

介质阻挡等离子体降解乙腈溶液黄曲霉毒素 B₁ 规律解析

苏迎利¹, 马挺军¹, 魏朝俊^{2,3*}

(¹北京农学院 食品科学与工程学院 北京 102206

²农业农村部都市农业(北方)重点实验室 北京 102206

³北京农学院 生物与资源环境学院 北京 102206)

摘要 目的:花生、玉米及坚果的黄曲霉毒素 B₁ 污染是影响食品质量安全的关键因素,通过等离子体降解黄曲霉毒素 B₁ 来降低污染,并探究降解机理是当前的急迫需求。方法:利用等离子体处理技术,在放电功率 200 W,放电时间 5 s,放电间距 0.4 cm 条件下降解乙腈溶液中的黄曲霉毒素 B₁,采用高效液相色谱-三重四级杆质谱联用仪和高分辨质谱进行分析,以期获得介质阻挡等离子体法降解黄曲霉毒素 B₁ 的产物和路径。结果:分析出 5 种降解产物的分子式及结构式,其降解途径为 Criegee 机理、苯环甲氧基反应和亲核反应机理。在降解率为 35.8% 的情况下,根据 5 种降解产物毒性位点损失的情况,证明介质阻挡等离子体处理之后毒性与降解率一致。结论:本研究为利用介质阻挡等离子体降解花生、玉米和坚果制品中的黄曲霉毒素 B₁ 提供理论参考,后续试验可探讨不同降解率下的产物及反应过程,可通过动物实验或细胞实验进一步探索介质阻挡等离子体降解黄曲霉毒素 B₁ 后的潜在毒性验证。

关键词 黄曲霉毒素 B₁; 介质阻挡等离子体; 高效液相色谱-三重四级杆质谱联用; 降解产物

文章编号 1009-7848(2024)08-0473-13 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2024.08.042

真菌毒素是粮食生长、收获和储藏环节需要高度重视的危害物,如黄曲霉毒素 B₁(Aflatoxin B₁, AFB₁),黄曲霉和寄生曲霉产生的次级代谢产物^[1]。AFB₁ 广泛存在于各种谷物类、油及油料作物、肉、牛奶和果蔬中,具有强烈的致癌、致畸和致突变性^[2-3],我国和欧美国家的一系列标准^[4-5]明确规定了 AFB₁ 在不同种类食品中的限量。为保障食品工业安全,深入研究 AFB₁ 的降解方式和降解理论具有十分重要的意义。

在降解 AFB₁(包括及其类似物)的不同方法中,化学法^[6-10]处理后有不同程度的化学物残留;生物法^[11-13]处理通常需要相对的长周期和相对高的去毒成本,有时还存在二次污染问题。物理法被公认为更具研究价值和前景,等离子体法^[14]、太阳辐射法^[15]、紫外光法^[16-17]和挤压法^[18]等不同物理方法均可应用于 AFB₁ 及其类似物的降解和消减。对比不同物理处理方式的降解效果^[19],等离子体降解 AFB₁ 的效果更为显著^[20-22],Hu 等^[23]使用高压大气等离子体(High voltage atmosphere cold plasma,

HVACP)技术降解黄曲霉毒素粉末 5 min,降解率为 76%,并利用液相色谱-飞行时间质谱(HPLC-TOF-MS)鉴定了 6 种主要降解产物;Nikmaram 等^[24]和 Hojnik 等^[25]探究了 HVACP 技术和射频等离子体技术(Radio frequency, RF)降解 AFB₁ 和 AFB₁ 类似物的机理;苏迎利等^[26]利用介质阻挡等离子体技术(DBD)研究了侵染 AFB₁(AFB₁ 含量为 656 μg/kg)的阿月浑子固体粉末在不同时间的降解效果,降解时间 30 s 的条件下降解率达 93.4%。

等离子设备不同,降解理论和降解机制也有不同^[27-28]。本文是 DBD 技术处理 AFB₁ 污染阿月浑子^[26]的工作的深入,结合液相色谱-三重四级杆质谱联用技术与电喷雾-傅里叶变换-离子回旋共振质谱(FT-ICR-MS)来分析降解产物结构,以期揭示 DBD 的降解路径,进一步丰富 AFB₁ 解毒机理,为 DBD 降解 AFB₁ 的可行性提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黄曲霉毒素 B₁ 1 mg(纯度 ≥ 98%),上海源叶生物科技有限公司;甲醇(色谱纯级)、乙腈(质谱纯级)、甲酸(质谱纯级),美国赛默飞世尔科技公司。

收稿日期: 2023-08-10

基金项目:北京市景观休闲农业创新团队项目(BAIC09-2023)

第一作者:苏迎利,女,硕士生

通信作者:魏朝俊 E-mail: chaojunwei@sina.com

1.2 仪器与设备

DBD 等离子体 (配有 TDGC-0.5kVA 接触调压器), 南京苏曼等离子体科技有限公司; 6470 Triple Quad 高效液相色谱串联三重四级杆质谱仪, 安捷伦科技(中国)有限公司; Apex Ultra 型电喷雾-傅里叶变换-离子回旋共振质谱, 美国布鲁克道尔顿公司。

1.3 方法

1.3.1 等离子体处理溶液中的 AFB₁ 取 0.5 mL 的 AFB₁ 标准工作液(10 mg/L)滴于等离子体介质中心, 控温 60 °C 进行氮气吹干, 再将介质置于等离子体设备中, 选用功率 200 W, 时间 5 s, 放电间距为 0.4 cm 的条件进行处理。等离子体技术处理完毕后, 使用色谱级甲醇对介质附着样品进行洗脱并全部转移至 2 mL 棕色玻璃瓶中, 控温 60 °C 氮气吹干, 1 mL 甲醇重新溶解后, 进行测定。10 mg/L 的 AFB₁ 标准工作液作为空白对照。

1.3.2 高效液相色谱串联三重四级杆质谱仪(HPLC-MS)分析降解产物条件

1.3.2.1 色谱条件 使用 Agilent SBC C18 色谱柱 (2.1 mm×150 nm, 3.5 μm); 流动相: 30% A 相 (0.1% 甲酸-水溶液)-70% B 相 (乙腈) 等度洗脱 15 min, 流速: 0.3 mL/min; 柱温: 35 °C; 进样体积: 5 μL; 运行时间: 15 min。

1.3.2.2 质谱条件 电离方式: 电喷雾正离子模式 (ESI⁺); 雾化器压力: 344.7 kPa; 干燥气温度: 350 °C, 干燥气流速: 5 L/min; 鞘气温度: 350 °C, 鞘气流速: 11 L/min; 毛细管电压: 3 500 V; 离子源温度: 250 °C。扫描模式: MS Scan 模式; 扫描质量范围: 50~1 000 *m/z*; 碰撞诱导解离电压: 135 V; 碰撞能: 25 eV 和 30 eV。

1.3.2.3 数据处理和结构分析 Triple Quad LC/MS 数据均通过 Agilent Mass hunter B.06.00 定量分析软件采集, 对获得数据使用 Agilent Mass hunter B.06.00 定性分析软件进行降解产物预测和分析。

1.3.3 电喷雾-傅里叶变换-离子回旋共振质谱 (FT-ICR-MS) 分析降解产物条件 电离方式: 电喷雾正离子模式 (ESI⁺); 进样流速: 120 μL/h; 雾化气压力: 99.98 kPa; 干燥气温度: 180 °C; 干燥气流速: 4.0 L/min; 毛细管电压: 3 200 V; 偏转电压:

-500 V; 扫描质量范围: 57.75~1 000 *m/z*; 源贮集时间: 0.001 s; 贮集时间: 0.1 s; 飞行时间: 0.4 ms; 扫描次数: 10 次。

2 结果与分析

2.1 等离子体降解 AFB₁ 的总离子流色谱图分析

将 AFB₁ 标液和等量处理 5 s 后的试样在同样液相质谱条件下, 选择全扫 (MS scan) 模式进行对比分析得到图 1a 和图 1b, 分别对应等离子体降解 AFB₁ 前、后的总离子流色谱图 (Total ion chromatography, TIC)。可以明显发现, 后者 (图 1b) 具有更多的化学物质。图 1a 中, 提取总离子流信号中质荷比 313.2 *m/z* (AFB₁ 的 [M+H]⁺) 的离子色谱图 (Elect ion chromatography, EIC), 可得到有且仅有一个信号峰 (出峰时间为 11.22 min) 的提取色谱图, 可以确定该信号峰是 AFB₁ 的信号峰。再提取图 1b 中质荷比 313.2 *m/z* 的离子色谱图, 从而获得标液和试样中 AFB₁ (质荷比为 313.2 *m/z*) 的峰面积数据, 经比较计算发现, AFB₁ 的降解率为 35.8%, 可知经等离子体处理 5 s 后的样品处于未完全降解状态, 推测此时体系应存在降解产物中间体^[29], 图 1b 中 0.6~7.2 min 出现的特征信号也充分证明了这一判断。根据各峰的峰型和分离度, 可以看出各产物间分离效果良好; 根据各峰的保留时间, 推测对应不同的降解产物。通过采取各时间质谱信号分析法进行辨别, 排除理论上不合理的信号峰, 最终确定, 应该至少有 5 个新的色谱峰 (A~E) 产生。

质谱采用正离子全扫模式, 需要根据出现的 [M+H]⁺ 的分子离子峰信号确定目标分析物的分子质量。降解产物 A 的一级质谱中 (图 2), 质荷比 261.0 *m/z* 的质谱信号最为显著, 应为 [M+H]⁺, 伴随分子离子信号峰出现的质荷比 217 *m/z* 和 275 *m/z* 的质谱信号, 符合脱 CO₂ 形成的 [M+H-44]⁺ 质谱信号和甲基化形成的 [M+H+14]⁺ 质谱信号, 质荷比 130 *m/z* 的质谱信号符合碎片信号峰特征。

分子离子峰 [M+H]⁺ 信号如果伴随 [M+Na]⁺ (与 [M+H]⁺ 信号质荷比相差 22 *m/z*) 信号, 理论上更能确定分子质量为 *M* 的化合物存在。降解产物 B 的一级质谱图中 (图 3), 质荷比 319.0 *m/z* 和 341.0 *m/z* 的质谱信号同时存在且质荷比相差 22 *m/z*,

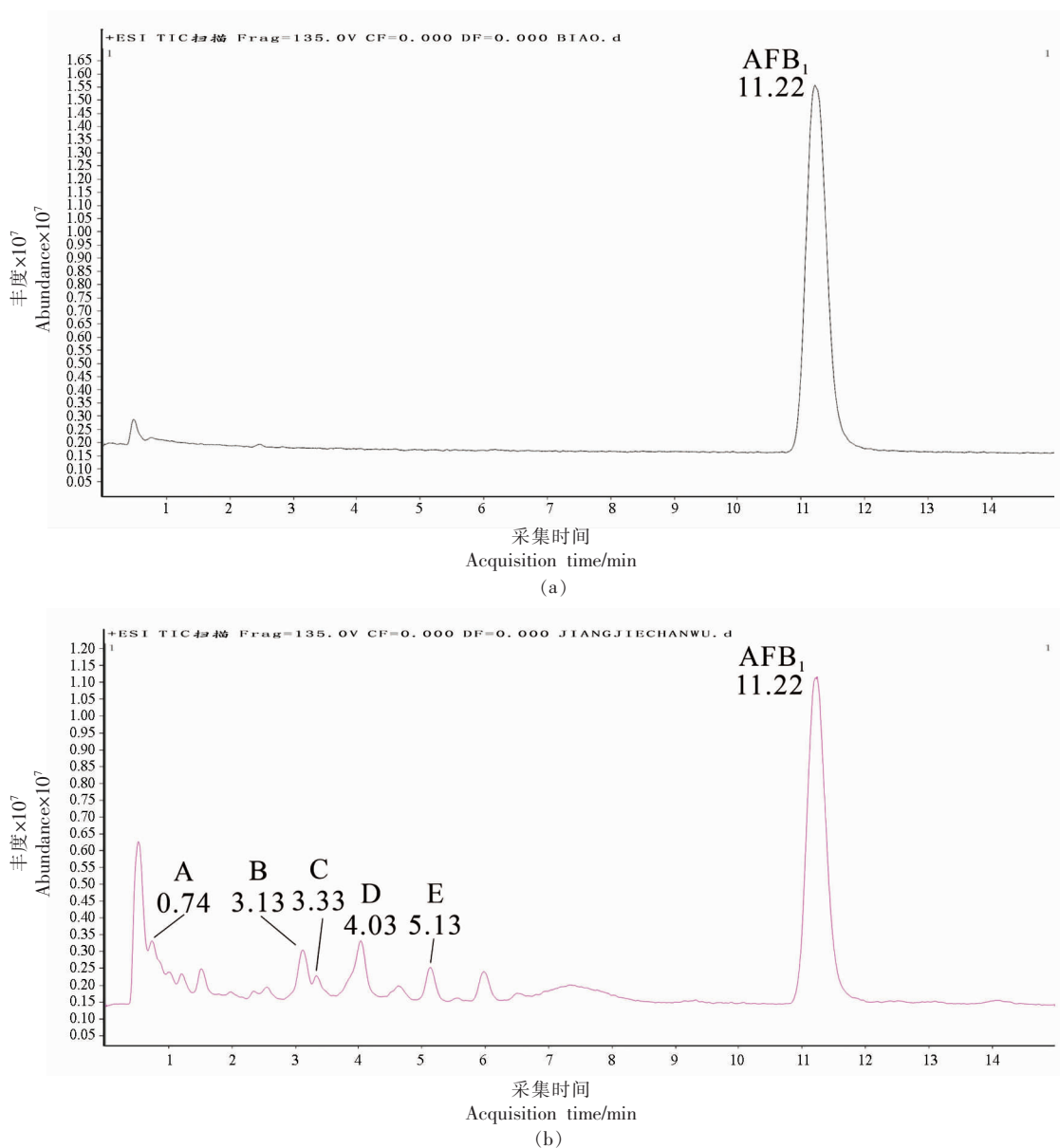


图 1 AFB₁ 总离子色谱图 (a) 和等离子体处理 AFB₁ 的降解产物总离子色谱图 (b)

Fig.1 AFB₁ total ion chromatogram (a) and plasma treated degradation product total ion chromatogram of AFB₁ (b)

完全可以说明降解产物 B 的分子离子峰 $[M+H]^+$ 质荷比为 319.0 m/z , 因流动相中甲酸的存在所呈现的关联特征质荷比 362.9 m/z 信号进一步确证了降解产物 B 的分子离子峰 $[M+H]^+$ 质荷比为 319.0 m/z 。对图 1b 降解产物的 TIC 图分别提取质荷比 $319.0, 341.0, 362.9\text{ m/z}$ 的 EIC 图, 发现三者的出峰时间一致, 从而确定降解产物 B 的 $[M+H]^+$ 质谱信号的质荷比为 319.0 m/z 。

在降解产物 C 的一级质谱图中 (图 4), 存在 2

个明显的质荷比分别为 316.9 m/z 和 338.9 m/z 质谱信号 ($[M+H]^+$ 信号和 $[M+Na]^+$ 信号), 分别提取质荷比 316.9 m/z 和 338.9 m/z 质谱信号的 EIC 谱图, 两者时间重合, 再结合与流动相中存在甲酸而呈现关联特征的 361.9 m/z 信号, 说明降解产物 C 的 $[M+H]^+$ 质谱信号为 316.9 m/z 。

在降解产物 D 的一级质谱图 (图 5) 中, 质荷比为 321.0 m/z 的信号显著, 该物质为 $[M+H]^+$ 或 $[M+Na]^+$ 均有可能。为避免对质荷比 321.0 m/z 质

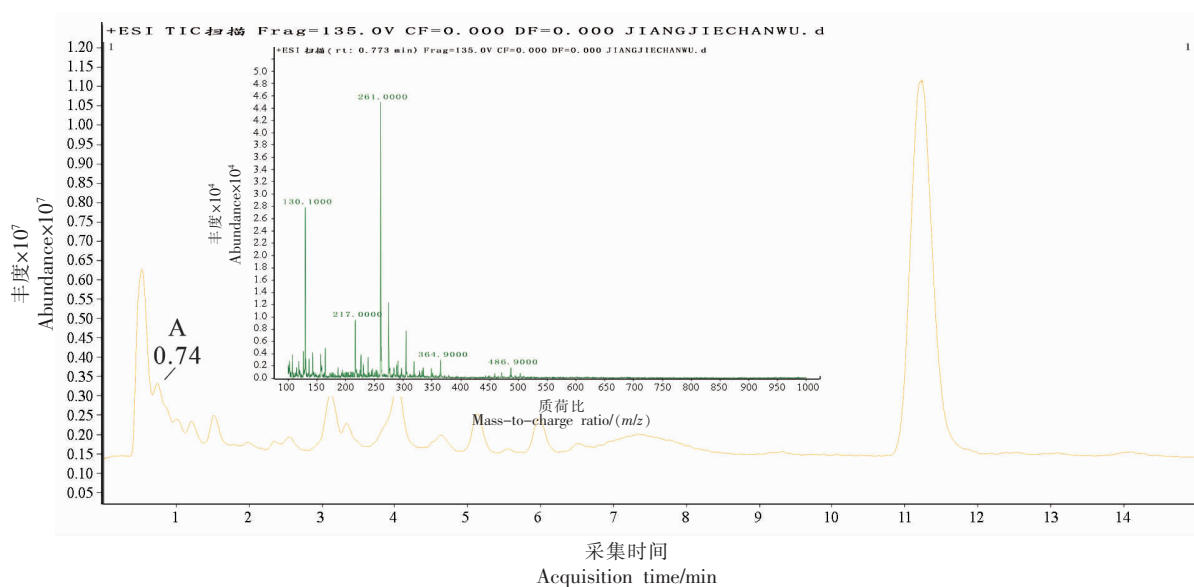


图2 降解产物 A 的一级质谱图

Fig.2 Primary mass spectra of degradation product A

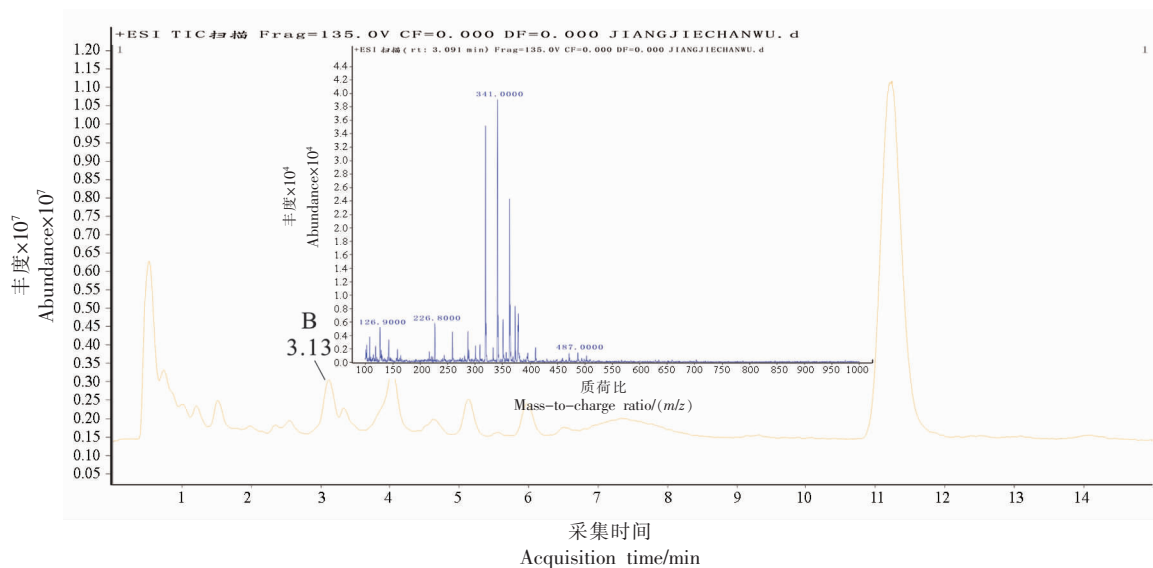


图3 降解产物 B 的一级质谱图

Fig.3 Primary mass spectra of degradation product B

谱信号的判断失差,在TIC图中同时提取质荷比299.0,321.0,343.0 m/z 的EIC信号,发现质荷比299.0 m/z 和321.0 m/z 的出峰时间重合,故判断降解产物D的 $[M+H]^+$ 质谱信号的质荷比为299.0 m/z 。

在降解产物E的一级质谱图(图6)中,出现质荷比为226.9,258.9,280.9,290.9,313.0 m/z 等多个质谱信号。其中质荷比为258.9 m/z 的质谱信号的丰度最高,质荷比280.9 m/z 的质谱信号刚好

与258.9 m/z 质谱信号的质荷比相差22 m/z ($[M+H]^+$ 与 $[M+Na]^+$),质荷比290.9 m/z 的质谱信号刚好与258.9 m/z 质谱信号的质荷比相差32 m/z ($[M+H]^+$ 与 $[M+H+CH_3OH]^+$),综合其它信息判断,判定降解产物E的 $[M+H]^+$ 质谱信号的质荷比为259.0 m/z 。

2.2 主要降解产物检测信息

利用MassHunter B.06.00采集到的Triple Quad数据和初步的定性机制确定了上述5个降

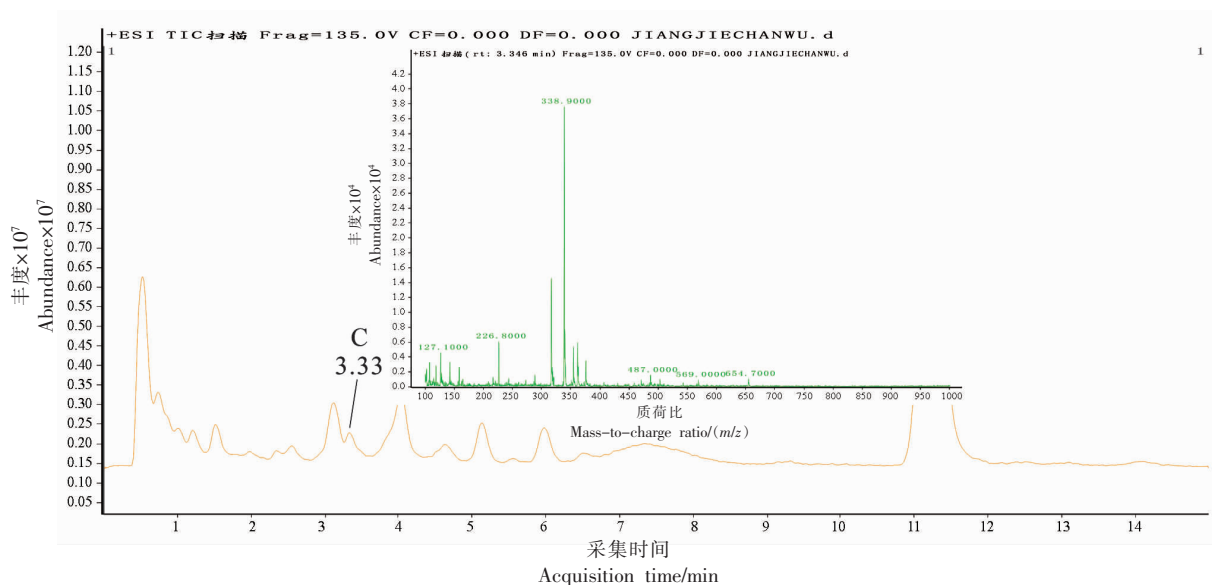


图 4 降解产物 C 的一级质谱图

Fig.4 Primary mass spectra of degradation product C

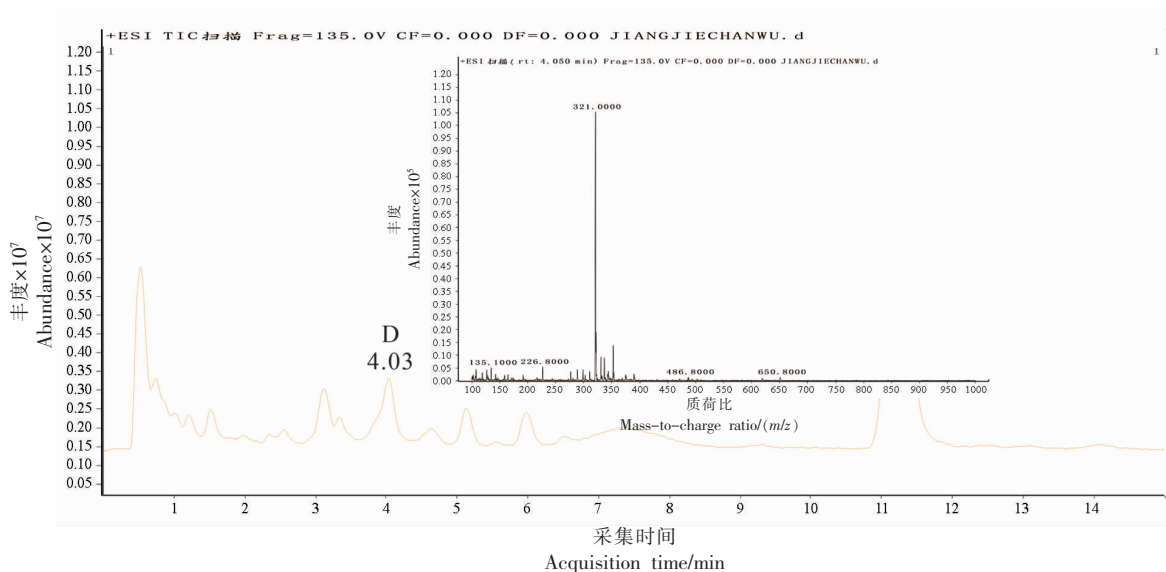


图 5 降解产物 D 的一级质谱图

Fig.5 Primary mass spectra of degradation product D

解产物的分子离子峰大小。由于 6470 质谱仪的分辨率特点,使得获得的 5 个降解产物的观测分子质量可能与其真实的理论分子质量有稍微的差异,而这会导致所分析的等离子体降解 AFB₁ 后各产物的分子式推测和结构式判断出现较大差异。FT-ICR-MS 分辨率高,几乎可精确测定目标物的分子质量。精确分子质量决定推测降解产物的化学分子式可能性和合理性,特别是当未知产物中有不同元素组成时,分子质量数值的绝对可靠,不

仅使可能的元素组成数量成级数减少,且使得所推测出的产物结构式的可信度极高。为保证各降解产物分子质量的绝对可靠性,降解样液再采用 FT-ICR-MS 得到更为精确的观测分子离子峰。

由于同一分子质量可对应不同的化学组成分子式,单单依靠 FT-ICR-MS 获得精确分子质量尚不足以表征出该分子质量的分子式,分子式的判断还需依据具体等离子体机理和双键等价值 (Double bond equivalence, DBE) 对预测的降解

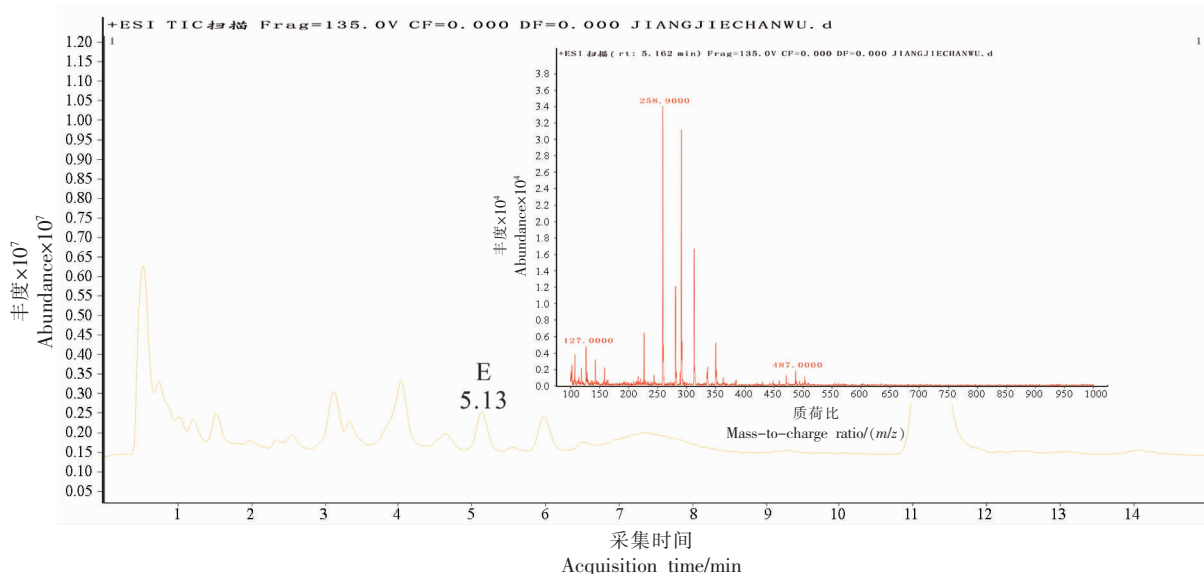


图6 降解产物E的一级质谱图

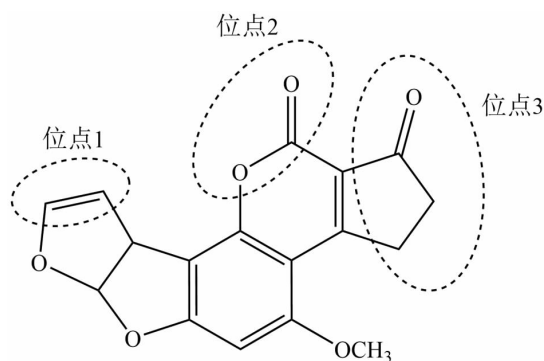
Fig.6 Primary mass spectra of degradation product E

产物分子质量及分子式进行评估。更为重要的是,降解产物分子结构式的判断还需结合已有的AFB₁降解规律。根据报道^[30],虽然等离子体释放的活性物质(主要由活性氧和活性氮组成)是降解AFB₁的关键因素,但释放的活性物质中的O活性要高于N,降解产物中通常不会含有N原子。结合AFB₁的分子结构图,又叫生理毒性位点示意图(图7),可以确定降解产物只应存在C、H、O 3种元素。同时,研究还表明,等离子体释放的活性氧最先破坏有机物的双键,作用于AFB₁母体时,则C8-C9双键最容易被破坏,组成AFB₁的二氢呋喃环和香豆素特征结构基本保留。

总的来说,产物分子式的判断依靠高分辨质谱的精确分子质量的同时,再依据等离子体先破坏AFB₁的C8-C9双键的降解机制,等离子体降解产物保留AFB₁的母体结构的降解特性,等离子体降解产物只含C、H、O元素的理论可控等,推测出5个降解产物对应的分子式,并加以合理性评价。表1中列出了各AFB₁降解产物的保留时间,精确分子质量,推测分子式,质量误差,双键等价值。

2.3 AFB₁降解产物结构分析

确定了降解产物的分子式,需要在分子式基础上确定化合物结构,从而可分析试验条件下

图7 AFB₁生理毒性位点示意图Fig.7 Schematic diagram of AFB₁ toxicity site

AFB₁的降解路径。结合文献报道^[30]和所获得的5个分子式,确定了降解产物的分子结构,结果见图8。为确证分子结构的合理性,还通过MS/MS获得降解产物的二级质谱碎片(图9),利用碎片的合理性证明了降解产物分子结构的合理性和可靠性,相应的结构解析见图9。从图8可以看出,AFB₁降解产物的结构和AFB₁非常相似,降解产物的DBE也接近AFB₁的DBE,这从理论上说明了本文对降解产物结构确证的正确性。其中降解产物A(261.0 m/z)是AFB₁原有的不饱和呋喃环,在所采取的等离子体试验条件下,发生了一定的亲电亲核消除反应,使得2个呋喃环离去,形成苯

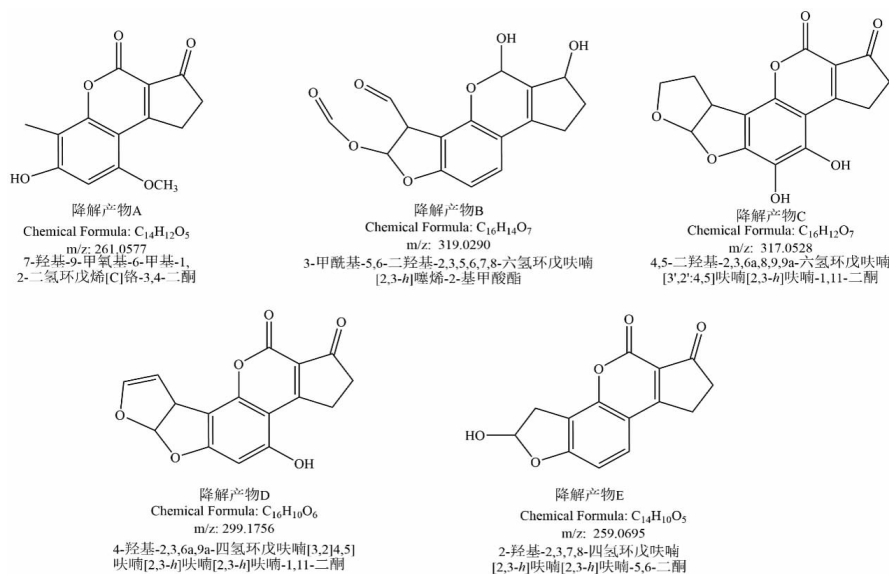
表 1 AFB₁ 降解产物分析^a

Table 1		Analysis of AFB ₁ degradation products ^a					
AFB ₁ ^b 降解产物	保留时间/min	观测质荷比/ (<i>m/z</i>) ^c	理论质荷比/ (<i>m/z</i>) ^c	质量误差/ $\times 10^{-6}$	分子式	DBE ^d	得分/%
A	0.7461	261.0577	261.2500	3.81	C ₁₄ H ₁₂ O ₅	9.0	100.00
B	3.1316	319.0290	319.2861	-2.36	C ₁₆ H ₁₅ O ₇	11.0	100.00
C	3.3393	317.0528	317.2623	-1.01	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	11.0	95.72
D	4.0360	299.1756	299.2901	1.92	C ₁₆ H ₁₀ O ₆	11.0	100.00
E	5.1353	259.0695	259.2341	1.14	C ₁₄ H ₁₀ O ₅	11.0	100.00
AFB ₁	11.2230	313.2760	313.0639	1.04	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	11.5	100.00

注:a. 等离子体处理条件:放电时间 5 s,放电功率 200 W,放电间距 0.4 cm;b. AFB₁ 初始质量浓度:10 mg/L;c. 表中的质荷比表示为 [M+H]⁺;d. 不饱和程度。

环甲基和苯环羟基。降解产物 B 是 AFB₁ 开环形成的末端醛基化合物,符合典型的 Criegee 机理,即 DBD 释放的臭氧与 AFB₁ 的 C8-C9 双键发生 1,3 偶极环化,产生 1,2,3-三氧化物,该氧化物极不稳定,快速发生分子重排形成 1,2,4 三氧杂环化物。随后,1,2,4 三氧杂环化物继续氧化产生醛类化合物^[31],C8-C9 双键破坏的同时,1 号位点的羰基和邻近羰基(图 7)均变化为羟基,4 号位点的甲氧基消失,得到降解产物 B(319.5 *m/z*)。降解产物 B 的末端醛结构不稳定,在自由基作用下直接

形成相对更稳定的降解产物 E(258.9 *m/z*)。降解产物 C 是降解产物 D 的二次反应所得。降解产物 D 是发生苯环甲氧基反应的结果,AFB₁ 苯环上的甲氧基,与臭氧发生反应产生过氧化物,过氧化物不稳定,快速脱去甲酸产生氧化产物 D(299.0 *m/z*)。降解产物 C 在发生苯环甲氧基反应的基础上,由于苯环上羟基生成时,邻位和对位活性变强,结合·OH 产生相邻双羟基,AFB₁ 原有的不饱和呋喃环发生亲核加氢,最终得到降解产物 C(316.9 *m/z*)。

图 8 AFB₁ 的降解产物结构及命名Fig.8 Structure and nomenclature of degradation products of AFB₁

从降解产物的结构可以看出,等离子体主要通过 3 种作用方式来降解 AFB₁:1) 按照 Criegee

机理,等离子体释放的臭氧作用于 AFB₁ 分子中呋喃环的 C8-C9 键;2) 苯环甲氧基反应;3) 亲电和

亲核机理。AFB₁的降解总是从末端呋喃环上C8-C9双键之间快速断裂,随后通过多条降解途径得到最终产物,这与Wang等^[32]得出结论一致。降解产物A(质荷比261.0 *m/z*)是由于呋喃环的裂解

产生,降解产物芳香环结构基本不发生变化,这与Wielogorska等^[33]发现含有芳香环结构会使毒素稳定性增加,从而减缓等离子体诱导的降解速率的结论一致。

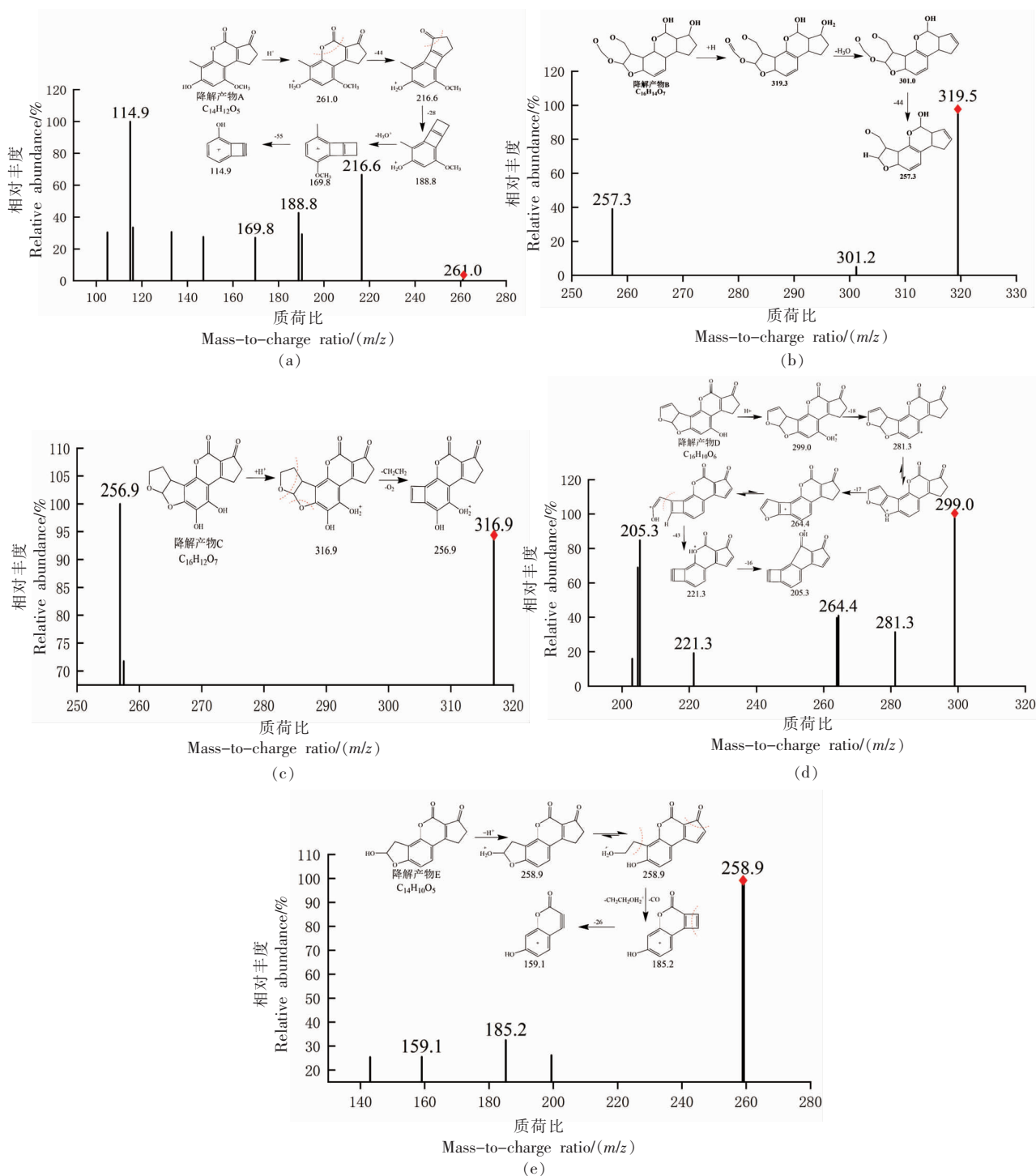


图9 降解产物A~E的二级质谱图

Fig.9 Secondary mass spectra of degradation product A~E

2.4 AFB₁ 降解产物的理论分析及路径分析

本试验的应用电压较高, 等离子体点火在更高的应用电压和氧气存在下导致电子与电负性氧相互作用增加, 从而形成大量的氧自由基进而生成臭氧^[34]。臭氧分子与有机物的反应主要通过偶极加成、亲电和亲核作用, 反应机理涉及 Criegee 机理和亲电亲核机理^[35], 主要是 Criegee 机理。Criegee 反应机理是由于臭氧分子具有偶极结构, 不饱和键容易与臭氧分子发生反应, 从而造成

不饱和键的断裂。具体的反应途径有 2 种: 一种是臭氧分子与有机物直接反应, 称 D 反应; 另一种是臭氧自身分解过程中产生的·OH 与有机物进行间接反应, 称为 R 反应^[36-37]。D 反应具有选择性, 主要破坏苯环、有机物的烯键、芳香族双键、共轭双键等, D 反应速度较缓慢; R 反应是利用·OH 进行相应反应, ·OH 非常活泼, 几乎能与所有物质迅速反应, 并因此迅速消耗, 该反应能力虽然强, 但是选择性差。

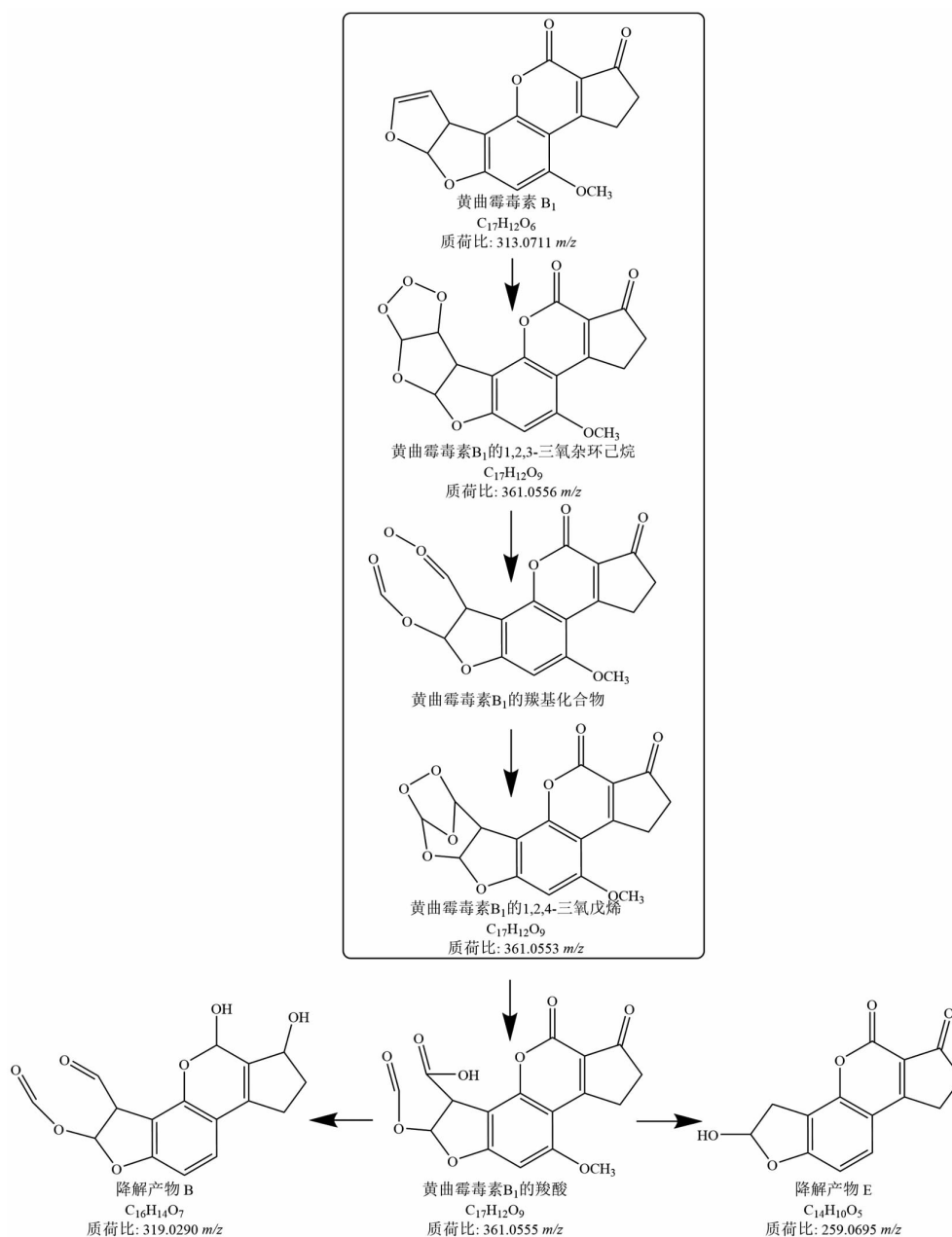


图 10 Criegee 反应机理的降解流程示意图

Fig.10 Criegee reaction mechanism of degradation process

从本试验设计得出的 AFB₁ 降解产物结构(图 8)出发,再结合降解有机物的各种机制,推测本研究中的 AFB₁ 降解机制主要还是以臭氧分子作用为主,其反应机制主要是 Criegee 和亲电机理。同时,根据臭氧分子与有机物反应的一般规律,获得

等离子体降解 AFB₁ 降解产物的生成途径(包括一些过渡态分子的存在),结果见图 10 和图 11。据此推测,AFB₁ 的 C8-C9 双键很容易被臭氧分子氧化形成取代基,进而形成环化加成,然后生成多种过渡态分子形式,最后形成相应的降解产物。

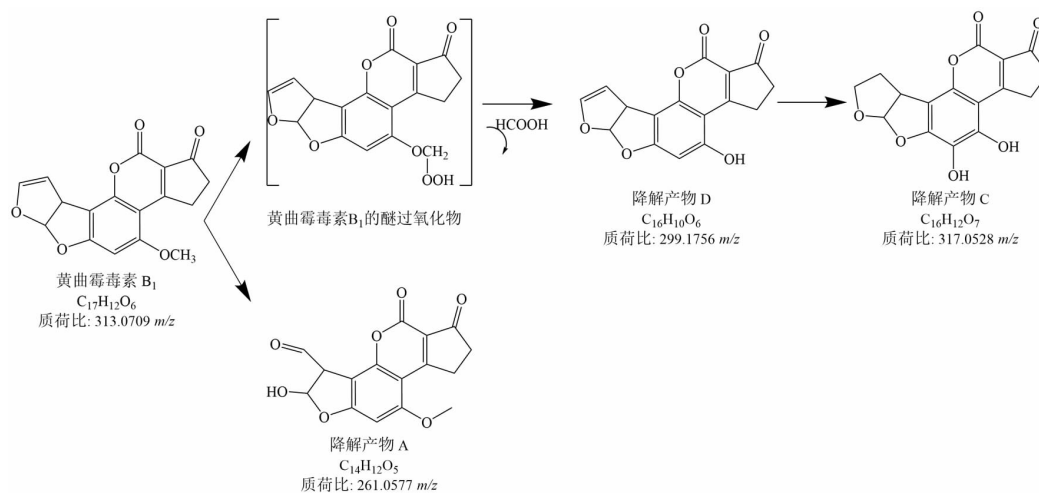


图 11 苯环甲氧基反应和亲核反应的降解流程示意图

Fig.11 Degradation process diagram of benzyl methoxy reaction and nucleophilic reaction

2.5 AFB₁ 降解产物的潜在毒性分析

AFB₁ 的毒性位点如图 7 所示, Wu 等^[29]认为 AFB₁ 的毒性与呋喃环上的 C8-C9 双键有关,失去了该双键,其降解产物的毒性将低于 AFB₁。本试验中,所得的降解产物 A、B、C 和 E 均属于 C8-C9 双键断裂或双键加成,即毒性位点 1 产生消失,4 个降解产物可判断为毒性降低,且降解产物 B 中除 C8-C9 双键断裂外,2*h*-吡喃和呋喃环上的双键也被破坏,3 个毒性位点都消失,毒性更低,属于较深的降解程度;而降解产物 D 并未发生毒性位点消失。根据产物结构-效应关系,推测 AFB₁ 降解后的体系内毒性与降解率呈负相关关系,而这有待进一步进行安全性和毒性评估,后续可通过降解产物体外细胞试验进行毒理安全性评价为 DBD 等离子体降解 AFB₁ 的应用提供理论依据。

3 结论

10 mg/L 黄曲霉毒素 B₁ 经过 200 W 等离子体处理 5 s 后的试样选择全扫模式进行降解产物分析试验并通过峰面积计算进行对比分析,峰面积

从 3.28×10^8 降到 2.10×10^8 ,降解率为 35.8%,符合本文进行降解路径分析的设计思路。对该处理 5 s 后的试样进行多途径测试与理论分析,推测有 5 个降解产物。

HPLC-MS、一级和二级质谱分析和 FT-ICR-ESI 等多手段结合,确证出 7-羟基-9-甲氧基-6-甲基-1,2-二氢环戊烯 [C] 铬-3,4-二酮、3-甲酰基-5,6-二羟基-2,3,5,6,7,8-六氢环戊呋喃[2,3-*h*]噻烯-2-基甲酸酯、4,5-二羟基-2,3,6*a*,8,9,9*a*-六氢环戊呋喃[3',2':4,5]呋喃[2,3-*h*]呋喃-1,11-二酮、4-羟基-2,3,6*a*,9*a*-四氢环戊呋喃[3,2[4,5]呋喃][2,3-*h*]呋喃-1,11-二酮和 2-羟基-2,3,7,8-四氢环戊呋喃[2,3-*h*]呋喃[2,3-*h*]呋喃-5,6-二酮,推测出共 5 种物质的分子式和结构式,并根据 Criegee 机理、苯环甲氧基反应和亲核反应推测了相应生成路径。

降解规律解析为 DBD 技术降解 AFB₁ 提供一定的理论基础,未来进一步的细胞试验或动物实验,将继续验证 DBD 技术降解 AFB₁ 的可行性,介质阻挡等离子体技术将成为一种快速、有效的技

术方法应用于食品中黄曲霉毒素的消减。

参 考 文 献

- [1] WANG S Q, HUANG G Q, LI Y P, et al. Degradation of aflatoxin B₁ by low-temperature radio frequency plasma and degradation product elucidation [J]. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 2016, 12(7): 396-403.
- [2] WAGACHA J M, MUTHOMI J W. Mycotoxin problem in Africa: Current status, implications to food safety and health and possible management strategies [J]. *Int J Food Microbiol*, 2008, 124(1): 1-12.
- [3] BHAT R, RAI R V, KARIM A A. Mycotoxins in food and feed: Present status and future concerns[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2010, 9(1): 57-81.
- [4] KAALE L D, KIMANYA M E, MACHA I J, et al. Aflatoxin contamination and recommendations to improve its control: A review [J]. *World Mycotoxin Journal*, 2021, 14(1): 27-40.
- [5] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量: GB 2761-2017[S] 北京: 中国标准出版社, 2017: 2.
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, China Food and Drug Administration. National standards for food safety, limited limits for mycototoxins in food: GB 2761-2017[S] Beijing: Standards Press of China, 2017: 2.
- [6] MOON Y S, KIM H M, CHUN H S, et al. Organic acids suppress aflatoxin production via lowering expression of aflatoxin biosynthesis-related genes in *Aspergillus flavus*[J]. *Food Control*, 2018, 88(5): 207-216.
- [7] MUKENDI N, ROLLMANN B, DE MEESTER C. Detoxification of aflatoxin B₁ by different chemical methods and evaluation of the effectiveness of the treatments applied[J]. *Journal de Pharmacie de Belgique*, 1991, 46(3): 182-188.
- [8] SHI H U, STROSHINE R L, ILELEJI K. Determination of the relative effectiveness of four food additives in degrading aflatoxin in distillers wet grains and condensed distillers solubles[J]. *Journal of Food Protection*, 2017, 80(1): 90-95.
- [9] FERREIRA W F D S, ALENCAR E R D, BLUM L E B, et al. Ozonation of Brazil nuts in aqueous media at different pH levels: Ozone decomposition, *Aspergillus flavus* inactivation, and effects on nut color and crude oil lipid profile[J]. *Ozone: Science & Engineering*, 2021, 43(4): 351-362.
- [10] BABAE R, KARAMI -OSBOO R, MIRABOL-FATHY M. Evaluation of the use of Ozone, UV-C and citric acid in reducing aflatoxins in pistachio nut[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2022, 106(2): 104276.
- [11] ZHANG W, XUE B, LI M, et al. Screening a strain of *Aspergillus niger* and optimization of fermentation conditions for degradation of aflatoxin B₁ [J]. *Toxins*, 2014, 6(11): 3157-3172.
- [12] YADAV A, KUJUR A, KUMAR A, et al. Encapsulation of *Bunium persicum* essential oil using chitosan nanopolymer: Preparation, characterization, antifungal assessment, and thermal stability[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 142(5): 172-180.
- [13] DHANAMJAYULU P, BOGA R B, MEHTA A. Inhibition of aflatoxin B₁ biosynthesis and down regulation of *aflR* and *aflB* genes in presence of benzimidazole derivatives without impairing the growth of *Aspergillus flavus*[J]. *Toxicon*, 2019, 170(12): 60-67.
- [14] SICILIANO I, SPADARO D, PRELLE A, et al. Use of cold atmospheric plasma to detoxify hazelnuts from aflatoxins[J]. *Toxins*, 2016, 8(5): 125.
- [15] BABAR O A, ARORA V K, NEMA P K, et al. Effect of PCM assisted flat plate collector solar drying of green chili on retention of bioactive compounds and control of aflatoxins development[J]. *Solar Energy*, 2021, 229(8): 102-111.
- [16] RAESI S, MOHAMMADI R, KHAMMAR Z, et al. Photocatalytic detoxification of aflatoxin B₁ in an aqueous solution and soymilk using nano metal oxides under UV light: Kinetic and isotherm models [J]. *LWT*, 2022, 154(2): 112638.
- [17] UDOVICKI B, Stankovic S, TOMIC N, et al. Evaluation of ultraviolet irradiation effects on *Aspergillus flavus* and Aflatoxin B₁ in maize and peanut using innovative vibrating decontamination equipment [J]. *Food Control*, 2022, 134(5): 108691.

- [18] MASSAROLO K C, MENDOZA J R, VERMA T, et al. Fate of aflatoxins in cornmeal during single-screw extrusion: A bioaccessibility approach [J]. LWT, 2021, 138(4): 110734.
- [19] 熊科, 王晓玲, 李秀婷, 等. 氧化电解水清除黄曲霉毒素 B₁ 生成产物及其安全性评价[J]. 中国食品学报, 2014, 14(11): 171-179.
- XIONG K, WANG X L, LI X T, et al. Decontamination of Aflatoxin B₁ with electrolysed oxidising water and security evaluation[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2014, 14(11): 171-179.
- [20] XU H, FANG C, HUANG Q. Achieving improved efficiency for removal of aflatoxin B₁ by combination use of cold atmospheric-pressure plasma and plasma-activated water[J]. Journal of Water Process Engineering, 2023, 54(4): 104004.
- [21] MAKARI M, HOJJATI M, SHAHBAZI S, et al. Elimination of *Aspergillus flavus* from pistachio nuts with dielectric barrier discharge (DBD) cold plasma and its impacts on biochemical indices[J]. Journal of Food Quality, 2021, 2021(1): 9968711.
- [22] PULIGUNDLA P, LEE T, MOK C. Effect of corona discharge plasma jet treatment on the degradation of aflatoxin B₁ on glass slides and in spiked food commodities[J]. LWT, 2020, 124(8): 108333.
- [23] HU S, COOPER B, STROSHINE R L, et al. Structures of degradation products and degradation pathways of aflatoxin B₁ by high-voltage atmospheric cold plasma (HVACP) treatment[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(30): 6222-6230.
- [24] NIKMARAM N, BRUCKNER L, CRAMER B, et al. Degradation products of aflatoxin M₁ (AFM₁) formed by high voltage atmospheric cold plasma (HVACP) treatment[J]. Toxicon, 2023, 230(16): 107160.
- [25] HOJNIK N, MODIC M, WALSH J L, et al. Unravelling the pathways of air plasma induced aflatoxin B₁ degradation and detoxification [J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 403(18): 123593.
- [26] 苏迎利, 马挺军. 介质阻挡等离子体降解阿月浑子坚果仁中 AFB₁ 的效果研究[J]. 中国粮油学报, 2022, 37(12): 9-14.
- SU Y L, MA T J. Effects of dielectric barrier discharge plasma for degradation of AFB₁ in pistachios [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2022, 37(12): 9-14.
- [27] 朱士臣, 陈小草, 柯志刚, 等. 低温等离子体技术及其在水产品加工中的应用[J]. 中国食品学报, 2021, 21(10): 305-314.
- ZHU S C, CHEN X C, KE Z G, et al. Non-thermal plasma technology and its applications in aquatic products processing[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(10): 305-314.
- [28] 唐林, 王松, 郭柯宇, 等. 低温等离子体活化水在食品杀菌保鲜中的应用[J]. 中国食品学报, 2021, 21(12): 347-357.
- TANG L, WANG S, GUO K Y, et al. The application of low-temperature plasma activated water in food sterilization and preservation[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(12): 347-357.
- [29] WU Y, CHENG J H, SUN D W. Blocking and degradation of aflatoxins by cold plasma treatments: Applications and mechanisms[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 109(1): 647-661.
- [30] PULIGUNDLA P, LEE T, MOK C. Effect of corona discharge plasma jet treatment on the degradation of aflatoxin B₁ on glass slides and in spiked food commodities[J]. LWT, 2020, 124(8): 108333.
- [31] 刁恩杰. 花生中黄曲霉毒素 B₁ 臭氧降解及安全性评价[D]. 泰安: 山东农业大学, 2015.
- DIAO E J. Ozonolysis and safety evaluation of aflatoxin B₁ in peanuts[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2015.
- [32] WANG S Q, HUANG G Q, LI Y P, 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.
- [33] WIELOGORSKA E, AHMED Y, MENEELY J, et al. A holistic study to understand the detoxification of mycotoxins in maize and impact on its molecular integrity using cold atmospheric plasma treatment[J]. Food Chemistry, 2019, 301(24): 125281.
- [34] JOH H M, CHOI J Y, KIM S J, et al. Effect of additive oxygen gas on cellular response of lung cancer cells induced by atmospheric pressure helium plasma jet[J]. Scientific Reports, 2014, 4(1): 1-9.
- [35] 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]. 无锡: 江南大学, 2014.
- LUO X H. Effects of ozone on aflatoxin B₁ degradation in corn and safety evaluation of the degraded products[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2014.
- [36] HOIGNE J, BADER H. The role of hydroxyl radical reactions in ozonation processes in aqueous solutions [J]. *Water Research*, 1976, 10(5): 377–386.
- [37] HOIGNE J, BADER H. Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water–II: Dissociating organic compounds[J]. *Water Research*, 1983, 17(2): 185–194.

Degradation Mechanism of Aflatoxin B₁ in Acetonitrile Solvent by Dielectric Barrier Discharge Plasma

Su Yingli¹, Ma Tingjun¹, Wei Chaojun^{2,3*}

¹*College of Food Science and Engineering, Beijing University of Agricultural, Beijing 102206*

²*Key Laboratory of Urban Agriculture (North), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 102206*

³*College of Bioscience and Resources Environment, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206*

Abstract Objective: Aflatoxin B₁ pollution is the key factor affecting food quality and safety. How to degrade aflatoxin B₁ to reduce pollution and explore the degradation mechanism is the current urgent demand. Methods: Aflatoxin B₁ in acetonitrile solution was degraded by plasma treatment with a discharge power of 200 W, a discharge time of 5 s and a discharge distance of 0.4 cm, and analysed by high performance liquid chromatography–mass spectrometry (HPLC–MS/MS) and high resolution mass spectrometry (HRMS) with the aim of obtaining the products and pathways for the degradation of aflatoxin B₁ in the dielectric barrier discharge plasma method. Results: The molecular and structural formulae of five degradation products were analysed, and their degradation pathways were Criegee mechanism, Benzyl Methoxy Reaction and Nucleophilic Reaction. With the degradation rate of 35.8%, it was demonstrated that the toxicity was consistent with the degradation rate after dielectric barrier discharge plasma treatment based on the loss of toxicity sites of the five degradation products. Conclusion: This study provides a theoretical reference for the degradation of aflatoxin B₁ in peanut, corn and nut products using dielectric barrier discharge plasma, and the potential toxicity validation after degradation of aflatoxin B₁ by dielectric barrier discharge plasma can be further explored in subsequent experiments through animal experiments or cell experiments.

Keywords aflatoxin B₁; dielectric barrier discharge; high performance liquid chromatography–mass spectrometry; degradation products