

临界安全水分下小麦储藏过程中抗霉变特性的比较

蔡静平¹, 张帅兵¹, 翟焕趁¹, 黄淑霞², 魏鑫¹

(1. 河南工业大学生物工程学院, 河南郑州 450001) (2. 河南工业大学粮食储运中心, 河南郑州 450001)

摘要: 将3种角质化率有显著差异的小麦品种增水调节至临界安全水分附近进行模拟储藏试验, 结果表明, 这几种小麦在水分13.5%、30℃条件下储藏28 d后, 小麦籽粒上霉菌含量的增速存在较大差异, 冀麦38和矮抗58的带菌量增加速率均非常显著地高于温麦6 ($p < 0.01$)。进一步的研究证明, 温麦6对灰绿曲霉 (*Aspergillus glaucus*) 的生长有明显的抑制作用, 在30℃、25℃、20℃和15℃的各种温度和相应的临界水分下进行储藏试验, 温麦6中的灰绿曲霉生长迟后时间均达到或超过7 d; 将干燥小麦置于RH 85%高湿环境下进行吸湿模拟储藏, 温麦6中的灰绿曲霉生长迟后时间达14 d。因而, 质地偏软的温麦6在相同的储藏条件下具有更强的抗霉变特性。

关键词: 农产品; 粮食储藏; 水分含量; 霉菌; 小麦

文章编号: 1673-9078(2013)7-1528-1532

Comparison of Anti-mould Activities of Wheat Cultivars Stored at Critical Moisture Content

CAI Jing-ping¹, ZHANG Shuai-bing¹, ZHAI Huan-chen¹, HUANG Shu-xia², WEI Xin¹

(1. College of Bioengineering, Henan University of Technology, Henan 450001, China)

(2. Research Center of Grain Storage & transport, Henan University of Technology Zhengzhou, Henan 450001, China)

Abstract: Modeling storage of three wheat cultivars with different vitreosity were studied at critical moisture content. The results showed that the increased ratios of mould count on each wheat seeds varied significantly. After stored at 30℃ and 13.5% moisture content for 28 days, mould counts in Jimai 38 and Aikang 58 increased significantly faster ($p < 0.01$) than that in Wenmai 6. Further study demonstrated that Wenmai 6 could resist the growth of *Aspergillus glaucus*. Under different storage temperatures (30℃, 25℃, 20℃ and 15℃) and their corresponding critical moisture contents, the growth of *Aspergillus glaucus* in Wenmai 6 was postponed for over 7 days compared to its growth in Jimai 38 and Aikang 58. In addition, moisture absorption tests were performed for the three dry wheat cultivars under 85% relative humidity condition and the growth of *Aspergillus glaucus* in Wenmai 6 was postponed for 14 days. Therefore, the softer wheat Wenmai 6 had a stronger anti-mould activity than the others under the same storage condition.

Key words: agricultural products; food storage; moisture content; fungi; wheat

小麦是耐储藏性最强的粮食品种之一。在良好的储藏管理下, 可维持数年食用和加工工艺品质的稳定, 在储藏初期还可表现出明显的品质改善现象, 这是其他粮食品种所不具备的特性。有文献报导, 经32年储藏的小麦仍具有基本正常的食品加工特性^[1]。正是由于小麦的储藏稳定性, 使其成为大规模长期储藏的首选粮食品种。但另一方面, 受小麦的皮层结构和吸湿特性等因素的影响, 如果小麦自身含水量高, 或处相对湿度较高的环境下, 与稻谷、玉米这些主要粮食品种相比却更容易滋长霉菌, 从而导致小麦发生品质劣

变, 甚至可能污染真菌毒素^[2~5]。因此, 在进行储藏实践中既要利用小麦在良好储藏条件下品质变化缓慢的特性, 也要重视当小麦处于较高水分或相对湿度条件下容易引发霉变的不利特性。

影响小麦储藏期间发生霉变的主要因素是水分含量和储藏温度。除了我国南方高温、高湿环境会对小麦安全储藏产生影响外, 在大型粮仓的储藏期间, 温差的作用可引发粮堆气流产生湿热扩散作用, 即使入库小麦的水分含量控制在安全储藏水分以内, 也有可能因为吸湿作用而使小麦籽粒或皮层的含水量达到或超过储藏的临界安全水分值。在这种状态下, 以灰绿曲霉 (*Aspergillus glaucus*) 为典型的干生性霉菌就会在小麦表层上生长, 释放代谢热量和水, 并可能引发霉菌生长不断加速和产生种群演替的现象, 最终导致

收稿日期: 2013-04-09

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2013CB127804);

国家自然科学基金(31271948)

作者简介: 蔡静平, 男, 教授, 研究生导师, 研究方向为粮油、食品微生物

储粮出现结块、霉烂等严重的霉变事故^[6]。由于粮仓内的粮堆湿热扩散作用可随粮堆温差的减小而停止,小麦表层在湿热扩散转移中吸附的这部分水可在整个籽粒中平衡,将使小麦籽粒整体水分回到安全水分以下,如果小麦具有一定的抵抗灰绿曲霉生长的能力,当小麦度过阶段性的籽粒表层水分增高期后,灰绿曲霉等干生性霉菌就失去可以生长的条件,小麦就不会出现霉变的现象。因此,即使小麦对于干生性霉菌的生长只有一定时间的抑制,对于避免小麦储藏期间受霉菌活动的危害也具有重要的意义。本实验选择了几个不同类型的小麦品种,通过调节水分和在一定温度下进行模拟储藏,试图了解它们在相同储藏条件下对霉菌侵染和生长抗性方面的差异。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

1.1.1 材料和试剂

小麦样品:从种子市场选购3种外观质地有明显差异的品种:冀麦38、矮抗58和温麦6号作为试验小麦。

1.1.2 实验仪器

恒温恒湿培养箱:HWS-400型,精宏实验设备公司;电热恒温培养箱,HG303-4型,南京实验仪器厂;JYDB100型小麦硬度测定仪,锡粮机械制造有限公司生产。

1.2 实验方法

1.2.1 带菌量检测方法

平板菌落计数法:无菌操作称取25g小麦样品,加入到含225mL无菌水的三角瓶中,振荡30min制成菌悬液,用无菌水稀释到 $10^2\sim 10^6$ 稀释度;每个稀释度做3个平行,用1mL菌悬液与含6%NaCl的改良察氏培养基混合,在28℃下培养5d记录带菌量,7d后对菌落进行类群鉴别。

1.2.2 硬度指数

采用GB/T 213042-2007《小麦硬度测定硬度指数法》测定。

1.2.3 小麦加湿方法

将干燥小麦置于洁净的容器中,按照与目标水分的差值加入一定量无菌水,在5℃下存放48h,使其含水量平衡,通过适当调节,获得所需含水量的试验样品。

1.2.4 小麦水分检测方法

参照国家标准GB/T5479,105℃恒重法。

1.2.5 小麦模拟储藏方法

将调节好水分的小麦样品分装在1000mL的广口

瓶中,用多层洁净棉纱布覆盖,置于不同温度的恒温恒湿箱中,将湿度调节至接近小麦平衡水分的范围,保持小麦水分在整个试验周期中基本稳定。在本实验条件下小麦的含水量变化不超过0.5%。

1.2.6 高湿环境模拟储藏方法

将3种原始水分12.0%的干燥小麦分别置于30cm×40cm的平底搪瓷盘中,摊成厚度约为3cm的薄层,置于恒温恒湿培养箱中进行模拟储藏,控制精度分别为:湿度 $85\pm 5\%$,温度 $30\text{℃}\pm 1\text{℃}$,每隔一定的时间在每一个盘中相同的部位取出一定量的试验小麦混合均匀后检测带菌量。

1.2.7 数据处理方法

使用SPSS 16软件进行试验数据的统计学分析。

2 结果与讨论

2.1 临界安全水分小麦的霉菌生长特性比较

2.1.1 试验小麦的籽粒特点

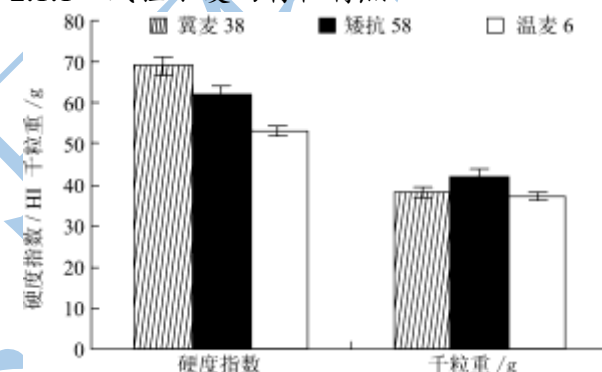


图1 实验小麦的特性

Fig.1 Characteristics of the wheat

我国小麦的品种很多,目前,小麦的硬度已经成为常用的分类指标^[7]。在小麦种子市场选择了3种籽粒外观角质化程度有明显差异的品种,分别是冀麦38、矮抗58和温麦6号。这些品种在华北平原的种植比较普遍,在种子市场的销售规模较大,属于主流品种。对3个小麦品种进行硬度指数和千粒重的检测表明(图1),冀麦38属于硬质小麦,温麦6属于偏软质的小麦,矮抗58属于中等硬度的小麦;籽粒的大小在千粒重数据中可以体现出,冀麦38与温麦6基本相似,矮抗58的籽粒相对较大一些。从小麦的外观和截断面观察,可发现冀麦38角质化程度明显较高,温麦6则呈现更明显的粉质状态,这一点与硬度指数的测定结果相同。本课题研究主要关注小麦在质地方面的明显差异是否对储藏期间霉菌生长产生影响。

2.1.2 临界安全储藏水分下霉菌生长速率的差异

霉菌的生长活动对粮食水分含量的变化非常敏

感。小麦在低水分条件下储藏期间，通常霉菌的含量呈逐渐减少的趋势，在较高的水分条件下储藏，小麦中的霉菌含量将迅速增加。临界安全储藏水分是粮食储藏期间霉菌活动的转折点，选择在这一水分含量附近进行储藏试验，能最大限度揭示不同质地小麦储藏性能的差异。图 2 是水分含量为 $13.5 \pm 0.5\%$ 的几种小麦在 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 下储藏期间霉菌带菌量的变化，在储藏的前 28 d，小麦中的霉菌量均只有少量的波动，3 种小麦之间没有表现出明显的差异。储藏 28 d 以后，小麦中的霉菌开始加速生长，冀麦 38 和矮抗 58 的 14 d 带菌量增加幅度高达 90% 和 94%，分别比温麦 6 的加速度高 3.6 倍和 3.8 倍，在继续储藏期间，小麦中的霉菌生长进一步加速，在储藏 42~56 d 的 14 d 间隔中，质地偏软的温麦 6 带菌量增量值为 41%，而冀麦 38 和矮抗 58 中的霉菌增加量分别达到 238% 和 185%，相对于温麦 6 的霉菌生长增速分别高出 5.8 倍和 4.5 倍。统计分析表明，冀麦 38 和矮抗 58 之间比较的霉菌生长增速差异不显著 ($p > 0.05$)，而与温麦 6 的霉菌生长增速差异非常显著 ($p < 0.01$)，这表明温麦 6 对于霉菌生长具有明显的抗性作用。

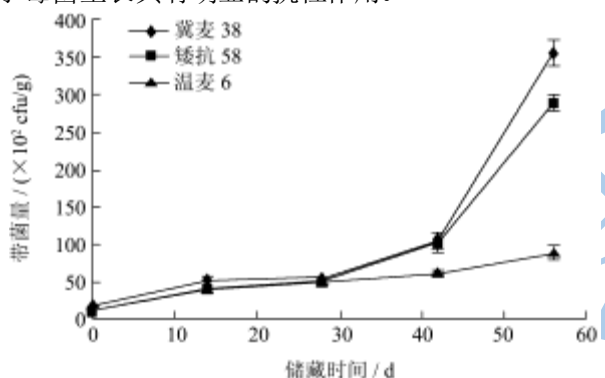


图 2 小麦储藏霉菌带菌量变化

Fig.2 Changes of mould counts during wheat storage

2.1.3 小麦储藏期间灰绿曲霉 (*Aspergillus glaucus*) 生长的差异

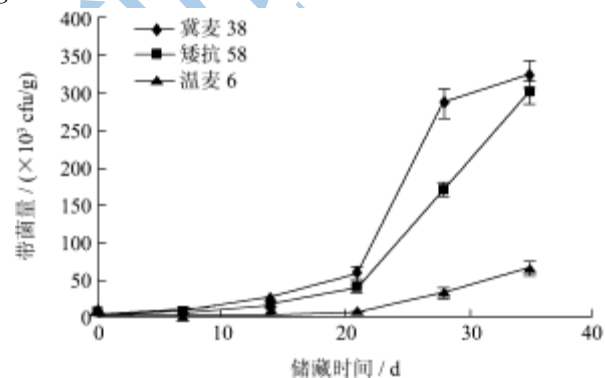


图 3 小麦储藏期间灰绿曲霉菌的变化

Fig.3 Development of *Aspergillus glaucus* counts during wheat storage

灰绿曲霉 (*Aspergillus glaucus*) 属干生性霉菌，可在水分活度低于 0.7 的基质中生长，是粮食储藏中典型的先导性霉菌，一般的储粮发热霉变均由该霉菌的生长所引发。因此，对该霉菌生长的抗性对于小麦的储藏稳定性具有重要的意义。对 3 种水分含量在 14% 左右小麦的储藏表明 (图 3)， $30\text{ }^\circ\text{C}$ 下储藏至第 14 d，冀麦 38 和矮抗 58 的灰绿曲霉带菌量就有显著增多现象 ($p < 0.05$)，而温麦 6 中的灰绿曲霉带菌量在第 28 d 才出现显著升高。此时，冀麦 38 和矮抗 58 甚至已经出现一些感官可见的霉变现象，说明温麦 6 对于灰绿曲霉的生长具有确切的抑制作用。

2.2 不同储藏温度对的临界安全水分小麦中灰绿曲霉生长的影响

表 1 不同储藏温度下小麦中灰绿曲霉带菌量的变化/ $\times 10^2\text{ cfu/g}$

Table 1 Changs of *Aspergillus glaucus* counts in wheat stored at different temperatures

储藏温 度/ $^\circ\text{C}$	小麦水分 [^①]/%	小麦 品种	储藏时间[^②]/d					
			0	7	14	21	28	35
15	16.3 \pm 0.2 ^a	冀麦 38	0.6 ^a	1.0 ^a	2.1 ^a	10.4 ^b	24.4 ^b	35.7 ^b
		矮抗 58	0.3 ^a	1.4 ^a	3.1 ^a	13.5 ^b	32.5 ^b	60.4 ^b
		温麦 6	0.1 ^a	0.1 ^a	0.4 ^a	1.5 ^a	4.1 ^a	7.2 ^a
20	15.1 \pm 0.3 ^b	冀麦 38	1.2 ^a	2.3 ^a	6.2 ^a	12.2 ^b	63.6 ^b	109.2 ^c
		矮抗 58	0.6 ^a	1.5 ^a	4.4 ^a	10.8 ^b	39.8 ^b	102.9 ^c
		温麦 6	0.3 ^a	0.7 ^a	1.5 ^a	1.7 ^a	15.0 ^b	42.8 ^b
25	14.2 \pm 0.2 ^c	冀麦 38	2.2 ^a	10.3 ^b	19.9 ^b	40.3 ^b	52.3 ^b	429.9 ^c
		矮抗 58	1.1 ^a	6.9 ^a	18.7 ^b	39.9 ^b	50.2 ^b	408.6 ^c
		温麦 6	0.0 ^a	0.6 ^a	1.4 ^a	4.0 ^a	4.3 ^a	41.3 ^b

注：[^①]数字后面的肩标字母表示水分差异的显著性，在水分含量一列中，相同字母表示差异不显著 ($p > 0.05$)，不同字母表示差异显著 ($p < 0.05$)；[^②]带菌量:数字后面的肩标字母表示随储藏时间变化的显著性，在同一小麦品种的一行中，相同字母表示差异不显著 ($p > 0.05$)。

粮食的安全储藏临界水分是一个相对值，它与储藏的温度密切相关，即在不同的储藏温度下均存在一个临界水分的范围。考虑到霉菌的种群繁多，它们对温度的适应性有一定的差异，即使是同一个菌种也存在可以适应不同温度生长的菌株，为了对不同小麦品种的抗菌特性进行系统的了解，除了上述已经进行的 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 下的试验，进一步分别在 $15\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $20\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 的温度下对相应水分的 3 种小麦进行考察，结果如表 1 所示。冀麦 38 与矮抗 58 出现灰绿曲霉显著生长的时间基本同步，只有在 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 试验时，矮抗 58 比冀麦 38 推迟 7 d 表现灰绿曲霉的显著生长；但温麦 6 在所有不同温度的试验组中均表现出灰绿曲霉显著生长时间的迟后现象，其中在 $15\text{ }^\circ\text{C}$ 试验组中 35 d 时仍未见有

灰绿曲霉显著生长出现, 在 20 °C 和 25 °C 试验组则分别迟后了 7 d 和 21 d。因此, 在试验结果中, 温麦 6 在不同储藏温度下均具有对灰绿曲霉生长的抗性是共同的, 可以肯定的。在不同储藏温度试验组中, 同一种小麦灰绿曲霉显著生长的时间上存在差异是因为调节的小麦水分与该温度下实际的临界水分有一定的偏差所致。

2.3 安全水分小麦在高湿度环境下储藏的霉菌活动比较

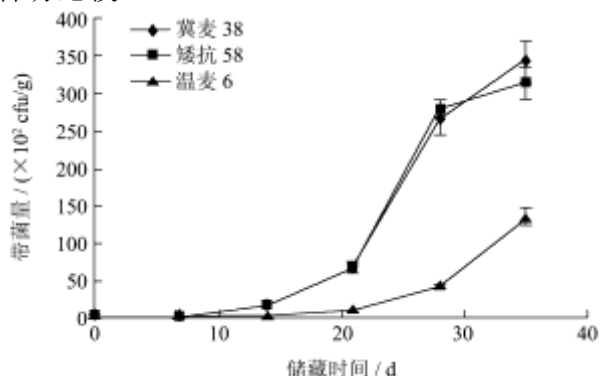


图 4 小麦在高湿环境下储藏时灰绿曲霉的变化

Fig.4 Development of *Aspergillus glaucus* counts in wheat stored in high humidity

品质符合要求的粮食入库后, 在常规储藏期间出现霉变主要是储藏粮食吸湿造成的, 为了模拟这种现象, 将干燥小麦置于相对湿度较高的恒温恒湿培养箱中进行储藏, 观察 3 种小麦出现灰绿曲霉生长的特性。从图 4 可以看出, 干燥小麦在吸湿状态下出现灰绿曲霉显著生长增多的特性与预先调节水分到临界水分的试验结果相同, 温麦 6 出现灰绿曲霉显著生长的时间也迟后了近 14 d。

2.4 讨论

粮食储藏期间霉菌的生长可能产生多种代谢产物, 已知的真菌毒素可能只是霉菌代谢产物中少数的一部分, 粮食中污染这些霉菌代谢物将给以其为原料加工的食品安全性带来严重的不确定性, 这一问题已经引起人们越来越广泛的关注。要从根本上保障食品加工原料的可靠性, 必须确保粮食储藏期间不出现霉菌的生长现象。因此, 探讨粮食不同品种之间对霉菌生长抗性的差异, 有利于实现储粮的科学管理。

我国粮库大规模的储藏一般均将小麦的水分降到安全水分以内, 留有的水分余地可以起到缓冲粮堆水分扩散和转移的作用。但是有时外界的高湿空气或粮堆湿热扩散量超过小麦籽粒水分平衡速度时, 表层水分含量的超标就可能引发干生性霉菌的生长和其它霉菌的发展, 这也是现有粮库储藏中出现粮食结顶、挂壁、点翠等霉变现象的主因。本试验发现温麦 6 品种

对储藏期霉菌生长, 尤其是对干生性的灰绿曲霉生长具有显著抗性的现象, 可以有效缓冲粮堆湿热扩散的不利影响, 提高小麦储藏的稳定性, 对于小麦的安全储藏有重要的意义。如果能够系统地对各种小麦品系进行抗菌性的比较和筛查, 可以实现对不同小麦品种的分类储藏, 提高工作效率和小麦储藏的安全性。也有可能通过深入的研究, 将阻遏霉菌生长的特性应用到品种选育中, 使该特性进一步的强化和普及, 从而培育出储藏稳定性更好的品种。

目前, 在粮食收获后的储藏领域尚未见到本试验相似的关于储藏小麦抗霉菌特性品种的报导, 对于本试验中小麦品种的储藏抗菌作用机制也难以用现有的理论体系作出科学、合理的推测。但是, 在农业种植领域, 随着基因组学研究的深入, 对于与小麦性状相关的形成机理等问题已经有大量深入的研究和报导。其中关于 Puroindolines 蛋白的研究可能与本试验的小麦抗菌特性有一定的联系。大量的研究已经证明, 小麦的籽粒硬度与 Puroindolines 蛋白的表达有关, Puroindolines 蛋白使小麦的质地变软, 而硬质小麦是该类蛋白不表达或发生变异的结果^[8-9]。进一步的研究还发现, 小麦中的 Puroindolines 蛋白对于种植期间的抗病性及其它多种特性有显著相关, 如 Kim 等人发现在种子萌发期间 Puroindolines 蛋白对于青霉等微生物及细菌、酵母菌均有一定的抗性^[10-11]。本实验中, 温麦 6 的在硬度指数上属于偏软质的小麦品种, 肯定有存在 Puroindolines 蛋白的优势, 但是小麦在储藏阶段处于休眠状态, 种子内含有的 Puroindolines 蛋白能否在休眠的“静态”下发挥有效的抗灰绿曲霉生长作用? 尚不能得出肯定的结论, 有待于进一步的研究证明。笔者认为, 即使 Puroindolines 蛋白存在一定的“静态”抗菌功能, 在小麦储藏期间出现的抗菌特性差异可能不是唯一的影响因素, 诸如小麦皮层厚薄的差异、不同质地小麦中影响水活度小分子物质含量方面的差异等, 可能在影响小麦抗菌特性方面也会起到重要的作用。

3 结论

在 30 °C、13.5%水分条件下将表现角质化差有明显率异的冀麦 38、矮抗 58 和温麦 6 进行模拟储藏试验, 温麦 6 在储藏 28 d 以后的 2 个 14 d 带菌量检测周期中, 霉菌总量增速比冀麦 38 分别低 3.6 倍和 5.8 倍, 比矮抗 58 分别低 3.8 倍和 4.5 倍, 说明硬度指数较低的温麦 6 在储藏临界安全水分附近比高硬度指数的小麦品种具有更强的抗霉菌生长的特性。在不同温度下对调节到相应储藏临界安全水分范围的这几种试验小

麦进行灰绿曲霉生长检测, 以及将干燥小麦置于高湿环境下进行小麦吸湿模拟储藏, 温麦 6 均同样表现出至少滞后 7 d 以上的灰绿曲霉生长抑制效应。因此, 可以得出结论, 不同品种小麦在储藏期间对于霉菌生长的抗性存在显著的差异性, 小麦籽粒中阻遏霉菌生长的特性可能与小麦的硬度指数有关。

参考文献

- [1] Rose D J, Ogden L V, Dunn M L, et al. Quality and sensory characteristics of hard red wheat after residential storage for up to 32 y [J]. *J Food Sci.* 2011, 76(1): S8-S13
- [2] 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 Shuxia, Cai Jingping, Tian Haijuan. Mould development characters of different stored grains [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association.* 2010, 25(1), 99-102
- [3] 曾朝珍, 张晓琳, 贡建民, 等. 小麦粉生产过程中微生物的变化规律研究[J]. *现代食品科技*, 2008, 24(9): 861-864
ZENG Chao-zhen, ZHANG Xiao-lin, YUN Jian-min, et al. Quantitative changes of microorganism in wheat flour processing [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2008, 24(9), 861-864
- [4] Magan N, Aldred D, Mylona K. Limiting mycotoxins in stored wheat [J]. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 2010, 27(5): 644-650
- [5] Carl Reed, Stella Doyungan, Brian Ioerger, et al. Response of storage molds to different initial moisture contents of maize (corn) stored at 25 °C and effect on respiration rate and nutrient composition [J]. *Journal of Stored Products Research*, 2007 (43): 443-458
- [6] 岳晓禹, 张恒业, 辛婷, 等. 储粮预测微生物模型的研究进展[J]. *中国粮油学报*, 2012, 27(5): 118-123
Yue Xiaoyu, Zhang Hengye, Xin Ting, et al. Research progress in predictive microbiology models of stored grain [J]. *Journal of Stored Products Research*, 2012, 27(5): 118-123
- [7] 孙辉, 吴存荣, 杨中建, 等. 我国小麦硬度质量状况和硬度分类的研究[J]. *中国粮油学报*, 2008, 23(3): 38-42
Sun Hui, Wu Cunrong, Yang Zhongjian, et al. Current hardness situation and classification of Chinese wheat [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2008, 23(3), 38-42
- [8] 陈锋, 董中东, 程西永, 等. 小麦 puroindoline 及其相关基因分子遗传基础研究进展 [J]. *中国农业科学*, 2010, 43(6): 1108-1116
Chen Feng, Dong Zhong-dong, Cheng Xi-yong, et al. Advances in Research of Molecular Genetics of *puroindoline* and Its Related Genes in Wheat [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(6): 1108-1116
- [9] Yingjie Miao, Ling Chen, Cheng Wang, et al. Expression, purification and antimicrobial activity of puroindoline A protein and its mutants [J]. *Amino Acids*, 2012, 43: 1689-1696
- [10] Vinod Kumar Dhatwalia¹, O P Satil, M K Tripathi, et al. Puroindoline: Antimicrobial wheat endosperm specific protein [J]. *Journal of Agricultural Technology*, 2011, 7(4): 903-906
- [11] Kyung-Hee Kim¹, Leila Feiz, Alan T Dyer¹, et al. Increased Resistance to *Penicillium* Seed Rot in Transgenic Wheat Over-expressing Puroindolines [J]. *J Phytopathol*, 2012, 160: 243-247