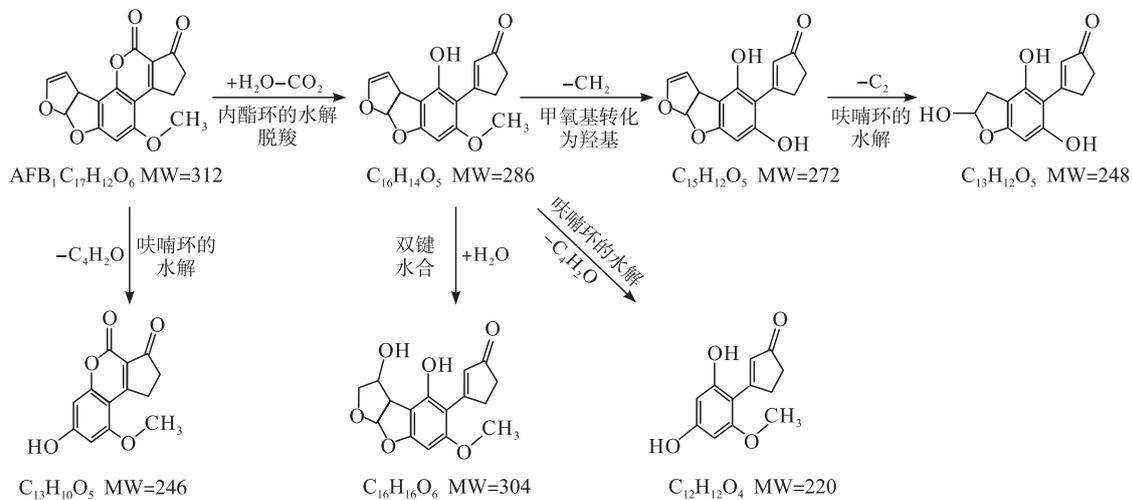
目前,紫外光照射降解AFB₁的研究相对较多,其产生的降解产物与AFB₁所处的基质、紫外光强度、照射时间等因素有关^[5]。目前研究的基质主要有纯溶剂(乙腈、甲醇、水、乙腈-水、甲醇-水)、花生油以及花生粕等体系。刘睿杰^[6]研究了AFB₁在不同体系中的紫外光降解产物,结果发现:AFB₁在乙腈溶液中的降解产物主要有C₁₄H₁₀O₆、C₁₇H₁₄O₆、C₁₆H₁₂O₅3种,其机制主要是发生光加成反应和光消去反应;AFB₁在水溶液中的降解产物主要有C₁₇H₁₄O₇、C₁₆H₁₄O₆和C₁₆H₁₂O₇,其机制主要是发生光还原反应和光消去反应;AFB₁在花生油体系中的降解产物主要为酸、醛、酮等小分子物质,其机制主要为光氧化反应。

利用 γ 射线、⁶⁰Co辐照降解AFB₁主要应用在水、甲醇-水以及花生粕体系中,其降解机制遵循自由基反应机制,即AFB₁母核分子不同位置发生加成、重排、消去、取代等反应,产生很多降解产物^[4-5],此外,降解产物还受辐照剂量、AFB₁初始浓度、辐照时间等因素的影响。王峰^[4]利用 γ 射线辐照水、甲醇-水以及花生粕3种体系中的AFB₁,结果发现,3种体系中AFB₁的降解产物并不完全一致,通过对3种体系中AFB₁降解产物的含量比较后认为,水产生的自由基可能是AFB₁降解反应的主要因素,其降解机制可能是AFB₁呋喃环上左侧双键发生加成反应,有一OH和H的加成,且其苯环侧链的甲氧基被羟基取代。

电子束在AFB₁降解中的降解行为、降解产物及降解路径,与其所处基质、辐照强度等密切相关。AFB₁在水体系中经电子束辐照后,降解产物有C₁₆H₁₂O₇、C₁₆H₁₆O₆、C₁₇H₁₄O₈、C₁₅H₁₂O₆、C₁₇H₁₂O₇5种^[7],而在花生粕体系中,AFB₁迅速发生氧化反应,断裂为一些不具有紫外吸收信号的酸、醛、酮类等小分子物质^[7]。

微波降解AFB₁的产物与微波加热功率、温度、时间以及样品中水分含量、食品介电性能和密度等因素密切相关。对于微波降解AFB₁的机制,有两种观点^[8]:第一种是热效应,即微波热效应产生的

高温是 AFB₁ 降解的关键;第二种是非热效应,即极性分子吸收微波能量后,增加分子间有效碰撞频率,促进了化学反应的进行。王周利等^[9]使用液质联用技术分析微波处理 AFB₁ 水溶液中的降解产物,结果发现,其主要降解产物的质荷比(*m/z*)为 286,并推测可能是 AFB₁ 的 C8 - C9 位呋喃环双键发生环氧化反应失去—C₂H₂ 形成了 2,3 - 环氧化物。



注:MW 为相对分子质量

图 2 水辅助微波降解 AFB₁ 的路径

此外,热处理技术^[11]、吸附技术^[12](防霉剂、蒙脱土、活性炭、铝硅酸盐类、纳米合成材料等)也用于 AFB₁ 降解的研究,但对其降解产物的报道较少。物理降解技术以及基质不同,其 AFB₁ 降解产物不同,常见物理降解技术下可能的降解产物见表 1。

表 1 物理降解技术下可能的降解产物

降解技术	基质	可能的产物	参考文献
微波	米蛋白	<i>m/z</i> 319.081 3, 341.055 9, 283.061 0, 301.063 4, 347.076 2	[12]
微波	AFB ₁ 水溶液	C ₁₅ H ₁₃ O ₅ , C ₁₆ H ₁₇ O ₆ , C ₁₆ H ₁₅ O ₅ , C ₁₂ H ₁₃ O ₄ , C ₁₃ H ₁₃ O ₅ , C ₁₃ H ₁₁ O ₅	[10]
电子束	AFB ₁ 水溶液	C ₁₆ H ₁₂ O ₇ , C ₁₆ H ₁₆ O ₆ , C ₁₇ H ₁₄ O ₈ , C ₁₅ H ₁₂ O ₆ , C ₁₇ H ₁₂ O ₇	[7]
γ 射线	AFB ₁ 水溶液	C ₁₇ H ₁₄ O ₇ , C ₁₇ H ₁₂ O ₇ , C ₁₆ H ₁₂ O ₇ , C ₁₆ H ₁₀ O ₆	[4]
γ 射线	AFB ₁ 甲醇 - 水溶液	C ₁₇ H ₁₄ O ₇ , C ₁₆ H ₁₀ O ₅ , C ₁₄ H ₁₀ O ₆ , C ₁₈ H ₁₆ O ₈ , C ₁₆ H ₁₄ O ₇ , C ₁₇ H ₁₄ O ₈ , C ₁₇ H ₁₄ O ₈	[4]
γ 射线	花生粕	C ₁₆ H ₁₄ O ₇ , C ₁₇ H ₁₄ O ₇	[4]

张耀磊^[10]利用 UHPLC - Q - Orbitrap 技术研究水辅助微波降解 AFB₁ 的产物,发现其主要的降解产物有 C₁₅H₁₂O₅、C₁₆H₁₆O₆、C₁₆H₁₄O₅、C₁₂H₁₂O₄、C₁₃H₁₂O₅、C₁₃H₁₀O₅, 结合分子式、二级碎片信息,推测 AFB₁ 的降解机制主要是其内酯环和呋喃环的水解,如图 2 所示。

续表 1

降解技术	基质	可能的产物	参考文献
紫外光	AFB ₁ 乙腈溶液	C ₁₄ H ₁₀ O ₆ , C ₁₇ H ₁₄ O ₆ , C ₁₆ H ₁₂ O ₅	[6]
紫外光	AFB ₁ 水溶液	C ₁₇ H ₁₄ O ₇ , C ₁₆ H ₁₄ O ₆ , C ₁₆ H ₁₂ O ₇	[6]
紫外光	花生油	C ₁₈ H ₃₃ N ₃ O ₃ , C ₁₂ H ₂₂ N ₂ O ₂	[13]
紫外光	AFB ₁ 甲醇溶液	C ₁₇ H ₁₄ O ₆ , C ₁₄ H ₁₀ O ₆	[14]

1.2 安全性评价

目前物理降解技术安全性评价主要从食品品质、毒理试验两方面着手,研究基质主要是花生油、花生以及花生粕。花生油经紫外光照射脱毒后,其酸值^[6,13]、碘值^[6,13]、维生素 E 含量^[6]、反式脂肪酸含量^[6]、总酚含量^[13]、不饱和脂肪酸含量^[13]均无显著变化,过氧化值略有升高^[6,13]。经紫外光照射脱毒后的花生油,在储存期间(160 d)其各项品质较为稳定,说明紫外光照射处理对花生油品质基本无影响^[13]。在毒理试验方面,Ames 试验表明,紫外光辐照处理后的花生油能显著减少鼠伤寒沙门氏菌(TA98、TA100 和 TA102)菌株的致突变性^[15-16]。此外,HepG2 细胞活性试验表明,紫外光照射后花生油对细胞活性毒性显著降低,但仍保留一定的弱

毒性^[6,13,15]。微波^[16]、⁶⁰Co 辐照^[16]和吸附^[17]脱毒对花生油品质的影响和毒理安全性的研究结果与紫外光照射脱毒的类似。

物理降解技术对食品品质的影响以及毒理安全

性的评价,因食品基质不同研究结论也不同,总体上对食品品质没有显著影响,经降解后细胞毒性明显降低。有关物理降解技术下食品安全性评价的其他研究结果总结如表2所示。

表2 物理降解技术下的食品安全性评价

降解技术	基质	品质影响	毒理影响	参考文献
微波	玉米	玉米发生褐变,霉菌被大量杀灭,体外消化性增加,过氧化值、抗性淀粉含量、玉米粉的热糊稳定性和冷糊稳定性呈增加趋势		[10]
微波	花生油	酸值、碘值、过氧化值、维生素 E 含量和反式脂肪酸含量无显著变化	Ames 试验无致突变性	[16]
电子束	花生粕	还原糖、总黄酮、棕榈酸、亚油酸、油酸含量升高,花生酸含量降低,粗脂肪、粗蛋白质、氨基酸总量、总糖和灰分含量无明显变化	Ames 试验阴性, HepG2 试验细胞毒性大幅降低	[7]
⁶⁰ Co 辐照	花生油	酸值、碘值、过氧化值、维生素 E 含量和反式脂肪酸含量无显著变化		[16]
吸附(改性蒙脱土)	花生油	亮度值、过氧化值升高,酸值降低,不饱和脂肪酸(油酸、亚油酸、亚麻酸、花生一烯酸)无明显变化	Ames 试验无致突变性, HepG2 试验细胞毒性显著降低	[17]
吸附(改性蒙脱土)		过氧化值升高,油酸、亚油酸、亚麻酸、花生酸、花生一烯酸含量和酸值降低	Ames 试验无致突变性, HepG2 试验细胞毒性显著降低	[18]
紫外光	AFB ₁ 水溶液		Ames 试验致突变性大幅降低, HepG2 试验细胞毒性显著降低	[6]
紫外光	花生油	过氧化值升高,酸值、碘值、羰基值和反式脂肪酸含量无明显变化	Ames 试验无致突变性, HepG2 试验细胞毒性显著降低	[6]
紫外光	花生油	酸值、碘值、过氧化值、总酚含量、氧化稳定性无明显变化	降解产物对细胞基本不产生毒性作用	[13]
紫外光	花生油	亮度值、酸值、过氧化值升高,油酸、亚油酸、亚麻酸和花生一烯酸含量降低	Ames 试验无致突变性, HepG2 试验细胞毒性显著降低	[15]
挤压膨化	AFB ₁ 甲醇溶液		HepG2 试验细胞毒性显著降低	[11]

物理降解技术是目前的研究热点之一,光降解、辐照等技术已被广泛研究,新型降解技术也在兴起,物理降解法较适合大规模应用,其不足之处有:微波、脉冲电场、低温等离子体等技术仍处于研发阶段,作用机制的研究仍不明确,无法确保该技术的安全性及可靠性;处理量小、成本高,难以满足实际应用的需求。

2 化学降解技术下的降解产物及安全性评价

2.1 降解产物

化学降解技术是通过碱处理、氧化处理、酸处理等方法使 AFB₁ 结构中的内酯环打开形成盐,或者与 AFB₁ 发生化学反应,破坏其化学结构,从而降低或消除其毒性^[5]。目前有亚硫酸氢钠等酸处理方式,氨化法、氢氧化钠法、石灰碱化湿磨法等碱处理方法,二氧化氯、臭氧、辉光放电等离子体、低温等离子体、次氯酸钠、过氧化氢等氧化处理手段。目前报道的化学降解技术下的降解产物见表3。

表3 化学降解技术下的降解产物

降解技术	基质	可能的产物	参考文献
臭氧	AFB ₁ 乙腈溶液	C ₁₇ H ₁₄ O ₁₀ , C ₁₇ H ₁₂ O ₉ , C ₁₆ H ₁₂ O ₈ , C ₁₆ H ₁₀ O ₈ , C ₁₈ H ₁₆ O ₁₀ , C ₁₅ H ₁₀ O ₅ , C ₁₅ H ₁₀ O ₆ , C ₁₆ H ₁₀ O ₇ , C ₁₆ H ₁₀ O ₆ , C ₁₇ H ₁₂ O ₈ , C ₁₉ H ₁₅ NO ₉ , C ₁₇ H ₁₂ O ₉ , C ₁₇ H ₁₂ O ₆	[19]
臭氧	AFB ₁ 甲醇溶液	C ₁₆ H ₁₆ O ₆ , C ₁₇ H ₁₄ O ₇ , C ₁₆ H ₁₄ O ₅ , C ₁₅ H ₁₄ O ₅	[20]
臭氧	AFB ₁ 甲醇溶液	C ₁₇ H ₁₁ O ₇ , C ₁₇ H ₂₃ O ₉ , C ₁₆ H ₁₃ O ₇ , C ₁₆ H ₁₇ O ₆ , C ₁₇ H ₁₅ O ₈ , C ₁₆ H ₁₅ O ₇	[20]
臭氧	花生粕	3个产物分子碎片的 m/z 分别为 240.20, 198.00, 287.10, 299.10, 278.10, 292.10	[21]
氢氧化钠	AFB ₁ 甲醇溶液	C ₁₂ H ₁₁ O ₂ K(m/z 226.9533)	[22]
亚硫酸氢钠	AFB ₁ 甲醇溶液	C ₁₆ H ₁₃ O ₅ (m/z 284.9018)	[22]
过氧化氢	AFB ₁ 甲醇溶液	C ₁₄ H ₉ O ₄ (m/z 240.9184)	[22]

续表 3

降解技术	基质	可能的产物	参考文献
二乙烯三胺	花生粕	$C_{20}H_{23}N_3O_3$, $C_{21}H_{25}N_3O_6$, $C_{25}H_{36}N_6O_5$	[23]
低温射频等离子体	AFB ₁ 乙腈溶液	$C_{18}H_{10}O_7$, $C_{17}H_{14}O_5$, $C_9H_{16}O_2$, $C_{17}H_{12}O_6$	[24]
柠檬酸 + 碘混合液	AFB ₁ 乙腈溶液	$C_{17}H_{13}O_7$, $C_{17}H_{14}O_7$, $C_{17}H_{15}O_8$	[25]
光催化降解	AFB ₁ 水溶液	$C_{17}H_{13}O_7$, $C_{17}H_{15}O_8$, $C_{16}H_{13}O_8$, $C_{16}H_{11}O_8$, $C_{14}H_{11}O_6$, $C_{16}H_{11}O_6$, $C_{16}H_{13}O_7$	[26]
光催化降解	花生油	$C_{12}H_{22}N_2O_2$, $C_{15}H_{14}O_5$, $C_{17}H_{17}O_7$, $C_{16}H_{14}O_5$, $C_{12}H_{11}O_4$	[27]

碱法脱毒是目前应用较多的脱毒方式之一,其脱毒机制是 AFB₁ 在碱性条件下内酯环被破坏,生成溶于水的香豆素盐,随皂脚一起被脱除^[28]。王梦璐等^[23]采用二乙烯三胺(强碱性)对花生粕中 AFB₁ 进行降解,结果发现 AFB₁ 毒性位点 2 和毒性位点 3 均被破坏。

臭氧降解 AFB₁ 的机制主要有 3 条路径^[19-20]: ①按照 Criegee 反应路径,臭氧作用于毒性位点 1 呋喃环的 C8 - C9 位双键,形成 AFB₁ 的环三氧化物、醇、醛或羧基化合物;②臭氧作用于毒性位点 2 的内酯环上的羰基;③臭氧作用于 AFB₁ 分子中苯环上的甲氧基,失去甲基,形成羟基。

光催化降解真菌毒素是目前研究的热点之一,它是一类具有光功能性质的半导体材料,在光照的作用下作为催化剂吸收光能产生电子和空穴对,电子与水或者氧反应,转化为强氧化能力的活性自由基(超氧自由基和羟自由基),参与有机物的氧化反应,从而破坏有机物的结构,最终实现矿化^[27,29],其降解方式比较彻底。目前光催化材料有二氧化钛、活性炭/TiO₂ 的复合光催化剂、WO₃/RGO/g - C₃N₄ 三元催化剂、石墨相氮化碳光催化剂等。在光催化降解真菌毒素的研究中,其降解效果受反应条件(溶液体系 pH、氧浓度)、辐射光源、光催化剂(材料种类、比表面积等)等因素的影响。刘亚杰^[27]利用 UPLC - Q - Orbitrap MS/MS 研究基于氮化碳的可见光催化降解 AFB₁ 的作用及其机制,推测降解产物有 A(C₁₂H₂₂N₂O₂)、B(C₁₅H₁₄O₅)、C(C₁₇H₁₇O₇)、D(C₁₆H₁₄O₅)、E(C₁₂H₁₁O₄),其降解途径有 3 条: ①AFB₁ 的内酯环脱去羰基生成产物 D,产物 D 通过加成反应和取代反应使 AFB₁ 上的一OH 被 CN/GO/SA 光催化剂表面的一NH₂ 取代,再通过加成反应和一系列复杂反应生成产物 A;②AFB₁ 中呋喃环

的双键与 H₂O 发生加成反应生成产物 C,可能是光反应过程中自由基(·OH)起到了一定的作用,其是反应中间体,产物 C 通过一系列自由基反应进一步打开呋喃环,发生甲氧基(-OCH₃)消除反应生成产物 B,产物 B 通过自由基反应和光加成反应亦可形成产物 E;③AFB₁ 苯环左侧解聚,并脱除甲氧基后形成产物 E。

2.2 安全性评价

化学降解技术对食品安全的影响亦是从食品品质以及毒理试验两方面着手。目前研究最多的基质是花生油、花生、玉米以及纯溶剂体系。花生油经臭氧处理后,其色泽、酸值、碘值均没有明显变化,过氧化值明显升高^[30]。其他学者^[31]在研究低温射频等离子体对花生油品质影响时也得出类似结论。对于花生基质,刁恩杰^[19]研究发现花生的品质变化与臭氧处理时间、处理方式(湿法或干法)有关,干法处理使花生红衣色泽变黑,湿法处理则使花生红衣色泽变淡。山长坡^[32]也发现臭氧(相对湿度 50% 和 100%)会使花生亮度值增加,但酸值和过氧化值显著升高,其研究二氧化氯对花生品质的影响也得出类似的结论。

对于毒理安全性评价,罗小虎^[20]、山长坡^[32]、姬宁^[33]等的研究结果高度相似,即 Ames 试验表明 AFB₁ 降解后的样品可显著减少鼠伤寒沙门氏菌 TA98、TA102、TA97 和 TA100 菌株的致突变性,HepG2 细胞试验表明降解后的样品能显著降低细胞毒性,但仍存在弱毒性。

此外,也有小鼠体内毒性试验的报道。张芳^[21]以臭氧降解花生粕中的 AFB₁,再以处理后的花生粕喂养小鼠,结果表明,小鼠的主要脏器指数、血液常规指标及生化指标等与空白组小鼠相比均无明显差异,表明臭氧处理对小鼠脏器无损害。刁恩杰^[19]用臭氧处理后的花生喂养大鼠,结果发现,大鼠血清中总蛋白、白蛋白含量和总超氧化物歧化酶活性显著升高,血糖、尿素氮、总胆固醇、甘油三酯、丙二醛含量和谷丙转氨酶活性显著降低,病理切片显示肝脏和肾脏有轻微脂肪增多和空泡变性,未见其他组织病理变化,表明臭氧处理对大鼠无毒性作用。罗小虎^[20]采用经臭氧处理后的玉米进行昆明小鼠体内毒性试验也得出类似结论。化学降解技术对食品安全性评价见表 4。

目前,化学降解技术的研究亦比较常见,但其存在的问题有:食品感官品质变差,营养成分损失或破坏;易引入新的化学残留,影响食物安全;若大规模应用于食品工业,如何彻底除去残留物还需加强研

究。光降解作为新的化学脱毒技术,是目前脱毒效果最好的技术之一,其存在的问题有:材料的安全性选择,避免选用重金属和高毒性的有机化合物;需要合理选择光源种类和光催化剂量,目前大部分应用

都停留在紫外光波段;降解产物的结构与毒性以及光催化机制需要进一步研究,确保真菌毒素被有效降解且产物安全;还需全面评估光降解对营养价值的影响^[34]。

表4 化学降解技术下的食品安全性评价

降解技术	基质	品质影响	毒理影响	参考文献
碱法脱毒	花生油	亮度值显著增加,酸值降低,过氧化值增加,不饱和和脂肪酸含量无显著变化	Ames 试验无致突变性, HepG2 试验细胞毒性显著降低,还存在弱毒性	[33]
臭氧	玉米	水分含量下降,脂肪酸值升高,色泽、黏度和糊化性能改变	HepG2 试验细胞毒性显著降低,小鼠体内毒性试验表明处理后对脏器无损害	[20]
臭氧	玉米油	色泽变浅,酸值和过氧化值呈升高趋势		[35]
臭氧	花生油	酸值、碘值均没有明显变化,过氧化值明显升高		[30]
臭氧	玉米蛋白粉	粗蛋白质含量下降,粗灰分含量上升		[30]
臭氧	花生粕		小鼠体内毒性试验表明处理对小鼠脏器无损害, Ames 试验结果为阴性	[21]
臭氧	花生	酸值、过氧化值显著升高	Ames 试验和 HepG2 试验有弱致突变性和弱毒性	[32]
二氧化氯	花生	对酸值和过氧化值影响较小	Ames 试验有弱致突变性	[32]
微波辅助碱法	花生	酸值和过氧化值显著升高	Ames 试验有弱致突变性	[32]
低温放电等离子体	巴旦木	酸值、过氧化值、皂化值、单宁含量、蛋白质含量、色泽无明显变化,水分含量随处理时间延长而降低		[36]
光催化降解	花生油	酸值、过氧化值显著增加,碘值、脂肪酸无显著变化		[29]

3 生物降解技术下的降解产物及安全性评价

3.1 降解产物

生物降解技术是指采用微生物或酶制剂手段进行 AFB₁ 的降解,其降解 AFB₁ 的关键是生物菌株分泌的降解酶菌液、分泌的胞外酶、发酵液等,目前报道较多的脱毒菌株主要有芽孢杆菌、假单胞菌、乳酸菌等。不同的菌株或其发酵液、分泌的酶,会产生不同的降解产物。孙莹^[37]将锰过氧化物酶在食品级乳酸克鲁维酵母中表达,构建了3种重组菌,发现其发酵液对 AFB₁ 的降解率在 35.55% ~ 50.52%,推测重组菌 GG799 发酵液降解 AFB₁ 的产物为 C₁₇H₁₄O₈,证实了锰过氧化物酶能够裂解 AFB₁ 呋喃环上的 C8 - C9 位双键,将 AFB₁ 氧化生成 AFB₁ - 8, 9 环氧化物,然后自发水解为 AFB₁ - 8, 9 - 二氢二醇,从而达到对 AFB₁ 降解脱毒的目的。

许艳华等^[38]从铜绿假单胞菌 M4 的发酵上清液中分离纯化出 AFB₁ 降解酶并将其应用到 AFB₁ 的降解中,结果发现,降解后的样品具有微弱荧光,并出现了新的荧光点,推测降解产物为 C₁₁H₁₀O₄,分

析认为可能是呋喃环上的 C8 - C9 位双键被破坏,以及苯环上的甲氧基团和环戊烯酮发生断裂生成的。

唐璎等^[39-40]利用液相色谱串联三重四级杆质谱联用仪及核磁共振氢谱技术研究枯草芽孢杆菌 WTX1 对 AFB₁ 的降解产物,结果发现,降解产物为 C₃H₄ (*m/z* 40.031 3)、C₆H₆ (*m/z* 78.046 9)、C₇H₈O₂ (*m/z* 78.046 9)、C₈H₆O₂ (*m/z* 134.036 77)、C₁₁H₁₀O₄ (*m/z* 206.057 909),产物结构中不存在呋喃环双键、香兰素内酯环和戊烯酮环结构。推测其降解途径为^[41]:①将 AFB₁ 结构中毒性位点 2 的香兰素内酯环和毒性位点 3 的戊烯酮环结构裂解,同时将毒性位点 1 的呋喃环结构破坏,形成产物 C₁₁H₁₀O₄;②将产物 C₁₁H₁₀O₄ 中苯环和—C=C—O—链断开,形成产物 C₈H₆O₂ 和 C₇H₈O₂。

田尔诺^[41]利用夏孢生枝孢发酵上清液降解 AFB₁,分析推测降解产物为 C₁₉H₁₈O₁₀ 和 C₁₈H₁₄O₇,并认为主要是 AFB₁ 呋喃环双键被破坏。不同微生物对 AFB₁ 降解研究情况如表 5 所示。

表5 部分微生物对 AFB₁ 的降解研究情况

微生物菌	降解成分	降解率/%	降解机制	参考文献
布氏乳杆菌 L34-2	发酵上清液	87.5	菌体及胞外多糖对 AFB ₁ 的吸附	[42]
乳酸克鲁维酵母 GG799	发酵液	50.52	呋喃环双键被破坏	[37]
铜绿假单胞菌 M4	发酵上清液	76.67	内酯环被破坏	[38]
铜绿假单胞菌 M19	降解酶		内酯环被破坏	[43-44]
枯草芽孢杆菌属菌株 WTX1	发酵上清液	>83.5	破坏 AFB ₁ 的呋喃环双键及内酯环结构	[39-40]
枯草芽孢杆菌 Q125	发酵上清液	100		[45]
地衣芽孢杆菌 HB022	发酵液	91.13	生物降解,非菌体吸附	[46]
嗜盐四联球菌	上清液	70.11		[47]
中国被毛孢 8#	培养液、菌丝体悬液	99.90	呋喃环双键被破坏	[48]
热微菌 GRM1、嗜热淀粉芽孢杆菌、苍白空气芽孢杆菌等的微生物聚生体	胞外酶粗提液	91.2		[49]
浑浊红球菌 PD630	发酵上清液	93.04	可能是内酯环被破坏	[50]

综上所述,生物技术降解 AFB₁ 的机制主要有 3 种:①微生物分泌的胞内酶、胞外酶等作用于 AFB₁ 的毒性位点 2 和毒性位点 3,打开内酯环,从而达到脱毒的目的;②酶本身具有较高的氧化还原电位,可作用于 AFB₁ 的毒性位点 1 形成氧化物后,再水解,从而达到一定的降解效果;③吸附作用。

3.2 安全性评价

由于目前生物法降解 AFB₁ 的研究主要是在纯溶剂体系,对其他基质如花生油、花生粕、玉米及其他食品基质中的研究较少,故安全性评价方面的报道较少。朱立飞等^[51]研究食用菌白芝发酵花生粕降解 AFB₁ 对花生粕品质的影响,结果表明,发酵后花生粕中 AFB₁ 含量和植酸含量显著下降(下降率分别为 90.7%、67.39%),而蛋白质、总糖和必需氨基酸含量升高,说明发酵后花生粕的营养价值提高。王佳兴等^[44]研究发现,经铜绿假单胞菌 M19 降解 AFB₁ 后,降解产物对鼠伤寒沙门氏菌 TA98、TA100 无致突变性, HepG2 细胞毒性试验也证实了 AFB₁ 降解产物作用于细胞的存活率均达到 83% 以上,说明细胞毒性明显降低。唐璎等^[40]以枯草芽孢杆菌 WTX1 降解 AFB₁ 后进行毒理试验,也得出降解产物无致突变性和细胞毒性的结论。田尔诺^[41]研究发现,夏孢生枝孢发酵上清液降解 AFB₁ 的降解产物处理的细胞没有出现坏死和核固缩现象,表明其毒性降低。

生物降解技术具有性质温和、不造成食品中营养成分大量损失且绿色环保等优点^[52],研究较多,其缺点是:微生物法降解方式有吸附和降解两种,吸附作用脱毒则 AFB₁ 仍可在体内发生解吸,对身体造成伤害;生物菌种要经过培养、筛选、分离、发酵、纯化等烦琐的工艺,且微生物菌株产生的脱毒酶,存

在量少且酶活不稳定,大多数降解效率不高,成本高,目前主要在实验室研究阶段;目前实验室研究主要是 AFB₁ 的纯溶剂体系中的研究,在食品基质的研究较少,离大规模应用在食品工业、农业生产等领域还有比较长的路要走。

4 展望

黄曲霉毒素 B₁ 的降解技术虽然有些还停留在实验室阶段,但对整个食品行业,特别是粮油行业黄曲霉毒素的降解或脱毒具有特别重要的影响,若能大规模应用于粮油行业的加工、保存或储藏环节,能显著减少对人体的伤害和减少经济损失。在今后的研究中,寻找新型纳米材料发展光降解技术、或各种技术联合使用、或利用基因工程联合酶法脱毒等新型技术,将是研究热点之一。其次,更深入地研究降解机制、降解产物、降解路径以及降解产物的安全性,将是今后的研究热点与重点。此外,采用不同降解技术尤其是生物降解技术在食品中应用的法规许可性,也应引起监管部门的关注。

参考文献:

- [1] 王雪,王盾,张奇,等. 农产品中黄曲霉毒素绿色脱毒技术研究进展[J]. 安徽农业科学, 2022, 50(8): 7-11.
- [2] 娄海伟,杨创明,赵玉,等. 产漆酶食用菌的筛选及食用菌漆酶降解黄曲霉毒素 B₁ 的研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(1): 392-403.
- [3] 连胜青,钱鑫,刘楚岑,等. 微生物法针对毒性位点降解黄曲霉毒素 B₁ 的研究进展[J]. 食品与机械, 2023, 39(3): 226-232.
- [4] 王锋. 黄曲霉毒素 B₁ 的辐射降解机理及产物结构特性分析[D]. 北京:中国农业科学院,2012.
- [5] 莫紫梅,袁光蔚,陈宁周,等. 黄曲霉毒素降解技术及其降解产物研究进展[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(2): 188-193.

- [6] 刘睿杰. 黄曲霉毒素 B₁ 在不同介质中紫外降解机理及安全性评价[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2011.
- [7] 王瑞琦. 电子束加速去除花生粕中黄曲霉毒素 B₁ 的研究[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2014.
- [8] 张耀磊, 李萌萌, 关二旗, 等. 微波降解黄曲霉毒素 B₁ 研究进展[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2020, 41(5): 129 - 136.
- [9] 王周利, 王玉堂, 刘学波, 等. 玉米粉中黄曲霉毒素 B₁ 微波降解技术[J]. 农业机械学报, 2013, 44(12): 193 - 197.
- [10] 张耀磊. 玉米中黄曲霉毒素 B₁ 的水辅助微波降解及其产物解析[D]. 郑州: 河南工业大学, 2022.
- [11] 郑海燕. 挤压降解黄曲霉毒素 B₁ 及作用机理研究[D]. 陕西 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
- [12] 王勇. 黄曲霉毒素 B₁ 污染稻米的微波、吸附消减技术研究[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2014.
- [13] 贺冰. 花生油中黄曲霉毒素 B₁ 紫外光降解及其安全性评价[D]. 北京: 中国农业科学院, 2016.
- [14] 陈冉. 花生中黄曲霉毒素降解技术研究[D]. 武汉: 中国农业科学院, 2013.
- [15] 沈祥震. 花生油中黄曲霉毒素 B₁ 紫外降解及安全性评价[D]. 山东 泰安: 山东农业大学, 2014.
- [16] 王辰龙. 花生油中黄曲霉毒素 B₁ 的降解及其安全性评价[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2014.
- [17] 孙思远. 蒙脱土有机改性及对花生油中黄曲霉毒素 B₁ 吸附研究[D]. 山东 泰安: 山东农业大学, 2017.
- [18] 马文文. 有机改性蒙脱土吸附脱除花生油中黄曲霉毒素 B₁ 及其安全性评价[D]. 山东 泰安: 山东农业大学, 2016.
- [19] 刁恩杰. 花生中黄曲霉毒素 B₁ 臭氧降解及安全性评价[D]. 山东 泰安: 山东农业大学, 2015.
- [20] 罗小虎. 臭氧对玉米中黄曲霉毒素 B₁ 的降解效果及降解产物安全性评价[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2014.
- [21] 张芳. 真菌毒素臭氧降解及其他脱毒方法研究[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2014.
- [22] 郑燕. 基于 LC-MS 分析食品中的黄曲霉毒素及其降解产物[D]. 南昌: 南昌大学, 2011.
- [23] 王梦璐, 贺军波, 张海龙, 等. 二乙烯三胺脱除花生粕中黄曲霉毒素 B₁ 的工艺优化及机制研究[J]. 中国油脂, 2023, 48(8): 110 - 114.
- [24] 张岩, 王安妮, 肖军霞, 等. 低温射频等离子体降解乙腈中黄曲霉毒素 B₁ 的效果与途径分析[J]. 中国粮油学报, 2015, 30(2): 80 - 85, 91.
- [25] 蹇洁. 面食加工常用的酶制剂、柠檬酸对黄曲霉毒素 B₁ 及呕吐毒素的降解影响研究及应用[D]. 南昌: 南昌大学, 2021.
- [26] ZHANG Y, SUN Y, MAN Y, et al. Construction of a controllable and dispersed Fe₃O₄ - based catalyst using ZIFs as a spatial support for highly catalytic degradation of aflatoxin B₁ [J/OL]. Appl Catal B Environ, 2022, 318: 121818[2023 - 06 - 21]. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2022>.
- [27] 刘亚杰. 基于氮化碳的可见光催化降解 AFB₁ 作用及其机理研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2022.
- [28] 刘阳. 真菌毒素加工脱毒技术研究[M]. 北京: 科学出版社, 2018.
- [29] 施晶晶, 刘宽博, 王永伟, 等. 光催化技术降解粮油中真菌毒素的研究进展[J]. 粮油食品科技, 2021, 29(2): 66 - 70.
- [30] 李超. 臭氧处理粮油制品中真菌毒素及对品质影响的研究[D]. 江苏 镇江: 江苏科技大学, 2020.
- [31] 刘真, 王世清, 肖军霞, 等. 等离子体处理对花生油品质的影响[J]. 现代食品科技, 2016, 32(9): 203 - 208.
- [32] 山长坡. 化学法脱除花生中黄曲霉毒素及其品质的影响[D]. 山东 泰安: 山东农业大学, 2013.
- [33] 姬宁. 花生油中黄曲霉毒素 B₁ 碱炼脱毒及安全性评价[D]. 山东 泰安: 山东农业大学, 2015.
- [34] PANKAJ S K, SHI H, KEENER K M. A review of novel physical and chemical decontamination technologies for aflatoxin in food [J]. Trends Food Sci Technol, 2018, 71: 73 - 83.
- [35] 刘玉兰, 郑婷婷, 马宇翔, 等. 臭氧熏蒸对玉米胚中真菌毒素的降解消除作用[J]. 食品科学, 2022, 43(3): 77 - 82.
- [36] 张文乐, 张绍君, 李圣杰, 等. 低温放电等离子体处理对黄曲霉毒素 B₁ 的降解效果及对巴旦木仁品质的影响研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(23): 7685 - 7691.
- [37] 孙莹. 锰过氧化物酶的酵母异源表达及其降解黄曲霉毒素研究[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2020.
- [38] 许艳华, 董慧燕, 娄海伟, 等. 铜绿假单胞菌中黄曲霉毒素 B₁ 降解酶的纯化及其降解产物解析[J]. 中国粮油学报, 2023, 38(8): 33 - 40.
- [39] 唐瓔, 邓展瑞, 黄佳, 等. 黄曲霉毒素 B₁ 降解菌株的鉴定及降解产物研究[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(7): 64 - 70.
- [40] 唐瓔, 黄佳, 邓展瑞, 等. 一株枯草芽孢杆菌降解黄曲霉毒素 B₁ 产物分析[J]. 生物技术通报, 2021, 37(12): 82 - 90.
- [41] 田尔诺. 黄曲霉毒素 B₁ 降解酶及其降解机制研究[D]. 武汉: 湖北工业大学, 2018.
- [42] 王俊丽, 陈春喜, 邓展瑞. 布氏乳杆菌 L34 - 2 对黄曲霉毒素脱毒条件优化[J]. 食品安全导刊, 2022(25): 144 - 147.
- [43] 王佳兴, 谢岩黎, 宋娟娟, 等. 铜绿假单胞菌 M19 降解黄曲霉毒素 B₁ 的产物研究[J]. 粮油食品科技, 2020, 28(5): 1 - 5.

- [J]. *Plant Foods Hum Nutr*, 2016, 71(4): 402–409.
- [10] SÁNCHEZ – GONZÁLEZ C, CIUDAD C J, NOÉ V, et al. Health benefits of walnut polyphenols: An exploration beyond their lipid profile [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2017, 57(16): 3373–3383.
- [11] LEE J, KIM Y S, LEE J, et al. Walnut phenolic extract and its bioactive compounds suppress colon cancer cell growth by regulating colon cancer stemness [J/OL]. *Nutrients*, 2016, 8(7): 439[2023–05–19]. <https://doi.org/10.3390/nu8070439>.
- [12] MA Y, WANG C, LIU C, et al. Physicochemical responses of the kernel quality, total phenols and antioxidant enzymes of walnut in different forms to the low – temperature storage [J/OL]. *Foods*, 2021, 10(9): 2027[2023–05–19]. <https://doi.org/10.3390/foods10092027>.
- [13] 颜敏华, 陈柏, 吴小华, 等. 鲜核桃保鲜研究现状及思路调整建议[J]. *甘肃农业科技*, 2020(4): 68–71.
- [14] 巩芳娥, 虎云青, 徐丽, 等. ‘温 185’脱青皮鲜核桃低温冷冻保鲜效果研究[J]. *中国油脂*, 2023, 48(12): 142–146.
- [15] 李慧芸, 李蒙蒙, 余琼, 等. 纳他霉素结合壳聚糖保鲜对鲜食核桃霉变及采后生理的影响[J]. *农产品加工*, 2019(1): 23–26.
- [16] 张丽萍, 朱旭, 马惠玲. 不同包装处理对鲜食核桃的保鲜效应[J]. *山东农业科学*, 2014, 46(10): 117–119.
- [17] WANG J, LI P, GONG B, et al. Phenol metabolism and preservation of fresh in – hull walnut stored in modified atmosphere packaging [J]. *J Sci Food Agric*, 2017, 97(15): 5335–5342.
- [18] MA Y P, LU X G, LIU X H, et al. Effect of ^{60}Co γ – irradiation doses on nutrients and sensory quality of fresh walnuts during storage [J]. *Postharvest Biol Technol*, 2013, 84: 36–42.
- [19] 陈柏, 颜敏华, 吴小华, 等. 不同冷冻温度对‘清香’去青皮鲜核桃冻藏期间品质的影响[J]. *经济林研究*, 2019, 37(3): 65–72.
- [20] 李建红, 杨全生. 核桃实用技术图解[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 2019: 30–31.
- [21] 巩芳娥, 虎云青, 徐丽, 等. “新新 2 号”去青皮鲜核桃冻藏条件下的品质变化[J]. *保鲜与加工*, 2022, 22(7): 9–13, 20.
- [22] 王进, 蒋柳庆, 马惠玲, 等. ClO_2 和 1 – MCP 对青皮核桃二步贮藏的效应[J]. *中国食品学报*, 2015, 15(3): 137–145.
- [23] CHENG L, SUN D W, ZHU Z, et al. Emerging techniques for assisting and accelerating food freezing processes: A review of recent research progresses [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2017, 57(4): 769–781.
- [24] BONAT CELLI G, GHANEM A, SU – LING BROOKS M. Influence of freezing process and frozen storage on the quality of fruits and fruit products [J]. *Food Rev Int*, 2016, 32(3): 280–304.
- [25] TAPIA M I, SÁNCHEZ – MORGADO J R, GARCÍA – PARRA J, et al. Comparative study of the nutritional and bioactive compounds content of four walnut (*Juglans regia* L.) cultivars [J]. *J Food Compos Anal*, 2013, 31(2): 232–237.
- [26] 王贵芳, 相昆, 穆清泉, 等. 核桃群体核仁脂肪酸组成分析[J]. *山东农业科学*, 2021, 53(2): 7–13.
- [27] JIANG L, FENG W, LI F, et al. Effect of one – methylcyclopropene (1 – MCP) and chlorine dioxide (ClO_2) on preservation of green walnut fruit and kernel traits [J]. *J Food Sci Technol*, 2015, 52(1): 267–275.

(上接第 105 页)

- [44] 王佳兴, 谢岩黎, 宋娟. 细菌 M19 降解黄曲霉毒素 B_1 降解产物的毒性分析 [J]. *中国粮油学报*, 2020, 35(4): 107–112, 126.
- [45] 刘亚楠, 彭丹丹, 王敏, 等. 枯草芽孢杆菌 Q125 降解黄曲霉毒素 B_1 发酵条件优化及活性物质分析 [J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2021, 42(4): 9–15.
- [46] 张文双, 孟宇飞, 胡申才. 黄曲霉毒素 B_1 降解菌的筛选鉴定及发酵条件优化 [J]. *中国酿造*, 2022, 41(8): 143–148.
- [47] 张超, 李玟君, 李玉蝶, 等. 嗜盐四联球菌对黄曲霉毒素 B_1 生物降解的研究 [J]. *中国酿造*, 2022, 41(6): 58–62.
- [48] 滕毅, 李雅佩, 王怡梅, 等. 中国被毛孢降解黄曲霉毒素 B_1 的特性研究 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(12): 3967–3972.
- [49] 蔡运涛. AFB₁ 降解微生物聚生体的筛选及其降解作用的研究 [D]. 四川 雅安: 四川农业大学, 2020.
- [50] 阴佳璐. 浑浊红球菌 PD630 对黄曲霉毒素 B_1 生物降解的研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2020.
- [51] 朱立飞, 曲春娟, 唐月异, 等. 食用菌发酵花生粕降解黄曲霉毒素 B_1 研究 [J]. *花生学报*, 2022, 51(4): 70–79.
- [52] WU Q, JEZKOVA A, YUAN Z, et al. Biological degradation of aflatoxins [J]. *Drug Metab Rev*, 2009, 41(1): 1–7.