

# 臭氧降解稻谷中 不同黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 初始含量效果研究

丁爱凤,包月红,周建新\*,黄永军,吴萌萌

(南京财经大学食品科学与工程学院/江苏省现代粮食流通与安全协同创新中心  
/江苏高校粮油质量安全控制及深加工重点实验室,江苏南京 210023)

**摘要:**针对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (AFTB<sub>1</sub>) 污染造成的食用安全性问题,研究了稻谷储藏过程中 AFTB<sub>1</sub> 含量随时间和黄曲霉量的变化规律以及臭氧降解率与稻谷中 AFTB<sub>1</sub> 初始含量的关系。结果表明:30 ℃ 时,16.0% 水分的稻谷 AFTB<sub>1</sub> 含量(X)与储藏时间(T)呈极显著的抛物线型关系,回归方程为  $X = 3.958T^2 - 30.523T + 45.049$  ( $R^2 = 0.945, p < 0.01$ ),与黄曲霉量(M)呈正线性关系,回归方程为  $X = 3.031E - 005M + 12.311$  ( $R^2 = 0.955, p < 0.01$ )。随着稻谷中 AFTB<sub>1</sub> 的初始含量增加,臭氧处理后的毒素降解率呈先上升后下降,降解率最大达到 88.1%,在给定条件下,可将含 68.42 μg/kg AFTB<sub>1</sub> 的稻谷降解到国家限量标准(10 μg/kg)。

**关键词:** 臭氧,稻谷,储藏时间,黄曲霉量,黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>,降解率

## Study on effects of ozone detoxification on different initial content of AFTB<sub>1</sub> in paddy

DING Ai-feng, BAO Yue-hong, ZHOU Jian-xin\*, HUANG Yong-jun, WU Meng-meng

(College of Food Science and Engineering/Collaborative Innovation Center for  
Modern Grain Circulation and Safety/Key Laboratory of Grains and Oils Quality Control and  
Processing, Nanjing University of Finance and Economics, Nanjing 210023, China)

**Abstract:** For food safety problems caused by aflatoxin B<sub>1</sub> (AFTB<sub>1</sub>) pollution the paddy, the change lows of content of AFTB<sub>1</sub> with the time and amount of *Aspergillus flavus* and the relationship between the initial content of AFTB<sub>1</sub> and degradation rate by ozone were investigated in storage of paddy. The results showed the content of AFTB<sub>1</sub> (X) was significantly parabolic relationship with storage time (T) and positive linear relationship with counts of *Aspergillus flavus* (M) in 16.0% moisture content of paddy at 30 ℃, and the regression equations were  $X = 3.958T^2 - 30.523T + 45.049$  ( $R^2 = 0.945, p < 0.01$ ) and  $X = 3.031E - 005M + 12.311$  ( $R^2 = 0.955, p < 0.01$ ), respectively. The detoxification rates of AFTB<sub>1</sub> rose in the first stage, and then decreased with the increase of the initial content of AFTB<sub>1</sub> in paddy. The maximum degradation rate of AFTB<sub>1</sub> was 88.1%, and the paddy with AFTB<sub>1</sub> of 68.42 μg/kg was reduced to the national limited standard (10 μg/kg) at given conditions.

**Key words:** ozone; paddy; storage time; counts of *Aspergillus flavus*; AFTB<sub>1</sub>; degradation rate

中图分类号: TS210.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)23-0072-03

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.23.006

稻谷是我国南方主要的食物来源和储备粮品种,而在南方夏收时高温、高湿的气候下,高水分稻谷往往因不能及时干燥处理而导致霉变<sup>[1]</sup>,并产生以黄曲霉毒素为代表的真菌毒素。黄曲霉毒素有多种衍生物,其中以 B<sub>1</sub> 毒性最强,与人类肝癌的发生有关系<sup>[2]</sup>,给人们的身体健康带来巨大的伤害与经济损失<sup>[3]</sup>。因此粮食中黄曲霉毒素脱毒技术一直是研究的热点。黄曲霉毒素的脱毒方法主要有物理法、化

学法和生物法,但大部分方法存在着处理时间长、成本高、脱毒效率低、损害品质 and 实践应用受到限制等问题,高效、安全、经济的方法很少<sup>[4]</sup>。臭氧氧化能力强,易分解为氧气,对环境 and 基质几乎不造成危害,因此,被广泛应用于粮食 and 果蔬的灭菌、杀虫 and 保鲜<sup>[5-9]</sup>。1997年,McKenzie等<sup>[10]</sup>报道臭氧气体能降解伏马毒素、赭曲霉毒素、黄曲霉毒素等标准品,随后国内外利用臭氧降解真菌毒素的研究主要集中在降

收稿日期:2015-04-09

作者简介:丁爱凤(1972-),女,本科,讲师,研究方向:粮食储藏与加工,E-mail:dingafp@126.com。

\*通讯作者:周建新(1964-),男,本科,教授,研究方向:粮食储藏与加工,E-mail:zhoujx1964@163.com。

基金项目:国家科技支撑项目(2013BAD17B01-3);江苏高校优势学科建设工程资助项目。

解粮食、果蔬黄曲霉毒素和赭曲霉毒素研究上<sup>[11-15]</sup>, 结果均表明臭氧对黄曲霉毒素及其他毒素均具有良好的降解效果。Luo 等<sup>[16-19]</sup> 阐明了臭氧解毒作用的机理是臭氧与 AFB<sub>1</sub> 末端咪唑环的双键发生了共轭加成反应, 形成产物的毒性大幅度降低, 因此臭氧降解粮食、食品中黄曲霉毒素具有良好的应用前景。

本研究在臭氧处理稻谷降解黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的工艺条件优化<sup>[20]</sup> 的基础上, 首次研究了高水分稻谷模拟储藏过程中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 形成规律和臭氧降解稻谷中不同 AFB<sub>1</sub> 初始含量的效果, 为臭氧降解 AFB<sub>1</sub> 污染的稻谷提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

晚粳稻谷 2012 年产, 江苏省南京市石埠寨粮库, 2013 年 5~6 月进行本实验。无水乙醇、95% 乙醇(分析纯)、乙腈、甲醇(色谱纯) 南京丁贝生物科技有限公司; AFB<sub>1</sub> 标准品 Sigma-Aldrich 公司。

臭氧脱毒专用装置 南京金仁环保科技有限公司, 熏蒸箱工作室尺寸为 360 mm × 350 mm × 500 mm, 可控臭氧浓度: 50~100 ppm, 箱内装有可以转动的圆柱形桶(200 mm × 150 mm), 桶侧面均匀分布网孔, 待脱毒的样品放置在圆桶内, 按照设定条件进行操作; Agilent-1260 型高效液相色谱仪 美国 Agilent 公司; HM11104 型光化学衍生器、AFB<sub>1</sub> 型免疫亲和柱 北京华安麦科生物技术有限公司; KH5200 型超声波清洗机 昆山禾创超声仪器有限公司; GNP-9160 型隔水式恒温培养箱 上海三发科学仪器有限公司; FW80 型高速万能粉碎机 天津市泰斯特仪器有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 稻谷中 AFB<sub>1</sub> 含量随储藏时间的变化规律的实验 稻谷平铺在超级工作台台面, 计算水量, 用喷雾器喷水, 经常翻动, 3 d 后测定水分为 16.0%, 将此稻谷 10 kg 装入布袋, 封口后, 放入 30 °C 培养箱, 模拟储藏 3 周, 每 2 d 取样, 测定其 AFB<sub>1</sub> 含量, 每隔 4 d 的样品还需要测定霉菌菌量、菌相及百分比。

1.2.2 臭氧降解稻谷中不同黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 初始含量效果 将 1.2.1 模拟储藏每隔 4 d 的样品, 其黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 初始含量不同, 分别进行臭氧处理: 浓度 95 mL/m<sup>3</sup>, 时间 25 min, 稻谷量 1000 g<sup>[20]</sup>, 处理前后分别测定 AFB<sub>1</sub> 含量, 计算毒素降解率。

1.2.3 指标测定方法 AFB<sub>1</sub> 测定参照文献<sup>[20]</sup>。霉菌菌量测定: GB 4789.15-2010, 通过菌落和菌体形态进行菌种鉴定<sup>[21]</sup>, 并计算黄曲霉量。

1.2.4 数据处理 实验数据以平均值 ± 标准差表示, 并采用 Excel 系统和 SPSS 分析软件进行处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 稻谷中 AFB<sub>1</sub> 含量与储藏时间相关性

稻谷中 AFB<sub>1</sub> 含量随储藏时间变化情况如图 1 所示, 从图中可看出, 稻谷在刚开始储藏的 2 d 没有产生 AFB<sub>1</sub>, 第 4 d 时, 有少量毒素生成, 毒素含量为 2.41 μg/kg, 至 12 d 时, 稻谷中 AFB<sub>1</sub> 缓慢增加, 含量为 13.17 μg/kg, 超出国家规定的限量标准

(10 μg/kg)。第 14 d 开始, AFB<sub>1</sub> 含量开始加速增加, 到第 20 d 时, 毒素含量已经达到 202.41 μg/kg, 远高于国家限量标准。储藏时间对 AFB<sub>1</sub> 含量进行方差分析的结果如表 1 所示, 经过 *F* 检验, 储藏时间的显著性 *p* < 0.01, 表明不同时间 AFB<sub>1</sub> 含量存在极显著差异。对稻谷 AFB<sub>1</sub> 含量(*X*) 与储藏时间(*T*) 进行回归分析, 拟合结果为  $X = 3.958T^2 - 30.523T + 45.049$  ( $R^2 = 0.945, p < 0.01$ ), 说明 AFB<sub>1</sub> 含量与储藏时间呈极显著的抛物线型关系, 相关性良好。

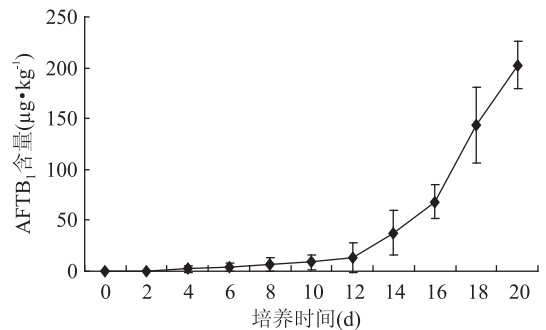


图1 稻谷 AFB<sub>1</sub> 含量随储藏时间的变化

Fig.1 Content change of AFB<sub>1</sub> in paddy with storage time

表1 储藏时间对稻谷中 AFB<sub>1</sub> 含量的单因素方差分析

Table 1 Variance analysis of storage time on content of AFB<sub>1</sub> in paddy

项目	平方和	df	均方	<i>F</i>	Sig.
组间	143129.263	10	14312.926	50316.559	0.000
组内	6.258	22	0.284		
总数	143135.522	32			

### 2.2 稻谷中 AFB<sub>1</sub> 含量与黄曲霉量的相关性

在我国, 稻谷中 AFB<sub>1</sub> 的产生菌为黄曲霉<sup>[4]</sup>, 对稻谷中霉菌量和种类分析表明, 初始稻谷中霉菌的种类比较多, 除黄曲霉(占 58%) 外, 还有交链孢霉(23%)、产黄青霉(14%) 等, 霉菌菌量  $3.4 \times 10^3$  CFU/g, 第 12 d 时, 从感官判断, 稻谷处于早期霉变阶段, 霉菌量达到  $5.4 \times 10^4$  CFU/g, 黄曲霉成为绝对优势菌(占 92%), 此前 AFB<sub>1</sub> 生成缓慢, 之后, 由于黄曲霉菌大量繁殖, 代谢活动进入旺盛时期, 次级代谢产物大量积累, 导致 AFB<sub>1</sub> 含量迅速上升, 20 d 时霉菌量达到  $6.4 \times 10^6$  CFU/g, 黄曲霉成为唯一的霉菌(占 100%), 稻谷出现典型的中后期霉变特征。黄曲霉量随储藏时间的变化如图 2 所示, 通过储藏时间对稻谷中黄曲霉量的单因素方差分析, 稻谷中黄曲霉量与储藏时间呈现极显著正相关(表 2)。通过 SPSS 软件分析, 稻谷中 AFB<sub>1</sub> 含量与黄曲霉量呈现极显著正相关。对稻谷中 AFB<sub>1</sub> 含量(*X*) 与黄曲霉量(*M*) 进行回归方程分析, 其结果为:  $X = 3.031E - 005W + 12.311$  ( $R^2 = 0.955, F = 338.661, p < 0.01$ ), 说明稻谷中 AFB<sub>1</sub> 含量与黄曲霉量呈线性关系。

### 2.3 稻谷中 AFB<sub>1</sub> 初始含量与臭氧处理降解率的关系

分别测定模拟储藏稻谷臭氧处理前后 AFB<sub>1</sub> 含量, 稻谷中 AFB<sub>1</sub> 初始含量与臭氧处理降解率如图 3

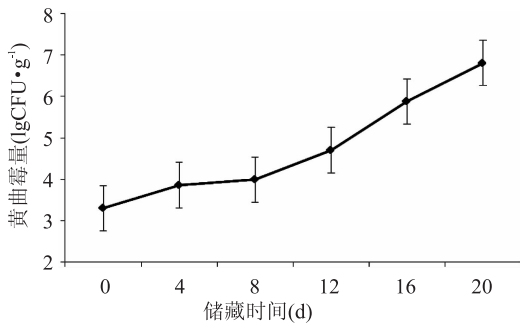


图2 稻谷中黄曲霉量随储藏时间的变化

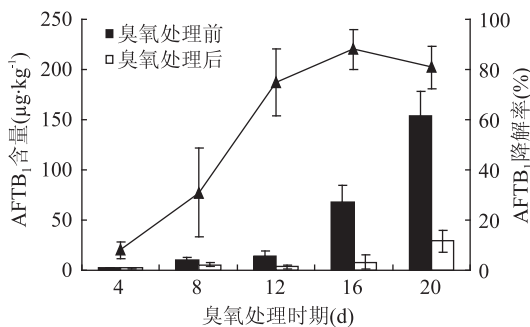
Fig.2 Count change of *Aspergillus flavus* in paddy with storage time

所示。从图3中可得,针对不同 AFTB<sub>1</sub> 初始含量的稻谷,臭氧对其降解率先上升后逐渐趋于平稳,降解率达到最大 88.11%。模拟储藏 16 d 时,稻谷 AFTB<sub>1</sub> 含量达到 68.42 μg/kg 时,臭氧处理后为 8.13 μg/kg,能将 AFTB<sub>1</sub> 降解到国家限量标准以下。

表2 储藏时间对稻谷中黄曲霉量的单因素方差分析

Table 2 Variance analysis of storage time on count of *Aspergillus flavus* in paddy

项目	平方和	df	均方	F	Sig.
组间	9.852E+13	5	1.970E+13	1970369503	0.000
组内	120000.000	12	10000.000		
总数	9.852E+13	17			

图3 臭氧处理前后稻谷中 AFTB<sub>1</sub> 含量及降解率Fig.3 Contents and degradation rate of AFTB<sub>1</sub> in paddy before and after of ozone treatment

### 3 结论

30 °C 时,16.0% 水分的稻谷 AFTB<sub>1</sub> 含量(X)与储藏时间(t)呈极显著的抛物线型关系,回归方程为  $X = 3.958T^2 - 30.523T + 45.049$  ( $R^2 = 0.945, p < 0.01$ ),与黄曲霉量(M)呈正线性关系,回归方程为  $X = 3.031E - 005M + 12.311$  ( $R^2 = 0.955, p < 0.01$ )。随着稻谷中 AFTB<sub>1</sub> 的初始含量增加,臭氧处理后的毒素降解率先上升后下降,降解率最大达到 88.1%,在给定条件下,可将含 68.42 μg/kg AFTB<sub>1</sub> 的稻谷降解到国家限量标准(10 μg/kg)。

### 参考文献

[1] 周建新,鞠兴荣,孙肖东,等.不同储藏条件下稻谷霉菌区系演替的研究[J].中国粮油学报,2008,23(5):133-136.

[2] 李群伟,王绍萍,鲍文生.真菌毒素与人类疾病的研究进展与展望[J].中国地方病防治杂志,2001,16(1):24-25.

[3] 王彦波,许梓荣,汪以真.饲料中的霉菌毒素[J].饲料博览,2002(8):26-28.

[4] 宫春波,姜连芳,张永翠,等.黄曲霉毒素在食品中的危害及去除方法[J].食品研究与开发,2004,25(1):120-123.

[5] 耿玉秋,农绍庄,伊霞,等.臭氧对脱水蔬菜杀菌效果的影响[J].保鲜与加工,2006,7(5):40-42.

[6] 施国伟,谢昌其,黄志宏.臭氧储粮灭菌杀虫技术研究[J].粮食储藏,2004,33(4):20-22.

[7] 付晓记,祝水兰,林勇敢,等.粮油原料贮藏前臭氧预杀虫灭菌技术研究[J].农产品加工(学刊),2013,9(11):76-78.

[8] 毕乃亮,韩尧堂.臭氧用于葡萄贮藏的实验研究[J].落叶果树,1990,25(3):4-6.

[9] Mendez F., Maier D.E., Mason L.J., et al. Penetration of ozone into columns of stored grains and effects on chemical composition and processing performance [J]. Journal of Stored Products Research, 2003, 39(1): 33-44.

[10] McKenzie K S, Sarr A B, Mayura K, et al. Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone [J]. Food and Chemical Toxicology, 1997, 35(8): 807-820.

[11] Prudente A, King J. Efficacy and safety evaluation of ozonation to degrade aflatoxin in corn [J]. Journal of Food Science, 2002, 67(8): 2866-2872.

[12] Inan F, Pala M, Doymaz I. Use of ozone in detoxification of aflatoxin B<sub>1</sub> in red pepper [J]. Journal of Stored Products Research, 2007, 43(4): 425-429.

[13] 邓捷,陈文洁,郭柏雪,等.臭氧降解玉米中赭曲霉毒素 A 的效果及对玉米脂肪酸的影响[J].食品科学,2011,32(21): 12-16.

[14] 罗建伟,李荣涛,陈兰,等.臭氧去除粮食中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的方法研究[J].粮食储藏,2003,32(4):29-33.

[15] Zorlugen B, Kiroglu Z F, Ztekin S, et al. The influence of gaseous ozone and ozonated water on microbial flora and degradation of aflatoxin B<sub>1</sub> in dried figs [J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46(12): 3593-3597.

[16] Luo X H, Wang R, Wang L, et al. Effect of ozone treatment on aflatoxin B<sub>1</sub> and safety evaluation of ozonized corn [J]. Food Control, 2014(37): 171-177.

[17] Luo X H, Wang R, Wang L, et al. Structure elucidation and toxicity analyses of the degradation products of aflatoxin B<sub>1</sub> by aqueous ozone [J]. Food Control, 2013(31): 331-336.

[18] Zorlugenc B, Zorlugenc F K, Oztekin S, et al. The influence of gaseous ozone and ozonated water on microbial flora and degradation of aflatoxin B<sub>1</sub> in dried figs [J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, (46): 3593-3597.

[19] Kim J G, Yousef A E, Khadre M A. Ozone and its current and future application in the food industry [J]. Advances in Food and Nutrition Research, 2003, 45: 167-218.

[20] 周建新,吴萌萌,包月红,等.臭氧处理稻谷降解黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的工艺条件优化[J].粮食储藏,2014,43(4):17-21.