

# 镉超标大米水解糖发酵生产 2-酮基葡萄糖酸 过程中镉的迁移规律

赵生旺<sup>1,2</sup>, 孙雷<sup>1</sup>, 周延政<sup>3</sup>, 彭珍<sup>3</sup>, 崔凤杰<sup>1,3</sup>, 周强<sup>3</sup>, 孙文敬<sup>1,3\*</sup>

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 镇江 212013; 2. 山西省生物研究院有限公司, 太原 030006;  
3. 江西省德兴市百勤昇 VC 钠有限公司, 上饶 334221)

**摘要: 目的** 揭示以镉超标大米为原料发酵生产 2-酮基葡萄糖酸过程中镉的迁移规律, 并获得符合食品抗氧化剂 *D*-异抗坏血酸钠合成要求的 2-酮基葡萄糖酸。**方法** 以正常大米、镉超标大米和混合大米为原料, 系统分析大米糖化、种子培养、2-酮基葡萄糖酸发酵、发酵产物提取等过程中镉的含量和分布, 确定镉的迁移规律及其对 2-酮基葡萄糖酸发酵性能和 *D*-异抗坏血酸钠产品品质的影响。**结果** 大米和碳酸钙中的镉含量对 2-酮基葡萄糖酸发酵性能影响不显著 ( $P>0.05$ ); 发酵产物的提取过程有效降低了 2-酮基葡萄糖酸中的镉含量, 提取过程中产生的酸化废渣(主要由硫酸钙和菌体组成)可富集 90% 以上的镉; 以镉超标大米为原料制备的 *D*-异抗坏血酸钠的质量符合国家标准要求, 未检出镉的存在。**结论** 该研究为综合利用镉超标大米生产 2-酮基葡萄糖酸、进而生产高附加值的食品添加剂 *D*-异抗坏血酸钠提供了理论依据和技术支撑。

**关键词:** 镉超标大米; 2-酮基葡萄糖酸; 食品添加剂; *D*-异抗坏血酸钠; 镉迁移

## Migration law of cadmium during 2-ketogluconic acid production using hydrolysate of cadmium-contaminated rice as raw material

ZHAO Sheng-Wang<sup>1,2</sup>, SUN Lei<sup>1</sup>, ZHOU Yan-Zheng<sup>3</sup>, PENG Zhen<sup>3</sup>, CUI Feng-Jie<sup>1,3</sup>,  
ZHOU Qiang<sup>3</sup>, SUN Wen-Jing<sup>1,3\*</sup>

(1. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 2. Shanxi Biological Research Institute Co., Ltd., Taiyuan 030006, China; 3. Jiangxi Dexing Parchn Sodium Isovitamin C Co., Ltd., Shangrao 334221, China)

**ABSTRACT: Objective** To reveal the migration law of cadmium during 2-ketogluconic acid production using hydrolysate of cadmium-contaminated rice as raw material, and produce 2-ketogluconic acid meeting the requirement for synthesis of food antioxidant *D*-sodium erythorbate. **Methods** Content and distributions of cadmium during processes of saccharification, seed culture and fermentation of 2-ketogluconic acid, and 2-ketogluconic acid extraction and purification were systematically analyzed using normal rice, cadmium-contaminated rice and mixed rice as raw materials to confirm the migration law of cadmium and its effects on the fermentation performance of 2-ketogluconic acid and the quality of *D*-sodium erythorbate. **Results** The cadmium content of rice and calcium

基金项目: 国家自然科学基金项目(32272286、32201995、31571885)、江苏省自然科学基金项目(BK20220526)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (32272286, 32201995, 31571885), and the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (BK20220526)

\*通信作者: 孙文敬, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品生物技术。E-mail: juswj@163.com

\*Corresponding author: SUN Wen-Jing, Ph.D, Professor, School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, No.301, Xuefu Road, Jingkou District, Zhenjiang 212013, China. E-mail: juswj@163.com

carbonate had no significant effect on the fermentation performance of 2-ketogluconic acid ( $P>0.05$ ). The extraction and purification process of 2-ketogluconic acid could effectively reduce the cadmium content in 2-ketogluconic acid. Over 90% of cadmium had been accumulated in the acidification waste residue (mainly composed of calcium sulfate and bacterial cells). The quality of sodium erythorbate produced by using cadmium-contaminated rice as raw material met the requirements of national standards, with no detection of cadmium. **Conclusion** The present study provides a theoretical basis and technical support for the comprehensive utilization of cadmium-contaminated rice to produce 2-ketogluconic acid for synthesizing high value-added food additive sodium erythorbate.

**KEY WORDS:** cadmium-contaminated rice; 2-ketogluconic acid; food additive; *D*-sodium erythorbate; cadmium migration

## 0 引言

镉是一种不能被生物降解的具有较强毒性的重金属元素,其生物半衰期达 10~30 年<sup>[1]</sup>。镉在土壤中的迁移性较强,易被作物的根系吸收、转运并富集于可食部位,再通过食物链进入人体,进而造成骨骼、肾脏、消化等系统的损伤和病变。目前,镉已被列为第一类致癌物质<sup>[2-4]</sup>。

水稻是我国的主要粮食作物之一,2020 年的播种面积为 30076 千公顷,总产量达 21186 万 t,占全国粮食总产量的 35%左右<sup>[5]</sup>。在相同的土壤环境下,与其他农作物相比,水稻对镉元素的选择性富集能力更强<sup>[6]</sup>。特别是随着矿产开采、金属冶炼等相关产业的发展,我国耕地土壤的镉污染状况日趋严重<sup>[7]</sup>,导致污染区内生产的大米普遍存在镉超标的问题。2014 年公布的首次全国土壤污染状况调查结果显示,全国土壤(实际调查面积约 630 万平方公里)总的点位超标率为 16.1%,其中重金属镉的点位超标率达到了 7.0%,高居土壤重金属污染之首<sup>[8]</sup>。镉污染土壤的修复是从根本上解决大米镉超标问题的方法<sup>[9-11]</sup>,但其尚难以在较短的时期内取得明显的成效。为了保障粮食安全和食品安全,国内外已经开发了一系列包括物理处理、化学溶剂浸提、微生物发酵、表面活性剂吸附等方法在内的大米降镉技术<sup>[12]</sup>。然而,大米降镉处理会造成淀粉、蛋白质等营养物质的流失,也会影响大米的风味和口感<sup>[13]</sup>。因此,安全高效地实现镉超标大米的综合利用仍是一项有待持续开展的工作。

2-酮基葡萄糖酸(2-ketogluconic acid, 2KGA)是一种具有光学活性的有机酸,可以作为杂环化合物和手性化合物合成的骨架材料<sup>[14-15]</sup>,目前主要用作食品抗氧化剂 *D*-异抗坏血酸及其钠盐生产的前体<sup>[16-17]</sup>。现行的 2KGA 工业生产方法是发酵法<sup>[18]</sup>,即利用氧化细菌通常是假单胞菌(*Pseudomonas*)细胞周质空间中的膜结合葡萄糖脱氢酶和葡萄糖酸脱氢酶催化氧化培养基中的葡萄糖为 2KGA 的方法<sup>[19-20]</sup>。目前,2KGA 发酵的底物通常为含有高浓度葡萄糖的淀粉水解糖溶液,即大米、玉米等淀粉质原料经双酶水解法制备的淀粉水解糖溶液<sup>[21-23]</sup>。

鉴于镉对人体健康的危害,镉超标大米的综合利用受到诸多的限制。本研究以镉超标大米为起始原料,探讨利用其水解糖发酵生产 2KGA 的可行性以及整个生产过程中镉的迁移规律,以期对镉超标大米在食品抗氧化剂 *D*-异抗坏血酸(钠)生产中的应用提供可靠的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

#### 1.1.1 菌株

变形假单胞菌(*P. plecoglossicida*) JUIM01 $\Delta$ kguK<sup>[24]</sup>,是本研究室选育保藏的 2KGA 工业生产菌株 JUIM01<sup>[16]</sup>的 2-酮基葡萄糖酸激酶缺失突变株,其分解代谢 2KGA 的速率相对较慢,具有更为高效的 2KGA 生产性能。

#### 1.1.2 培养基

斜面培养基:蛋白胨 10.0 g/L,牛肉膏 5.0 g/L,NaCl 5.0 g/L,琼脂粉 20.0 g/L。pH 7.0。

种子培养基:大米淀粉水解糖(以无水葡萄糖计)20.0 g/L,玉米浆干粉 5.0 g/L,尿素 2.0 g/L,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2.0 g/L,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 g/L,轻质  $\text{CaCO}_3$  5.0 g/L。

发酵培养基:大米淀粉水解糖(以无水葡萄糖计)140.0 g/L,玉米浆干粉 7.5 g/L,轻质  $\text{CaCO}_3$  38.5 g/L。

#### 1.1.3 主要原料与试剂

正常大米(镉含量 0.0970 mg/kg)、镉超标大米(镉含量 0.4200 mg/kg)和混合大米(由正常大米和镉超标大米混合而来,镉含量 0.1626 mg/kg,以符合 GB 2762—2017《食品安全国家标准 食品中污染物限量》的镉限量指标,即大米的镉含量不得超过 0.20 mg/kg),产地为江西省德兴市;玉米浆干粉(上海缘肽生物技术有限公司);食品添加剂级轻质  $\text{CaCO}_3$ (镉含量 0.65 mg/kg,江西省德兴明缘化工材料有限责任公司); $\alpha$ -淀粉酶(20000 U/mL)、糖化酶(100000 U/mL)(诺维信生物技术有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

HYL-C 型组合式多功能摇床(太仓市强乐实验设备有限公司);GRJ-50D 全自动机械搅拌发酵系统(镇江格瑞生

物工程有限公司); TGL-18M 型冷冻离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司); UV-2100 型紫外分光光度计(上海 UNICO 仪器有限公司); SBA-40 型生物传感分析仪(山东省科学院生物研究所); PinAAcle900T 原子吸收光谱仪(美国 PerkinElmer 公司); PL203 型电子天平(感量 0.001 g, 瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 大米水解糖的制备

利用江西省德兴市百勤异 VC 钠有限公司糖化车间的工业生产设备, 采用双酶法糖化工艺制备大米水解糖。分别将正常大米、镉超标大米和混合大米加水浸泡, 经磨浆调浆后加入淀粉酶, 105~108°C 喷射液化。液化后过滤去除大米蛋白, 收集清液并调节其 pH 4.2~4.4, 再加入糖化酶在 60°C 下糖化。糖化后 80°C 酶钝化 15 min, 过滤收集清液, 得到用于 2KGA 发酵的大米水解糖。

#### 1.3.2 菌种培养及 2KGA 发酵

保藏菌种的活化: 在斜面培养基上对保藏菌种进行活化, 30°C 培养 24 h。

摇瓶种子培养: 将 1.0 mL 的斜面菌种的菌悬液(每支斜面菌种加入 5.0 mL 无菌水)接入装有 50 mL 种子培养基的 500 mL 摇瓶中, 30°C、265 r/min 条件下摇床振荡培养 20 h。

5-L 自控发酵罐中的种子培养: 将 100 mL 的摇瓶种液接入 3.5 L 的种子培养基中, 在罐温 30°C、罐压 0.02 MPa、通气量 1.75 L/min、搅拌转速 400 r/min 的条件下培养 24 h。

50-L 自控发酵罐中的 2KGA 发酵: 将 3.5 L 的种液接入 35 L 的发酵培养基中, 在罐温 32°C、罐压 0.03 MPa、通气量 50.0 L/min、转速 400 r/min 的条件下发酵 24 h。

#### 1.3.3 发酵产物 2KGA 的提取

利用浓硫酸(98%)调节 2KGA 发酵液的 pH 至 1.35~1.45, 60°C 保温反应 20 min; 抽滤除去固形物(主要由硫酸钙和菌体组成, 简称酸化废渣), 得到澄清的含有 2KGA 的滤液(简称酸化液); 对酸化液进行离子交换(001×7 强酸性阳离子交换树脂)处理, 得到用于食品抗氧化剂 *D*-异抗坏血酸钠合成的 2KGA 溶液(简称离交液)。

#### 1.3.4 食品抗氧化剂 *D*-异抗坏血酸钠的制备

减压浓缩 2KGA 溶液至含水率低于 10%, 然后将其与 4 倍体积的甲醇混溶, 并在 55~60°C 的温度下进行 4 h 的甲酯化反应, 再经内酯化、活性炭脱色和精制等步骤制备 *D*-异抗坏血酸钠<sup>[25]</sup>。

#### 1.3.5 测定方法

菌种培养及 2KGA 发酵过程中菌体生长量( $OD_{650}$  值)的测定: 用 0.2 mol/L 的 HCl 稀释培养液样品溶液 20 倍, 以蒸馏水为空白, 采用分光光度计测定样品溶液在 650 nm 处的光密度值, 比色皿的光程为 1 cm<sup>[26]</sup>。

*D*-葡萄糖的测定: 将待测样品的葡萄糖浓度稀释至

20~100 mg/mL 范围内, 采用 SBA 生物传感分析仪测定。

2KGA 的测定: 采用旋光法<sup>[27]</sup>测定种子培养液和发酵液中的 2KGA。

*D*-异抗坏血酸钠的质量分析: 依据 GB 1886.28—2016《食品安全国家标准 食品添加剂 *D*-异抗坏血酸钠》规定的方法测定 *D*-异抗坏血酸钠的含量、比旋光度、pH、干燥失重等各项理化指标。

镉的测定: 依据 GB 5009.15—2014《食品安全国家标准 食品中镉的测定》中规定的石墨炉原子吸收光谱法检测各样品中镉的含量。在样品中加入 5 mL 硝酸和 2 mL 过氧化氢后微波消化, 再用硝酸定容。原子吸收测定条件为: 波长 228.8 nm, 狭缝 0.2~1.0 nm, 灯电流 2~10 mA, 干燥温度 105°C, 干燥时间为 20 s; 灰化温度 400~700°C, 灰化时间 20~40 s, 原子化温度 1300~2300°C, 原子化时间 3~5 s, 背景校正为氘灯, 测其吸光度值。基于建立的标准曲线, 计算样品的镉含量。

### 1.4 数据统计分析

实验重复进行 3 次, 数据均使用 Excel 2020 进行操作分析并用平均值±标准偏差表示。通过单向方差分析(One-Way analysis of variance, One-Way ANOVA)评估数据集, 运用新复极差法在 *P* 值( $\alpha=0.05$ )的基础上进行显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 大米糖化过程中镉的迁移规律

分别对 10 t 的正常大米(镉含量 0.0970 mg/kg)、镉超标大米(镉含量 0.4200 mg/kg)和混合大米(镉含量 0.1626 mg/kg)进行糖化, 考察镉在糖液和米渣中的分布。糖化结果(表 1)显示: 3 种大米原料中淀粉的质量分数均为 72% 左右, 经双酶法糖化后其水解糖液的葡萄糖浓度也均为 297 g/L 左右, 且糖化收率均可达到 0.99 kg/kg 以上; 3 种大米原料中的总镉量分别为 969.58、4200.33 和 1626.33 mg, 糖化后米渣的总镉量分别为原大米样品总镉量的 93.87%、90.67% 和 93.78%, 而残留在糖液中的总镉量仅为 54.32、213.39 和 97.68 mg, 说明来源于大米的 90% 以上的镉被富集于大米渣中。镉在大米中的分布呈现不均匀性, 其主要与蛋白(米渣的蛋白含量通常可达 60% 左右)结合, 占大米总量 7%~8% 的蛋白可富集其中 60% 以上的镉<sup>[28]</sup>。

在实际的 2KGA 工业发酵生产中, 正常大米糖化后产生的米渣通常被用作植物性饲料原料, 而镉超标大米糖化后产生的米渣的镉含量远超植物性饲料原料对镉的限量(镉含量  $\leq 1.0$  mg/kg)要求, 不能直接作为植物性饲料原料。有关米渣降镉处理技术的研究已有许多文献报道, 如米渣的酶解降镉处理<sup>[29]</sup>、吸附降镉处理<sup>[30]</sup>等技术。但就利用镉超标大米发酵生产 2KGA 而言, 对高含镉米渣进行降镉处理在经济上和实际操作上可能不是一种最佳的选择, 而通过正常大米与镉超标大米的适量混合,

在保证大米正常糖化的同时,还可以保证米渣的镉含量在 1.0 mg/kg 以下。

## 2.2 种子培养基的镉含量对种子培养过程的影响

利用正常大米、镉超标大米和混合大米的糖化液分别配制含有 20 g/L 葡萄糖的种子培养基,然后接种培养 24 h 并检测培养过程中葡萄糖浓度、菌体生长量、2KGA 以及镉质量浓度的变化。结果(图 1)显示:在 3 种不同的种子培养基中,变形假单胞菌的菌体生长、葡萄糖消耗以及 2KGA 的合成没有明显的差异;利用 3 种不同种子培养基培养变形假单胞菌的过程中,培养液上清中镉质量浓度的变化趋势基本相同,在前 8 h 的培养中培养液上清中镉的质量浓度快速增加至 1.92~2.24  $\mu\text{g/L}$ ,随后缓慢上升并稳定在 2.01~2.32  $\mu\text{g/L}$ 。培养液上清中镉质量浓度的增加趋势与 2KGA 的生物合成趋势相对应,提示 2KGA 与培养基中的  $\text{CaCO}_3$ (镉含量 0.65 mg/kg)发生中和反应并使  $\text{CaCO}_3$  中

的镉释放至培养液中;葡萄糖被完全消耗后,菌体细胞利用 2KGA 钙盐作为碳源进行二次生长,但溶解于培养液中的镉的质量浓度基本保持稳定。

## 2.3 发酵培养基的镉含量对 2KGA 发酵过程的影响

利用正常大米、镉超标大米和混合大米的糖化液分别配制含有 140 g/L 葡萄糖的发酵培养基,然后接种发酵培养 24 h 并监测发酵过程中葡萄糖浓度、菌体生长量、2KGA 以及镉质量浓度的变化。结果(图 2)显示:在 3 种不同的发酵培养基中,变形假单胞菌均可以快速利用其中的葡萄糖生长并合成 2KGA。发酵 16 h 时,培养基中的葡萄糖已由初始的 140.0 g/L 被消耗至 5.0 g/L 以下,菌体细胞浓度( $\text{OD}_{650}$ )由初始的 1.40 增加到 6.80 以上,发酵液中 2KGA 的质量浓度达 131.46~135.04 g/L(约为理论产率的 87.12%~89.50%);发酵 24 h 时,葡萄糖已被完全消耗,菌体细胞浓度( $\text{OD}_{650}$ )均保持在 6.25 以上,2KGA 的浓度均稳定在

表 1 大米糖化过程中镉的迁移分布

Table 1 Migration and distribution of cadmium during saccharification process of rice

大米样品类型	正常大米	镉超标大米	混合大米
大米总量/kg	10000.00±0.00	10000.00±0.00	10000.00±0.00
大米中淀粉的质量分数/%	72.05±0.34	72.14±0.12	72.07±0.10
大米的淀粉总量/kg	7205.33±34.49	7214.33±11.68	7207.33±9.87
大米的镉含量/(mg/kg)	0.0970±0.0003 <sup>a</sup>	0.4200±0.0158 <sup>b</sup>	0.1626±0.0030 <sup>c</sup>
大米中的总镉量/mg	969.58±2.87 <sup>a</sup>	4200.33±158.38 <sup>b</sup>	1626.33±29.50 <sup>c</sup>
大米水解糖液体积/ $\text{m}^3$	24.10±0.30	24.20±0.44	24.08±0.28
糖液中葡萄糖的质量浓度/(g/L)	297.33±5.03	297.00±2.65	297.10±1.39
糖液中葡萄糖的总量/kg	7164.73±34.70	7186.67±71.68	7154.90±51.88
淀粉的糖化收率/(kg/kg)	0.9944±0.0091	0.9962±0.0112	0.9927±0.0070
糖液中镉的质量浓度/( $\mu\text{g/L}$ )	2.25±0.07 <sup>a</sup>	8.82±0.30 <sup>b</sup>	4.06±0.10 <sup>c</sup>
糖液的总镉量/mg	54.32±2.38 <sup>a</sup>	213.39±8.92 <sup>b</sup>	97.68±1.56 <sup>c</sup>
大米渣折干总量/kg	1588.33±37.82	1549.67±45.96	1560.33±37.63
大米渣的镉含量/(mg/kg)	0.5731±0.0126 <sup>a</sup>	2.4587±0.0709 <sup>b</sup>	0.9776±0.0040 <sup>c</sup>
大米渣的总镉量/mg	910.11±16.96 <sup>a</sup>	3808.40±69.22 <sup>b</sup>	1525.23±30.65 <sup>c</sup>

注:同一指标不同字母表示各组间有显著性差异,下同。

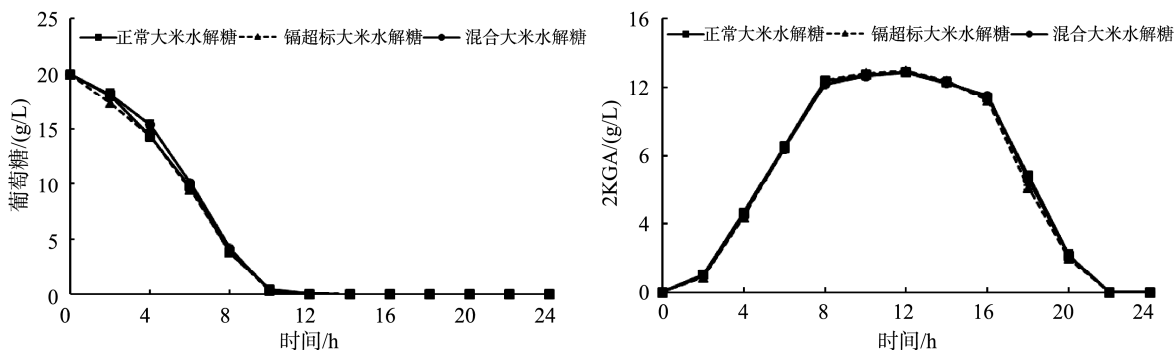


图 1 种子培养基的镉含量对种子培养过程的影响

Fig.1 Effects of cadmium content in seed culture medium on seed culture process

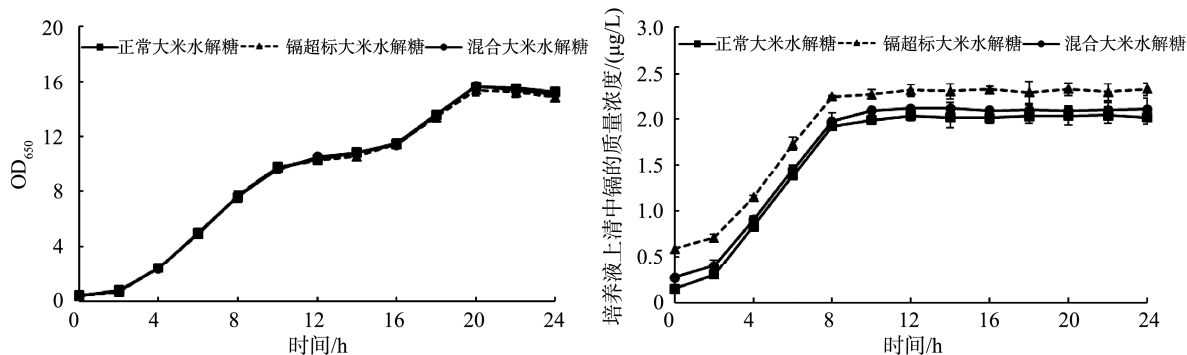


图 1(续) 种子培养基的镉含量对种子培养过程的影响

Fig.1 Effects of cadmium content in seed culture medium on seed culture process

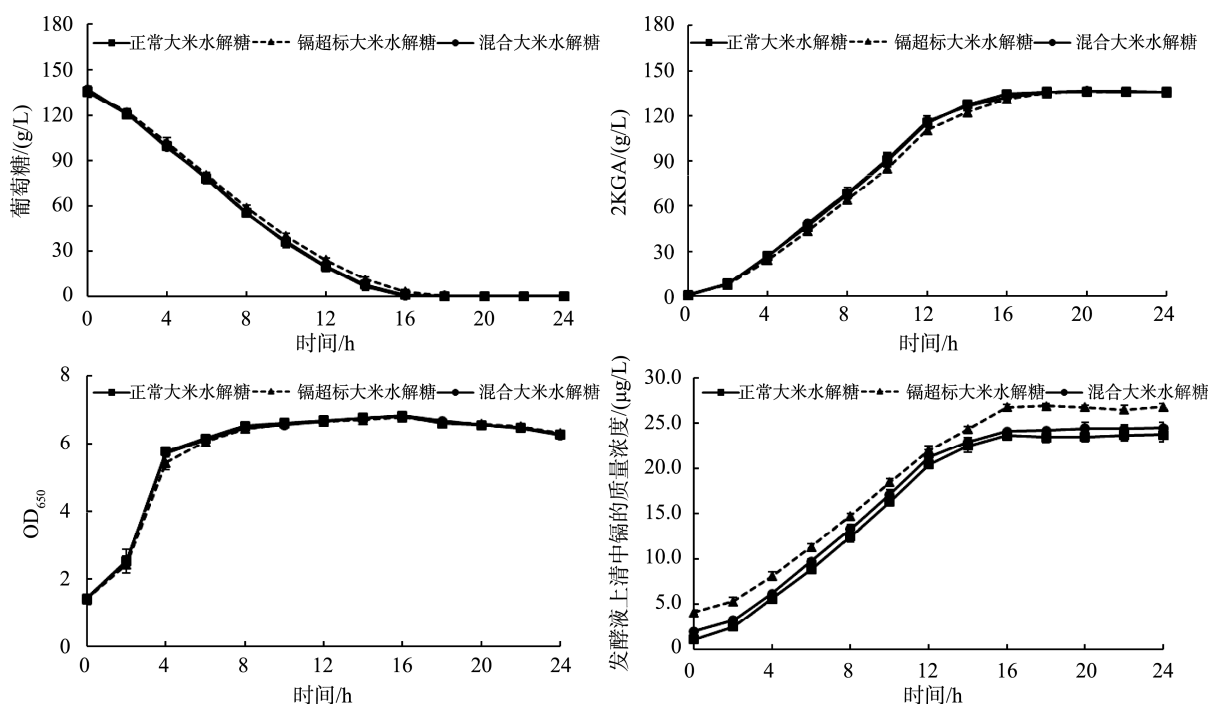


图 2 发酵培养基的镉含量对 2KGA 发酵过程的影响

Fig.2 Effects of cadmium content in fermentation medium on 2KGA fermentation process

136.00 g/L 左右(约为理论产率的 90.13%)。与 2KGA 生物合成趋势相对应, 在前 16 h 的发酵培养中, 发酵醪上清中的镉的质量浓度迅速上升至 23.64~26.77 μg/L, 表明发酵产物 2KGA 在与 CaCO<sub>3</sub> 的反应中溶出了 CaCO<sub>3</sub> 中的镉; 发酵 16 h 后, 发酵醪中的 2KGA 浓度基本保持稳定, 发酵醪上清中的镉的质量浓度也稳定在 23.45~26.91 μg/L。

### 2.4 发酵产物 2KGA 提取和纯化过程中镉的迁移与分布

由表 2 可知: 变形假单胞菌 JUIM01Δ*kguK* 分别以正常大米、镉超标大米和混合大米的糖化液为底物发酵 24 h 后, 各组发酵液中的 2KGA 总量分别达到 4783.58、4761.50 和 4814.09 g, 镉的总量分别为 923.75、1046.66 和 953.44 μg,

提示培养基的镉含量对 2KGA 发酵没有明显影响。

从表 2 还可以看出: 用浓硫酸对各组发酵液进行酸化后, 对应的各组酸化液中的 2KGA 质量浓度和 2KGA 总量基本一致, 表明发酵液的镉含量未影响发酵液的酸化过程和酸化收率; 正常大米、镉超标大米和混合大米组酸化液中的镉的质量浓度和总镉量基本相同, 而对应的酸化废渣中的总镉量分别达到 831.47、954.60 和 850.51 μg, 占发酵液中总镉量的 90%以上, 即酸化废渣可富集来源于发酵原料的 90%以上的镉, 说明主要由硫酸钙和菌体细胞组成的酸化废渣对来源于发酵原料中的镉具有良好的吸附作用。初步研究结果显示, 对酸化废渣进行简单的处理(如灼烧处理)后, 可以得到能够用于建材生产的无水硫酸钙。

表 2 2KGA 提取和纯化过程中镉迁移分布  
Table 2 Migration and distribution of cadmium during 2KGA extraction and purification

发酵产物的来源	正常大米	镉超标大米	混合大米
发酵液体积/L	35.08±1.16	35.02±0.78	35.30±0.62
发酵液中 2KGA 的质量浓度/(g/L)	136.35±0.47	135.98±0.39	136.38±0.59
发酵液中 2KGA 总量/g	4783.58±151.42	4761.50±101.25	4814.09±64.36
发酵液中镉的质量分数/(μg/L)	26.35±1.06 <sup>a</sup>	29.90±0.67 <sup>b</sup>	27.02±0.59 <sup>a</sup>
发酵液的总镉量/μg	923.75±7.37 <sup>a</sup>	1046.66±4.99 <sup>b</sup>	953.44±4.20 <sup>a</sup>
酸化液体积/L	36.80±1.20	36.98±0.68	37.10±0.31
酸化液中 2KGA 的质量浓度/(g/L)	126.03±0.05	124.79±1.34	126.27±1.68
酸化液中 2KGA 总量/g	4637.92±152.19	4615.81±130.80	4684.79±95.24
酸化收率/(g/g)	0.9695±0.0031	0.9693±0.0090	0.9731±0.0067
酸化液中镉的质量浓度/(μg/L)	1.96±0.07	1.99±0.12	1.95±0.11
酸化液的总镉量/μg	72.06±4.78	73.42±3.09	72.20±3.62
酸化废渣折干总量/g	2512.15±19.41	2536.11±46.73	2535.42±57.76
酸化废渣中镉的质量分数/(μg/g)	0.3310±0.0130 <sup>a</sup>	0.3764±0.0036 <sup>b</sup>	0.3356±0.0123 <sup>a</sup>
酸化废渣的总镉量/μg	831.47±27.84 <sup>a</sup>	954.60±13.82 <sup>b</sup>	850.51±12.25 <sup>a</sup>
离交液体积/L	41.40±1.26	41.80±0.40	41.52±0.81
离交液中 2KGA 的质量浓度/(g/L)	110.76±0.92	109.13±1.61	111.66±2.28
离交液中 2KGA 总量/g	4585.67±159.72	4562.20±110.80	4635.07±88.58
离交收率/(g/g)	0.9887±0.0036	0.9885±0.0041	0.9894±0.0016
离交液中镉的质量浓度/(μg/L)	0.26±0.02	0.27±0.02	0.24±0.02
离交液的总镉量/μg	10.62±0.45	11.14±0.77	9.83±0.90

对酸化液进行阳离子交换(001×7 强酸性树脂)处理,得到了用于食品抗氧化剂 *D*-异抗坏血酸钠合成的 2KGA 溶液(离交液)。由表 2 可以看出,经离子交换处理后,正常大米、镉超标大米和混合大米组 2KGA 溶液中镉的质量浓度基本一致,由 1.95~1.99 μg/L 降低至 0.24~0.27 μg/L,总镉量也由离交处理前的 72.06~73.42 μg 显著减少至 9.83~11.14 μg,表明离子交换过程可有效降低 2KGA 溶液的镉含量至极低水平,为合成 *D*-异抗坏血酸钠提供了安全的前体。

## 2.5 *D*-异抗坏血酸钠成品质量检测

为了确证以镉超标大米水解糖发酵生产的 2KGA 符合食品抗氧化剂 *D*-异抗坏血酸钠生产的要求,分别以 3 种大米(正常大米、镉超标大米和混合大米)水解糖来源的 2KGA 为起始原料,经甲酯化和内酯化反应、活性炭脱色和精制等步骤制备了 *D*-异抗坏血酸钠成品。经上饶市产品质量监督检验所检测,产品质量均符合 GB 1886.28—2016 《食品安全国家标准 食品添加剂 *D*-异抗坏血酸钠》中规定的感官要求和理化指标要求(表 3),同时也未检出镉的存在(小于 0.002 mg/kg)。以上结果表明,以镉超标大米为原料生产食品添加剂 *D*-异抗坏血酸钠不会引入镉污染的风险。

表 3 以正常大米、镉超标大米和混合大米为原料生产的 *D*-异抗坏血酸钠的质量

Table 3 Quality of *D*-sodium erythorbate produced using normal rice, cadmium-contaminated rice and mixed rice as raw materials

测定项目	GB 1886.28—2016 指标	检测结果		
		正常大米为 原料	镉超标大米 为原料	混合大米 为原料
性状	白色或微黄色 结晶颗粒或粉 末,无臭	符合	符合	符合
鉴别	通过 A.2 鉴别 实验	符合	符合	符合
含量/%	≥98.0	98.78	98.82	98.90
比旋度	+95.5°~+98.0°	96.20°	96.27°	96.38°
铅/(mg/kg)	≤5	<5.0	<5.0	<5.0
干燥失重/%	≤0.25	0.13	0.14	0.13
pH	5.5~8.0	7.2	7.2	7.2
砷/(mg/kg)	≤3	<3.0	<3.0	<3.0
镉/(mg/kg)	-	未检出	未检出	未检出

注: -表示无此项。

### 3 结 论

本研究系统地考察了以镉超标大米为原料发酵生产 2KGA 过程中镉的迁移规律。结果表明, 发酵产物 2KGA 提取过程中产生的酸化废渣可富集来源于发酵原料(大米和碳酸钙)的 90%以上的镉, 同时离子交换处理也能进一步显著降低 2KGA 的镉含量。经酸化和离子交换处理后得到的 2KGA 完全可以用于食品抗氧化剂 D-异抗坏血酸钠的生产, 其产品质量符合国家标准要求, 也未检出镉的存在, 且产品的生产成本尚有一定幅度的降低(镉超标大米的售价相对较低)。另外, 2KGA 生产过程中产生的酸化废渣也能得到安全合理的综合利用。总体上看, 该研究为利用镉超标大米生产食品添加剂 D-异抗坏血酸钠提供了可靠的理论依据和技术支撑。

#### 参考文献

- ZHAO FJ, WANG P. Arsenic and cadmium accumulation in rice and mitigation strategies [J]. *Plant Soil*, 2020, 446(1): 1–21.
- RAHMAN Z, SINGH VP. The relative impact of toxic heavy metals (THMs) (arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr) (VI), mercury (Hg), and lead (Pb)) on the total environment: An overview [J]. *Environ Monitor Assess*, 2019, 191(7): 419.
- ĐUKIĆ-ĆOSIĆ D, BARALIĆ K, JAVORAC D, *et al.* An overview of molecular mechanisms in cadmium toxicity [J]. *Curr Opin Toxicol*, 2020, 19: 56–62.
- WANG P, CHEN H, KOPITKE PM, *et al.* Cadmium contamination in agricultural soils of China and the impact on food safety [J]. *Environ Pollut*, 2019, 249: 1038–1048.
- 国家统计局. 国家统计局关于 2020 年粮食产量数据的公告[EB/OL]. [2020-12-10]. [http://www.stats.gov.cn/tjsj/zxfb/202012/t20201210\\_1808377.html](http://www.stats.gov.cn/tjsj/zxfb/202012/t20201210_1808377.html) [2022-05-07].  
National Bureau of Statistics. Announcement of the National Bureau of statistics on grain production data in 2020 [EB/OL]. [2020-12-10]. [http://www.stats.gov.cn/tjsj/zxfb/202012/t20201210\\_1808377.html](http://www.stats.gov.cn/tjsj/zxfb/202012/t20201210_1808377.html) [2022-05-07].
- 徐颖菲, 谢国雄, 章明奎. 改良剂配合水分管理减少水稻吸收土壤中镉的研究[J]. *水土保持学报*, 2019, 33(6): 356–360.  
XU YF, XIE GX, ZHANG MK. Reduction of cadmium uptake of rice plant from soil by application of amendments combined with water management [J]. *J Soil Water Conserv*, 2019, 33(6): 356–360.
- YUAN X, XUE N, HAN Z. A meta-analysis of heavy metals pollution in farmland and urban soils in China over the past 20 years [J]. *J Environ Sci*, 2021, 101: 217–226.
- 环境保护部, 国土资源部. 全国土壤污染状况调查公报[EB/OL]. [2014-04-17]. [https://www.mee.gov.cn/gkml/sthjbgw/qt/201404/t20140417\\_270670.htm](https://www.mee.gov.cn/gkml/sthjbgw/qt/201404/t20140417_270670.htm) [2022-09-15].  
Ministry of Environmental Protection, Ministry of Land and Resources. Bulletin of national soil pollution survey [EB/OL]. [2014-04-17]. [https://www.mee.gov.cn/gkml/sthjbgw/qt/201404/t20140417\\_270670.htm](https://www.mee.gov.cn/gkml/sthjbgw/qt/201404/t20140417_270670.htm) [2022-09-15].
- 安艳, 朱霞萍, 孟兴锐, 等. 巯基膨润土钝化修复镉污染水稻土的研究 [J]. *土壤通报*, 2021, 52(4): 934–939.  
AN Y, ZHU XP, MENG XR, *et al.* Passivation remediation of Cd contaminated paddy soils by mercapto bentonite [J]. *Chin J Soil Sci*, 2021, 52(4): 934–939.
- 陈奕喧, 邓潇, 杨洋, 等. 亚麻—水稻轮作模式对镉污染土壤修复潜力研究[J]. *作物研究*, 2022, 36(2): 126–131.  
CHEN YX, DENG X, YANG Y, *et al.* The potential of flax-rice rotation for remediation of cadmium contaminated soil [J]. *Crop Res*, 2022, 36(2): 126–131.
- 王晨, 吴卫国, 王燕. 大米中金属镉消减技术研究进展[J]. *农产品加工*, 2020, (11): 79–81.  
WANG C, WU WG, WANG Y. Research progress of cadmium removal technology in rice [J]. *Farm Prod Process*, 2020, (11): 79–81.
- 李克强, 王韧, 冯伟, 等. 整米中重金属镉的酸法消减工艺优化[J]. *食品与生物技术学报*, 2019, 38(8): 10–17.  
LI KQ, WANG R, FENG W, *et al.* Optimization of heavy metal cadmium removal from the whole rice by acid process [J]. *J Food Sci Biotechnol*, 2019, 38(8): 10–17.
- 王娅殊, 胡瀚, 付红军, 等. 大米降镉技术及其对大米品质影响的研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(5): 302–308.  
WANG YS, HU H, FU HJ, *et al.* Research progress on cadmium reduction technology in rice and its effect on rice quality [J]. *Food Ferment Ind*, 2022, 48(5): 302–308.
- ROXANA-GEORGIANA L, ALEXANDRA-CRISTINA B, ELENA-NICULINA D, *et al.* Mechanism, influencing factors exploration and modelling on the reactive extraction of 2-ketogluconic acid in presence of a phase modifier [J]. *Separat Purificat Technol*, 2021, 255: 117740.
- ZENG WZ, CAI W, LIU L, *et al.* Efficient biosynthesis of 2-keto-D-gluconic acid by fed-batch culture of metabolically engineered *Gluconobacter japonicus* [J]. *Synthet Systems Biotechnol*, 2019, 4(3): 134–141.
- SUN L, WANG DM, SUN WJ, *et al.* Two-stage semi-continuous 2-keto-gluconic acid (2KGA) production by *Pseudomonas plecoglossicida* JUIM01 from rice starch hydrolyzate [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2020, 8: 120.
- EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food (ANS). Scientific opinion on the re-evaluation of erythorbic acid (E 315) and sodium erythorbate (E 316) as food additives [J]. *EFSA J*, 2016, 14(1): 4360.
- 魏转, 余泗莲, 孙文敬, 等. 2-酮基-D-葡萄糖酸发酵生产研究进展[J]. *食品科学*, 2008, 29(8): 636–639.

- WEI Z, YU SL, SUN WJ, *et al.* Research progress on fermentation production of 2-keto-*D*-gluconic acid [J]. *Food Sci*, 2008, 29(8): 636–639.
- [19] WANG DM, SUN L, SUN WJ, *et al.* Purification, characterization and gene identification of a membrane-bound glucose dehydrogenase from 2-keto-*D*-gluconic acid industrial producing strain *Pseudomonas plecoglossicida* JUIM01 [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 118: 534–541.
- [20] WANG DM, SUN L, SUN WJ, *et al.* A membrane-bound gluconate dehydrogenase from 2-keto-*D*-gluconic acid industrial producing strain *Pseudomonas plecoglossicida* JUIM01: Purification, characterization, and gene identification [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2019, 188(4): 897–913.
- [21] SUN WJ, ZHOU YZ, ZHOU Q, *et al.* Semi-continuous production of 2-keto-gluconic acid by *Pseudomonas fluorescens* AR4 from rice starch hydrolysate [J]. *Biores Technol*, 2012, 110: 546–551.
- [22] SUN WJ, YUN QQ, ZHOU YZ, *et al.* Continuous 2-keto-gluconic acid (2KGA) production from corn starch hydrolysate by *Pseudomonas fluorescens* AR4 [J]. *Biochem Eng J*, 2013, 77: 97–102.
- [23] TENG WH, SUN WJ, YU B, *et al.* Continuous conversion of rice starch hydrolysate to 2-keto-*D*-gluconic acid by *Arthrobacter globiformis* C224 [J]. *Biotechnol Bioprocess Eng*, 2013, 18: 709–714.
- [24] SUN L, WANG DM, SUN WJ, *et al.* A 2-ketogluconate kinase KguK in *Pseudomonas plecoglossicida* JUIM01: Enzymatic characterization and its role in 2-keto-*D*-gluconic acid metabolism [J]. *Inter J Biol Macromol*, 2020, 165: 2640–2648.
- [25] 周强, 魏转, 孙文敬, 等. *D*-异抗坏血酸生产技术研究进展[J]. *食品科学*, 2008, 29(8): 647–651.
- ZHOU Q, WEI Z, SUN WJ, *et al.* Research progress on production technology of *D*-erythorbic acid [J]. *Food Sci*, 2008, 29(8): 647–651.
- [26] 孙文敬, 杨庆文, 黄惠英, 等. 荧光假单胞菌 AR4 产 2-酮基-*D*-葡萄糖酸发酵条件的研究[J]. *食品科学*, 2004, 25(10): 46–49.
- SUN WJ, YANG QW, HUANG HY, *et al.* Studies on the fermentation conditions of *Pseudomonas fluorescens* AR4 producing 2-keto-*D*-gluconic acid [J]. *Food Sci*, 2004, 25(10): 46–49.
- [27] 孙文敬, 周延政, 冯晓燕, 等. 旋光法测定发酵液中 2-酮基-*D*-葡萄糖酸[J]. *食品科学*, 2010, 31(22): 375–377.
- SUN WJ, ZHOU YZ, FENG XY, *et al.* Determination of 2-keto-*D*-gluconic acid in fermentation broth by polarimetry [J]. *Food Sci*, 2010, 31(22): 375–377.
- [28] 杨居荣, 何孟常, 查燕, 等. 稻、麦籽实中 Cd 的结合形态[J]. *中国环境科学*, 2000, 20(5): 404–408.
- YANG JR, HE MC, ZHA Y, *et al.* Binding forms of Cd in the rice and wheat seeds [J]. *China Environ Sci*, 2000, 20(5): 404–408.
- [29] 祁文磊, 冯燕英, 许宙, 等. 米渣蛋白质酶解条件优化及对镉含量的影响[J]. *食品与机械*, 2019, 35(2): 134–139.
- QI WL, FENG YY, XU Z, *et al.* Optimization on enzymatic hydrolysis conditions of rice dreg and effect on cadmium content [J]. *Food Mach*, 2019, 35(2): 134–139.
- [30] FENG W, DONG T, LI K, *et al.* Characterization of binding behaviors of Cd<sup>2+</sup> to rice proteins [J]. *Food Chem*, 2019, 275: 186–192.

(责任编辑: 韩晓红 于梦娇)

## 作者简介



赵生旺, 副研究员, 主要研究方向为食品生物技术。

E-mail: zsw19640115@163.com



孙文敬, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品生物技术。

E-mail: juswj@163.com