利用监测 CO_2 方法预警储藏玉米中黄曲霉菌产毒

刘焱，翟焕趁，蔡静平
（河南工业大学生物工程学院，河南郑州 450001）

摘要：本文研究了玉米储藏期间真菌产生二氧化碳(CO_2)气体的特点，试验结果表明，当灰绿曲霉等干生性真菌生长时，储藏容器中 CO_2 浓度恒速升高；具有快速生长或产毒特点的真菌生长时则出现 CO_2 产气率加速的过程，如玉米中以黄曲霉菌为优势菌时，储藏 10 d 后产生 CO_2 气体的速率提高 4.6 倍。进一步研究玉米储藏期间不同原始优势菌、不同真菌生长速率及温度对产生 CO_2 的影响，结果表明，在不同原始优势菌的玉米中均可出现黄曲霉菌的生长和产毒，黄曲霉菌为原始优势菌的 AFB_1 产生量比其他试验组高 3~7 倍，它们均表现产气速率加速的特征；真菌生长速率及温度可影响储藏玉米中 CO_2 和 AFB_1 的产生量，但在产生 AFB_1 的玉米中，均有 CO_2 产气速率加速的现象。将储藏玉米中 CO_2 产气速率变化与检出 AFB_1 的时间相比，发现前者可提前 7 d 以上。因此，利用玉米储藏中真菌产生 CO_2 的特征可预警黄曲霉毒素的污染。

关键词：真菌；黄曲霉毒素；二氧化碳；监测

文章篇号：1673-9078(2015)5-309-315 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.5.049

Early Detection of Aflatoxin B_1 Contamination in Stored Corn by Monitoring CO_2 Concentration

LIU Yan, ZHAI Huan-chen, CAI Jing-ping
(College of Bioengineering, Henan Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: The characteristics of carbon dioxide (CO_2) produced by fungi during corn storage were investigated. The results showed that CO_2 concentration was elevated at a constant rate in the storage container upon development of xerophilic *Aspergillus glaucus*. The CO_2 gas production rate accelerated upon development of fungi that show rapid growth and/or are toxigenic. For example, the CO_2 gas production rate increased by 4.6 times after 10-day storage when *A. flavus* was the dominant fungus in the corn sample. Furthermore, the effects of the original dominant fungal groups, fungal growth rate, and storage temperature on CO_2 gas production were evaluated during corn storage. The results showed that *A. flavus* could develop and produce aflatoxin B_1 (AFB_1) in corn samples with different original dominant fungi. AFB_1 production of the group with *A. flavus* as the original dominant fungus was three to seven times higher than that of the other experimental groups, and showed an accelerated CO_2 production rate. The production of CO_2 gas and AFB_1 was significantly affected by fungal growth rate and storage temperature, but the CO_2 gas production rate increased in all corn samples contaminated with AFB_1. Changes in the CO_2 gas production rate occurred more than seven days earlier than when AFB_1 could first be detected. Therefore, monitoring of the CO_2 gas production rate can be used as an early warning of AFB_1 contamination during corn storage.

Key words: fungi; aflatoxins; carbon dioxide; monitoring

玉米是我国主要的粮食作物，年产量已经超过2亿t，是国家粮库作为食品和饲料加工原料储藏的主要粮种之一[1]。因玉米种胚体积大，营养丰富，在储藏期间受到环境因素的影响极易滋生真菌，从而导致品质的劣变。在玉米易染的真菌中，黄曲霉菌（*Aspergillus flavus*）的危害性最大，其生长不仅可使玉米的食用品质迅速发生变化，而且还极易产生剧毒和强烈致癌的黄曲霉毒素（aflatoxin）[2~4]。因此，在玉米储藏中需要对真菌的生长进行有效的监测，尤其需要对黄曲霉菌等产毒真菌的早期生长活动做出预警，以便通过及时改变储藏环境的温、湿度条件，在真菌毒素形成之前有效控制产毒真菌的生长、代谢，达到防止玉米被真菌毒素污染的目的。

对粮食储藏期间真菌生长及产毒的早期预测是国内外长期关注的焦点[5]，有较多相关的基础性研究工作已经取得了突破[6~7]。尤其是真菌快速检测方法的不断创新，为毒素污染的预测提供了有效的工具[8~10]。

收稿日期：2014-10-10
基金项目：国家重点基础研究发展计划（973 计划）（2013CB127804）；国家自然科学基金项目（31271948）；河南省教育厅自然科学项目（14A180004）
作者简介：刘 焱（1990-），男，研究生，研究方向：粮油食品微生物方向
通讯作者：蔡静平（1957-），男，教授，研究方向：粮油、食品微生物

例如,通过分析粮堆中挥发性物质进行储粮霉菌检测;利用微生物相关酶的活性检测粮食的早期霉菌活动状况[11];通过检测粮堆中CO_2浓度的变化,研究与储藏粮食真菌生长的相关性[9]。这些方法对于监测储粮真菌的早期发展,比现有的应用技术显示出更高的灵敏度。但是,粮食中的真菌类群较多,对于储粮的危害性也有较大的差异[12]。从食品安全性、粮食品质维护和粮食储藏经济性的标准来衡量,有些在粮食中缓慢发展的真菌可能不需要专门的处理,而一些对粮食品质危害较大或具有潜在产毒可能的真菌活动则必须及时采取有效措施遏制其发展。因此,对储粮真菌的监测需要能够评估真菌危害性和对食品安全性影响程度的技术。本文重点研究玉米储藏期间典型真菌生长时产生CO_2气体的特性,以及与黄曲霉菌产毒的关系,揭示相关的规律,目的是利用CO_2气体在粮堆中的可扩散特性,通过在粮堆中设立气体检测点,在线监测储藏玉米的真菌危害活动,为防控黄曲霉毒素污染提供有效的预警方法。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

1.1.1 材料和试剂

玉米样品:郑州本地产玉米(品种)。

实验所用菌种:河南工业大学微生物菌种保藏中心提供。

1.1.2 实验仪器

储粮有害微生物检测仪:河南工业大学研制;黄曲霉毒素 B_1 酶联免疫定量试剂盒,江苏苏微微生物研究有限公司;微孔板扫描分光光度计:Epoch 型,美国伯腾仪器公司;微型植物试样粉碎机:FZ102 型,北京市永光明医疗仪器厂;恒温恒湿箱:德国 Binder 公司;双人双面净化工作台:SW-CJ-2F 型,苏州净化设备有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 玉米调水方法

将一定量原始水分玉米置于洁净容器中,根据与预调目标水分差值加入定量无菌水,放于 4 ℃冰箱内静置 36 h 使水分含量平衡,获得实验所需水分(14.7%,16.5%)的玉米。

1.2.2 水分测定

参照国标 GB 5749-85 粮食油料水分测定方法。

1.2.3 特定优势菌玉米制备

在察氏培养基培养所需真菌纯种,获得一定量的真菌孢子,在使用前现配成一定孢子浓度的菌悬液,采用血球计数板确定真菌孢子浓度,经多次试验验证,接种在玉米中孢子存活率约为 10%。根据试验需要,在玉米中添加一定量真菌孢子悬液,获得所需的试样。

1.2.4 玉米模拟储藏方法

将调好水分的玉米样品以 300 g 为单位分装到 5 L 塑料容器内,分别在所要求的恒温恒湿培养箱中储藏,定期测定其菌落总数,CO_2 含量及 AFB_1 含量。

1.2.5 真菌带菌量检测

无菌状态下称取 25 g 玉米样品与 225 mL 无菌水混合,震荡 30 min 制成 10^{-1} 稀释度的菌悬液,用 9 mL 无菌水依次稀释成 10^{-2}~10^{-7} 稀释度菌悬液。吸取各梯度菌液 1 mL 于改良察氏培养基培养,5 d 后进行计数。

1.2.6 CO_2 释放速率检测

将储粮有害微生物检测仪的进气和排气导管与模拟储藏玉米的塑料容器通过三通阀相连,储粮容器和检测仪形成闭合的循环气路,待接通气路稳定 4 min 后,通过检测仪中 CO_2 浓度传感器检测容器内 CO_2 浓度,观察显示屏读出数据(%)。根据前后两天 CO_2 检测读数的差值,计算出玉米中每天产生的 CO_2 量。

CO_2 的释放速率计算(mg CO_2/kg 玉米/d)公式:

$$Y=\frac{X\times 5}{22.4\times 100}\times 44\times\frac{1000}{0.3}$$

式中,X 为 CO_2 的体积百分比;5 为模拟储藏容器体积(L);22.4 为标准状况下气体的摩尔体积(L/mol);44 为 CO_2 的摩尔质量(g/mol);0.3 为每个模拟储藏容器中玉米的质量(kg)。

1.2.7 黄曲霉毒素 B_1 检测

利用 ELISA 酶联免疫试剂盒,通过抗黄曲霉毒素 B_1 抗体与酶标抗原、待测抗原的竞争免疫反应以及酶的催化显色反应相结合来检测 AFB_1。检测周期为 7 d。

1.2.8 数据处理方法

使用 SPSS 17 软件进行试验数据的统计学分析。

2 结果与分析

2.1 玉米储藏主要真菌生长与产生 CO_2 气体的关系

2.1.1 干生性真菌生长产生 CO_2 气体的特点

国家粮库常规储藏的玉米水分一般处于安全水分范围内,真菌的生长可被抑制。粮仓受一些环境因素的影响,可能会出现水分转移现象而使局部粮食的水分升高,此时玉米中存在的灰绿曲霉(*Aspergillus glaucus*)等干生性真菌能够进行生长活动[12]。将水分为 14.5%(临界安全水分)的玉米置于在 25 ℃温度下

储藏，结果表明（图1），在该储藏条件下玉米的总带菌量增加基本上与灰绿曲霉带菌量的增加一致。随着储藏时间的延长，储藏容器中 CO_2 浓度也持续升高，但产生 CO_2 的速率恒定，可以将储藏容器中 CO_2 气体浓度变化与时间的关系曲线拟合成相关系数为0.99的线性方程。在实际储粮期间，灰绿曲霉等干生性的真菌生长较缓慢，没有发现该类真菌可产生已知的真菌毒素。当粮堆环境不能持续提供适宜的温度和湿度条件时，这些真菌生长会减速或停止，一般对储藏玉米品质变化的影响较小。因此，储藏玉米中 CO_2 气体浓度不变或以缓慢的速度恒速升高时被真菌毒素污染的风险较低。

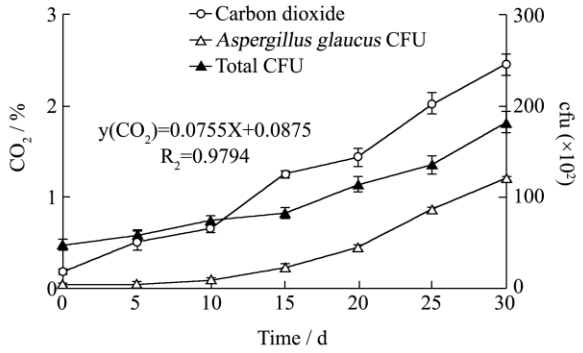


图 1 玉米中灰绿曲霉生长与 CO_2 浓度变化

Fig.1 Relationship between *A. glaucus* growth and changes in CO_2 concentration in stored corn

2.1.2 快速生长和产毒性真菌产生 CO_2 气体的特点

可以在储藏玉米中快速生长的真菌一般对基质水分的要求较高，只有当玉米的水活度达到或超过 0.8 后才具有生长竞争的优势。这些真菌对玉米等粮食品质的破坏力强，许多种类具有产生真菌毒素的能力，是储粮重点防控的对象[2]。黄曲霉菌是这类真菌的典型代表，其在玉米上生长极易产生黄曲霉毒素 B_1。对自然真菌类群以黄曲霉菌为主的玉米进行储藏试验表明（图 2），储藏 10 d 后，储藏玉米中 CO_2 产生的速率显著加快，平均每天使储藏容器中 CO_2 浓度升高的幅度由 0.10%迅速提高到 0.46%，增速达 4.6 倍。通过显微镜直接观察玉米中的真菌生长状况，可以发现黄曲霉菌的菌丝大量生长，说明 CO_2 气体的加速产生是黄曲霉菌丝体快速生长的结果。对棕曲霉等其他适合较高水分快速生长真菌的产气试验也发现相同的加速产气现象。

虽然玉米自身呼吸也可产生 CO_2 气体，但对玉米经表面化学灭菌处理并在相同条件下进行的储藏试验表明（图 3），25 d 仅使容器中的 CO_2 浓度升高 0.38%，这一浓度变化不会改变图 1 和图 2 CO_2 产气速率。因此，不同真菌种群产生 CO_2 气体速率的差异是真菌自身代谢特性的反映。

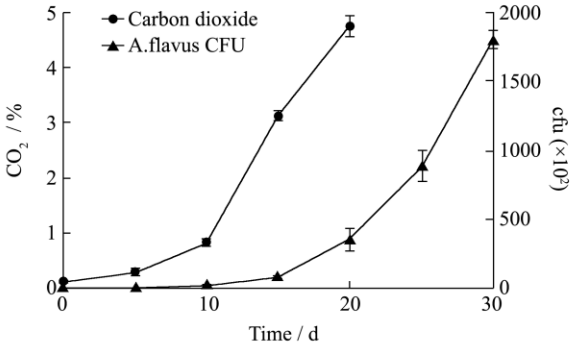


图 2 玉米中黄曲霉菌生长与 CO_2 浓度的变化

Fig.2 Relationship between *A. flavus* growth and changes in CO_2 concentration in stored corn

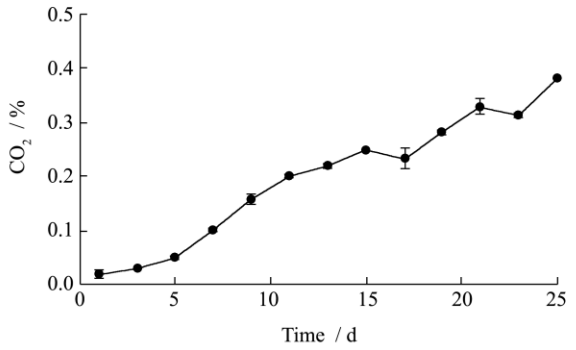


图 3 玉米自身呼吸产生 CO_2

Fig.3 CO_2 production by corn respiration

2.2 玉米中不同优势菌群对产生 AFB_1 及 CO_2 的影响

不同来源的玉米携带的菌群有较大的差异，其原始优势菌会影响储藏期间的各类真菌生长及类群变化，因而也可能改变 AFB_1 及 CO_2 的产生量。本试验通过在较高水分的玉米中添加常见真菌的孢子，并提供适宜的培养条件，研究各种真菌类群在储藏期间的变化、产生 CO_2 气体的速率以及黄曲霉毒素的产生状况。从表 1 可看出，对于添加真菌孢子量占总孢子量约 50%而成为原始优势菌的玉米试样，在 49 d 的储藏期间，只有原始优势菌为灰绿曲霉的试验组因为玉米的水分含量较高，这种干生性的真菌缺乏生长竞争力，其带菌比例有所减少，其他原始优势菌属于快速生长类真菌的试验组，在整个储藏期间始终保持 50%以上的优势带菌量比例，表明外加的真菌孢子可以在储藏玉米中生长、繁殖，与玉米自然携带的真菌有相同的生物学属性。

表 1 不同原始优势真菌在玉米储藏期间的变化

Table 1 Changes in different dominant fungi during corn storage

储藏时间/d	灰绿曲霉		黄曲霉		黑曲霉		圆弧青霉	
	霉菌总数/(×10³cfu/g)	比例/%	霉菌总数/(×10³cfu/g)	比例/%	霉菌总数/(×10³cfu/g)	比例/%	霉菌总数/(×10³cfu/g)	比例/%
7	0.6	51.2	0.5	52.1	0.5	52.3	0.5	50.1
14	1.6	63.3	1.5	58.1	1.3	55.2	1.4	56.0
21	4.3	78.0	3.4	62.0	3.4	59.2	3.3	58.6
28	12.6	56.6	7.2	65.7	6.9	60.8	8.2	64.4
35	15.8	42.1	16.7	76.2	15.2	64.6	18.7	79.5
42	42.4	33.5	68.6	82.2	31.6	71.4	43.5	86.5
49	106.2	25.3	182.4	93.4	113.9	84.4	93.4	90.1

对不同原始优势菌群的储藏玉米进行了 CO_2 产气量与黄曲霉毒素的检测试验，结果表明，当原始优势菌为灰绿曲霉时（图 4），由于该干生性的优势菌在较高水分的玉米中竞争性较弱，因而在储藏期间逐渐被取代，在储藏后期的玉米中检出了大量的黄曲霉菌及毒素，该试验组表现的 CO_2 气体产生速率不断升高的现象与黄曲霉菌等真菌数量增加基本同步，与图 1 和图 2 纯菌种产气试验结果完全一致。

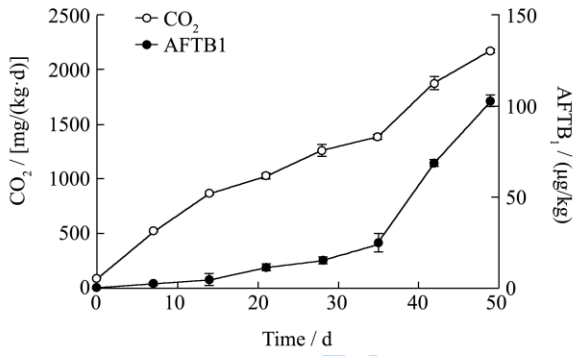


图 4 玉米中灰绿曲霉为优势菌时产生 CO_2 和 AFB_1

Fig.4 CO_2 and AFB_1 production when *A. glaucus* was the dominant fungus in stored corn

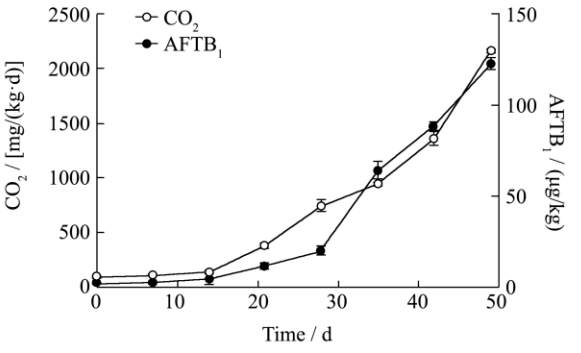


图 5 玉米中黑曲霉为优势菌时产生 CO_2 和 AFB_1

Fig.5 CO_2 and AFB_1 production when *A. niger* was the dominant fungus in stored corn

当原始优势菌为黑曲霉等其他可快速生长的真菌时，CO_2 气体的增速现象仍非常明显。虽然黑曲霉和青霉不是 AFB_1 的产生菌，且这些真菌在储藏期一直保持优势菌的比例，但在玉米中均可观察到黄曲霉菌的生长和产毒（图 5，图 6），这也从一个侧面证明玉米是非常适合黄曲霉菌生长和产毒的基质，只要玉米储藏的水分和温度条件适合黄曲霉菌的生理需要，即使在初始阶段没有发现黄曲霉菌，在储藏的后期也会出现黄曲霉菌的侵染、生长和产毒，因此，用 CO_2 气体增速的指标可以预警黄曲霉菌对玉米储藏的危害。

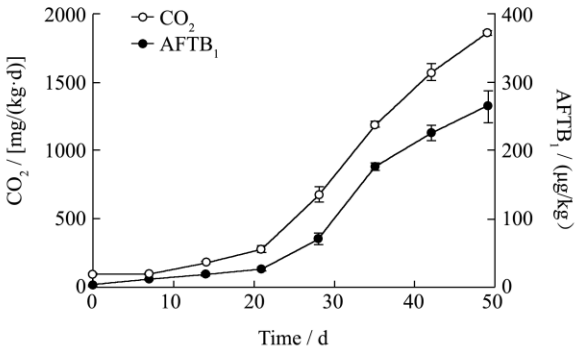


图 6 玉米中圆弧青霉为优势菌时产生 CO_2 和 AFB_1

Fig.6 CO_2 and AFB_1 production when *P. cyclopium* was the dominant fungus in stored corn

当原始优势菌为黄曲霉菌时，在产生 CO_2 的特性上与其他快速生长真菌为优势时相同，但储藏玉米中黄曲霉毒素的形成量明显大于其他原始优势菌的试验组，其 AFB_1 产生量可比其他优势菌的试验组高 3 倍到 7 倍（图 7），显然，AFB_1 产生量与黄曲霉菌所占比例有密切的相关性。

从上述试验的结果中还可以看出，不管玉米中原始携带哪一种真菌为优势菌，只要玉米水分和环境温度适宜，均会在一个月后产生黄曲霉毒素 B_1，并且毒素含量可超过食品安全限量 20 μg/kg（图 3~图 6），玉米的原始菌群的差异不影响利用 CO_2 气体形成速率预警黄曲霉毒素的污染。

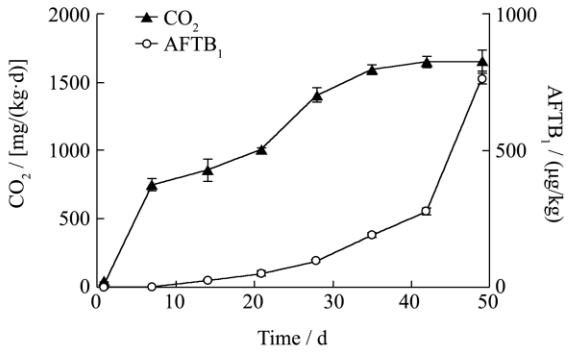


图 7 玉米中黄曲霉为优势菌时产生 CO_2和 AFB_1

Fig.7 CO_2 and AFB_1 production when *A. flavus* was the dominant fungus in stored corn

2.3 储藏玉米中真菌生长速率变化对产生 CO_2 和 AFB_1 的影响

由于干生性真菌与黄曲霉菌等快速生长真菌产生 CO_2 气体速率差异是因菌体生长速率不同造成的，要利用 CO_2 产生速率预警黄曲霉毒素污染，需要分析黄曲霉菌等在不同生长速率条件下的产气和产毒特性。通过调节水分含量可以使玉米在相同的储藏时间内以不同速率生长，结果表明（图 8，图 9），高生长速率试验组（49 d 玉米带菌量从 10^2 cfu/g 增加到 10^6 cfu/g）无论是产生 CO_2 气体或是产生黄曲霉毒素的速率均显著高于低生长速率试验组（49 d 玉米带菌量从 10^2 cfu/g 增加到 10^4 cfu/g），但储藏玉米中 CO_2 气体产生速率均随着毒素的产生而不断升高，产生 CO_2 气体的加速现象非常明显。

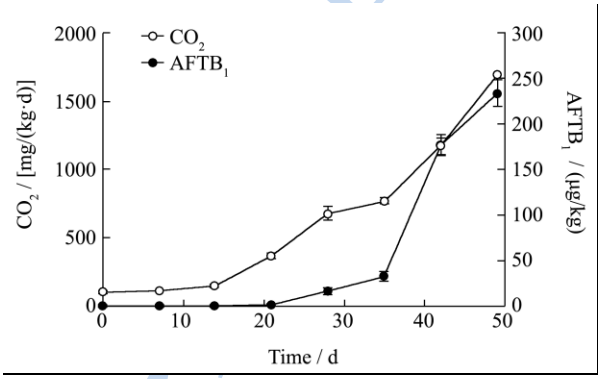


图 8 真菌在储藏玉米中慢速生长对产生 CO_2和 AFB_1的影响(49 d 带菌量从 10^2 cfu/g 增加到 10^4 cfu/g)

Fig.8 Effect of CO_2 and AFB_1 production when the fungi developed slowly in stored corn

从表面上看，灰绿曲霉等干生性真菌与黄曲霉菌等产生 CO_2 气体速率特征的差异在于菌体生长的速率，但结合本试验玉米储藏期间优势菌群演替的结果可发现，其本质在于玉米的基质水分决定可生长的真菌种类及其代谢特性。在较低水活度的玉米中，只有灰绿曲霉可以缓慢生长，一旦玉米的水活度提高到黄曲霉菌等可生长的程度，灰绿曲霉的生长即可被黄曲霉菌等取代，这些真菌生长快，代谢强，呼吸作用还可以产生水和热量，加速菌体的生长，从而导致产生 CO_2 气体的速率不断升高。因此，在不同储藏条件下菌体生长速率变化时，在产生 CO_2 气体方面的差异表现在变化幅度上，其产气速率变化的规律性没有发生改变。

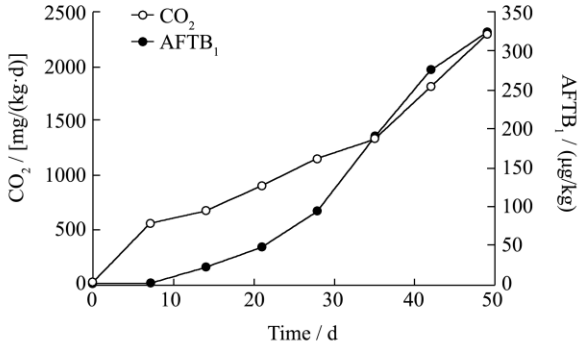


图 9 真菌在储藏玉米中快速生长对产生 CO_2和 AFB_1的影响(49 d 带菌量从 10^2 cfu/g 增加到 10^6 cfu/g)

Fig.9 Effect of CO_2 and AFB_1 production when fungi developed rapidly in stored corn

2.4 温度对玉米黄曲霉菌产毒与 CO_2 释放速率的影响

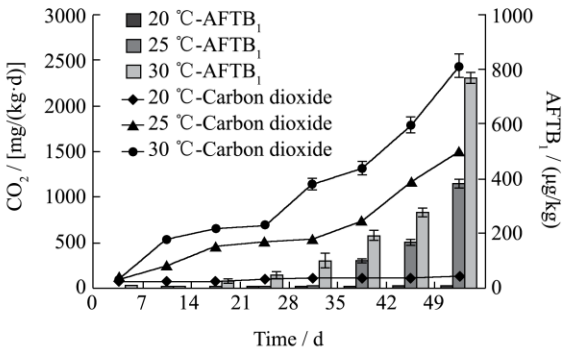


图 10 温度对储藏玉米产生 AFB1 和 CO2 的影响

Fig.10 Effect of temperature on AFB_1 and CO_2 production in stored corn

温度也是影响真菌代谢和气体形成及扩散的关键因素。分别在 20 ℃、25 ℃和 30 ℃的条件下进行相同水分的玉米储藏试验，结果显示（图 10），在 20 ℃下的储藏条件下，玉米中 CO_2 气体产生速率较低，在 49 d 内没有发现明显的增速现象（$p>0.05$），也未在玉米中检出 AFB_1。当储藏温度升高到 25 ℃和 30 ℃后，CO_2 的产生速率在整个储藏期内分别提高了 13.5 倍和

23.2 倍，玉米中 AFB_1 的含量则分别达到 378 μg/kg 和 764 μg/kg。这一现象进一步说明 CO_2 气体产生速率的变化特征与 AFB_1 的形成有密切的相关性。

2.5 储藏玉米中污染 AFB_1 与产 CO_2 速率变化的时间点比较

比较玉米储藏容器中 CO_2 产生速率的变化与黄曲霉菌产毒变化的时间点，可以发现（表 2），CO_2 释放速率显著加速的时间点比玉米中检出黄曲霉毒素提前达 7 d，继续储藏 7 d 则玉米中的黄曲霉毒素 B1 含量超过我国规定的 20 μg/kg 国家食品安全限量标准。这一特性赋予利用 CO_2 检测方法的预警功能，可以给玉米储藏真菌生长危害和毒素污染的防控留出一定的时间。

表 2 玉米中黄曲霉菌产毒与产生 002 气体速率变化的时间

Table 2 Timeline of aflatoxin production by *A. flavus* and the changes of CO_2 production rates in corn

样品号	CO_2 释放显著加速时间点/d（P<0.05）	玉米检出 AFB_1 起始时间/d（P<0.05）	玉米 AFB_1 含量超标时间/d（>20μg/kg）
1	21	35	49
2	14	21	28
3	7	14	28

我国粮仓主要依靠配置的机械通风和制冷设备对真菌进行防控处理，通风和制冷设备要穿透较厚的粮堆需要一定的时间。根据粮库现有设备的性能，冬季 7 d 通风后粮堆温度可降低 10 ℃左右，夏季经谷物强制制冷 7 d 处理也可使粮堆降温近 10 ℃，并且粮堆的通风和强制制冷过程还会伴随着粮食水分的降低[13~14]。根据图 10 的结果可看出，如果玉米温度从 30 ℃降到 20 ℃，加上降低水分的综合效果，对黄曲霉菌的生长和产毒将产生显著的抑制作用，从而可有效减少玉米污染黄曲霉毒素 B1 的风险。

3 结论

在玉米储藏的生态条件下，主要有两类真菌的生长活动。一类是常规储藏条件下最常见的活动真菌，它们属于干生性的真菌类群，通常在处于临界水分附近的玉米中间断或缓慢生长，对于这类真菌一般不需要采用通风或制冷等针对性的处理；另一类是可快速生长和产生毒素的真菌，这类真菌在常规储藏玉米中不常发生，但它们具有强破坏性，只有早期发现其生长迹象，才能进行及时处理，避免玉米的毁损。本课题研究发现，这两类真菌在玉米中生长产生 CO_2 气体的速率变化特性不同，干生性真菌生长期间 CO_2 气体的释放速率基本恒定，而具有产生真菌毒素可能性的真菌类群生长时可出现 CO_2 产气速率不断增加的过程，这种差异性可为仓储人员的管理决策提供参考依据。本课题的模拟试验还发现，在改变玉米优势菌、调节真菌生长速率及改变储藏条件等状态下，储藏容器中 CO_2 气体产生速率的变化均与处于生长状态的真菌类群相关。在监测真菌危害的灵敏度方面，本试验发现 CO_2 产气速率显著改变发生的时间比真菌产毒的起始时间至少提前 7 d。由于 CO_2 气体在粮堆中的扩散速率远高于热传导，现代气体传感器技术的发展使 CO_2 气体检测更加快捷、方便，很容易实现在粮堆或粮仓外部进行远程、实时的粮堆 CO_2 产气速率检测，因此，本试验研究的方法可以用来预警玉米储藏期间真菌的危害和黄曲霉毒素的污染，对保障玉米储藏安全和食品安全性具有实际应用价值。

参考文献

[1] 习银生, 徐伟平, 杨丽. 2012年玉米市场形势分析与2013年展望[J].农业展望,2013,1:14-19
XI Yinsheng, XU Weiping, YANG Li. Review of maize market in 2012 and outlook for 2013 [J]. Agricultural Outlook, 2013, 1: 14-19

[2] Astoreca A, Vaamonde G, Dalcero A, et al. Modelling the Effect of Temperature and Water Activity of *Aspergillus flavus* isolates from corn [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 156(5): 60-67

[3] Gowda N K S, Malathi V, Suganthi R U. Screening for aflatoxin and effect of moisture, duration of storage and form of feed on fungal growth and toxin production in livestock feeds [J]. Anim. Nutr. Feed Technol., 2003(3): 45-51

[4] Garcia D, Ramos A J, Sanchis V, et al. Predicting mycotoxins in foods: A review [J]. Food Microbiology, 2009, 26(8): 757-769

[5] 翟焕趁,张帅兵,黄淑霞,等.小麦和玉米中微生物污染和生长的快速检测[J].现代食品科技.2014,30(8):231-237
ZHAI Huan-chen, ZHANG Shuai-bing, HUANG Shu-xia, et al. Rapid detection of microbial contamination and growth in wheat and corn [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(8): 231-237

[6] Taniwaki M H, Hocking A D, Pitt J I, et al. Growth and mycotoxin production by food spoilage fungi under high carbon dioxide and low oxygen atmospheres [J]. International journal of food microbiology, 2009, 132(2): 100-108

[7] 路子显,伍松陵,孙长坡.黄曲霉素合成相关基因表达与环境

因素的关系[J].生物技术通报,2010,11:56-61
LU Zi-xian, WU Song-ling, SUN Chang-po. The relationship ofaflatoxin biosynthetic gene expression and environmental factors [J]. Biotechnology Bulletin, 2010,11: 56-61

[8] 蔡静平.储粮微生物活性及其应用的研究[J].中国粮油学报,2004,19(4):76-79
CAI Jingping. Studied on microbe activity of stored grains and its application [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2004, 19(4): 76-79

[9] Ileleji K E, Maier D E, Bhat C, et al. Detection of a developing hot spot in stored com with a CO_2 sensor [J]. Applied Engineering in Agriculture, 2006, 22(2): 275-289

[10] Huang H, Danao M G C, Rausch K D, et al. Diffusion and production of carbon dioxide in bulk corn at various temperatures and moisture contents [J]. Journal of Stored Products Research, 2013, 55(10): 21-26

[11] 黄淑霞,蔡静平,田海娟.主要粮食品种储藏期间霉菌活动特性研究[J].中国粮油学报,2010,25(1):99-102
HUANG Shu-xia, CAI Jing-ping, TIAN Hai-juan. Mould development characters of different stored grains [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2010, 25(1): 99-102

[12] Rocha L O, Nakai V K, Braghini R, et al. Mycoflora and co-occurrence of fumonisins and aflatoxins in freshly harvested corn in different regions of Brazil [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2009, 10(11): 5090-5103

[13] 杨国峰,郑幼骥,顾翔,等.高大平房仓玉米就仓干燥试验研究[J].粮食储藏，2008,37(3):16-20
YANG Guofeng, ZHENG Youji, GU Xiang. et al. In-store drying of corn in large warehouses [J]. Grain Storage, 2008, 37(3): 16-20

[14] 汪福友,吕秉霖.中原地区入仓高水分玉米安全度夏技术研究[J].粮食储藏,2012,41(2):17-20
WANG Fuyou, LV Binglin. Safety aestivation of high moisture content corn stored in china's central plains region [J]. Grain Storage, 2012, 41(2): 17-20