

蜜环菌对玉米加工副产物中玉米赤霉烯酮降解效果

王泽贤, 赵宇楠, 高飞, 孙小焯, 刘立鹏, 张鑫, 蔡丹*

(吉林农业大学 食品科学与工程学院, 小麦和玉米深加工国家工程研究中心, 吉林 长春 130118)

摘要:以蜜环菌 Am-07-22 为发酵菌株, 以玉米皮和玉米黄粉为主要研究对象, 以玉米赤霉烯酮的降解率为指标, 考察不同发酵时间、发酵温度、料液比、接种量对玉米皮和玉米黄粉中玉米赤霉烯酮降解率的影响, 并研究蜜环菌 Am-07-22 对玉米皮和玉米黄粉不同比例混合物的毒素降解效果及产物中蛋白质和多糖的含量变化。结果表明: 蜜环菌降解玉米皮中玉米赤霉烯酮的最佳条件为发酵温度 27 °C、料液比 1:1.5 (g/mL)、接种量 10%, 玉米赤霉烯酮的降解率为 93.63%, 蜜环菌降解玉米黄粉中玉米赤霉烯酮的最佳条件为发酵温度 27 °C、料液比 1:2 (g/mL)、接种量 12.5%, 玉米赤霉烯酮的降解率为 96.60%。蜜环菌 Am-07-22 固态发酵不同质量比的玉米皮、玉米黄粉(1:1、1:2、2:1) 中玉米赤霉烯酮的降解率分别为 95.93%、96.62% 和 96.97%, 质量比为 2:1 的玉米皮、玉米黄粉中蛋白质和多糖含量提高, 分别提高 91% 和 52%。蜜环菌 Am-07-22 不仅对玉米加工副产物中玉米赤霉烯酮有良好的降解效果, 同时提高产物中蛋白质和多糖含量。

关键词: 蜜环菌 Am-07-22; 玉米赤霉烯酮; 微生物降解; 玉米皮; 玉米黄粉

Degradation Effect of *Armillaria mellea* on Zearalenone in Corn Processing By-products

WANG Zexian, ZHAO Yunan, GAO Fei, SUN Xiaozhuo, LIU Lipeng, ZHANG Xin, CAI Dan*

(College of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, National Engineering Research Center for Deep Processing of Wheat and Corn, Changchun 130118, Jilin, China)

Abstract: *Armillaria mellea* 07-22 was used as the fermentation strain, corn husk and corn gluten meal were the main research objects, and the degradation rate of zearalenone was used as the index to investigate the effects of different fermentation time, fermentation temperature, material-liquid ratio, and inoculation amount on the degradation rate of zearalenone in corn husk and corn gluten meal. The toxic degradation effect of *Armillaria mellea* 07-22 on the mixtures of corn husk and corn gluten meal with different proportions and the changes in protein and polysaccharide contents of the product were also studied. The results showed that the optimal conditions for Am-07-22 to degrade zearalenone in corn husk were a fermentation temperature of 27 °C, a material-liquid ratio of 1:1.5 (g/mL), and an inoculation amount of 10%, achieving a degradation rate of 93.63%. For corn gluten meal, the optimal conditions were a fermentation temperature 27 °C, a material-liquid ratio of 1:2 (g/mL), and an inoculation amount of 12.5%, resulting in a degradation rate of 96.60%. In solid-state fermentation of different mass ratios of corn husks and corn gluten meal (1:1, 1:2, 2:1), the degradation rates of zearalenone by *Armillaria mellea* 07-22 were 95.93%, 96.62% and 96.97%, respectively. The protein and polysaccharide contents in corn husk and corn gluten meal with the quality ratio of 2:1 increased most significantly by 91% and 52%, respectively. *Armillaria mellea* 07-22 not only exhibited excellent degradation capabilities for zearalenone in corn processing by-products, but also improved the protein and polysaccharide content in the resulting products.

Key words: *Armillaria mellea* 07-22; zearalenone; microbial degradation; corn husk; corn gluten meal

基金项目: 吉林省科技发展计划项目(20210203124SF)

作者简介: 王泽贤(1998—), 男(汉), 硕士研究生, 研究方向: 粮食副产物加工与安全。

*通信作者: 蔡丹(1980—), 女(汉), 教授, 博士, 研究方向: 真菌发酵及粮食副产物综合利用。

引文格式:

王泽贤,赵宇楠,高飞,等. 蜜环菌对玉米加工副产物中玉米赤霉烯酮降解效果[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(5): 60-66, 195.

WANG Zexian, ZHAO Yunan, GAO Fei, et al. Degradation Effect of *Armillaria mellea* on Zearalenone in Corn Processing By-products [J]. Food Research and Development, 2024, 45(5): 60-66, 195.

玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN)是一类主要由镰刀菌产生的非甾体雌激素真菌毒素,广泛存在于玉米、大麦、小麦、高粱和其他谷物饲料及其副产品中^[1]。ZEN的污染在全世界均有发生,ZEN的污染造成了巨大的经济损失,严重危害食品安全、粮食安全、饲料安全、健康安全等^[2]。ZEN与类雌激素具有相似的特性,会激活雌激素受体,引起农产动物的流产、死胎、畸形胎等生殖障碍,还会造成免疫损伤、肝肾损伤、遗传毒性、诱发癌症等症状^[3-4]。

ZEN在玉米及其加工副产物中污染严重, Ma等^[5]研究发现,2016年~2017年中国21个省份采集的玉米样品中,ZEN的阳性检出率为92.05%; Han等^[6]研究50份玉米样品中ZEN及其4种衍生物的污染,ZEN、 α -玉米赤霉烯醇和 β -玉米赤霉烯醇的污染率分别为94%、38%和44%。常见的ZEN脱毒方法包括物理方法、化学方法和生物方法。然而,物理和化学方法都是非靶向方法,对各种营养成分有一定程度的破坏,且降解效率不高。化学降解还涉及与添加化学物质相关的安全问题,限制其发展。生物降解具有巨大的发展前景,受到学术界越来越多的关注^[7]。

食用菌作为一种大型真菌属于担子菌门,具有较高的药用和营养价值,主要包括香菇、平菇、金针菇、蜜环菌、猴头菌等,富含多种生物活性物质,例如生物碱、类胡萝卜素、酚类、萜烯和 β -葡聚糖等^[8]。利用食用菌发酵玉米副产物可有效增加营养成分含量,改善大分子物质结构,提高抗氧化活性等。Lou等^[9]筛选出具有高漆酶活性的食用真菌Gs-1,不仅可以有效降解玉米中的黄曲霉毒素B₁,还可以通过增加蛋白质、膳食纤维和赖氨酸的含量来改善玉米的营养成分。雷彤彤等^[10]以玉米为固体培养基,接种猴头菌进行发酵,与未发酵的玉米相比,发酵后的粗纤维和不溶性膳食纤维含量分别降低了23.9%和20.0%,可溶性膳食纤维含量提高了15.7%。本课题组前期研究发现蜜环菌Am-07-22具有能够降解真菌毒素的潜力,并且可以通过发酵玉米蛋白粉获得活性肽^[11],产生菌丝体多糖^[12],可显著提高玉米加工副产物中活性成分的含量。

本研究采用蜜环菌Am-07-22生物降解玉米皮和玉米黄粉两种玉米加工副产物中的玉米赤霉烯酮,研究生物降解条件和降解效果,同时考察毒素降解过程中蛋白质和多糖的含量变化,以期ZEN的生物脱毒提供新的菌株资源,同时也为食用菌应用于玉米加工

副产物综合利用提供新的研究思路。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 菌株和试剂

蜜环菌 Am-07-22 (*Armillaria mellea* 07-22): 吉林农业大学小麦和玉米深加工国家工程研究中心保藏; 玉米皮、玉米黄粉、马铃薯、蚕蛹粉: 吉林农业大学小麦和玉米深加工国家工程研究中心提供。ZEN 固体标准品(色谱纯): 青岛普瑞邦(Pribolab)生物工程有限公司; 甲醇(色谱纯): 美国Sigma公司; 葡萄糖、蔗糖、酵母浸粉、磷酸二氢钾、七水合硫酸镁(均为分析纯): 天津光复科技发展有限公司; 维生素B₁(分析纯): 上海卡伊生物技术有限公司; 12°Bé 麦芽汁培养基: 青岛高科技工业园海博生物技术有限公司。

1.1.2 仪器与设备

1200型高效液相色谱仪: 美国Agilent公司; FLUOstar Omega全自动酶标仪: 德国BMG LABTECH公司; Allegra X-30R高速离心机: 美国Beckman公司; DSX-18L-I手提式高压蒸汽灭菌锅: 上海申安医疗器械厂; Stab S2振荡培养箱: 上海润度生物科技有限公司; HH-S4数显恒温水浴锅: 常州市金坛友联仪器研究所; BSA2245电子分析天平: Sartorius(北京)有限公司; YLA-6000烘箱: 上海实验仪器厂有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 预处理与培养基的制备

将玉米皮、玉米黄粉经清洗、烘干、粉碎处理后,过60目筛备用。

蜜环菌 Am-07-22 固体斜面培养基: 12°Bé 麦芽汁琼脂培养基。蜜环菌 Am-07-22 液体培养基: 马铃薯20%、蚕蛹粉0.5%、葡萄糖1%、蔗糖1%、酵母浸粉2%、磷酸二氢钾0.15%、七水合硫酸镁0.075%、维生素B₁0.001%, pH自然, 121℃灭菌20 min。

玉米皮固态发酵培养基: 玉米皮粉5g、马铃薯20%、蚕蛹粉0.5%、葡萄糖1%、蔗糖1%、磷酸二氢钾0.15%, 七水硫酸镁0.075%, 维生素B₁0.001%, pH自然, 121℃灭菌20 min。

玉米黄粉固态发酵培养基: 玉米黄粉5g、马铃薯20%、蚕蛹粉0.5%、葡萄糖1%、蔗糖1%、磷酸二氢钾0.15%, 七水硫酸镁0.075%, 维生素B₁0.001%, pH自然, 121℃灭菌20 min。

1.2.2 ZEN 的检测

参考骆翼^[13]的方法并加以改进,检测条件为色谱柱:Extend-C18柱,柱长150 mm,内径4.6 mm,粒度5 μm。流动相:甲醇:水=70:30(体积比),柱温:25℃,流速:0.6 mL/min,进样量:20 μL,紫外吸收波长:236 nm。

1.2.3 ZEN 标准曲线的绘制

ZEN 固体标准品用甲醇溶液稀释,配制成浓度为100 μg/mL的ZEN标准储备液,于-20℃避光保存。吸取适量的ZEN标准储备液,用甲醇稀释,配制成15.0、10.0、5.0、2.0、1.0、0.5、0.2 μg/mL的系列标准工作液,4℃避光保存。系列标准工作液经过0.22 μm滤膜过滤后,使用高效液相色谱仪进行检测,记录峰面积。以ZEN浓度为横坐标,以高效液相色谱检测ZEN的峰面积为纵坐标绘制标准曲线。

1.2.4 玉米皮和玉米黄粉中ZEN含量及回收率测定

称取50.0 g粉碎的玉米皮粉和玉米黄粉,加入乙腈水溶液(乙腈与水的体积比9:1)100 mL混匀,1 000 r/min振荡混合30 min。搅拌提取后,用玻璃纤维滤纸过滤,在离心机中以4 000 r/min离心10 min。吸取离心后的上清液2 mL,经过0.22 μm滤膜过滤后使用高效液相色谱仪检测ZEN含量。

参考翟聪凝^[14]的方法对ZEN的回收率进行测定,分别称取处理后的玉米皮和玉米黄粉10.0 g,加入含量为2 mg/kg的ZEN,测定含量,每个样品3个重复。按下列公式计算ZEN的回收率(R ,%)。

$$R = \frac{c_1}{c_2} \times 100$$

式中: c_1 为测定的ZEN含量,μg/kg; c_2 为添加的ZEN含量,μg/kg。

1.2.5 蜜环菌活化培养

参考何音华^[11]的方法对菌种进行活化,将保藏的蜜环菌Am-07-22菌种转接至12°Be新鲜麦芽汁琼脂斜面培养基中,并置于恒温培养箱中,27℃培养至第12天备用。

将活化好的菌株从固体斜面培养基中取8块1 cm³的菌体分别接种至30 mL液体培养基中,于27℃恒温摇床中160 r/min振荡培养6 d,培养结束即为制得的一级种子液,于4℃的条件下保存。再将一级种子液打碎,以8%接种量接种至200 mL液体种子培养基中,于27℃、160 r/min条件下再次振荡培养6 d,得到二级种子液。二级种子液于4℃条件下保存。

1.2.6 发酵时间对蜜环菌Am-07-22固态发酵降解ZEN的影响

分别向玉米皮和玉米黄粉固态发酵培养基中加入接种量为10%的蜜环菌Am-07-22二级种子液[料液比为1:1.5(g/mL)],置于培养箱中发酵1~10 d,发酵温度为27℃,每12 h取样一次,分别测定发酵10 d内的

ZEN含量,并计算ZEN的降解率。每个样品做3个重复。ZEN降解率(X ,%)计算公式如下。

$$X = \frac{A - B}{A} \times 100$$

式中: A 为ZEN未发酵组含量,μg/kg; B 为样品组含量,μg/kg。

1.2.7 发酵温度对蜜环菌Am-07-22固态发酵降解ZEN的影响

分别向玉米皮和玉米黄粉固态发酵培养基中[料液比为1:1.5(g/mL)]加入接种量为10%的蜜环菌Am-07-22二级种子液,置于培养箱中发酵7 d,分别设定发酵温度为21、24、27、30、33℃,发酵结束后测定ZEN含量,并计算ZEN的降解率。每个样品做3个重复。

1.2.8 料液比对蜜环菌Am-07-22固态发酵降解ZEN的影响

分别向玉米皮和玉米黄粉固态发酵培养基中加入接种量为10%的蜜环菌Am-07-22二级种子液进行发酵,料液比分别为1:1.0、1:1.5、1:2.0、1:2.5、1:3.0(g/mL),将其置于培养箱中发酵7 d,发酵温度为27℃,发酵结束后测定ZEN含量,并计算ZEN的降解率。每个样品做3个重复。

1.2.9 接种量对蜜环菌Am-07-22固态发酵降解ZEN的影响

分别向玉米皮粉和玉米黄粉固态发酵培养基中[料液比为1:1.5(g/mL)]加入蜜环菌Am-07-22二级种子液进行发酵,接种量分别为5.0%、7.5%、10.0%、12.5%、15.0%,将其置于培养箱中发酵7 d,发酵温度为27℃,发酵结束后测定ZEN含量,并计算ZEN的降解率。每个样品做3个重复。

1.2.10 ZEN污染程度对蜜环菌Am-07-22固态发酵降解的影响

向粉碎过筛后的玉米皮粉和玉米黄粉中加入ZEN标准溶液并充分混合均匀,制成ZEN污染的玉米皮粉和玉米黄粉,ZEN添加量分别为3、5、8、10 mg/kg,向其中添加其他成分后制成ZEN污染的固态发酵培养基,然后加入蜜环菌Am-07-22二级种子液进行发酵,料液比为1:1.5(g/mL),接种量为10%,将其置于培养箱中发酵10 d,发酵温度为27℃,发酵结束后测定ZEN含量,并计算ZEN的降解率。同时以未污染的玉米皮和玉米黄粉作为对照。

1.2.11 蜜环菌Am-07-22固态发酵不同质量比玉米皮、玉米黄粉ZEN降解率的测定

分别向不同质量比的玉米皮和玉米黄粉(1:1、1:2、2:1)固态发酵培养基中加入接种量为10%的蜜环菌Am-07-22二级种子液[料液比为1:1.5(g/mL)],置于培养箱中发酵1~10 d,发酵温度为27℃,分别测定发酵10 d内ZEN含量,每隔12 h取一次样,计算

ZEN 的降解率同 1.2.6。每个样品做 3 个重复。

1.2.12 蜜环菌 Am-07-22 固态发酵不同质量比玉米皮、玉米黄粉蛋白质含量测定

蜜环菌 Am-07-22 固态发酵结束后,参考杨小丽等^[15]的方法采用考马斯亮蓝 G-250 染色法测定蛋白质含量,使用蛋白定量测定试剂盒测定不同配比的玉米皮和玉米黄粉固态发酵过程中蛋白质的含量变化。按照以下公式计算蛋白含量。

$$X = \frac{A_1 - A_0}{A_2 - A_0} \times C_1 \times N$$

式中: X 为待测样品蛋白质含量, g/100 g; C_1 为标准液浓度, 0.524 g/L; N 为样本测试前稀释倍数; A_2 为标准管的吸光度; A_0 为样本空白管的吸光度; A_1 为样品测定管的吸光度。

1.2.13 蜜环菌 Am-07-22 固态发酵不同配比玉米皮、玉米黄粉多糖含量测定

蜜环菌 Am-07-22 固态发酵结束后,参考白海等^[16]的方法使用 3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS)法测定多糖的含量。首先称取 6.5 g DNS 溶于水,移入 1 000 mL 容量瓶,加入 2 mol/L 氢氧化钠溶液 325 mL,再加入 45 g 丙三醇,摇匀,冷却后定容到 1 000 mL。然后准确称取标准葡萄糖 20 mg 于 500 mL 容量瓶中,加水至刻度,分别吸取 0.4、0.6、0.8、1.2、1.4、1.6、1.8 mL 并用蒸馏水补至 2.0 mL,各加入 3,5-二硝基水杨酸溶液 2 mL,置于沸水中 2 min 进行显色,然后以流水迅速冷却,用水定容到 25 mL,摇匀。以空白调零,在 540 nm 处测定吸收度,以多糖含量为横坐标,以吸光度为纵坐标绘制标准曲线。取多糖样品 1.0 g 加 1.0 mL 蒸馏水,然后加入 DNS 2.0 mL,置于沸水中 2 min 进行显色冷却后,于 540 nm 处测得吸光度,带入标准曲线后得到多糖含量。

1.3 统计与分析

所有试验均重复 3 次,并用平均值±标准差表示。采用 IBM SPSS Statistics 24 软件进行数据的显著性分析, $P < 0.05$ 表示具有显著性差异。使用 Origin 2019 软件进行数据处理与图像绘制。

2 结果与分析

2.1 ZEN 标准曲线

标准曲线如图 1 所示。

由图 1 可知,标准曲线线性回归方程为 $y=150.13x+5.0423$, $R^2=0.9999$,表明线性关系良好。

2.2 玉米皮、玉米黄粉中 ZEN 含量及回收率

玉米皮、玉米黄粉中 ZEN 含量及回收率见表 1。

由表 1 可知,玉米皮和玉米黄粉中 ZEN 的含量分别为 2 152.52 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 1 962.12 $\mu\text{g}/\text{kg}$,相较于 GB 13078—2017《饲料卫生标准》中 ZEN 的含量存在不同程度的

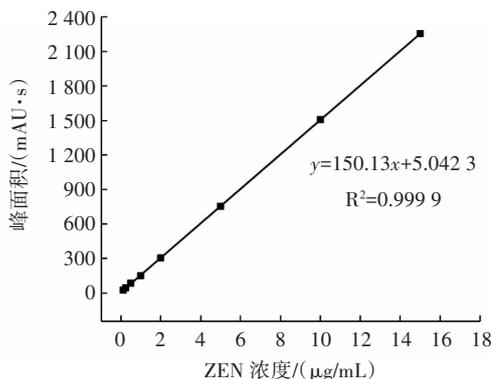


图 1 玉米赤霉烯酮的标准曲线

Fig.1 Standard curve of ZEN

表 1 玉米皮和玉米黄粉中 ZEN 含量及 ZEN 回收率

Table 1 ZEN content and ZEN recovery rate in corn husk and corn gluten meal

种类	ZEN 含量/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	ZEN 回收率/%
玉米皮	2 152.52±12.19	87.94±5.32
玉米黄粉	1 962.12±4.02	94.38±4.58

超标,国标要求玉米皮、喷浆玉米皮、玉米浆干粉、玉米酒糟类产品中的 ZEN 的含量 $\leq 1.5 \text{ mg}/\text{kg}$ (1 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$),其中玉米皮超标比玉米黄粉超标更为严重,玉米皮超标 652.52 $\mu\text{g}/\text{kg}$,而玉米黄粉则超标 462.12 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。通过对玉米皮和玉米黄粉的 ZEN 回收率进行测定可知,玉米皮的 ZEN 回收率为 87.94%,玉米黄粉的回收率为 94.38%,表明此方法对 ZEN 的回收率较高,准确性良好,符合检测标准。

2.3 发酵时间对蜜环菌 Am-07-22 固态发酵玉米皮、玉米黄粉 ZEN 降解率的影响

发酵时间对蜜环菌 Am-07-22 固态发酵玉米皮、玉米黄粉 ZEN 降解率的影响见图 2。

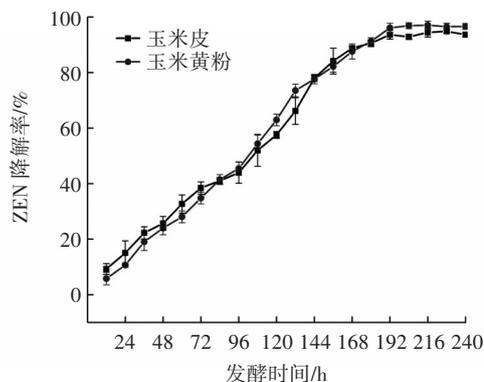


图 2 发酵时间对 Am-07-22 固态发酵玉米皮和玉米黄粉降解 ZEN 的影响

Fig.2 Effect of fermentation time on the degradation of ZEN in corn husk and corn gluten meal by Am-07-22 solid-state fermentation

由图2可知,蜜环菌 Am-07-22 对玉米皮和玉米黄粉中 ZEN 降解率随发酵时间的延长而逐渐升高,发酵 180 h 时对两者中 ZEN 的降解率均超过了 90%,而在 192~240 h,对 ZEN 的降解率较大且保持相对稳定。其中对玉米皮中 ZEN 的最大降解率为 94.83%,对玉米黄粉中 ZEN 的最大降解率为 97.04%。表明发酵时间对蜜环菌 Am-07-22 降解玉米皮和玉米黄粉中 ZEN 的效果影响较大,这与 Yang 等^[17]的研究结论一致。

2.4 发酵温度对蜜环菌 Am-07-22 固态发酵玉米皮、玉米黄粉 ZEN 降解率的影响

发酵温度对 Am-07-22 固态发酵玉米皮和玉米黄粉降解 ZEN 的影响见图 3。

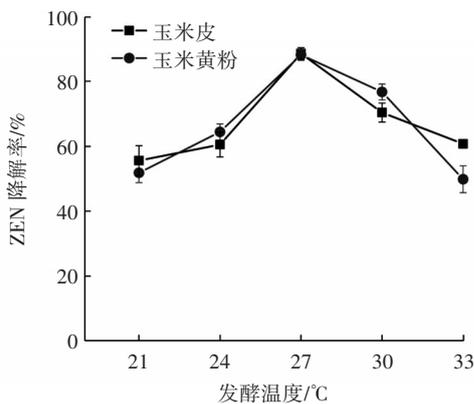


图3 发酵温度对 Am-07-22 固态发酵玉米皮和玉米黄粉降解 ZEN 的影响

Fig.3 Effect of fermentation temperature on the degradation of ZEN in corn husk and corn gluten meal by Am-07-22 solid-state fermentation

由图3可以看出,随着发酵温度的升高,ZEN 的降解率呈现先升高后下降的趋势,在 27 °C 时,对玉米皮和玉米黄粉中 ZEN 的降解率最高,分别达到 88.54% 和 88.15%。而在温度较低或温度较高时,降解率则低于 27 °C 的降解率。说明 27 °C 为蜜环菌 Am-07-22 在玉米皮和玉米黄粉固态发酵降解 ZEN 过程中的最适温度,较低或较高的发酵温度会影响菌株的生长进而影响菌株对 ZEN 的降解能力^[18-19]。

2.5 料液比对蜜环菌 Am-07-22 固态发酵玉米皮、玉米黄粉降解 ZEN 的影响

料液比对蜜环菌 Am-07-22 固态发酵玉米皮、玉米黄粉降解 ZEN 的影响见图 4。

从图4可以看出,在料液比为 1:1.5 (g/mL) 和 1:2.0 (g/mL) 时对玉米皮和玉米黄粉中 ZEN 的降解率差异不明显,对玉米皮中 ZEN 的降解率分别为 88.70% 和 87.07%,而对玉米黄粉中 ZEN 的降解率分别为 84.61% 和 86.56%,对玉米皮中 ZEN 的降解率略高于玉米黄粉中 ZEN 的降解率。料液比 1:1.0 (g/mL) 时对二者的降解率仅为 65.69% 和 67.38%,此时的溶

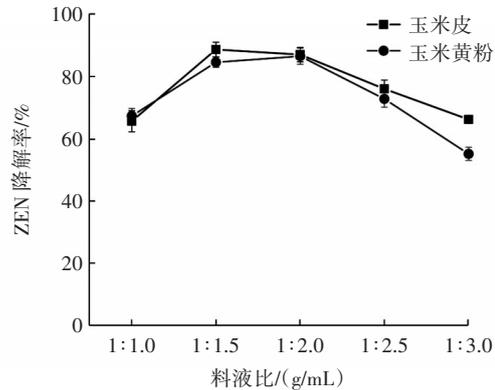


图4 料液比对 Am-07-22 固态发酵玉米皮和玉米黄粉降解 ZEN 的影响

Fig.4 Effect of material-liquid ratio on the degradation of ZEN in corn husk and corn gluten meal by Am-07-22 solid-state fermentation

剂用量相对较低,推测菌株在此条件下不适宜生长,因此对 ZEN 的降解效果不佳。而过高的溶剂用量也会影响 ZEN 的降解率,此时的液体比例较大,菌株无法更好地降解下层固体中的 ZEN,因此导致菌株 Am-07-22 对玉米皮和玉米黄粉的降解率不断下降。

2.6 接种量对蜜环菌 Am-07-22 固态发酵玉米皮、玉米黄粉降解 ZEN 的影响

接种量对蜜环菌 Am-07-22 固态发酵玉米皮、玉米黄粉降解 ZEN 的影响见图 5。

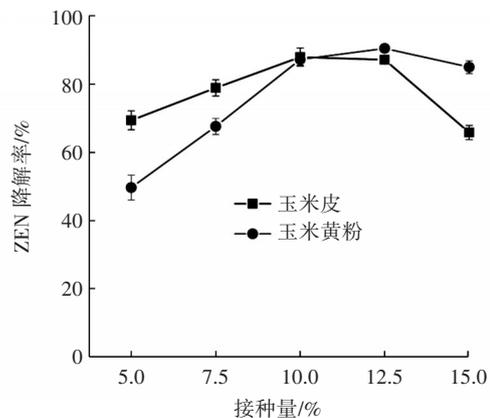


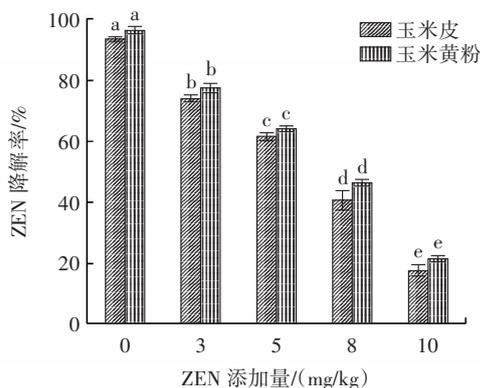
图5 接种量对 Am-07-22 固态发酵玉米皮和玉米黄粉降解 ZEN 的影响

Fig.5 Effect of inoculation amount on the degradation of ZEN in corn husk and corn gluten meal by Am-07-22 solid-state fermentation

由图5可知,不同的菌株接种量对玉米皮和玉米黄粉中 ZEN 的降解率影响不同。10.0% 和 12.5% 的接种量条件下对玉米皮中 ZEN 的降解率较高且差异不明显,分别为 88.03% 和 87.24%。12.5% 的接种量则表现出对玉米黄粉中 ZEN 的最高降解率 90.57%。菌株接种量过低时,则表现出对 ZEN 较低的降解效果^[20]。

2.7 ZEN 添加量对蜜环菌 Am-07-22 固态发酵玉米皮、玉米黄粉降解 ZEN 的影响

ZEN 添加量对蜜环菌 Am-07-22 固态发酵玉米皮、玉米黄粉降解 ZEN 的影响见图 6。



不同小写字母表示差异显著 ($p < 0.05$)。

图 6 ZEN 添加量对 Am-07-22 固态发酵玉米皮和玉米黄粉降解 ZEN 的影响

Fig.6 Effect of ZEN content on degradation of ZEN in corn husk and corn gluten meal by Am-07-22 solid-state fermentation

由图 6 可知,在未添加 ZEN 时蜜环菌 Am-07-22 对玉米皮和玉米黄粉中 ZEN 的降解率最高,分别为 93.63% 和 96.60%。ZEN 添加量越高,菌株对 ZEN 的降解率越低。添加 3 mg/kg ZEN 时对玉米皮和玉米黄粉 ZEN 的降解率分别为 74.21% 和 77.48%,添加 5 mg/kg ZEN 时的降解率分别为 61.53% 和 63.99%,添加 8 mg/kg ZEN 时的降解率分别为 40.53% 和 46.42%,添加 10 mg/kg ZEN 时的降解率分别为 17.47% 和 21.37%。在培养基中添加的 ZEN 含量越高,菌株 Am-07-22 对 ZEN 的降解效果越差,推测可能菌株对 ZEN 的降解能力有限,过高的 ZEN 含量会影响菌株生长导致无法更好地降解 ZEN^[21-22]。

2.8 蜜环菌 Am-07-22 固态发酵降解不同质量比玉米皮、玉米黄粉中的 ZEN

蜜环菌 Am-07-22 固态发酵降解不同质量比玉米皮、玉米黄粉中的 ZEN 见表 2 和图 7。

表 2 不同质量比的玉米皮、玉米黄粉初始成分含量

Table 2 Initial component content of corn husk and corn gluten meal with different proportions

玉米皮与玉米黄粉质量比	ZEN 含量/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	蛋白质含量/%	多糖含量/%
1:1	2 082.83 \pm 1.43	9.44 \pm 0.06	17.33 \pm 0.04
1:2	2 050.60 \pm 1.31	10.20 \pm 0.09	16.75 \pm 0.05
2:1	2 093.62 \pm 1.56	8.35 \pm 0.08	17.56 \pm 0.05

由表 2 可知,在未发酵时玉米皮与玉米黄粉质量比=1:1、1:2、2:1 的初始 ZEN 含量分别为 2 082.83、

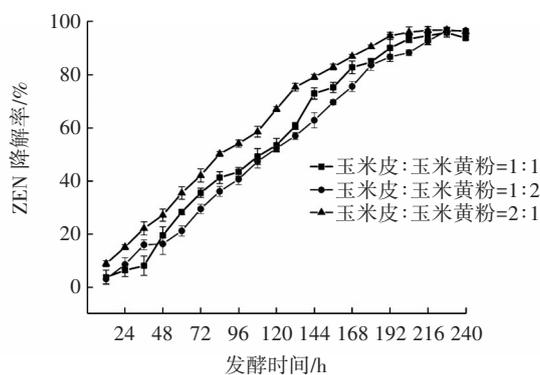


图 7 Am-07-22 固态发酵不同质量比玉米皮、玉米黄粉对 ZEN 的降解效果

Fig.7 Degradation effect of Am-07-22 solid-state fermentation on ZEN in corn husk and corn gluten meal at different mass proportions

2 050.60、2 093.62 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。由图 7 可知,蜜环菌 Am-07-22 对玉米皮与玉米黄粉质量比 1:1 的 ZEN 降解率在 228 h 时达到最高为 95.93%,对质量比 1:2 时的 ZEN 降解率在 228 h 时达到最高为 96.62%,对质量比 2:1 时的 ZEN 降解率在 228 h 时的降解率最高可达 96.97%,且在 204~240 h 对各质量比下的降解率均超过 90%。因此可以表明蜜环菌 Am-07-22 对不同质量比的玉米副产物均有较好的降解效果,可使其中的 ZEN 含量降至标准以下。

2.9 蜜环菌 Am-07-22 固态发酵改善不同质量比玉米皮、玉米黄粉中的营养成分

蜜环菌 Am-07-22 固态发酵改善不同质量比玉米皮、玉米黄粉中的营养成分见图 8 和图 9。

由表 2 可知,质量比为 1:1、1:2、2:1 的玉米皮、玉米黄粉中蛋白质的含量分别为 9.44%、10.20%、8.35%。从图 8 中可以看出,蜜环菌 Am-07-22 固态发酵不同质量比的玉米皮、玉米黄粉后,其中的蛋白质含量呈现升高趋势,其中质量比 1:1 时的蛋白质含量由 9.44% 升

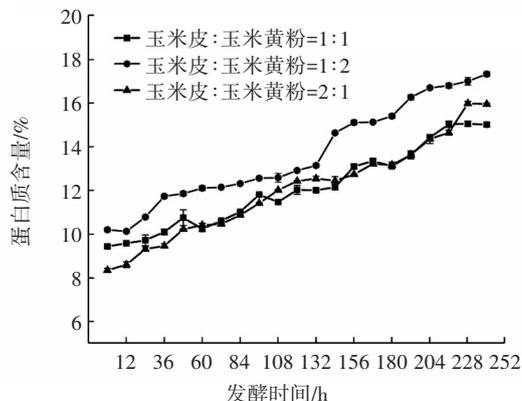


图 8 Am-07-22 固态发酵不同质量比玉米皮、玉米黄粉的蛋白质含量

Fig.8 Protein content of corn husk and corn gluten meal at different mass proportions under Am-07-22 solid-state fermentation

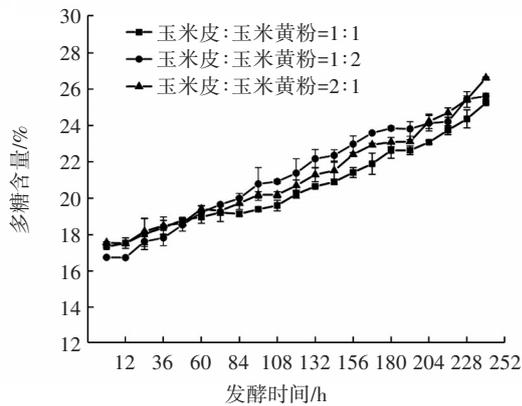


图9 Am-07-22 固态发酵不同质量比玉米皮、玉米黄粉的多糖含量
Fig.9 Polysaccharide content of corn husk and corn gluten meal at different mass proportions under Am-07-22 solid-state fermentation

高至 15.06%，增加了 60%。质量比 1:2 和 2:1 时的蛋白质含量均增加了 7% 以上，分别增加了 72% 和 91%，最终的含量为 17.33% 和 15.98%。表明蜜环菌 Am-07-22 可以通过固态发酵的方式提高玉米副产物中蛋白质的含量^[23]。

由图 9 和表 2 可知，初始时不同质量比的玉米皮、玉米黄粉(1:1、1:2、2:1)的多糖含量分别为 17.33%、16.75%、17.56%。通过蜜环菌 Am-07-22 对玉米副产物的固态发酵，多糖的含量明显升高，发酵结束时的最终多糖含量分别为 25.25%、25.62%、26.63%，分别提高了 46%、53%、52%。推测在蜜环菌 Am-07-22 固态发酵过程中，菌株在生长会利用培养基中的纤维素、半纤维素等物质，为自身生长提供能量，水解后进而转化为多糖类物质，因此多糖含量会出现不同程度的提高^[24]。

3 结论

通过开展蜜环菌 Am-07-22 降解玉米加工副产物中的 ZEN 条件和效果研究，发现蜜环菌 Am-07-22 可有效降低玉米皮和玉米黄粉中 ZEN 含量，降解率分别达到 93.63% 和 96.60%。当玉米皮和玉米黄粉质量比为 2:1 时，混合物中 ZEN 的降解率达到 96.97%，对混合物中的可溶性蛋白质和多糖的含量提升最高，分别提高 91% 和 52%。蜜环菌 Am-07-22 对 ZEN 具有良好的降解效果，可通过分泌胞外酶和菌体的吸附作用来降解玉米加工副产物中的 ZEN，为玉米加工副产物的安全应用提供了重要的研究基础和理论依据。

参考文献:

[1] ALTOMARE C, LOGRIECO A F, GALLO A. Mycotoxins and mycotoxigenic fungi: Risk and management. A challenge for future global food safety and security[M]//Encyclopedia of Mycology. Amsterdam: Elsevier, 2021: 64-93.

[2] WANG J X, XIE Y L. Review on microbial degradation of zearalenone and aflatoxins[J]. Grain & Oil Science and Technology, 2020, 3(3): 117-125.

[3] MINERVINI F, DELL'AQUILA M E. Zearalenone and reproductive function in farm animals[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2008, 9(12): 2570-2584.

[4] HUEZA I M, RASPANTINI P C F, RASPANTINI L E R, et al. Zearalenone, an estrogenic mycotoxin, is an immunotoxic compound[J]. Toxins, 2014, 6(3): 1080-1095.

[5] MA R, ZHANG L, LIU M, et al. Individual and combined occurrence of mycotoxins in feed ingredients and complete feeds in China[J]. Toxins, 2018, 10(3): 113.

[6] HAN Z, JIANG K Q, FAN Z C, et al. Multi-walled carbon nanotubes-based magnetic solid-phase extraction for the determination of zearalenone and its derivatives in maize by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Control, 2017, 79: 177-184.

[7] JI J, YU J, YE Y L, et al. Biodegradation methods and product analysis of zearalenone and its future development trend: A review[J]. Food Control, 2023, 145: 109469.

[8] HAMZA A, GHANEKAR S, SANTHOSH KUMAR D. Current trends in health-promoting potential and biomaterial applications of edible mushrooms for human wellness[J]. Food Bioscience, 2023, 51: 102290.

[9] LOU H W, YANG C M, GONG Y, et al. Edible fungi efficiently degrade aflatoxin B₁ in cereals and improve their nutritional composition by solid-state fermentation[J]. Journal of Hazardous Materials, 2023, 451: 131139.

[10] 雷彤彤, 黄笑非, 屈彤彤, 等. 玉米猴头菌菌粮营养评价及加工特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(15): 113-118.
LEI Tongtong, HUANG Xiaofei, QU Tongtong, et al. Effects of *Hericium erinaceus* on nutritional value and processing characteristics of corn[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(15): 113-118.

[11] 何音华. 蜜环菌发酵玉米蛋白粉产物中活性蛋白分离纯化及功能活性研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2018.
HE Yinhua. Separation, purification and functional activities of active proteins from the fermentation products of *Armillaria mellea*[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2018.

[12] 宫田娇, 蔡丹, 郑明珠, 等. 蜜环菌菌丝体多糖提取工艺优化[J]. 食品工业, 2014, 35(5): 9-12.
GONG Tianjiao, CAI Dan, ZHENG Mingzhu, et al. Optimization of condition of the extraction polysaccharides from *Armillaria mellea* Mycelium[J]. The Food Industry, 2014, 35(5): 9-12.

[13] 骆翼. 玉米赤霉烯酮的微生物脱毒研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2014.
LUO Yi. Study of detoxification of zearalenone by *Bacillus* spp.[D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2014.

[14] 翟聪凝. 玉米赤霉烯酮厌氧降解菌的筛选和特性研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2022.
ZHAI Congning. Screening and characterization of zearalenone anaerobic degrading bacteria[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2022.

[15] 杨小丽, 杨美华, 欧阳臻. 玉米赤霉烯酮及其衍生物分析方法的研究进展[J]. 贵州农业科学, 2011, 39(7): 234-238.
YANG Xiaoli, YANG Meihua, OUYANG Zhen. Advances in the analytical methods of zearalenone and its derivatives[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2011, 39(7): 234-238.

- TAO Han, HUANG Rui, LIU Feng, et al. Determination of matrine by glassy carbon electrode modified with partially electrochemical reduced graphene oxide[J]. *Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis)*, 2021, 57(6): 481-486.
- [22] CUI Z Y, LIN H, et al. Determination and traceability of matrine and oxymatrine in Chinese acacia honey[J]. *JSFA Reports*, 2022, 2(7): 313-319.
- [23] SABATINO L, SCARANGELLA M, LAZZARO F, et al. Matrine and oxymatrine in corroborant plant extracts and fertilizers: HPLC/MS-MS method development and single-laboratory validation[J]. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 2015, 50(12): 862-870.
- [24] HUI X J, CHEN H Y, SHEN S, et al. Establishment of residual methods for matrine in quinoa plants and soil and the effect on soil bacterial community and composition[J]. *Foods*, 2023, 12(6): 1337.
- [25] 吴惠勤, 张春华, 黄晓兰, 等. 气相色谱-串联质谱法同时检测尿液中 15 种有毒生物碱[J]. *分析测试学报*, 2013, 32(9): 1031-1037.
- WU Huiqin, ZHANG Chunhua, HUANG Xiaolan, et al. Simultaneous determination of 15 toxic alkaloids in urine by gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2013, 32(9): 1031-1037.

加工编辑:王雪

收稿日期:2023-07-20

(上接第 66 页)

- [16] 白海, 高阳, 刘丽敏, 等. 中药渣固态发酵前后蛋白质和多糖含量的变化[J]. *山西大同大学学报(自然科学版)*, 2021, 37(1): 84-87.
- BAI Hai, GAO Yang, LIU Limin, et al. Changes of protein and polysaccharide content in Chinese medicine residue before and after solid state fermentation[J]. *Journal of Shanxi Datong University (Natural Science Edition)*, 2021, 37(1): 84-87.
- [17] YANG X, LI F, NING H Y, et al. Screening of pig-derived zearalenone-degrading bacteria through the zearalenone challenge model, and their degradation characteristics[J]. *Toxins*, 2022, 14(3): 224.
- [18] XU J H, WANG H J, ZHU Z W, et al. Isolation and characterization of *Bacillus amyloliquefaciens* ZDS-1: Exploring the degradation of zearalenone by *Bacillus* spp[J]. *Food Control*, 2016, 68: 244-250.
- [19] IMADE F N, HUMZA M, DADA O A, et al. Isolation and characterization of novel soil bacterium, *Klebsiella pneumoniae* strain GS7-1 for the degradation of zearalenone in major cereals[J]. *Food Control*, 2023, 143: 109287.
- [20] SUN X L, HE X X, XUE K S, et al. Biological detoxification of zearalenone by *Aspergillus niger* strain FS10[J]. *Food and Chemical Toxicology: an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 2014, 72: 76-82.
- [21] PAN Y Y, LIU C D, YANG J G, et al. Conversion of zearalenone to β -Zearalenol and Zearalenone-14, 16-diglucoside by *Candida parapsilosis* ATCC 7330[J]. *Food Control*, 2022, 131: 108429.
- [22] BEN SALAH-ABBÈS J, MANNAI M, BELGACEM H, et al. Efficacy of lactic acid bacteria supplementation against *Fusarium graminearum* growth *in vitro* and inhibition of zearalenone causing inflammation and oxidative stress *in vivo*[J]. *Toxicon*, 2021, 202: 115-122.
- [23] JIANG X, LIU X, XU H J, et al. Improvement of the nutritional, antioxidant and bioavailability properties of corn gluten-wheat bran mixture fermented with lactic acid bacteria and acid protease[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 144: 111161.
- [24] CHEN Q Y, WANG R F, WANG Y, et al. Characterization and antioxidant activity of wheat bran polysaccharides modified by *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus subtilis* fermentation[J]. *Journal of Cereal Science*, 2021, 97: 103157.

责任编辑:冯娜

收稿日期:2023-03-30