

储存水分、温度和真菌生长 对大豆品质的影响

唐芳,程树峰,欧阳毅,张海洋,祁智慧

(国家粮食局科学研究院,北京 100037)

摘要:研究大豆储存过程中水分、温度和真菌生长对其品质的影响。采用11.2%、11.8%、12.7%、13.9%和14.7%水分的大豆,分别置于10、15、20、25、30、35℃下模拟储存,周期180 d,检测储存真菌、发芽率和脂肪酸值的变化情况。结果表明,大豆储存中,真菌生长受储存水分和温度的影响,水分是决定真菌生长的主要因素,而温度影响真菌生长速度。真菌生长临界水分(11.8%左右)以下储存,种子发芽率和脂肪酸值主要受温度的影响,20℃以下低温储存能维持较高的发芽率,30℃以上储存会加剧脂肪酸值升高。真菌生长临界水分以上储存,种子发芽率和脂肪酸值受真菌生长和温度协同作用的影响,大豆储存水分越高,真菌生长越快,即使低温也会在一定程度上导致大豆品质劣变。

关键词:大豆;储存水分;温度;真菌生长;发芽率;脂肪酸值

中图分类号:S 565.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-7561(2016)03-0074-05

Effect of moisture, temperature and fungi growth on the quality of stored soybeans

TANG Fang, CHENG Shu-feng, OU-YANG Yi, ZHANG Hai-yang, QI Zhi-hui

(Academy of State Administration of Grain, Beijing 100037)

Abstract: The effect of moisture content, temperature and fungal growth on quality of soybean was researched. The soybeans with moisture content of 11.2%, 11.8%, 12.7%, 13.9% and 14.7% were stored at 10, 15, 20, 25, 30, 35℃ respectively for 180 days. Fungal growth, the changes of germination rate and fatty acid value were determined. The results showed that during storage fungal growth was affected by the moisture contents and temperature, and the moisture content was the main factor to determine whether fungal growth or not, while the temperature affects the speed of the fungal growth. When soybeans were stored with the moisture content below 11.8%, which was the critical moisture content of fungal growth, the seed germination rate and fatty acid value was mainly affected by temperature; when soybeans were stored below 20℃, the seeds maintain relatively high germination rate; when stored above 30℃, the increase of the fatty acid value was intensified; when stored above the critical moisture content, seed germination rate and fatty acid value were affected by the synergy between fungal growth and temperature. High moisture content and fast fungal growth will lead to the deterioration of soybean quality in a certain extent, even stored in low temperature.

Key words: soybean; moisture content; temperature; fungal growth; germination rate; fatty acid value

大豆是一种重要经济作物,富含蛋白质和脂肪,是我国植物油和动物饲料蛋白主要来源之一。大豆是一种耐储性较差的粮种,在储存期间易吸湿,易出

现粮堆发热、霉变,造成品质下降,给企业带来经济损失。因此,大豆储存安全问题一直备受关注,我国也制定了相关国家标准^[1]。一般认为影响大豆储存品质的因素主要有储存水分、温度和微生物,这些因素之间相互关联、相互作用,构成一个复杂的大豆储存生态体系,共同影响大豆储藏质量变化,理清这

收稿日期:2015-11-06

基金项目:科技部“十二五”科技支撑项目(2013BAD17B04-3)

作者简介:唐芳,1978年出生,女,副研究员。

些因素之间的关系,一直是大豆储藏安全方面研究的一个难点。国外大豆储藏品质影响因素的基础性研究主要集中在上世纪,Milner^[2-3]报道了高水分大豆高温条件下短期储藏,呼吸量增加和脂肪酸值升高,主要与真菌生长有关;Christensen^[4]等报道13%~14%水分大豆低温储藏有利于抑制真菌生长和脂肪酸上升,对大豆品质有益;Dorworth^[5-6]等大量研究报告,真菌在大豆储藏品质劣变中起着非常重要的作用。但也有学者认为大豆品质变化的主要影响因素不是真菌生长,Nakayama^[7-10]等报道了大豆储藏过程中,采用杀菌剂抑制霉菌生长,进而得出化学成分变化主要由大豆自身酶解反应造成的。但又有人对此提出质疑,Liske^[11-12]等提出,杀菌剂并不能对大豆籽粒内外部菌起到完全抑制作用,游离脂肪酸的变化还是受真菌生长影响,特别是白曲霉,且破碎粒更利于真菌侵染进而导致品质下降。国内研究多侧重于大豆仓储实际,对大豆安全储藏及品质变化方面进行研究^[13-15]。任志秋^[16]等分析了黑龙江地区低水分大豆,储存2年,大豆品质无明显劣变现象,但未考虑温度的影响;顾晨斌等^[17]研究低水分大豆(11.2%)的储存,表明温度是引起大豆劣变的重要因素;杨文生等^[18]对中温高湿地区大豆储藏进行了研究,发现大豆品质变化与温度和水分关系密切。但这些研究多未涉及微生物对大豆品质的影响。针对这些问题,本文结合大豆实际储藏,进一步探讨了大豆储藏过程中水分、温度和真菌生长对其品质的影响,研究各因素之间主次关系,目的是为仓储企业大豆安全储藏和质量控制提供参考。有关大豆储存品质评价指标,目前尽管争议较大,但在还没有让大家更普遍接受的指标提出之前,本文选择脂肪酸值和发芽率作为大豆储藏品质评价指标,这两项指标基本上能反映出大豆储藏中品质变化情况。

1 材料与方法

1.1 样品

大豆样品,2012年,水分为10.8%,产地黑龙江。实验用水均为去离子水。

1.2 试剂和仪器

SMART显微镜:重庆奥特公司;HPS-250生化培养箱:哈尔滨东联电子技术开发有限公司;PL3002-IC电子分析天平:梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;DHG-9246A型电热恒温鼓风干

燥箱:上海精宏实验设备有限公司;JSFM-1粮食水分测试粉碎磨:成都粮食储存科学研究所。

1.3 实验方法

1.3.1 样品制备及储存

将清理、除杂的大豆样品,分为若干等份,每份约5 kg,采用喷雾着水法,使样品着水均匀,避免表面褶皱,装入密封袋中,置于5℃冰箱中平衡10 d。每次着水量≤2%,多次平衡,操作方法同上。将平衡后的样品分为6等份,分装于1.0 L广口瓶中,加塞密封,分别置于10、15、20、25、30、35℃恒温箱中储存。

1.3.2 真菌孢子计数^[19]

取10.0 g大豆样品,于80 mL具塞试管中,加30 mL水,加塞,用力快速振荡1 min,过300目滤布,取滤液虹吸进入血球计数板计数区,置于显微镜下进行真菌孢子计数。

1.3.3 水分测定

采用GB/T 5497—85粮食、油料检验水分测定法。

1.3.4 发芽率测定

采用GB/T 5520—2011粮油检验籽粒发芽试验。

1.3.5 脂肪酸值测定

采用GB/T 5510—2011粮油检验粮食、油料脂肪酸值测定 石油醚提取法。

1.4 数据处理

采用EXCEL软件处理数据。

2 结果与分析

2.1 样品水分均匀性检验

本实验对经着水、平衡的样品进行均匀性检验,在每个平衡后样品袋中,上、中、下三层取样,每层两个样品,共六个样品。采用1.3.3方法对六个水分梯度样品进行检测,结果见表1。

表1 豆着水均匀性检验(n=6) %

样品数	样品水分					
1	11.3	11.9	12.7	13.9	14.7	16.0
2	11.3	11.7	12.7	14.1	14.9	16.1
3	11.3	11.8	12.7	13.9	14.8	15.9
4	11.0	11.6	12.6	13.9	14.6	15.9
5	11.1	11.7	12.7	13.9	14.7	16.0
6	11.0	12.0	12.6	13.9	14.6	16.0
\bar{x}	11.2	11.8	12.7	13.9	14.7	16.0
RSD	1.3	1.2	0.4	0.6	0.8	0.5

由表1可知,6个水分样品经多次着水平衡后,其相对标准偏差(RSD%)在0.4%~1.3%之间。结果表明,本实验样品具有良好均匀性。

2.2 大豆储存真菌生长规律

一般认为影响大豆储存品质的主要因素有储存水分、温度和真菌,而真菌生长又受水分和温度影响,因此,要理清各因素主次关系,首先要研究大豆储藏中真菌生长规律。真菌的检测方法很多,但多数方法操作复杂或需要大型仪器设备^[19-22],程树峰等^[23]针对粮食储藏特点,研究建立了一种简单快速的储粮真菌检测方法—孢子计数法,与国标中平板菌落计数方法相比,有很好的相关性($r^2 = 0.8479$),能够真实反映储粮真菌生长变化情况。本文采用孢子计数法对真菌生长规律进行研究。将不同水分样品置于不同温度条件下储存,储存180 d后,采用1.3.2中的方法对样品进行真菌孢子计数,双实验检测结果取平均值,结果见图1。

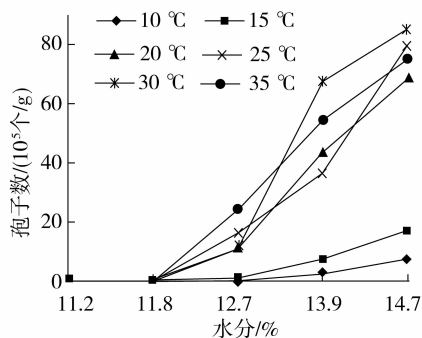


图1 大豆储藏真菌生长状况

由图1可看出,不同水分的大豆在不同温度下储存180 d真菌的生长状况。11.2%和11.8%两个水分样品,在六个实验温度条件下储存半年均未检出真菌生长,由此可见,11.8%水分处于真菌生长临界水分以下,即使温度适宜,真菌也不会生长,水分是决定真菌孢子萌发生长的关键因素^[2]。由于大豆所含脂肪是疏水性物质,脂肪以外的亲水物质部分水含量才是真菌孢子萌发生长的基础,而我们检测的是整粒大豆的水分,因此,当大豆含油量不同时,储藏真菌生长临界水分会存在一定差异。12.7%水分样品在20 °C以上储存180 d,均检出真菌生长。13.9%和14.7%水分样品,在六个实验温度下储存180 d均检出有真菌生长,随着大豆储存水分和温度的升高,真菌生长速度逐渐加快。温度

是影响真菌生长的重要因素之一,在15 °C以下储存,低温对真菌生长有明显抑制作用。在20 °C以上储存,温度升高利于真菌生长,安全储存风险逐渐增加。由此可见,水分是决定真菌是否生长的关键因素,温度则会影响真菌生长速度。

2.3 大豆发芽率影响因素分析

发芽率是判定大豆新鲜程度及食用品质好坏的重要指标之一,发芽率越高,说明有生命的种子越多^[13]。在储存过程中,导致发芽率降低的因素主要有两方面^[24-25],一是大豆自身分解代谢。大豆籽粒成熟过程中,合成代谢占主导,籽粒结构逐渐成熟,种子成熟后,生化反应继续,但分解代谢占主导,大豆自身营养成分损耗,导致籽粒发芽能力及活力降低。二是外界微生物侵染,一旦微生物生长,会分泌酶类利用大豆营养成分供己生长,导致发芽率降低。本实验研究了不同水分的大豆在不同温度下储存180 d后,采用1.3.4方法对样品发芽率进行检测,取三个平行样品,检测结果取平均值,结果见图2。

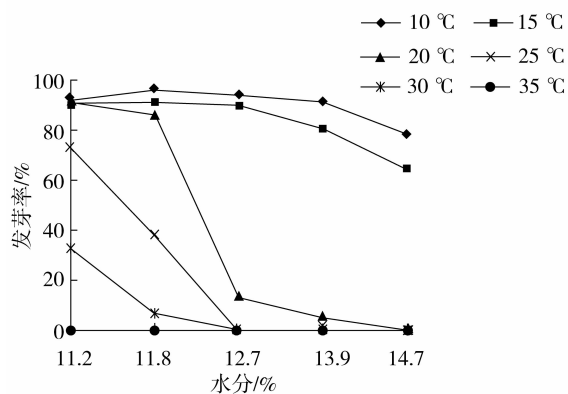


图2 大豆储藏发芽率变化

对于11.2%和11.8%水分大豆,储藏期间未检出真菌生长,在20 °C以下低温储存半年,发芽率几乎没有降低,仍能保持在86%以上,表明低温条件下大豆自身分解代谢缓慢。25 °C以上储存时,发芽率急剧下降,温度越高下降越快,结果表明高温条件下大豆自身分解代谢加快,温度越高自身营养消耗速度越快,发芽率下降越快。在没有微生物生长作用的条件下,发芽率与储藏温度密切相关。由此可见,真菌生长临界水分以下的大豆,作为种子储存时,储存温度应不高于20 °C,此时易于种子活力保存。12.7%以上水分的大豆处于真菌生长临界水分以上,15 °C以下低温储藏,大豆自身代谢

缓慢,微生物不生长或生长缓慢,发芽率随水分增加会逐渐下降,但基本能保持在60%左右,由此可见,低温对大豆自身代谢及真菌生长都有一定程度的抑制。但在20℃及以上时,发芽率急剧下降,主要是微生物生长速度加快与大豆自身代谢加快协同作用造成的。

由此可见,真菌生长临界水分以下大豆,种子发芽率主要受温度影响,临界水分以上受真菌生长和温度协同作用影响。

在上述实验基础上,以真菌生长为X轴,发芽率为Y轴,对不同水分大豆在同一温度下储存,真菌生长与发芽率变化进行相关性分析,结果见表2。

表2 真菌生长与发芽率相关性分析

温度/℃	线性回归方程	相关系数
10	$Y = -1.66988X + 93.5167$	-0.98914
15	$Y = -1.75166X + 91.82186$	-0.99799
20	$Y = -0.90483X + 64.71197$	-0.79027
25	$Y = -0.24716X + 31.14233$	-0.54529
30	$Y = -0.08619X + 11.75194$	-0.48316
35	$Y = 0$	0

表2中列出同一温度下真菌生长与发芽率的相关性分析结果,其中真菌生长与大豆水分密切相关。10℃、15℃低温条件下,真菌生长与发芽率呈较好的负相关性,表明低温储存时,大豆自身代谢缓慢,发芽率降低主要受真菌生长影响,因此,大豆低温储藏过程中,控制微生物生长是关键。20℃储存的相关系数为-0.79027,表明在这一温度下储存,大豆自身代谢已恢复但较弱,发芽率降低受真菌生长影响占主导,温度次之。25℃以上随着储存温度上升,相关性下降,表明高温条件下发芽率受温度和真菌生长协同作用,只是温度影响逐渐强于真菌。由此可见,欲保证大豆种子的品质,除水分低于真菌生长临界水分外,还应该保证20℃以下低温储存,这一结论与刘春双^[13]的一致。

2.4 大豆脂肪酸值影响因素分析

脂肪酸值是大豆储存过程中变化最为敏感的指标之一,且易于检测。大豆脂肪在水解酶的作用下,不断水解出游离脂肪酸,使脂肪酸值升高。与发芽率影响因素相同,导致脂肪酸升高主要有两方面原因,一是大豆自身代谢影响,二是外界微生物侵染。一般新收获的大豆脂肪酸值较小,本实验所选大豆

初始脂肪酸值为5.0 mg KOH/100 g,不同温度下储存180 d后,采用1.3.5方法对样品脂肪酸值进行检测,取三个平行样品,检测结果取平均值,结果见图3。

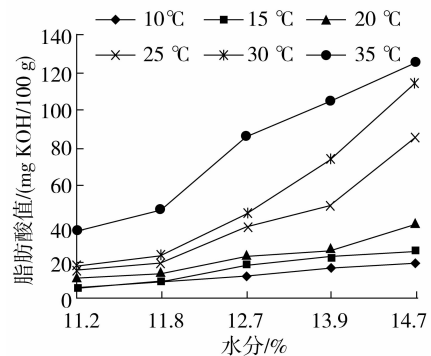


图3 大豆储藏脂肪酸值变化

11.2%和11.8%水分的大豆,处于真菌生长临界水分以下,未检出真菌生长。排除微生物生长影响因素,脂肪酸值的升高主要由大豆自身代谢引起,30℃以下储存半年,脂肪酸值范围在5.1~22.3 mg KOH/100 g,随着温度、水分升高,脂肪酸值逐渐升高,35℃高温储存半年,脂肪酸值急剧升高接近40 mg KOH/100 g,由此可见,真菌生长临界水分以下的大豆储存半年,应尽可能维持在30℃以下储藏,对大豆品质有益。12.7%、13.9%、14.7%水分大豆,25℃及25℃以上储存,均检出有真菌生长,脂肪酸值明显升高,基本处于40 mg KOH/100 g以上,大豆品质明显下降,脂肪酸值受温度和真菌生长协同作用影响。在20℃储存时,真菌孢子检出率均达到 10^6 个/g,脂肪酸值范围在22.5~38.7 mg KOH/100 g。15℃以下储存时,除14.7%水分大豆脂肪酸值在25.0 mg KOH/100 g,真菌孢子检出 1.7×10^6 个/g,其余样品脂肪酸值均在22.0 mg KOH/100 g以下,真菌孢子检出在 10^6 个/g以下。低温储藏条件下,即使有真菌生长,脂肪酸值也没有急剧升高。由此可见,低温可能会影响真菌生长过程中对大豆脂肪的利用。

Baker^[26]根据不同季节收获的129个样品的检测结果,把脂肪酸值作为品质评价指标之一,给出品质劣变限值22 mg KOH/100 g,国内刘春双^[13]根据经验值也认可这一限值。本实验的研究结果表明,低水分区大豆储存,这一限值可以作为大豆品质劣变的评价指标,但高水分大豆低温储藏时,有微生物

生长,但脂肪酸值仍低于这一限值,即脂肪酸值低于 22 mg KOH/100 g 时,并不代表没有微生物侵染,这一结论与 Dorworth^[5]的研究结果一致。因此,脂肪酸值作为品质评价指标时还需关注大豆储藏水分和温度。

3 结论

3.1 真菌生长与水分和温度密切相关,水分是决定真菌是否生长的关键因素,大豆储藏真菌生长临界水分在 11.8% 左右,温度是影响真菌生长速度的关键因素。

3.2 真菌生长临界水分以下大豆,种子发芽率主要受温度影响,临界水分以上受真菌生长和温度协同作用影响。欲保证大豆种子发芽率,除水分低于真菌生长临界水分外,还应该保证 20 ℃ 以下低温储存。

3.3 真菌生长临界水分以下,大豆脂肪酸值主要受水分和温度影响,欲长期储存,储藏温度应维持在 30 ℃ 以下。水分偏高的大豆,脂肪酸值受温度和真菌生长协同作用影响,低温能有效抑制脂肪酸值升高,并不代表没有微生物侵染。

参考文献:

- [1] GB/T 31785 - 2015, 大豆储存品质判定规则[S].
- [2] MILNER M, GEDDES W F. Grain storage studies. II. The effect of aeration temperature, and time on the respiration of soybeans containing excessive moisture [J]. Cereal Chem, 1945, 22: 484 - 501.
- [3] MILNER M, GEDDES W F. Grain storage studies. III. The relation between moisture content, mold growth, and respiration of soybeans [J]. Cereal Chem, 1946, 23: 225 - 246.
- [4] CHRISTENSEN C M. Increase in invasion by storage fungi and in fat acidity values of commercial lots of soybeans stored at moisture contents of 13.0 - 14.0% [J]. Phytopathology, 1967, 57: 622 - 624.
- [5] DORWORTH C E, CHRISTENSEN C M. Influence of moisture content, temperature, and storage time upon changes in fungus flora, germinability, and fat acidity values of soybean [J]. Phytopathology, 1968, 58: 1457 - 1459.
- [6] GAVRECHENKOV Y D, SINHA R N. Keeping quality of soybeans stored under aerobic and anaerobic conditions[J]. Can J Plant Sci, 1980, 60: 1087 - 1099.
- [7] NAKAYAMA Y, KITO M. Decomposition of soybean spherosomes by soybean phospholipase[J]. D BiolChem, 1981, 45: 2155 - 2156.
- [8] NAKAYAMA Y, SAIO K, KITO M. Decomposition of phospholipids in soybeans during storage[J]. Cereal Chem, 1981, 58: 260 - 264.
- [9] SAIO K, NIKKUNI I, ANDO Y. Soybean quality changes during model storage studies[J]. Cereal Chem, 1980, 57: 77 - 82.
- [10] CHAPMAN G W, ROBERTSON J A. The effect of soybean moisture during storage on the lipid composition of extracted crude oil [J]. The American Oil Chemists Society, 1980, 57: 339 - 342.
- [11] LISKER N, BEM - EFRAIM A, HENIS Y. Involvement of fungi in the increase of free fatty acids in stored soybeans[J]. Can J Microbiol, 1985, 31: 799 - 803.
- [12] DHINGRA O D, GULAB J, NAPOLEAO I T. Ergosterol accumulation and oil quality in stored soybean invaded by *Aspergillus ruber* (A. glaucus group) [J]. Mycopathologia, 1998, 143: 85 - 91.
- [13] 刘春双. 大豆在储存期间的品质变化[J]. 中国油脂, 2009, 34 (12): 65 - 67.
- [14] 曹毅, 崔国华. 大豆安全储存技术综述[J]. 粮食储存技术, 2005, 34(3): 17 - 23.
- [15] 严梅, 刘天德. 大豆安全储存初探[J]. 粮油食品科技, 2007, 15(2): 23 - 24.
- [16] 任志秋, 许颖, 毛秀云. 不同储存年限大豆品质的变化[J]. 黑龙江粮食, 2002(1): 41 - 42.
- [17] 顾晨斌, 吴青. 大豆储存品质的研究与探讨[J]. 粮食储存, 2007(6): 36 - 39.
- [18] 杨文生, 张中, 张成. 中温高湿储粮区高大平房仓空调控温储藏大豆技术初探[J]. 粮油仓储科技通讯, 2010(2): 25 - 28.
- [19] GB 4789. 2 - 2010, 食品安全国家标准食品微生物学检验菌落总数测定[S].
- [20] SEITZ L M, MOHR H E, BURROUGHS R, et al. Ergosterol as an indicator of fungal invasion in grains[J]. Cereal Chemistry, 1977, 54: 1207 - 1217.
- [21] CAHAGNIER B, LESAGE L, RICHARD - MOLARD D. Microbiological quality of grains and ergosterol content. // In proceedings of 5th international working conference on stored product protection [G]. In: Fleurat - Lesard F, Ducom P. eds. INRA, Bordeaux, 1991: 261 - 277.
- [22] KESHRI G, MAGAN N, VOYSEY P. Use of an electronic nose for the early detection and differentiation between spoilage fungi [J]. Letters in applied Microbiology, 1998, 27: 261 - 264.
- [23] 程树峰, 唐芳. 储粮真菌危害早期检测方法的研究[J]. 中国粮油学报, 2011, 26(4): 85 - 88.
- [24] SHELAR V R, SHAIKH R S, NIKAM A S. Soybean seed quality during storage: a review[J]. Agric Rev 2008, 29(2): 125 - 131.
- [25] CHRISTENSEN C M. Deterioration of stored grain by fungi [J]. The Botanical Rev, 1957, 23(1): 108 - 134.
- [26] BAKER, DORIS, NEUSTADT M H. Application of the fat acidity test as an index of grain deterioration [J]. Cereal Chem, 1957, 34: 266 - 233. ☉