

姚振宇,殷宪超,俞明正,等. 含水量、储存条件对储存期小麦中 DON、NIV 毒素含量变化的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(12):300-303. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.12.093

含水量、储存条件对储存期小麦中 DON、NIV 毒素含量变化的影响

姚振宇,殷宪超,俞明正,董飞,祭芳,徐剑宏,史建荣

(江苏省农业科学院食品质量与安全检测研究所/江苏省食品质量安全重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地/农业部农产品质量安全风险评估实验室(南京)/江苏省现代粮食流通与安全协同创新中心,江苏南京 210014)

摘要:研究含水量分别为 11.5%、12.8%、15.7% 的小麦在 4℃ 冷库、25℃ 恒温室、常温库、地下仓库 4 种环境下储藏 0~90 d 镰刀菌毒素 DON、NIV 含量的变化情况,并对不同储存环境下小麦含水量变化情况进行分析。结果表明:90 d 内,3 种含水量的小麦在 4℃ 冷库和 25℃ 恒温室条件下,DON、NIV 毒素均未发生显著变化。储存在常温库和地下仓库 2 种不可控环境下的 3 种含水量小麦在 60 d 后 DON 毒素含量降低,NIV 毒素含量未发生显著变化。

关键词:小麦;脱氧雪腐镰刀菌烯醇;雪腐镰刀菌烯醇;储藏;镰刀菌毒素

中图分类号: S339.3⁺2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)12-0300-03

镰刀菌毒素是由镰刀菌属 (*Fusarium* spp.) 中多种真菌产生的一类次级代谢产物,在自然界中分布十分广泛,不仅对食品产生严重污染,还会对人畜健康造成危害^[1-3]。镰刀菌毒素会引起人和牲畜的急性、慢性中毒,具有致癌、致畸、致突变等潜在危害,还与某些地方性疾病的发生有紧密联系。镰刀菌在代谢过程中会产生多种代谢物,包括雪腐镰刀菌烯醇 (nivalenol, NIV)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (deoxynivalenol, DON)、玉米赤霉烯酮 (zearalenone, ZEN)、伏马毒素 (fumonisin, FB1) 等^[4-6]。近年来,随着人们生活水平和健康意识的不断提高,食品质量安全越来越受到关注,有关镰刀菌毒素污染问题逐渐受到重视^[7]。研究表明,在小麦赤霉病常发地区,小麦及小麦加工制品中含有多种镰刀菌毒素^[8-9],这些毒素主要是由镰刀菌侵染小麦后产生的^[10-11]。以江苏省为例,2010、2012 年为赤霉病重发生年份,2013—2015 年均均为赤霉病中度发生年份。笔者实验室长期监测江苏省各市县小麦中的镰刀菌毒素,监测结果显示,2010—2012 年小麦中 DON 毒素检出率分别为 100%、33%、96%^[12]。赤霉病的连续暴发和镰刀菌毒素的污染现状引起了相关部门的高度重视,相关质检机构每年采集大量的小麦样品进行 DON 等镰刀菌毒素的检测。质检机构采集小麦样品进行真菌毒素检测时需要临时保存大量样品,并留有备样及副样。而小麦样品的含水量和保存条件将直接影响储存期小麦中真菌毒素含量的稳定性。

因此,明确不同含水量小麦样品在常见储存环境下的毒素含量变化规律,对于质检机构小麦样品收样、处理、保存具有重要的指导意义。本研究分析感染赤霉病的不同含水量小麦在不同储存条件下镰刀菌毒素随时间变化的规律,旨在为质检机构收样、处理和保存小麦样品提出建议。

1 材料与方法

1.1 样品的处理

从田间选择已经感染赤霉病的小麦,收获、脱粒并充分混匀。通过鼓风机干燥箱 45℃ 干燥,其间不断混匀,检测含水量,在达到预设含水量要求后取样,将 3 份小麦分别调整含水量至低(12% 以下)、中(13% 左右)、高(16% 左右)3 个梯度。利用谷物分样器将每个含水量的小麦分成 12 份,每份约 4 kg,装入聚乙烯袋子。样品平均分成 4 组,每组随机选取 3 份,分别放置于 25℃ 恒温室、4℃ 冷库、常温库、地下仓库保存。每个含水量小麦样品随机取样 3 份,作为对照。

1.2 仪器与试剂

Triple Quad 3500 LC-MS/MS(美国 AB Sciex 公司);YP30002 电子天平(上海佑科仪器仪表有限公司);LD-Y440A 高速万能粉碎机(上海顶帅电器有限公司);WGLL-230BE 电热鼓风干燥箱(天津泰斯特仪器有限公司);N-EVAP-112 氮吹仪(Organomation 公司);HYL-C 组合式摇床(太仓市强乐试验设备有限公司);HOBO 记录仪(美国 ProV2® U23-004 OnsetHOBO 公司);谷物水分测量仪(日本 KETT PM-8188-A 公司)。DON、NIV 标准品(纯度 >99%, 美国 Sigma 公司);甲醇和乙腈(色谱纯,德国 Merck 公司)。

1.3 储藏期温度、湿度测定

使用 HOBO 记录仪连续记录储藏期温度、湿度。

1.4 小麦含水量的测定与样品观察

使用谷物水分测量仪每隔 3~5 d 测量储藏期小麦的含水量。测量时,充分混匀待测小麦,多点取样。每袋每次测量 3 次。观察储存样品外观变化,有无霉变、虫蛀情况发生。

收稿日期:2016-10-11

基金项目:国家自然科学基金(编号:31601594);国家农产品质量安全风险评估项目(编号:GJFP2016001003);江苏省自然科学基金(编号:BK20130714);江苏省农业科技自主创新资金[编号: CX(16)1059]。

作者简介:姚振宇(1991—),男,江苏盐城人,硕士研究生,主要从事真菌毒素检测和治理方法研究。

通信作者:殷宪超,博士,助理研究员,主要从事真菌毒素检测和治理方法研究。Tel:(025)84392001;E-mail:yinxianchao@126.com。

1.5 毒素含量的测定

鼓风干燥小麦样品至含水量 11.5%，经粉碎机磨碎，每个样品称取 5 g(精确至 0.01 g)，倒入 100 mL 三角瓶中，加入 25 mL 体积分数为 80% 的乙腈溶液，三角瓶封口后放置于摇床中 200 r/min 振荡提取 30 min。振荡后将上清液倒入 5 mL 离心管并 2 500 r/min 离心 5 min，离心后收集上清液待净化。

将固相萃取柱 [Amino(NH₂) Agilent, 美国] 用 3 mL 80% 分析纯乙腈活化，当溶剂液面到达柱吸附表面时，立即移入 2 mL 上述净化液体，加入 3 mL 80% 乙腈洗脱 2 次，合并洗脱液于 15 mL 离心管中，随后放置于氮吹仪上，控制水浴温度 50 ℃，氮吹至近干，加入色谱甲醇定容至 1 mL，过 0.22 μm 有机滤膜，装入 2 mL 进样瓶中供 LC-MS/MS 分析，使用 LC-MS/MS 对毒素进行分析，色谱柱: Thermo Synchronis 1.7 μm, C₁₈ 100 mm × 2.1 mm，流动相 5 mmol/L 醋酸铵水和色谱甲醇，进样量 2 μL，柱温 40 ℃，氮气流速 0.7 mL/min。

1.6 统计分析

使用 SPSS 19.0 软件、Excel 软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 不同含水量小麦的设定

获得的不同含水量小麦样品分别为低含水量 11.5%、中含水量 12.8%、高含水量 15.7%。

2.2 储藏环境温度、湿度变化

如图 1 所示，90 d 储存期内，恒温室、冷库都表现了较好的环境稳定性，恒温室温度 (24.7 ± 0.6) ℃，湿度较低，为 (47.0 ± 0.6)%。冷库温度 (4.7 ± 0.3) ℃，湿度 (77.0 ± 0.6)%。常温库和地下室表现出一定的温度和湿度波动，常温库温度 (29.6 ± 4.7) ℃，湿度 (57.7 ± 4.2)%。地下室温度 (25.0 ± 2.8) ℃，湿度较大，为 (92.6 ± 2.4)%。

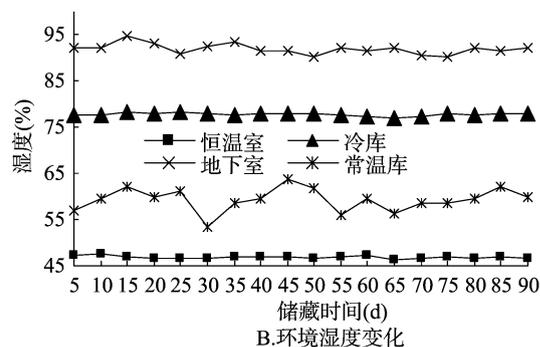
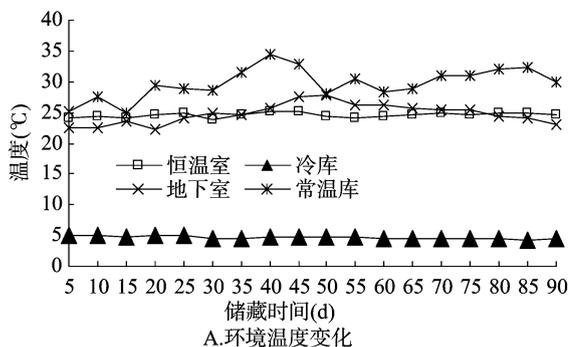
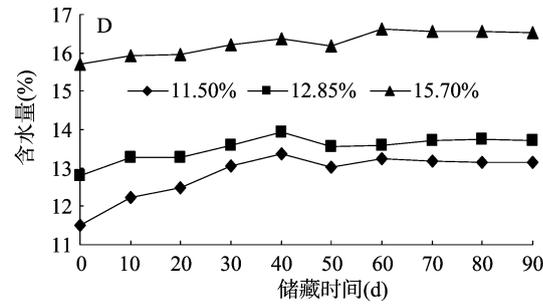
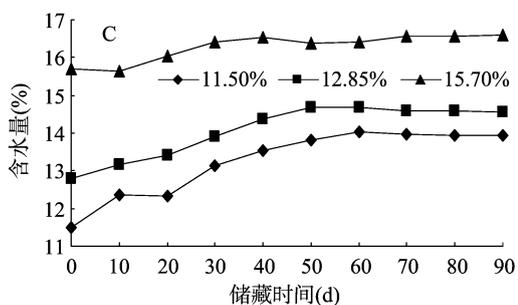
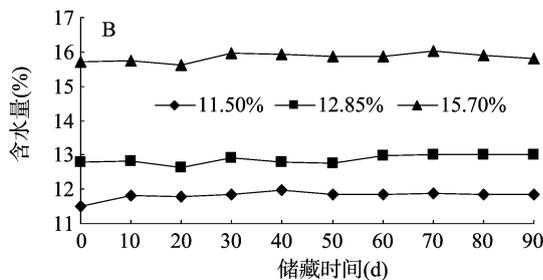
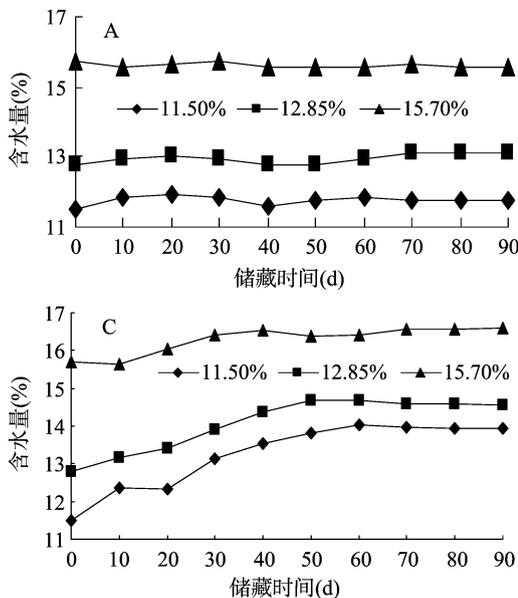


图1 储藏环境温度、湿度的变化

2.3 小麦含水量的测定

如图 2 所示，0~90 d 储藏期间，4 ℃ 冷库和 25 ℃ 恒温室储存条件下的小麦含水量未发生显著变化，地下室和常温库环境中 3 种含水量小麦的含水量都呈现先升高、后下降、最后

趋于平稳的趋势。储存于地下室和常温库的 15.7% 含水量小麦均于 5 d 时天出现了虫蛀情况，11.5%、12.8% 含水量小麦均在 55 d 开始出现虫蛀现象。



A—25 ℃ 恒温室；B—4 ℃ 冷库；C—地下室；D—常温库

图2 不同环境条件下小麦含水量变化情况

2.4 储存期小麦镰刀菌毒素浓度的变化

储存前小麦样品 DON 毒素浓度为 (2 800 ± 340) μg/kg，

定期取样检测小麦样品中 DON 毒素浓度，结果表明，11.5%、12.8%、15.7% 3 种含水量的小麦在 4 ℃ 冷库储存 90 d 后，

DON 毒素浓度分别为(2 769 ± 259)、(2 672 ± 275)、(2 877 ± 244) μg/kg。在 25 °C 恒温室储存 90 d 后, 11.5%、12.8%、15.7% 3 种含水量的小麦中 DON 毒素浓度分别为(2 497 ± 296)、(2 656 ± 256)、(2 498 ± 192) μg/kg。2 种条件下保存 90 d 后小麦样品 DON 毒素浓度与储存前比较差异均不显著。储存于地下室条件下的 11.5% 含水量的小麦样品 60 d 时 DON 浓度为(2 313 ± 248) μg/kg, 与储存前样品比较, DON 毒素含量显著降低, 70 d 时 DON 浓度为(2 054 ± 276) μg/kg。12.8% 含水量的小麦样品在地下室和常温库储存条件下 70 d 时 DON 浓度分别为(2 288 ± 276)、(2 127 ± 276) μg/kg, 与储存前比均显著降低。15.7% 含水量小麦样品在地下室和常

温库储存条件下, 60 d 时 DON 毒素浓度明显降低(图 3)。

储存前检测小麦样品 NIV 毒素浓度为(464 ± 33) μg/kg。11.5% 含水量小麦储存于 4 °C 冷库、25 °C 恒温室、地下室、常温库 90 d 后, NIV 浓度分别为(465 ± 29)、(466 ± 52)、(433 ± 48)、(401 ± 38) μg/kg。12.8% 含水量小麦在 4 种环境下 NIV 浓度分别为(454 ± 45)、(470 ± 53)、(427 ± 45)、(400 ± 53) μg/kg。15.7% 含水量小麦在 4 种储存条件下 NIV 浓度分别为(460 ± 29)、(461 ± 52)、(426 ± 42)、(384 ± 31) μg/kg。储存于 4 种条件下的 11.5%、12.8%、15.7% 3 种含水量小麦储存 90 d 后 NIV 毒素浓度均未发生显著变化(图 4)。

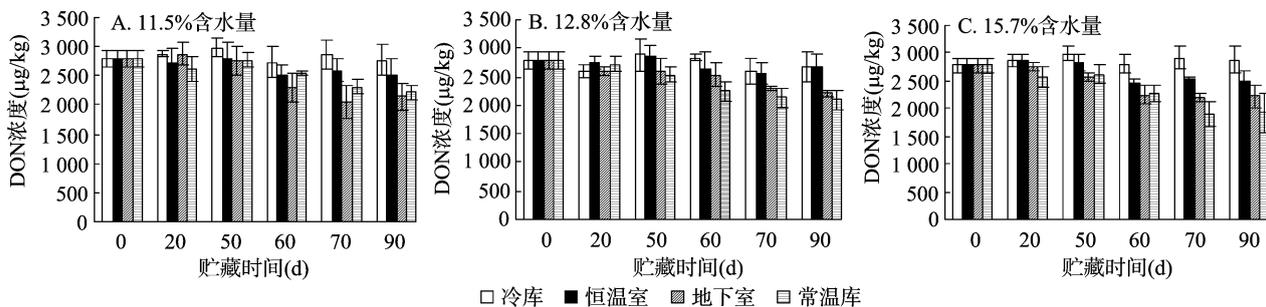


图3 90 d 储存期内不同含水量小麦中 DON 毒素浓度变化

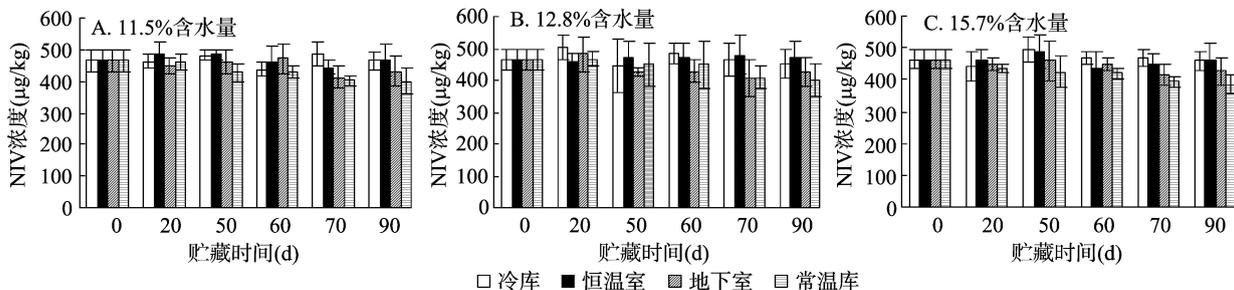


图4 90 d 储存期内不同含水量小麦中 NIV 毒素浓度变化

3 结论与讨论

禾谷镰刀菌侵染小麦后, 会在小麦穗部发生赤霉病病害, 并产生镰刀菌毒素如 DON、NIV 等, 导致收获后的小麦携带病原菌。储存期的小麦, 镰刀菌是否会继续生长并产生毒素导致毒素浓度增加, 成为待检测镰刀菌毒素小麦样品保存的主要难点之一。本研究将 3 种含水量小麦储存于 4 种环境中, 均未发现 DON、NIV 毒素浓度增加现象。抽样观测发现, 部分小麦在后期出现了虫蛀现象, 但未出现发霉情况, 因此未有可见霉菌生长情况。前人研究发现, 在小麦储存期当小麦含水量超过 17% ~ 19% 时, 禾谷镰刀菌能生长并产生毒素^[11, 13-14]。本研究中小麦样品含水量最高为 15.7%, 低于 17%, 因此未发生镰刀菌继续生长并产毒的情况。储存于地下室和常温库的小麦样品从 60 d 开始, DON 毒素浓度降低, 这与样品发生虫蛀的时间基本一致。储存于 25 °C 恒温环境中的小麦未出现虫蛀现象, 也未出现 DON 毒素浓度降低的情况, 这也说明虫蛀与 DON 浓度减少存在一定关系。正常的收获小麦完全晒干后水分通常在 12.5% 以内, 常温下储存时含水量一般在

14% 以内^[15-17]。本研究选择的小麦含水量区间在 11.5% ~ 15.7%, 基本涵盖了正常收获成熟小麦的含水量范围。

小麦质检机构追诉期通常不超过 3 个月, 因此本研究设计的 90 d 存储期符合样品小麦保存期限的要求。本研究的 4 种储存条件中, 4 °C 是较为理想的样品储存环境, 11.5%、12.8%、15.7% 3 种含水量的小麦在 90 d 存储期内, DON、NIV 毒素含量均未发生显著变化。地下室和常温库环境相对不受控制, 温度、湿度变化较大, 容易导致小麦含水量变化, 并可能发生霉变或虫蛀等情况。25 °C 恒温间如果短期存放不会对样品中镰刀菌毒素的浓度发生影响, 但是存放时间较长, 或样品含水量达到 17% 以上时, 也存在样品发霉或虫蛀导致毒素含量变化的可能。将含水量低于 15.7% 的小麦样品保存于 4 °C 以下的环境中, 在 90 d 内小麦 DON、NVI 毒素浓度不会发生显著变化。

参考文献:

- [1] 刘永杰. 小麦赤霉病的危害及防治措施[J]. 现代农村科技, 2012(15): 22-23.

廖文艳,徐致远,刘振民. 大豆多糖在常温褐色乳酸菌饮品中的应用[J]. 江苏农业科学,2016,44(12):303-305.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.12.094

大豆多糖在常温褐色乳酸菌饮品中的应用

廖文艳,徐致远,刘振民

(光明乳业股份有限公司技术中心/乳业生物技术国家重点实验室,上海 200436)

摘要:研究瑞士乳杆菌接种量、发酵时间对 pH 值即酸度的影响,果胶、大豆多糖添加量对褐色乳酸菌饮料黏度以及感官的影响;并以离心沉淀率为评价指标,研究大豆多糖添加量、pH 值对大豆多糖体系稳定性的影响。结果表明:在等量接种量时瑞士乳杆菌发酵速度明显快于干酪乳杆菌,可以有效提高生产效率;与果胶相比,以大豆多糖为稳定剂的乳饮料黏度更低,感官评定结果最佳;大豆多糖在褐色乳饮料中的稳定作用受添加量与 pH 值影响较大,添加量为 4.0~4.5 g/L,pH 值为 3.60~3.75 可以获得较好的稳定性及口感。

关键词:大豆多糖;褐色乳饮料;黏度;稳定性

中图分类号: TS275.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)12-0303-03

近年来,以养乐多为代表的褐色乳酸菌饮料红遍大江南北,该类产品的口感清新爽口,营养保健功能逐步被大众认可。味全、蒙牛、伊利等公司先后推出低温褐色乳酸菌饮品。目前,市场上低温褐色乳酸菌饮品一般在冷藏条件下可以保藏约 21 d,因此运输、销售全程必须在冷藏条件下进行,那些偏僻、遥远、无法保证冷链的落后地区无法直接购买到该类产品的。常温褐色乳酸菌饮品经过超高温瞬时处理(UHT)杀菌,使得该产品可以脱离冷链、无需冷藏,从而拓展销售半径,

打破低温乳酸菌饮品只能在冷链配套完善的发达地区销售的局面,让更多的国人受益。但是常温褐色乳酸菌饮品须在常温下保藏 6 个月,同时需要口感清爽,因此产品的稳定体系尤其重要。

目前,低温活性褐色乳酸菌饮料通常是不添加稳定剂^[1-2]或者是单独使用稳定剂羧甲基纤维素钠,果胶、大豆多糖等也可以复配使用^[3-6],但是对常温灭菌型的褐色乳酸菌饮料稳定性的研究较少。本研究针对常温灭菌型褐色乳酸菌饮料制作工艺,研究瑞士乳杆菌接种量、发酵时间对 pH 值及酸度的影响;同时结合感官评定试验,比较果胶以及大豆多糖添加量对产品黏度的影响;以离心沉淀率为判断指标,探讨大豆多糖添加量以及 pH 值对最终产品稳定性的影响,为研究褐色活性乳酸菌饮品的稳定性提供理论参考。

收稿日期:2015-07-13

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2012BAD28B07)。

作者简介:廖文艳(1984—),女,江西丰城人,硕士研究生,从事乳制品研究与开发工作。E-mail:mimiliao1984@163.com。

通信作者:刘振民,博士,教授级高级工程师,主要从事乳制品研发工作。E-mail:liuzhenmin@brightdairy.com。

[2]尹杰,伍力,彭智兴,等. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇的毒性作用及其机理[J]. 动物营养学报,2012,24(1):48-54.

[3]程顺和,张勇,别同德,等. 中国小麦赤霉病的危害及抗性遗传改良[J]. 江苏农业学报,2012,28(5):938-942.

[4]霍星华,赵宝玉,万学攀,等. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇的毒性研究进展[J]. 毒理学杂志,2008,22(2):151-154.

[5]汪洋,张小溪,张晓琳. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇生物脱毒的研究进展[J]. 中国粮油学报,2015,30(7):128-134.

[6]Vrabcheva T, Gebler R, Usleber E, et al. First survey on the natural occurrence of *Fusarium* mycotoxins in Bulgarian wheat [J]. Mycopathologia, 1996, 136(1):47-52.

[7]李斌. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇毒理学研究进展[J]. 国外医学(卫生学分册), 1998, 25(2):97-100.

[8]McMullen M, Jones R, Gallenberg D. Scab of wheat and barley: a reemerging disease of devastating impact[J]. Plant Disease, 1997, 81(12):1340-1348.

[9]李娜,孙辉,唐朝晖,等. 小麦及其制品加工过程主要真菌毒素含量的变化[J]. 粮油食品科技, 2014, 22(2):30-35.

[10]郝海燕,王连平,诸葛根樟. 农家稻谷贮藏期真菌区系和霉变损失研究[J]. 植物保护学报, 1992, 19(1):69-74.

[11]Champeil A, Doreé T, Fourbet J F. *Fusarium* head blight: epidemiological origin of the effects of cultural practices on head blight attacks and the production of mycotoxins by *Fusarium* in wheat grains [J]. Plant Science, 2004, 6(166):1389-1415.

[12]Ji F, Xu J, Liu X, et al. Natural occurrence of deoxynivalenol and zearalenone in wheat from Jiangsu province, China [J]. Food Chemistry, 2014, 157:393-397.

[13]Larsen J C, Hunt J, Perrin I, et al. Workshop on trichothecenes with a focus on DON: summary report [J]. Toxicology Letters, 2004, 153(1):1-22.

[14]Zinedine A, Soriano J M, Moltó J C, et al. Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: an oestrogenic mycotoxin [J]. Food and Chemical Toxicology, 2007, 45(1):1-18.

[15]樊平声,冯伟民,卢昱宇. 储存对小麦中 DON 毒素含量的变化规律研究[J]. 生物灾害科学, 2012, 35(3):268-270.

[16]申红红,杨美华,欧阳臻. 镰刀菌毒素 DON 和 NIV 研究进展[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(16):8425-8428.

[17]赵瑞琦,曹峻岭. 真菌毒素 NIV 研究进展[J]. 国外医学医学地理分册, 1999, 12(20):166-169.