

“守护粮食食品安全，全球携手在行动” 特约专栏文章之二

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2021.06.002

KALLIOPI M, ANGEL M, NARESH M. 非生物储存因素互作对储藏土耳其带壳榛子呼吸、干物质损失和黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 污染的影响[J]. 粮油食品科技, 2021, 29(6): 16-22.

KALLIOPI M, ANGEL M, NARESH M. Effect of interacting abiotic storage conditions on respiration, dry matter losses and aflatoxin B<sub>1</sub> contamination of stored Turkey's shelled hazelnuts[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2021, 29(6): 16-22.

# 非生物储存因素互作对储藏土耳其带壳榛子呼吸、干物质损失和黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 污染的影响

Kalliopi Mylona, Angel Medina, Naresh Magan✉

(英国克兰菲尔德大学, 环境和农业食品领域学院, 应用真菌学团队, 英国 克兰菲尔德, MK43 0AL)

**摘要:** 榛子是一种具有重要经济意义、世界各地广泛食用的坚果, 易受黄曲霉感染和黄曲霉毒素的污染。以土耳其榛子为研究对象, 旨在了解不同的温度和可利用水分下, 自然存储的带壳榛子的量化呼吸速率、干物质损失 (DML) 和黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) 的污染等情况, 以及榛子储存前附加接种黄曲霉对干物质损失和 AFB<sub>1</sub> 污染的影响。榛子和相关菌群的最大呼吸作用发生在 0.90~0.95 水分活度 ( $a_w = 12.5\% \sim 18\%$  水分含量) 的潮湿条件下。这导致 25 和 30 °C 下储存 5 d 后, 榛子损失约 10% 的 DML。储存的带壳榛子+接种黄曲霉在 25~30 °C 和小于 0.90  $a_w$  下产生类似的最佳呼吸模式。事实上, 在测试的最大水分水平 0.90  $a_w$  的 AFB<sub>1</sub> 污染是最高的; 这样的污染水平超过了欧盟对这些坚果污染 AFB<sub>1</sub> 的法定限制。两组研究中, DML 与所有 AFB<sub>1</sub> 数据之间的相关性表明, 由于干燥或  $\geq 0.6\%$  不良储存引起非常小的 DML 变化, 可导致 AFB<sub>1</sub> 污染超过欧盟法定限制。因此, 有效干燥和安全监控储存对于最大限度地降低这种重要经济商品中 AFB<sub>1</sub> 污染风险并避免消费者暴露于此类毒素是十分必要的。

**关键词:** 土耳其榛子; 储藏; 呼吸; 干物质损失; 黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>; 黄曲霉; 法定限制

中图分类号: TS201.1 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2021)06-0016-07

网络首发时间: 2021-11-02 16:03:42

网络首发地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3863.TS.20211101.1732.004.html>

## Effect of Interacting Abiotic Storage Conditions on Respiration, Dry Matter Losses and Aflatoxin B<sub>1</sub> Contamination of Stored Turkey's Shelled Hazelnuts

KALLIOPI Mylona, ANGEL Medina, NARESH Magan✉

(Applied Mycology Group, Environment and AgriFood Theme, Cranfield University, Cranfield, Beds. MK43 0AL, U.K.)

**Abstract:** Hazelnuts are an economically important nut which is consumed world-wide. It is prone to

收稿日期: 2021-08-23

作者简介: Kalliopi Mylona, 女, 1982 年出生, 博士, 助理研究员, 研究方向为产真菌毒素真菌和真菌毒素污染的生态学。E-mail: kalimilona@hotmail.com. 作者详细介绍见 PC19.

通讯作者: Naresh Magan, 男, 1953 年出生, 高级理学博士, 教授, 学术带头人, 研究方向为应用真菌学。E-mail: n.magan@cranfield.ac.uk. 作者详细介绍见 PC19-PC20。本文英文原文详见 P23-P28.

infection by *Aspergillus flavus* and contamination with aflatoxins. Taking Tukey's hazelnuts as a research object, the objective of this study were to (a) quantify respiration rates and (b) dry matter losses (DMLs) and (c) aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) contamination of naturally stored shelled hazelnuts at different temperatures and water availabilities. Subsequently, shelled hazelnuts were inoculated with additional *A. flavus* inoculum prior to storage to examine effects on dry matter losses and on AFB<sub>1</sub> contamination. Maximum respiration of hazelnuts and associated mycoflora was under wetter conditions of 0.90~0.95 water activity ( $a_w = 12.5\% \sim 18\%$  moisture content). This resulted in between approx. 10% DML at 25 and 30 °C after 5 days storage. Inoculation and storage of shelled hazelnuts + *A. flavus* inoculum resulted in similar patterns of respiration with optimal levels at 25~30 °C and  $>0.90 a_w$ . Indeed, AFB<sub>1</sub> contamination was highest at the maximum water levels tested of 0.90  $a_w$ . Indeed the contamination level exceeded the legislative limits set by the EU for AFB<sub>1</sub> contamination of these nuts. Correlation between DMLs and all the AFB<sub>1</sub> data in both sets of studies showed that very small changes in DML due to poor drying or storage of  $\geq 0.6\%$  resulted in AFB<sub>1</sub> contamination levels exceeding the EU legislative limits. Thus, efficient drying and safe monitored storage is necessary to minimise the risk of AFB<sub>1</sub> contamination in this economically important commodity and to avoid exposure of consumers to such toxins.

**Key words:** Turkey's hazelnuts; storage; respiration; dry matter losses; aflatoxin B<sub>1</sub>; *Aspergillus flavus*; legislative limits

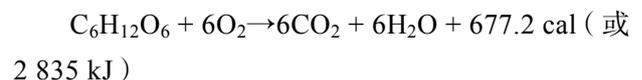
榛子 (*Corylus avellana* L.) 是一种受欢迎的树生坚果, 主要种植在土耳其和南欧。土耳其是最大的榛子生产国, 约占世界产量的 75%<sup>[1]</sup>。榛子是重要的营养来源, 尤其是脂质, 包括单不饱和脂肪酸、生育酚和植物酚以及酚类化合物, 所有这些成分都有益于健康<sup>[2-3]</sup>。

收获的带壳榛子具有良好的屏障, 可以防止真菌污染和潜在的真菌毒素污染, 尤其是黄曲霉毒素 (AFs)。然而, 榛子的干燥缓慢, 尤其是自然晒干可能需要数周时间, 为真菌定殖和 AFs 污染提供有利条件。若遇较差的储存条件会加剧 AFs 的污染<sup>[1]</sup>。因此, 包括欧盟在内的许多国家对此类坚果的最大黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>, 1a 类致癌物) 和总 AFs 有严格的法定限制, AFB<sub>1</sub> 和总 AFs 分别为 5 和 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[4]</sup>。

榛子与其他可食用种实一样, 具有生命, 并在安全储存和水分条件下 (水分活度,  $a_w$ ;  $<0.70$   $a_w = 7.5\% \sim 8\%$  水分含量 (m.c.)) 通常进行非常低水平的呼吸。在这些条件下, 虽然真菌污染物存在, 但它们无法引发腐败或毒素污染<sup>[5-6]</sup>。然而, 榛子采收时非常潮湿  $>25\%$  m.c., 在干燥过程中 m.c. 减少到安全水平。但是, 缓慢或低效的干燥和随后的储存可能污染上真菌, 特别是黄曲霉类群 (例如, 黄曲霉) 能在坚果上定殖, 导致 AFs, 尤其是 AFB<sub>1</sub> 的污染增加。这些物种喜干 (嗜旱)

并且由于它们能够产生相关的水解酶, 能在中等湿度条件下迅速定殖富含脂质的底物<sup>[7]</sup>。这就会导致干物质损失 (dry matter losses, DML)、异味和营养质量恶化<sup>[8]</sup>。

呼吸作用已被有效地用于测量储存商品的代谢活动, 尤其是谷物<sup>[9-14]</sup>。呼吸作用是碳水化合物的有氧氧化, 由以下方程表示<sup>[15]</sup>:



这包括商品 (谷物、坚果) 和伴随微生物的呼吸作用。多年来, 人们一直关注微生物和商品呼吸对总呼吸的相关贡献。Seitz 等<sup>[16-17]</sup>报道, 在储存过程中, 真菌对 DML 的贡献增加的速度取决于主要的 m.c.、温度、籽粒损坏程度和污染商品的叶际表面真菌群落。

最近的研究表明, 在一系列商品 (谷物、花生) 储存期间 CO<sub>2</sub> 产生量的变化, 可以有效地用作 DML 的指标, 这可能与潜在的真菌毒素污染有关<sup>[11-12, 18-20]</sup>。这些研究利用碳水化合物/脂质的氧化会产生 CO<sub>2</sub>, 在温度  $\times a_w$  相互作用条件下的有氧呼吸速率来计算质量损失及 DML 比例。使用气相色谱法测定的呼吸率 (R) 及其相关的 DML 可建立 “储存风险指数”, 以预测储存的谷物和坚果中的整体质量变化和真菌毒素污染情况<sup>[8, 21]</sup>。

已发现 0.04%~2% 之间的 DML 能影响种实质

量和与欧盟法定最大限值相关的真菌毒素污染风险<sup>[11-14,17-20]</sup>。最近对储存在不同 m.c.s 和温度下的带壳花生进行的研究量化了呼吸率和 DMLs, 并将其与 AFB<sub>1</sub> 污染相关联<sup>[20]</sup>。这被用来评估不同储存条件的相对风险, 这些条件会影响超过欧盟法定限制的 AFB<sub>1</sub> 污染水平。尽管榛子是一种重要的食用商品, 被广泛用于烘焙食品、巧克力零食和冰淇淋的各种加工食品链, 但目前还没有对榛子进行类似的研究。

本研究的目的是 (a) 量化呼吸速率, (b) 干物质损失, (c) AFB<sub>1</sub> 污染包括自然污染的榛子以及储存之前附加接种黄曲霉毒素的榛子, 并首次建立了 DMLs 与 AFB<sub>1</sub> 污染之间的关系。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 仪器与amp;设备

露点/水活度计 AQUALAB 4TE 系列: 美国华盛顿, Decagon Instruments; 伽马辐照: 12 kGy, 英国斯温登 Synergy Health; 40 mL 透明玻璃挥发性有机物分析 (VOA) 小瓶: Supelco 23188; 免疫亲和柱: 奥地利图伦, Romer。

### 1.2 榛子和水分吸附曲线

生榛子: 土耳其马尔马拉研究中心 TUBITAK MAM。将已知体积的无菌水 (0~2 mL) 加入到 40 mL 玻璃通用瓶中的 5 g 自然污染带壳榛子样品中。将其密封、剧烈摇晃并在 4 °C 下储存过夜以平衡水分。然后在室温 (T) 下平衡样品, 使用露点/水活度计 AQUALAB 4TE 系列测量每个子样品的 a<sub>w</sub> 值。通过添加水量 (mL) 与测量的 a<sub>w</sub> 值作图确定水吸附曲线。曲线用于确定每组实验达到目标 a<sub>w</sub> 水平所需的确切水量。之后, 通过在 105 °C 的烘箱中干燥 16 h 来测定样品的 m.c。

对于黄曲霉接种实验, 成批榛子 (500 g × 4) 最初经过伽马辐照以杀死所有微生物, 并储存在 4 °C 的密封袋中直至使用。在此辐射剂量下, 坚果保留了萌发能力, 但没有真菌污染<sup>[21]</sup>。还为辐照过的生榛子制作了水分吸附曲线。

### 1.3 自然污染的带壳榛子的储存方式对干物质损失的影响

将自然污染的带壳榛子样品 (160 g) 置于

500 mL Duran 烧瓶中表面消毒。参照吸湿曲线, 添加无菌水以获得 0.70 (对照)、0.85、0.90 和 0.95 (=5%、10%、12.5% 和 18% m.c. 湿重基) 的目标 a<sub>w</sub> 值, 4 °C 下储存 24 h。每种处理四个重复 (10 g), 置于 40 mL 透明玻璃挥发性有机物分析 (VOA) 小瓶中, 小瓶具可密封 PTFE 盖, 内置硅胶隔垫, 以便于稍后从顶空气体采样。将相同 a<sub>w</sub> 水平的榛子样品与 2 × 500 mL 甘油/水溶液的烧杯一起放在 12-L 聚丙烯环境室中培育, 保持与每个 a<sub>w</sub> 处理值相对应的大气目标平衡相对湿度 (ERH)。榛子样品培育 5 d。

本研究使用的储存处理温度范围为 15~30 °C, a<sub>w</sub> 范围为 0.70~0.95。每 24 h 测量一次二氧化碳 (CO<sub>2</sub>) 产量。采样方法涉及使用气相色谱测量顶部空间中积累的 CO<sub>2</sub>, 如 Mylona & Magan (2011) 所述<sup>[11]</sup>。CO<sub>2</sub> 百分比浓度用于计算 (a) 以 mg CO<sub>2</sub> (kg/h) 为单位的呼吸 (R) 速率, (b) 储存 5 d 后 CO<sub>2</sub> 的总累积量和 (c) 总 DML<sup>[11]</sup>。

### 1.4 测量接种黄曲霉榛子储存期间的呼吸活动、干物质损失和黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 污染

从榛子中分离出已知产黄曲霉毒素的黄曲霉菌株 1217, 由土耳其 TUBITAK MAM 友情提供。该菌株在 MEA 培养基 25 °C 培养 5~7 d。黄曲霉孢子悬浮液用作储存实验的接种物。用无菌环接种, 将分生孢子置于 10 mL 含有 0.01% Tween 80 的无菌水中。剧烈摇动获得孢子悬浮液。通过使用血细胞计数器用无菌水稀释调节浓度至 5 × 10<sup>7</sup> 个孢子/mL。

参照水吸附曲线, 用无菌水将消毒过罐中的榛子 (每批 100 g) 调节至 0.85、0.90 和 0.95 a<sub>w</sub> (=10%、12.5% 和 18% m.c.)。实际添加的水量略少以便添加接种体。在 4 °C 平衡过夜, 处理组 25 °C 平衡。然后将 0.2 mL 等分的黄曲霉接种体加入榛子处理样品中, 并充分混合。将每个 a<sub>w</sub> 处理的四个重复放置在 40 mL 玻璃瓶中, 并再次放入之前所述的环境室中培育。每个 a<sub>w</sub> 水平的处理和重复分别在 15、20、25 和 30 °C 下培育。

每 24 h, 将用于不同处理和重复的玻璃瓶用含有硅胶隔膜 (Supelco 23188) 的 PTFE 盖密封 1

h, 然后用顶空注射器采集气体样品。气样注入 GC 进行 CO<sub>2</sub> 定量。取样后, 取下盖子, 样品返回到每温度和 a<sub>w</sub> 水平各自的环境室。每天重复该程序。

### 1.5 干物质损失计算

使用前面详述的碳水化合物/脂质的有氧氧化方程。通过消耗的氧气与产生的二氧化碳的比率计算呼吸商, 来确定干物质损失 (DML)。依方程式, 每公斤谷物中 14.7 g CO<sub>2</sub> 相当于 1% 的 DML。计算了自然污染的榛子和附加接种黄曲霉孢子的榛子的不同储存处理的 DML。

通过整合呼吸率与时间数据, 确定 DML 百分比 (%) 与时间曲线关系。储存周期时间分 24 h, 每个周期的 CO<sub>2</sub> 量通过呼吸率计算。每个周期的 CO<sub>2</sub> 总量为储存期间产生的 CO<sub>2</sub> 总量, 用于计算 DML。

### 1.6 黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 定量

在每个实验结束时, 榛子处理组/重复组在 60 °C 下干燥 48 h, 研磨并在 4 °C 下储存, 等待进一步分析。将 5 g 子样品与 10 mL 70% 乙醇混合, 置于振荡器上 1 h。使用含有 10 mL 去离子水的注射器过滤, 并将总共 5 mL 的滤液加到免疫亲和柱上, 滤液以 3 mL/min 的流速通过柱子。用 20 mL 去离子水以 5 mL/min 的流速洗涤柱子, 空气通过注射器至少 3 次。结合到柱子上的黄曲霉毒素用 1 mL 甲醇以 0.5 mL/min 的流速洗脱。将黄曲霉毒素收集到 Eppendorf 小瓶 (2.5 mL) 中并转移到琥珀色玻璃液相小瓶中。

HPLC 分析: 流动相由水: 甲醇: 乙腈 (6: 3: 2) 组成; 每升加入 350 mL 4 M 硝酸和 0.120 g 溴化钾。流速为 1 mL/min, 柱温为 22 °C。一式三份进样 100 mL 的样品。荧光检测激发波长为 360 nm, 发射波长为 430 nm。使用 PTFE 管 (30 cm) 用电化学产生的溴进行柱后衍生, 以增强黄曲霉毒素的荧光强度。为此, 在色谱柱和荧光检测器之间放置了一个提供 100 mA 电流的电化学池。

### 1.7 统计分析

所有实验三个生物学重复, 进行两次实验。使用 Microsoft Office Excel 2007 和软件包 STATISTICA 9 分析数据。平均值的标准误差已在

所有试验中计算, 并在图中用竖线表示或包含在三维图例中。

DML 和毒素分析数据的统计分析: Shapiro-Wilk, W 正态性检验用于评估总 DML 和毒素数据的正态性, 而数据内方差的同质性通过 Levene 检验评估。对非正态分布的数据进行对数变换, 以稳定方差由 Shapiro-Wilk W 检验重新评估的及其正态性。通过单因素和双因素方差分析 (ANOVA) 分析正态分布的数据, 以确定各因素 (a<sub>w</sub> 和温度) 及其相互作用 (a<sub>w</sub> × T) 对变量影响的显著性。通过 Kruskal-Wallis 秩和检验等级分析对数转换仍非正态分布的数据。

DML 和毒素产生数据之间的相关性: 制作了 DML 数据与黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的散点图。Spearman 秩和检验用于确定每种情况下两个变量之间相关性的显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 自然污染的榛子

表 1 显示了一系列水分活度 (a<sub>w</sub>) 条件对经 25 和 30 °C 下培养 120 h 后的自然污染榛子平均呼吸率和总 DML 的影响。研究表明, 在这两个温度下, 呼吸速率和 DML 都随着可用水的增加而增加。值得注意的是, 在相对安全的储存条件 (0.70 a<sub>w</sub>) 下, 即使在两个温度下与非常低的相

表 1 在(a) 25 和(b) 30 °C 培养 120 h 后, 水分活度和储存温度对自然污染榛子的累积呼吸速率和平均总干物质损失 (DML ± SE) 的影响

Table 1 Effect of water activity and temperature of storage on accumulated respiration rates and mean total dry matter losses (DML ± SE) of naturally contaminated hazelnuts after 120 h incubation at (a) 25 and (b) 30 °C.

(a)		
水分活度	呼吸速率 /(mg CO <sub>2</sub> /kg/h) (±SE)	总干物质损失 /% (±SE)
0.70	4.00 (±0.40)	0.12 (±0.01)
0.85	27.28 (±5.85)	0.45 (±0.04)
0.90	56.40 (±4.66)	0.93 (±0.06)
0.95	774.68 (±44.19)	9.80 (±1.04)
(b)		
水分活度	呼吸速率 /(mg CO <sub>2</sub> /kg/h) (±SE)	总干物质损失 /% (±SE)
0.70	23.60 (±1.36)	0.16 (±0.03)
0.85	100.11 (±4.97)	0.74 (±0.03)
0.90	212.17 (±9.67)	1.35 (±0.1.8)
0.95	2 592.78 (±39.41)	10.82 (±2.40)

关 DML 培育 120 h 后,呼吸也很少发生。在 0.85  $a_w$ , 呼吸速率和 DML 都开始增加,并在两温度下最湿的 0.95  $a_w$  处理中观察到最高值。值得注意的是,在最大可用水处理中,温度增加到 30 °C 时,呼吸速率是 25 °C 时的两倍多。

### 2.2 接种黄曲霉的榛子

在不同水分活度×温度条件下储存对呼吸、干物质损失和黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 污染的影响。图 1 显示了 25 °C 下  $a_w$  对接种了黄曲霉的储存榛子的平均呼吸率的短时影响。在 0.95  $a_w$  时黄曲霉定殖最为迅速。在 15~30 °C 下的数据用于计算接种了额外黄曲霉的榛子的 DMLs。图 2 显示了在  $a_w$ ×温度的相互作用条件下,黄曲霉定殖对储存榛子 DMLs 的影响。无论储存温度如何,15~20 °C 时的呼吸率都非常低。仅在 25 和 30 °C 以及  $\geq 0.90 a_w$  时才有显著的 DMLs。

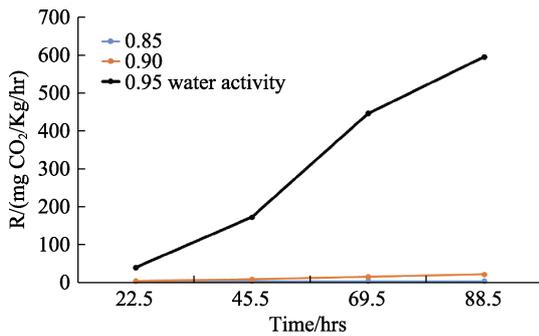


图 1 接种黄曲霉在 25 °C 和三种不同水分活度下储存的榛子呼吸时间变化 (SE<sub>max</sub> = 80.41)

Fig.1 Temporal changes in respiration of stored hazelnuts inoculated with *A. flavus* and stored at 25 °C and three different water activities (SE<sub>max</sub> = 80.41)

图 3 显示了在 15~30 °C 下不同  $a_w$  水平的接种黄曲霉对榛子 AFB<sub>1</sub> 污染水平的影响。图中清楚地表明,在 20~30 °C 0.90  $a_w$  下产生了大量的 AFB<sub>1</sub>,在 0.85  $a_w$  时毒素污染显著减少。在 15~20 °C 时,在 0.80 和 0.85  $a_w$  下没有 AFB<sub>1</sub> 产生。在产生 AFB<sub>1</sub> 的地方,其含量均高于欧盟立法限制 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

图 4 采用了依据 DMLs 和 AFB<sub>1</sub> 污染的榛子处理方面的所有数据,并检验了这些数据与欧盟立法限制标准的相关性,表明 AFB<sub>1</sub> 和 DMLs 之间存在显著的正相关。红色虚线表示置信限。在大约 0.8%~1.0% DML 时,存在超过欧盟法定限制的重大风险,即坚果中 AFB<sub>1</sub> 的最大污染。

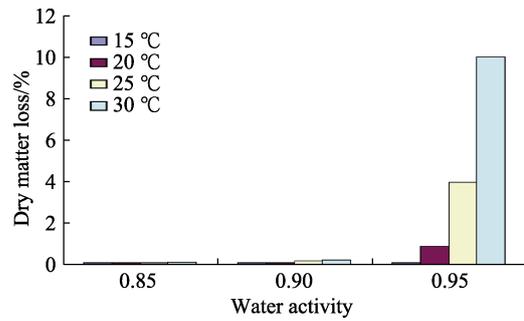


图 2 与储存温度×水分活度相关的接种黄曲霉的储存榛子的干物质损失 (SE<sub>max</sub> = 0.9)

Fig.2 Dry matter losses of stored hazelnuts inoculated with *A. flavus* in relation to storage temperature × water activity (SE<sub>max</sub> = 0.9)

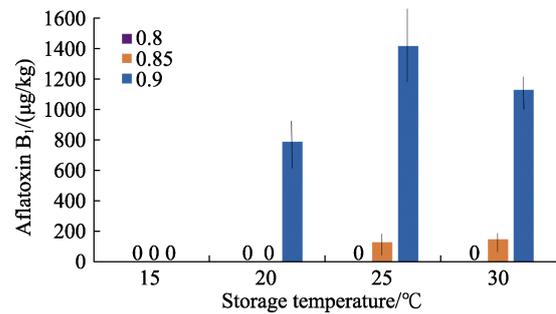


图 3 储存温度和水分活度对接种黄曲霉榛子 10 天后污染的影响

Fig.3 Effect of storage temperature and water activity on contamination of hazelnuts inoculated with *A. flavus* after 10 days

注:条形代表平均值的标准误差。  
Note: Bars represent Standard Error of the means.

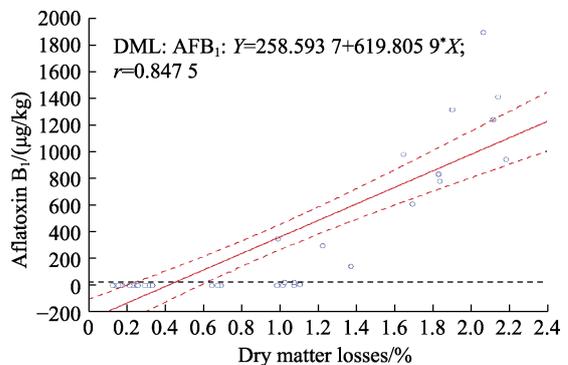


图 4 黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 和干物质损失 (%) 之间的相关性

Fig.4 Correlation between aflatoxin B<sub>1</sub> and Dry Matter Losses (%)

注:数据集来自在所有温度×水分活度组合下储存的黄曲霉储存实验数据。红色虚线表示 95%置信限,黑色虚线表示欧盟坚果中的最大毒素限值。

Note: The data sets from the storage experiments with *Aspergillus flavus* stored under all combinations of temperature×water activity examined. The red dotted lines indicate the 95% confidence limits and the black dotted line indicates the EU maximum toxin limits in nuts.

### 3 讨论与结论

这项研究表明,在不同温度和可用水条件下

储存的自然污染的土耳其带壳榛子显著影响了相对呼吸速率和产生的 CO<sub>2</sub> 总量。CO<sub>2</sub> 产生水平(约 775 和 2 600 mg CO<sub>2</sub>/kg/h)在 25 和 30 °C 的 0.95 a<sub>w</sub> (=18% m.c.) 情况下明显更高。此前, Garcia-Cela 等<sup>[20]</sup> 的研究表明, 带壳花生的最佳呼吸活动发生在 30~35 °C 时, 30 °C 的总累积 CO<sub>2</sub> 水平约为 2 080 mg CO<sub>2</sub>/kg/h, 这些坚果的脂质和坚果的呼吸作用都很高, 相关的自然菌群可能会影响整体呼吸活动。在其他谷物商品中, 也发现水稻、糙米和玉米的总呼吸活性在 ≥0.95 a<sub>w</sub> 时最佳, 尤其是在 30~35 °C 接种黄曲霉时表现明显<sup>[14,19]</sup>

总累积 CO<sub>2</sub> 用于量化不同储存条件下的相对 DMLs。在 0.95 a<sub>w</sub> 时大约 10% 发生在 25~30 °C。Garcia-Cela 等<sup>[20]</sup> 的研究发现, 在 30~35 °C 和 0.95 a<sub>w</sub> 时, 壳花生中的 DMLs 约为 14%~15%。在玉米上的研究表明, 在这些条件下, DML 发生高达 17%。相比之下, 水稻和糙米接种黄曲霉时, DMLs 分别为 3.5% 和 20%<sup>[19]</sup>。未加工的水稻可受到外部保护层的保护, 与加工过的糙米相比, 减少了真菌的潜在侵入。

在本研究中, 在 0.95 a<sub>w</sub> 和 20~30 °C 下, 附加接种黄曲霉能导致最大的呼吸活性和 DMLs。这相当于在 30 °C 和 0.95 a<sub>w</sub> 下质量损失约为 10%。附加接种并没有导致贮藏榛子中的 DML 显著升高。这与小麦、玉米或带壳花生形成鲜明对比, 他们在接种产毒真菌时 DMLs 要高得多<sup>[12,14]</sup>。

在 20~30 °C 中, AFB<sub>1</sub> 的产量在 0.90 a<sub>w</sub> 时明显高于 0.85 或 0.80 a<sub>w</sub>。这表明, 在 <0.85 a<sub>w</sub> 时, 产生这种致癌真菌毒素的风险显著降低, 尤其是在 15~20 °C 时, 更是如此。依据 DMLs 和 AFB<sub>1</sub> 在不同 a<sub>w</sub>×温度条件下产生的所有数据绘制的图, 提供了有关毒素污染超过法定限制的相对风险的有用信息。图中清楚地表明, 在 0.6%~1% DML 下, 榛子的污染将超过推荐的最大污染水平。这说明干物质的微小损失会导致 AFB<sub>1</sub> 污染超过法定限制, 从而可能导致此类批次可能被拒。

这也表明, 储存的土耳其带壳榛子由真菌腐败造成损失的耐受较低, 尤其在无效的干燥方式更是如此。榛子富含脂质, 从而吸湿性很强。因此, 它们通常可以在采后储存期间干燥后重新吸收环境中的水分, 从而导致产毒素腐败真菌的定

殖。此前对谷物的研究发现, A 型和 B 型单端孢霉烯、玉米赤霉烯酮(小麦)和伏马毒素水平(玉米)引起的约 1% 的霉菌毒素污染就超过了欧盟立法限制<sup>[11-14,22]</sup>。对于花生等富含脂肪酸的坚果, AFB<sub>1</sub> 超过法定限制的污染水平为 0.56%<sup>[20]</sup>。因此, 坚果的耐受性可能比谷物低得多。如果榛子被有效干燥到安全的水分含量, 它可能会更好, 保护坚果肉不被真菌毒素定殖和污染。然而, 需要注意的是, 坚果和外壳之间的内部空间有时可以为嗜干真菌如黄曲霉的生长提供微环境, 这种情况特别容易在外壳因害虫或在收获和干燥阶段受损时发生<sup>[23]</sup>。巴西坚果中就发现这种情况, 从而导致壳坚果中的 AFB<sub>1</sub> 污染增加<sup>[24]</sup>。这些研究信息可以被有效地从风险管理的角度加以利用, 为人类消费或动物饲料使用, 制定出低、中和高风险的不同分类类别<sup>[13]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] OZAY G, SEYAN F, PEMBECCI C, et al. Factors influencing fungal and aflatoxin levels in Turkish hazelnuts (*Corylus avellana* L.) during growth, harvest, drying and storage: A 3-year study[J]. Food additives and contaminants, 2008, 25: 209-218.
- [2] ALASALVAR C, SHAHIDI F, LIYANAPATHIRANA C M, et al. Turkish tumbul hazelnut (*Corylus avellana* L.). 1. Compositional characteristics[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2003, 51, 13: 3790-3796.
- [3] ALASALVAR C, AMARAL J S, SHAHIDI F. Functional lipid characteristics of turkish tumbul hazelnut (*Corylus avellana* L.) [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2006, 54: 10177-10183.
- [4] European Union. COMMISSION REGULATION (EU) No 165/2010 of 26 February 2010 amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards aflatoxins[Z]. Official Journal of the European Union, 2010, L50: 8-12.
- [5] FLEURAT-LESSARD F. Integrated management of the risks of stored grain spoilage by seedborne fungi and contamination by storage mould mycotoxins – An update[J]. Journal of Stored Products Research, 2017, 71: 22-40.
- [6] PATERSON R R M, LIMA N. Further mycotoxin effects from climate change[J]. Food Research International, 2011, 44: 2555-2566.
- [7] ALAM S, SHAH U G, MAGAN N. Water availability affects extracellular hydrolytic enzyme production by *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*[J]. World Mycotoxin Journal, 2009, 2: 313-322.
- [8] MAGAN N, GARCIA-CELA E, VERHEECKE-VAESSEN C, et al. Chapter 14-Advances in postharvest detection and control of

- fungal contamination of cereals[M]. In: Dirk M eds. Advances in postharvest management of cereals and grains, Burleigh Dodds Series in Agricultural Science: no. 88, 2020, Cambridge, 478.
- [9] WHITE N D G, SINHA R N, MUIR W E. Intergranular carbon dioxide as an indicator of biological activity associated with the spoilage of stored wheat[J]. Canadian Agricultural Engineering, 1982a, 24: 35-42.
- [10] WHITE N D G, SINHA R N, MUIR W E. Intergranular carbon dioxide as an indicator of deterioration in stored rapeseed[J]. Canadian Agricultural Engineering, 1982b, 24: 43-49.
- [11] MYLONA K, MAGAN N. *Fusarium langsethiae*: Storage environment influences dry matter losses and T-2 and HT-2 toxin contamination of oats[J]. Journal of Stored Products Research, 2011, 47: 321-327.
- [12] MYLONA K, SULYOK M, MAGAN N. Exposure & Risk Assessment Relationship between environmental factors, dry matter loss and mycotoxin levels in stored wheat and maize infected with *Fusarium* species[J]. Food Additives & Contaminants: Part A: Chemistry, Analysis, Control, 2012, 37-41.
- [13] GARCIA-CELA E, KIAITSI E, SULYOK M, et al. *Fusarium graminearum* in stored wheat: Use of CO<sub>2</sub> production to quantify dry matter losses and relate this to relative risks of zearalenone contamination under interacting environmental conditions[J]. Toxins (Basel), 2018, 10. <https://doi.org/10.3390/toxins10020086>.
- [14] GARCIA-CELA E, KIAITSI E, SULYOK M, et al. Influence of storage environment on maize grain: CO<sub>2</sub> production, dry matter losses and aflatoxins contamination[J]. Food Additives & Contaminants, 2019, 36: 175-185.
- [15] SAUL R A, LIND E F. Maximum time for safe drying of grain with unheated air[J]. Transactions of the ASAE, 1958, 1: 29-33.
- [16] SEITZ L M, SAUER D B, MOHR H E. Storage of high moisture corn: fungal growth and dry matter loss[J]. Cereal Chemistry, 1982b, 59: 100-105.
- [17] SEITZ L M, SAUER D B, MOHR H E, et al. Fungal growth and dry matter loss during bin storage of high-moisture corn[J]. Cereal Chemistry, 1982a, 59: 9-14.
- [18] MARTIN CASTAÑO S, MEDINA A, MAGAN N. Impact of storage environment on respiration, dry matter losses and fumonisin B<sub>1</sub> contamination of stored paddy and brown rice[J]. World Mycotoxin Journal, 2017a, 10: 319-326.
- [19] MARTIN CASTAÑO S, MEDINA A, MAGAN N. Comparison of dry matter losses and aflatoxin B<sub>1</sub> contamination of paddy and brown rice stored naturally or after inoculation with *Aspergillus flavus* at different environmental conditions[J]. Journal of Stored Products Research, 2017b, 73: 47-53.
- [20] GARCIA-CELA E, GARI SANCHEZ F J, VERHEECKE-VAESSEN C, et al. Carbon dioxide production as an indicator of *Aspergillus flavus* colonisation and aflatoxins/ cyclopiazonic acid contamination in shelled peanuts stored under different interacting abiotic factors[J]. Fungal Biology, 2019, 121: 1-7.
- [21] HOPE R, ALDRED D, MAGAN N. Comparison of the effect of environmental factors on deoxynivalenol production by *F. culmorum* and *F. graminearum* on wheat grain[J]. Letters in Applied Microbiology, 2005, 40: 295-300.
- [22] MAGAN N, ALDRED D, MYLONA K, et al. Limiting mycotoxins in wheat[J]. Food additives and contaminants, 2010, 27: 644-650.
- [23] VALENTE S, MELONI G R, PRENCIPE S, et al. Effect of drying temperatures and exposure times on *Aspergillus flavus* Growth and aflatoxin production on artificially inoculated hazelnuts[J]. Journal of Food Protection, 2020, 83: 1241-1247.
- [24] VARGAS E A, DOS SANTOS E A, WHITAKER T B, et al. Determination of aflatoxin risk components for in-shell Brazil nuts[J]. Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment, 2011, 28(9): 1242-1260. 完
- 备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lyspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。

英译中: 任菲 (国家粮食和物资储备局科学研究院粮油加工研究所)  
译文审核: 谭洪卓