

油脂安全

醇洗法脱除玉米胚芽粕中玉米赤霉烯酮的研究

尹惠双¹, 刘玉兰¹, 刘华敏¹, 申泽良¹, 王戩东², 王月华³

(1. 河南工业大学 粮油食品学院, 郑州 450001; 2. 河北五星食品有限公司, 河北 宁晋 055550;

3. 山东三星玉米产业科技有限公司, 山东 邹平 256209)

摘要:根据玉米赤霉烯酮(ZEN)易溶解于乙醇的原理,利用乙醇对玉米胚芽粕进行浸洗,脱除其中ZEN并提高蛋白质含量和改善感官品质。以玉米胚芽粕为原料,研究乙醇体积分数、醇洗温度、料液比、醇洗时间、醇洗次数对ZEN脱除效果的影响。在单因素试验的基础上,采用正交试验研究确定醇洗法脱除玉米胚芽粕中ZEN的最佳工艺条件为:乙醇体积分数80%,醇洗温度40℃,料液比1:15,醇洗时间50 min,醇洗次数1次。在最佳工艺条件下,醇洗后玉米胚芽粕中ZEN含量从906.60 μg/kg降低至179.21 μg/kg,达到国标对饲料粕500 μg/kg限量要求,ZEN脱除率达到80%以上,醇洗玉米胚芽粕中蛋白质含量从17.3%提高至21.8%,且色泽、风味等感官品质得到改善。

关键词:玉米胚芽粕;玉米赤霉烯酮(ZEN);醇洗;脱毒

中图分类号:TS224.6;TS225.1 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2018)06-0076-05

Removal of zearalenone from corn germ meal by ethanol washing method

YIN Huishuang¹, LIU Yulan¹, LIU Huamin¹, SHEN Zeliang¹,
WANG Jiandong², WANG Yuehua³

(1. College of Food Science and Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China;

2. Hebei Yuxing Food Co., Ltd., Ningjin 055550, Hebei, China; 3. Maize Technology of Shandong

Three-Star Co., Ltd., Zouping 256209, Shandong, China)

Abstract: According to the principle of zearalenone (ZEN) dissolving in ethanol easily, the corn germ meal was washed by ethanol to remove ZEN, improve protein content and sensory quality. With corn germ meal as raw material, the effects of volume fraction of ethanol, ethanol washing temperature, ratio of material to liquid, ethanol washing time and ethanol washing times on the removal effect of ZEN were studied. Based on single factor experiment, the optimal removal conditions of ZEN from corn germ meal by ethanol washing method were obtained by orthogonal experiment as follows: volume fraction of ethanol 80%, ethanol washing temperature 40℃, ratio of material to liquid 1:15, ethanol washing time 50 min and ethanol washing once. Under these conditions, the content of ZEN in the corn germ meal after ethanol washing decreased from 906.60 μg/kg to 179.21 μg/kg, which was less than 500 μg/kg required by national standard to forage, and the removal rate of ZEN reached above 80%. In addition, the protein content increased from 17.3% to 21.8%, and the sensory qualities such as color and flavor were improved.

Key words: corn germ meal; zearalenone (ZEN); ethanol washing; detoxification

收稿日期:2017-09-25;修回日期:2018-03-21

基金项目:“十三五”国家重点研发计划支持项目子课题(2016YFD0401405)

作者简介:尹惠双(1991),女,硕士研究生,研究方向为油料油脂加工技术与产品质量安全(E-mail)hsyinmars@163.com。

通信作者:刘玉兰,教授,硕士生导师(E-mail)liuy17446@163.com。

我国是玉米生产大国,2012年玉米产量超过稻谷成为我国第一大主粮作物^[1]。2012年的玉米总产量为20 812万t,消费量达到18 575万t,位居世界第二位^[2]。近年我国对玉米的消费除食用外,大量用于饲料行业和玉米深加工。玉米胚是玉米深加工(主要是淀粉及酒精工业)的副产物,2013年

玉米胚产量达 420 万 ~ 540 万 t^[3-4]。玉米胚经压榨和浸出提取玉米油后,其饼粕主要用作饲料。由于玉米易被真菌侵袭及霉菌毒素污染,特别是被玉米赤霉烯酮(ZEN)污染,因此也造成 ZEN 在玉米胚及其加工产物即玉米油和玉米胚芽粕中的残留^[5]。ZEN 又称 F-2 毒素,化学名称为 6-(10-羟基-6-氧基碳烯基)- β -雷锁酸- μ -内酯,主要是由镰刀菌产生的 2,4-二羟基苯甲酸内酯类化合物^[6]。ZEN 对人和动物具有生殖发育毒性、致癌性、免疫毒性以及肝肾毒性等危害性^[7-9]。我国对 ZEN 在食品和饲料中的限量均有明确要求。GB 2761—2011《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》对玉米、玉米面中 ZEN 限量为 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$, GB 13078.2—2006《饲料卫生标准 饲料中赭曲霉毒素 A 和玉米赤霉烯酮的允许量》规定玉米胚芽粕中 ZEN 最大允许量为 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。根据前期的研究结果及相关文献报道^[10-13],我国玉米胚及其加工产品玉米毛油和玉米胚芽粕中含 ZEN 较普遍且超标风险大,玉米毛油中 ZEN 的脱除可采用优化的碱炼工艺技术。但对于玉米胚及玉米胚芽粕中 ZEN 的脱除却鲜有报道。玉米胚芽粕主要用作饲料,其中 ZEN 残留超标会对饲料安全乃至食品安全造成很大威胁。为此,有必要对玉米胚芽粕中 ZEN 脱除技术进行研究。考虑到 ZEN 的醇溶性及乙醇的安全性,本文对利用乙醇溶液浸洗玉米胚芽粕以脱除其中 ZEN 的工艺条件和脱毒效果进行研究,以期在利用乙醇高效脱除玉米胚芽粕中 ZEN 的同时,通过乙醇对玉米胚芽粕中部分糖类、色泽及不良风味的浸洗去除,兼顾提高玉米胚芽粕的蛋白质含量和感官品质,综合提升玉米胚芽粕的安全品质和营养品质。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

玉米胚芽粕,取自玉米油加工企业;ZEN 标准品(纯度 >99.99%),Sigma 公司;无水乙醇及乙醇(95%)、十二水合磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、氯化钠、浓盐酸、浓硫酸、苯酚、硅藻土、氯化钾、次氯酸

钠,均为分析纯;甲醇、乙腈,色谱纯。

1.1.2 仪器与设备

AL204 电子分析天平;ZNCLGS 磁力搅拌器;SHB-III 循环水式多用真空泵;RE-200A 旋转蒸发器;HH-4 数显搅拌水浴锅;LD5-10 低速离心机;LGJ-10C 四环冻干机;FW-80 高速万能粉碎机;FM200 高剪切分散乳化机;Waters-2695 高效液相色谱仪;Waters-2475 荧光检测器;KQ3200DE 数控超声波清洗器;MTN-2800W 氮气浓缩装置。

1.2 试验方法

1.2.1 玉米胚芽粕主要指标的测定

粗脂肪含量测定:参照 GB 5009.6—2016;粗纤维含量测定:参照 GB/T 5515—2008;粗蛋白质含量测定:参照 GB 5009.5—2016;灰分含量测定:参照 GB 5009.4—2016;水分含量测定:参照 GB 5009.3—2016;总糖含量测定:参照 GB/T 15672—2009。

1.2.2 醇洗法脱除玉米胚芽粕中 ZEN

称取一定质量的玉米胚芽粕,按照比例加入一定体积分数的乙醇溶液,然后置于一定温度的恒温水浴锅中进行搅拌提取,每次浸提完毕后,于低速离心机中以 4 500 r/min 离心 5 min,弃去上清液。沉淀放入电热恒温鼓风干燥箱中以 30 $^{\circ}\text{C}$ 低温鼓风除去乙醇,再于冻干机中冻干待测。

1.2.3 玉米胚芽粕中 ZEN 含量的测定

ZEN 含量测定参照 GB/T 28716—2012《饲料中玉米赤霉烯酮的测定 免疫亲和柱净化-高效液相色谱法》。免疫亲和柱净化方法参照 GB 5009.209—2016《食品安全国家标准 食品中玉米赤霉烯酮的测定》。液相色谱条件: C18 色谱柱(5 μm , 150 mm \times 4.6 mm);流动相为乙腈-水(体积比 55:45);流速 1.0 mL/min;柱温 30 $^{\circ}\text{C}$;进样量 20 μL ;激发波长 278 nm,发射波长 462 nm。ZEN 脱除率按下式计算。

$$\text{ZEN 脱除率} = (\text{原料粕中 ZEN 含量} - \text{醇洗后粕中 ZEN 含量}) / \text{原料粕中 ZEN 含量} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 玉米胚芽粕基本组成(见表 1)

表 1 玉米胚芽粕基本组成

	%				
粗脂肪	粗蛋白质	粗纤维	水分	灰分	总糖
4.6	17.3	10.0	7.3	1.35	49.55

2.2 ZEN 标准曲线的制作及方法验证

准确称取 1 mg ZEN 标准品于 10 mL 容量瓶中,用色谱纯乙腈将其配制成质量浓度为 0.1 mg/mL 的标准储备液。准确吸取一定量的 ZEN 标准储备

液,根据需要用色谱纯乙腈稀释配制成 20 ~ 5 000 ng/mL 范围的标准工作液。在液相色谱荧光检测条件下的检测结果表明在 20 ~ 5 000 ng/mL 范围内 ZEN 标准液质量浓度与峰面积呈现良好线性

关系,其线性方程为 $y = 1\,589.90x - 7\,495.02$, $R^2 = 0.9997$ 。

对玉米胚芽粕进行免疫亲和柱净化,采用 HPLC-FLD 检测方法对样品进行 ZEN 检测,分别

表 2 玉米胚芽粕中 ZEN 不同加标水平的回收率及 RSD ($n=6$)

ZEN 添加量/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	本底值/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	检测值/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率/%	RSD/%
300.00	624.45	876.38	83.98	5.37
600.00	624.45	1\,194.57	95.02	2.51
1\,200.00	624.45	1\,907.64	106.93	4.68

由表 2 可以看出,免疫亲和柱-高效液相色谱法检测玉米胚芽粕中 ZEN 加标回收率为 83.98% ~ 106.93%,平均回收率为 95.31%,相对标准偏差为 2.51% ~ 5.37%,平均相对标准偏差为 4.19%,根据信噪比为 3 确定检出限为 12 $\mu\text{g}/\text{kg}$,可以较为准确、可靠地进行玉米胚芽粕样品中 ZEN 含量测定。该结果与 Escobar 等^[15] 研究结果相似,其回收率为 94% ~ 97%,满足加标回收率 80% ~ 120% 的基本要求范围。

2.3 醇洗法脱除玉米胚芽粕中 ZEN 的单因素试验

2.3.1 乙醇体积分数对 ZEN 脱除效果的影响

在醇洗温度 50 $^{\circ}\text{C}$ 、料液比 1:15、醇洗时间 50 min、醇洗次数 1 次条件下,设置不同的乙醇体积分数(40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%)对玉米胚芽粕中 ZEN 进行脱除,乙醇体积分数对 ZEN 脱除效果的影响如图 1 所示。

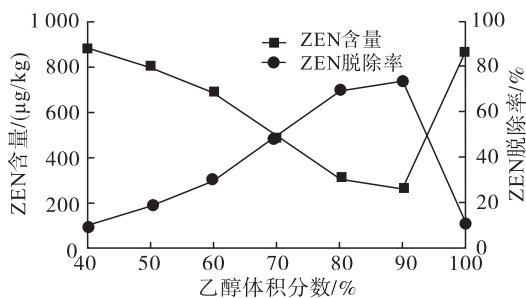


图 1 乙醇体积分数对 ZEN 脱除效果的影响

从图 1 可以看出,随着乙醇体积分数的增大,物料中的 ZEN 含量逐渐降低,ZEN 脱除率逐渐提高,当乙醇体积分数达到 90% 时,物料中 ZEN 含量达到最低,ZEN 脱除率达到最高。这可能与 ZEN 良好的醇溶性及乙醇水溶液对玉米胚芽粕中蛋白质的作用有关。在高浓度的乙醇溶液中玉米胚芽粕中蛋白质可能因醇变性作用其结构变得松散,增加了玉米胚芽粕中 ZEN 与乙醇溶液的接触机会,更加有利于 ZEN 溶于乙醇溶液,进而提高了 ZEN 的脱除率。但当乙醇体积分数过高时,因乙醇溶液的极性降低,与 ZEN 的极性相差变大,不利于 ZEN 的溶解,反而使

对原料样品进行低、中、高 3 个水平加标回收试验^[14],每个加标水平平行测定 6 次,计算加标回收率及相对标准偏差(RSD),结果见表 2。

得 ZEN 脱除率降低。在乙醇体积分数 70% 时,ZEN 残留已经达到 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的预期。考虑乙醇体积分数对生产成本的影响,选定乙醇体积分数 70% ~ 90% 较为合理。

2.3.2 醇洗温度对 ZEN 脱除效果的影响

在乙醇体积分数 70%、料液比 1:15、醇洗时间 50 min、醇洗次数 1 次条件下,设置不同的醇洗温度(20、30、40、50、60、70、80 $^{\circ}\text{C}$)对玉米胚芽粕中 ZEN 进行脱除,醇洗温度对 ZEN 脱除效果的影响如图 2 所示。

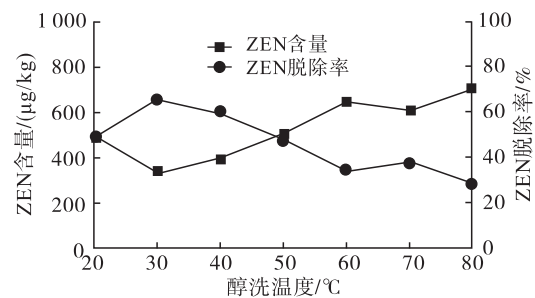


图 2 醇洗温度对 ZEN 脱除效果的影响

从图 2 可以看出,在醇洗温度 30 $^{\circ}\text{C}$ 时,物料中 ZEN 含量最低,ZEN 脱除率最高。当醇洗温度高于 30 $^{\circ}\text{C}$ 之后,ZEN 脱除率降低,这可能是由于温度升高会造成乙醇挥发汽化并对 ZEN 在溶液中的溶解性产生影响。但适当升高温度对提高脱除速率是有利的。因此,选定醇洗温度 20 ~ 40 $^{\circ}\text{C}$ 较为合理。

2.3.3 醇洗时间对 ZEN 脱除效果的影响

在醇洗温度 50 $^{\circ}\text{C}$ 、乙醇体积分数 70%、料液比 1:15、醇洗次数 1 次条件下,设置不同的醇洗时间(10、30、50、70、90、120、180、240 min)对玉米胚芽粕中 ZEN 进行脱除,醇洗时间对 ZEN 脱除效果的影响如图 3 所示。

从图 3 可以看出,在醇洗时间 50 min 时,ZEN 脱除率最高,ZEN 含量最低;醇洗时间超过 50 min 之后,ZEN 脱除率呈现降低趋势,直至 90 min 之后维持稳定。因此选定醇洗时间范围为 30 ~ 70 min。

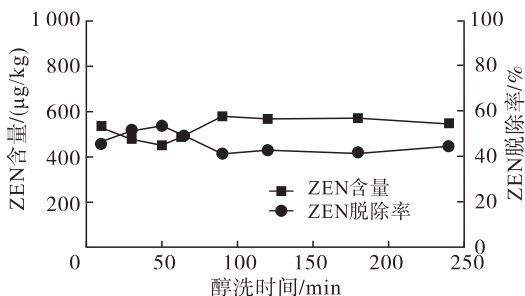


图3 醇洗时间对ZEN脱除效果的影响

2.3.4 料液比对ZEN脱除效果的影响

在醇洗温度50℃、乙醇体积分数70%、醇洗时间50 min、醇洗次数1次条件下,设置不同的料液比(1:5、1:8、1:11、1:14、1:17、1:20、1:25、1:30、1:35、1:40、1:45、1:50)对玉米胚芽粕中ZEN进行脱除,料液比对ZEN脱除效果的影响如图4所示。

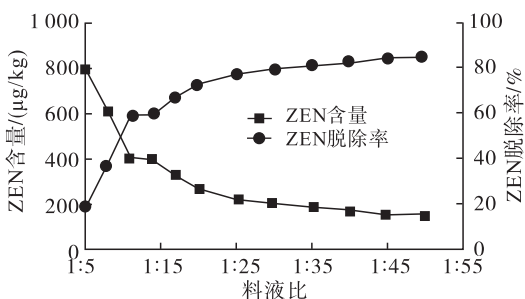


图4 料液比对ZEN脱除效果的影响

从图4可以看出,随着料液比的增大,ZEN脱除率逐渐增大,说明料液稀释度的增加有利于ZEN的溶解,当料液比达到1:11后,虽然物料中的ZEN含量有所降低,但ZEN脱除率增加并不明显,且此时ZEN含量已经达到小于500 μg/kg的预期。综合经济效益和工业化实际生产考虑,选定料液比为1:10~1:20。

2.3.5 醇洗次数对ZEN脱除效果的影响

在醇洗温度50℃、乙醇体积分数70%、料液比1:15、醇洗时间50 min条件下,设置不同的醇洗次数(1、2、3、4、5次)对玉米胚芽粕中ZEN进行脱除,醇洗次数对ZEN脱除效果的影响如图5所示。

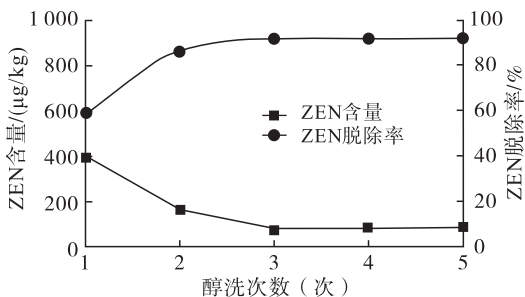


图5 醇洗次数对ZEN脱除效果的影响

从图5可以看出,在醇洗次数达到3次时,ZEN脱除率已达到86%左右,醇洗次数超过3次后ZEN脱除率基本不变。在醇洗1次后物料中ZEN含量

已经低于500 μg/kg 国标限量,但若考虑尽可能降低ZEN含量,也可采用3次醇洗。但增加醇洗次数必定会造成乙醇消耗增加和生产成本升高,为减少资源浪费,综合考虑选定醇洗次数为1次。

2.4 醇洗法脱除玉米胚芽粕中ZEN的正交优化试验

通过单因素试验可知,比较优化的醇洗脱除ZEN条件为:乙醇体积分数70%~90%,醇洗温度20~40℃,醇洗时间30~70 min,料液比1:10~1:20。为进一步优化脱除条件,进行四因素三水平的正交试验,正交试验的因素水平如表3所示,正交试验结果及分析如表4所示。

表3 正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积分数/%	B 醇洗温度/℃	C 醇洗时间/min	D 料液比
1	70	20	30	1:10
2	80	30	50	1:15
3	90	40	70	1:20

从表4可以看出,乙醇体积分数、醇洗温度对ZEN脱除效果的影响最大,料液比、醇洗时间对ZEN脱除效果的影响较小。综上分析得到的最佳条件为A₂B₃C₂D₂,即乙醇体积分数80%,醇洗温度40℃,料液比1:15,醇洗时间50 min,醇洗次数1次。在最佳条件下进行验证试验,测得ZEN含量由906.60 μg/kg降至179.21 μg/kg,ZEN脱除率达到80.23%,玉米胚芽粕中ZEN含量达到国标小于等于500 μg/kg的限量。同时脱毒玉米胚芽粕中粗蛋白质含量从17.3%提高至21.8%,色泽和风味改善,其安全品质和营养价值都得到一定程度的提高。

3 结论

利用醇洗法对玉米胚芽粕中ZEN进行脱除,通过单因素试验和正交试验得到的最佳条件为:乙醇体积分数80%,醇洗温度40℃,料液比1:15,醇洗时间50 min,醇洗次数1次。在最佳条件下,ZEN脱除率达到80%以上,玉米胚芽粕中ZEN含量由906.60 μg/kg降至179.21 μg/kg,达到国标要求小于等于500 μg/kg的限量指标。同时玉米胚芽粕中粗蛋白质含量从17.3%提高至21.8%。醇洗后的玉米胚芽粕经脱溶干燥后不仅显著提升了饲用安全品质,并且醇洗过程玉米胚芽粕中少部分的糖类被乙醇萃取出来,由此提高了玉米胚芽粕的蛋白质含量,醇洗后的玉米胚芽粕色泽、风味改善,提高了饲料的应用价值。

表4 正交试验结果及分析

试验号	A	B	C	D	ZEN 含量/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	ZEN 脱除率/%
1	1	1	1	1	428.35	52.75
2	1	2	2	2	327.24	63.90
3	1	3	3	3	316.21	65.12
4	2	1	2	3	306.21	66.22
5	2	2	3	1	368.69	59.33
6	2	3	1	2	251.66	72.24
7	3	1	3	2	399.50	55.93
8	3	2	1	3	524.29	42.17
9	3	3	2	1	378.70	58.23
ZEN 含量						
k_1	357.27	378.02	401.43	391.91		
k_2	308.85	406.74	337.38	326.13		
k_3	434.16	315.52	361.47	382.24		
R	125.31	91.22	64.05	65.78		
ZEN 脱除率						
k_1	60.59	58.30	55.72	56.77		
k_2	65.93	55.13	62.78	64.02		
k_3	52.11	65.20	60.13	57.84		
R	13.82	10.07	7.06	7.25		

参考文献:

- [1] 陈叶盛, 潘华斌. 中国玉米进出口形势展望[J]. 农业展望, 2016, 12(6): 59-65.
- [2] 程茜茜. 我国玉米贸易的现状及其对策研究[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2014.
- [3] 刘跃芹, 吴延东, 金贞花, 等. 玉米赤霉烯酮的毒性及脱毒研究进展[J]. 广州化工, 2016, 44(13): 6-8.
- [4] 陈叶盛, 刘杨. 中美玉米深加工产业比较研究[J]. 世界农业, 2014(10): 45-48.
- [5] 余元善, 邱礼平, 吴辉, 等. 玉米干磨酒精生产期间原料内呕吐毒素和赤霉烯酮的去向[J]. 食品工业科技, 2011, 32(6): 208-211.
- [6] SOHN H B, SEO J A, LEE Y W. Co-occurrence of *Fusarium mycotoxins* in mouldy and healthy corn from Korea [J]. Food Addit Contam, 2010, 16(4): 153-158.
- [7] HERRERA M, CONCELLO P, JUAN T, et al. Fumonisin concentrations in maize as affected by physico-chemical, environmental and agronomical conditions [J]. Maydica, 2010, 55: 121-126.
- [8] 王金勇, 刘颖莉, 关舒, 等. 2013年1—7月中国玉米及小麦霉菌毒素检测报告[J]. 中国畜牧杂志, 2013, 49(18): 1-3.
- [9] BRERA C, CATANO C, DE SANTIS B, et al. Effect of industrial processing on the distribution of aflatoxins and zearalenone in corn - milling fractions [J]. J Agric Food Chem, 2016, 54: 5014-5019.
- [10] 曾宪远, 宁焕焱, 尹艳, 等. 高效液相色谱串联质谱法测定花生及制品中的五种真菌毒素[J]. 现代食品科技, 2014, 30(1): 217-222.
- [11] 裴娅晓. 玉米油中玉米赤霉烯酮的控制和脱除方法研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2016.
- [12] 褚庆华, 郭德华, 王敏, 等. 油料和食用油中真菌毒素快速测定方法的研究[J]. 中国粮油学报, 2006, 21(2): 114-120.
- [13] 裴娅晓, 刘玉兰, 许利丽, 等. 碱炼脱除玉米油中玉米赤霉烯酮(ZEN)的研究[J]. 中国油脂, 2016, 41(5): 56-60.
- [14] 李必斌, 张海霞. 标准加标回收实验方案探讨[J]. 中国卫生检测杂志, 2000, 10(5): 618-619.
- [15] ESCOBAR J, ELENA S L, GIMÉNEZ F M, et al. Occurrence and exposure assessment of *Fusarium mycotoxins* in maize germ, refined corn oil and margarine [J]. Food Chem Toxicol, 2013, 62: 514-520.