

氧化锌纳米颗粒对玉米储藏过程中 霉菌区系及其品质的影响

周显青, 赵金凤, 张咚咚*, 吴 琼, 胡锋卫, 李梦瑶, 赵锦琦
(粮食储藏与安全教育部工程研究中心, 河南省粮食产后减损工程技术研究中心,
河南工业大学粮食和物资储备学院, 郑州 450001)

摘要: **目的** 探索氧化锌纳米颗粒对玉米储藏过程中霉菌区系及其品质的影响。**方法** 将玉米分成 3 份, 经过不同浓度氧化锌纳米颗粒悬浮液的处理, 以不添加氧化锌纳米颗粒作为对照, 置于 30°C 下模拟储藏 35 d, 对不同处理组的玉米霉菌区系和储藏品质变化进行监测与分析。**结果** 储藏 35 d 后, 处理组霉菌量为 4.0×10^4 CFU/mL, 而对照组霉菌量为 1.4×10^6 CFU/mL, 表明氧化锌纳米颗粒有效抑制了玉米储藏过程中霉菌的生长繁殖。玉米在整个储藏过程中优势霉菌主要为黄曲霉、黑曲霉、温特曲霉、桔青霉和查氏青霉等青霉属和曲霉属。随着储藏时间的增加, 玉米中脂肪酸值、电导率、丙二醛显著上升, 过氧化物酶活力显著下降, 水分也呈下降趋势。揭示了低浓度氧化锌纳米颗粒对细胞膜有一定的保护作用, 而高浓度氧化锌纳米颗粒会对细胞膜系统造成破坏。**结论** 氧化锌纳米颗粒可以显著抑制玉米储藏过程中霉菌的生长繁殖, 同时低浓度添加更有利于玉米的储藏。

关键词: 氧化锌纳米颗粒; 玉米; 微生物; 储藏品质

Effects of ZnO nanoparticles on mold flora and quality of maize during storage

ZHOU Xian-Qing, ZHAO Jin-Feng, ZHANG Dong-Dong*, WU Qiong,
HU Feng-Wei, LI Meng-Yao, ZHAO Jin-Qi

(Henan Provincial Engineering Technology Research Center on Grain Post harvest, Engineering Research Center of Grain Storage and Security of Ministry of Education, School of Food and Strategic Reserves, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

ABSTRACT: Objective To explore the effect of ZnO nanoparticles on the mold flora and storage quality of maize during storage. **Methods** The maize was divided into 3 parts, treated with different concentrations of ZnO nanoparticles suspension. The maize without ZnO nanoparticles was used as control, which was stored at 30°C for 35 days. The mold flora and storage quality of different treatment groups were tracked and analyzed. **Results** After 35 days of storage, the total number of mold colonies in the treatment group was 4.0×10^4 CFU/mL, while the control group

基金项目: 国家自然科学基金项目(32001745)、中国科协第五届青年人才托举工程项目(2019QNRC001)、河南工业大学高层次人才科研基金项目(2019BS011)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (32001745), the Fifth Young Elite Scientists Sponsorship Program by China Association for Science and Technology (2019QNRC001), and the High-level Talent Research Fund of Henan University of Technology (2019BS011)

***通信作者:** 张咚咚, 博士, 副教授, 主要研究方向为粮食储藏、储粮生态因子互作关系。E-mail: medong@126.com

***Corresponding author:** ZHANG Dong-Dong, Ph.D, Associate Professor, School of Food and Strategic Reserves, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China. E-mail: medong@126.com

was 1.4×10^6 CFU/mL. It meant that ZnO nanoparticles could effectively inhibited the mold growth during maize storage. The dominant mold were *Penicillium* and *Aspergillus* during the whole storage of maize, such as *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus winterteri*, *Penicillium citrinum* and *Penicillium chastii*. With the increase of storage time, the fatty acid value, electrical conductivity and malondialdehyde in maize increased significantly, the peroxidase activity decreased significantly, as did the water content. The results revealed that the low concentration of ZnO nanoparticles had a certain protective effects on the cell membrane, while the high concentration could cause damage. **Conclusion** ZnO nanoparticles can significantly inhibit the growth of mold during maize storage, and low concentration addition is more conducive.

KEY WORDS: ZnO nanoparticles; maize; microorganism; storage quality

0 引言

玉米是世界上主要的粮食作物之一,也是我国重要的经济作物^[1]。近年来我国玉米播种面积、产量持续增加,据统计中国已经成为全球玉米种植面积最多的国家,玉米总产量居世界第二,约占世界总产量的1/5^[2-3]。玉米用途非常广泛,除了可以直接食用,还是许多食品工业和饲料的重要原料来源^[4]。玉米籽粒胚部较大,并且含有大量的蛋白质和可溶性糖,吸湿性较高。玉米胚部富含脂肪,易酸败,带菌量大,在适宜的温度下会快速大量繁殖^[5]。玉米收获时水分较高,呼吸旺盛,所以玉米在储藏期间极易出现发热、霉变、真菌毒素超标等问题,严重威胁储藏安全^[6-8]。玉米水分越高,呼吸能力越强,释放热量使其发热霉变,这是历年来偏高水分玉米储藏方面的难题^[9-10]。玉米储藏过程中常见的产毒霉菌主要为青霉属、曲霉属、镰刀霉属等^[11-12]。玉米、花生、稻谷、小麦等谷物及其制品容易受到真菌毒素的污染,严重威胁人和牲畜的生命安全^[13]。切实保障国家粮食安全问题是重中之重。因此研究储藏玉米中的霉菌污染、研发并应用有效的防控技术是控制储藏玉米霉菌危害的关键。

近年来霉菌感染一直处于全球食品安全事件的前沿,它不仅会给我们带来巨大的经济损失,还会严重威胁食品安全和公众健康。虽然植物精油、抗菌肽等抗菌剂已经被证实有较好的抗菌效果,但是由于其成本高、稳定性差以及对人体健康存在风险等不能被大规模利用^[14]。无机抗菌材料由于其具有耐热性、稳定性好,抑菌谱广,抗菌效果好,毒性低,不易产生耐药性等优点得到了越来越多的关注^[15]。纳米氧化锌因其良好的抗菌性能而受到广泛关注,已被美国食品和药物管理局批准为安全的抗菌剂。与其他金属型氧化物(如 TiO₂, MgO 和 CaO 等)相比,它还具有化学稳定性好、比表面积大、氧化还原电位高、无毒、对环境友好、成本低等特性,已经在食品、催化、纺织、医疗和水处理等领域广泛应用^[16-18]。ZnO 比其他氧化物纳米材料更容易产生活性氧,可以有效地作为多种微生物的抗菌

剂,同时对广泛的细菌均具有优良的抗菌活性,与其他抗菌药物相比,纳米氧化锌表现出优异的抗菌性能^[19]。研究表明,使用纳米氧化锌对公众健康没有或可以忽略不计的潜在威胁,作为抗菌剂具有广泛应用前景^[20]。目前将纳米氧化锌用于粮食储藏过程中以及对储藏玉米品质的影响等相关性的研究鲜有系统报道。因此本研究将其应用在玉米储藏中,探究其在玉米储藏过程的抑菌作用,以及对玉米品质的影响。探索氧化锌纳米颗粒(ZnO nanoparticles, ZnO-NPs)对玉米贮藏期霉菌区系以及储藏品质的影响,以期科学评价 ZnO-NPs 对玉米储藏过程中霉菌的抑制作用以及对品质的影响,为其在绿色安全储粮领域的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

玉米:2022年收获于郑州市惠济区古荥村;ZnO-NPs由本实验室制备^[21]。

1.2 试剂

无水乙醇(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);硫代巴比妥酸(纯度98%)、愈创木酚(纯度98%)、三氯乙酸(分析纯)(上海阿拉丁试剂有限公司);百里香酚兰(分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司);KOH(分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司);马铃薯葡萄糖琼脂培养基(potato dextrose agar medium, PDA)(北京奥博星生物技术有限责任公司);磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、过氧化氢(分析纯,上海阿拉丁试剂有限公司);柱式真菌基因组DNA抽提试剂盒[生工生物工程(上海)股份有限公司];实验室用水为超纯水。

1.3 仪器与设备

2720 thermal cycler PCR仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司];DYY-5稳压电泳仪(北京六一仪器厂);Milli-Q去离子水发生器(美国Millipore公司);DW-86L630低温保存箱(青岛澳柯玛股份有限公司);Tanon 2500凝胶成像系统

(上海 BIO-RAD 公司); TDW-4000 低温连续锤式旋风磨(浙江伯利恒仪器设备有限公司); 101C-3 电热鼓风干燥箱(上海实验仪器厂); JA2003 电子天平(精度 0.0001 g, 上海上平仪器有限公司); TRI-III-ZF 全自动脂肪酸测定仪(北京同信天博科技发展有限公司); DNP-9082 恒温恒湿培养箱(上海精胜科学仪器有限公司); BKQ-B50II 立式高压蒸汽灭菌锅(济南欧莱博电子商务有限公司); DDSJ-307 电导率仪(上海仪电科学仪器股份有限公司); T6 新世纪紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); VELOCITY 14R 台式高速冷冻离心机(英国 Dynamica 公司)。

1.4 实验方法

将玉米过筛除杂, 随机分成 3 份, 每份 3 kg。将玉米水分调成 18%(已计入 ZnO-NPs 悬浮液体积)。根据 ZnO-NPs 的添加浓度算出所需的 ZnO-NPs 粉末质量, 将其分散到去离子水中超声混合均匀, 得到 ZnO-NPs 悬浮液。调水分时分 3 次将含有不同 ZnO-NPs 悬浮液浓度的水用喷壶均匀喷洒在玉米上, 使样品中 ZnO-NPs 的添加浓度分别为 0、1200、2400 mg/kg, 将样品装入自封袋, 并置于温度 30°C(此时真菌易生长繁殖), 相对湿度 85% 的恒温恒湿培养箱中模拟储藏, 每 7 d 监测一次玉米表面霉菌及品质的变化, 共储藏 35 d。

1.4.1 霉菌分离纯化

采取平板菌落计数法, 称取玉米样品 25 g, 在无菌环境中加入到装有 250 mL 无菌水的三角瓶中, 摇床振荡 30 min, 得到菌悬液。采用稀释平板法, 将不同稀释梯度的菌悬液在 PDA 培养基上涂布均匀。将 PDA 平板置于 28°C 恒温培养箱中培养, 3 d 后进行菌落计数, 实验重复 3 次。根据菌落形态对真菌进行纯化并编号, 4°C 保存。

1.4.2 霉菌形态学鉴定

观察霉菌菌落的形态特征, 包括菌落颜色、大小、高度、菌丝长短、气生菌丝质地(绒毛状、棉絮状、粉粒状、毡状或毯状等)菌落表面纹饰(皱纹、辐射沟纹或同心纹)、菌落背面颜色及是否产生色素, 依据表 1 初步判断所属菌属。

表 1 霉菌菌落形态特征

Table 1 Morphological characteristics of mold colonies

霉菌菌落种类	菌落特征	分生孢子特征
曲霉属	菌落表面一般呈绒毛状, 起初为白色或灰白色, 长出孢子后则呈现出不同的颜色	一般呈放射状
青霉属	菌落有绒状、絮状、绳状和束状 4 种类型, 菌落呈现不同的类型的绿色。	分生孢子球形、卵形或椭圆形
镰刀菌属	菌落一般呈白色绒毛状, 常产生可溶性色素	大多呈镰刀形, 多隔, 有的为卵形、梨形、圆形和柱形等

1.4.3 显微形态

在无菌的载玻片中央滴一滴美蓝染液, 用透明胶带粘取少量菌丝贴在载玻片上。在显微镜下, 观察菌丝表面形状、分生孢子梗分支情况、孢子形态、大小、着生位置(单生或互生)、表面形态等。参考 GB 4789.16—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 常见产毒霉菌的形态学鉴定》、中国真菌志第五卷“曲霉属及相关有性型”对霉菌进行进一步鉴定。

1.4.4 霉菌分子生物学鉴定

选取形态不同的代表性菌株, 进行分子生物学鉴定。采用真菌基因组 DNA 抽提试剂盒提取菌株 DNA, 然后用真菌通用引物进行 PCR 扩增。扩增产物经 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 将亮度清晰且条带范围 500 bp 的 PCR 产物送至青岛擎科生物科技有限公司进行测序。所得测序结果输入美国国家生物信息中心(National Center of Biotechnology Information, NCBI)数据库中进行 BLAST 比对, 选择同源性较高的菌株的基因序列下载。使用 MEGA7 软件进行序列比对分析, 从而确定菌株的分类地位。

1.5 指标测定与方法

霉菌菌落总数参照 GB 4789.15—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》进行测定。水分含量参照 GB 5009.3—2016《食品安全国家标准 食品中水分的测定》。脂肪酸值参照 GB/T 29405—2012《粮油检验 谷物及制品脂肪酸值测定 仪器法》测定。丙二醛(malondialdehyde, MDA)参照王若兰等^[22]的方法测定。过氧化物酶按照马良^[23]的方法测定。电导率参照 LIU 等^[24]的方法进行测定。

1.6 数据处理

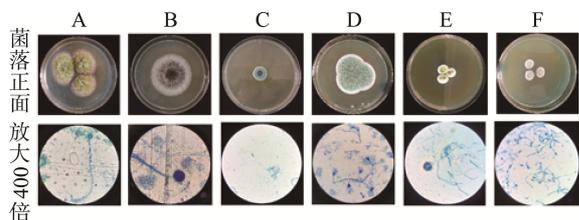
实验重复 3 次, 使用 Microsoft Excel 2016 对实验结果进行统计分析, 使用 SPSS 26.0 统计分析软件进行方差分析和相关性分析, 运用 Origin 2018 进行作图。

2 结果与分析

2.1 优势霉菌的纯化与鉴定

2.1.1 形态特征

该研究从储藏的玉米中分离纯化出 6 株优势霉菌。首先根据菌落颜色、大小、菌丝形态及分生孢子显微形态等特征进行初步鉴定, 形态特征如图 1 所示。A 菌落呈黄绿色, 丝绒状, 中央凸起, 分生孢子呈放射型, 初步判定为黄曲霉菌。B 菌落呈黑色, 丝绒状, 中央凸起, 分生孢子呈球, 形产孢结构双层, 分生孢子壁粗糙, 初步判定为黑曲霉菌。C 菌落呈蓝绿色, 分生孢子呈球形, 初步判定为青霉菌。D 菌落呈灰绿色, 边界呈规则圆状, 中间凸起, 分生孢子呈长链状, 初步判定为蓝状菌。E 菌落呈黄褐色, 丝绒状, 中部絮状, 分生孢子呈球形, 分生孢子头褐色, 初步判定为曲霉菌。F 菌落呈灰绿色, 菌落密毡状, 菌丝无色有分枝, 分生孢子梗呈扫帚状分枝, 初步判定为青霉菌。



注: A. 黄曲霉菌(7 d); B. 黑曲霉菌(14 d); C. 青霉菌(7 d); D. 蓝状菌(7 d); E. 曲霉菌(21 d); F. 青霉菌(28 d)。

图 1 真菌在 PDA 平板的菌落及显微形态(40×10)

Fig.1 Colonies and micromorphology of fungi cultivated in PDA medium (40×10)

2.1.2 分子生物学鉴定

根据形态学鉴定结果, 对不同菌株进行分子生物学鉴定。首先提取霉菌基因组 DNA、通用引物扩增并用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 检测结果如图 2 所示。目的基因片段在 600 bp 左右, 为所需要的目的片段。

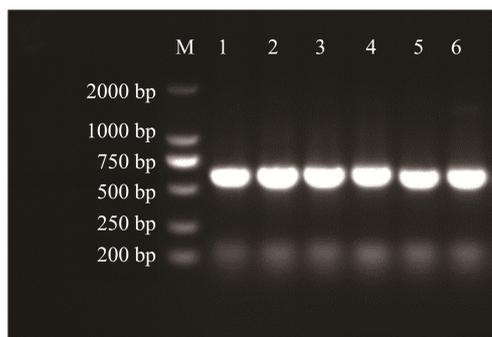


图 2 优势霉菌 PCR 扩增产物电泳图

Fig.2 Electropherogram of PCR amplification products of dominant mold

将测序结果上传到 GenBank 中, 获得 Genbank 序列号, 同时通过 BLAST 搜索, 选择已公开发表且相似度最高的模式菌株, 使用 MEGA 7.0 软件, 采用最大似然法构建系统发育树, 确定各类菌株的系统发育地位, 最终确定所分离霉菌亲缘关系最近菌株名称如表 2 中所示。

2.2 ZnO-NPs 对玉米储藏期间霉菌区系的影响

2.2.1 玉米储藏过程中霉菌量的变化

如图 3, 玉米经过 35 d 的高温高湿模拟储藏, 对照组中的霉菌量总体呈上升趋势, 储藏 7 d 后玉米就开始发生霉变, 14 d 后, 霉菌迅速增长, 经过 35 d 的储藏后霉菌量高达 1.4×10^6 CFU/mL, 是原有霉菌量的 10^4 倍, 说明在储藏中期高温的环境条件适宜大多数霉菌的生长, 这与渠琛玲等^[25] 研究结果一致。经不同浓度 ZnO-NPs 处理后, 玉米表面霉菌量在前 14 d 相对平稳, 在 4.0×10^3 CFU/mL 左右, 从 21 d 开始霉菌量有所上升, 约 4.0×10^4 CFU/mL, 之后趋于平稳。在储藏过程中对照组玉米霉菌量显著高于处理组 ($P < 0.05$), 表明 ZnO-NPs 对玉米表面的霉菌有较好的抑制

作用。而添加浓度为 2400 mg/kg 时霉菌量始终较低, 说明随着添加浓度的提高, 抑菌效果不断增强。较低的霉菌量也表明 ZnO-NPs 除了对主要污染霉菌有较好抑制作用外, 对储藏玉米表面其他菌属也有抑制作用。

表 2 玉米中优势霉菌分子生物学鉴定结果

Table 2 Molecular biological identification results of dominant molds in corn

菌株编号	Genbank 序列号	亲缘关系最近菌株名称
A	OP628666	黄曲霉(<i>Aspergillus</i> sp.)
B	OP628667	黑曲霉(<i>Aspergillus niger</i>)
C	OP628669	桔青霉(<i>Penicillium citrinum</i>)
D	OP628668	篮状菌(<i>Talaromyces variabilis</i>)
E	OP628670	温特曲霉(<i>Aspergillus wentii</i>)
F	OP628665	查氏青霉(<i>Penicillium chahei</i>)

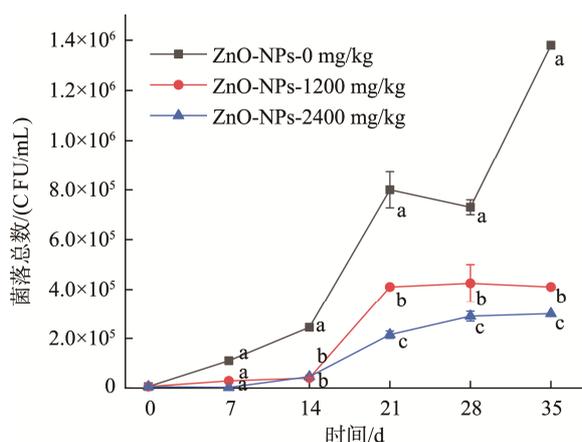


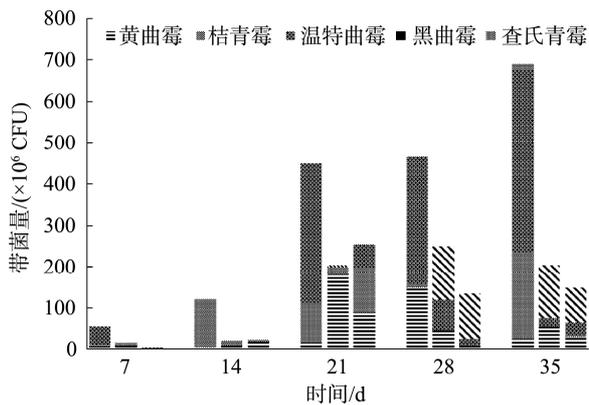
图 3 玉米储藏期间霉菌量的变化

Fig.3 Changes of mold amount during corn storage

2.2.2 玉米储藏过程中霉菌区系的变化

霉菌区系受储藏条件的影响, 温度和含水率较高时, 霉菌优势度大、多样性小, 含水率低时相反。玉米携带的霉菌可分为田间霉菌和储藏霉菌, 由于生长特性不同, 田间霉菌和储藏霉菌存在竞争性演替。随着储藏时间的增加, 玉米的霉菌群落逐渐由田间霉菌向储藏霉菌演替, 优势霉菌逐渐演替为曲霉属和青霉属^[26]。不同 ZnO-NPs 处理玉米储藏过程中优势霉菌变化情况如图 4 所示。结果显示, ZnO-NPs 添加浓度为 1200 和 2400 mg/kg 时可以显著抑制玉米表面主要霉菌的生长, 从而降低玉米储藏过程中的带菌量, 延缓玉米发生霉变。整个储藏过程中优势真菌主要为黑曲霉、黄曲霉、桔青霉、温特曲霉、查氏青霉等曲霉属和青霉属, 这也和张守梅等^[27]研究结果一致。储藏初期对照组优势霉菌主要为温特曲霉, 14 d 时青霉含量增加, 28 d

时黄曲霉含量上升, 储藏结束时青霉和温特曲霉含量上升成为优势真菌。在整个储藏过程中, 相比于对照组, 处理组前期优势霉菌主要为黄曲霉, 在 21 d 时桔青霉含量增加, 储藏后期查氏青霉成为优势霉菌, 说明 ZnO-NPs 对曲霉属有较强的抑制作用。在整个储藏过程中, 储藏前期玉米带菌量较少, 21 d 时开始发霉, 致使玉米发霉的主要霉菌是黄曲霉和桔青霉。说明黄曲霉和青霉在高温高水分环境下会首先大量滋生, 引起玉米品质劣变。青霉是中生性霉菌, 它是低温较高水分条件下危害玉米的主要霉菌, 黄曲霉是在较高温度条件下, 引起玉米霉变的主要霉菌。



注: ZnO-NPs 添加浓度依次为 0、1200、2400 mg/kg。

图 4 玉米储藏期间不同 ZnO-NPs 添加浓度优势霉菌组成变化
Fig.4 Changes in the composition of dominant molds with different ZnO-NPs addition concentrations during corn storage

2.3 ZnO-NPs 处理对玉米品质的影响

2.3.1 不同浓度 ZnO-NPs 处理玉米储藏期间水分变化

霉菌的最适生长温度是 28~30°C, 此温度条件下, 粮食水分一旦超过其安全水分, 微生物就开始旺盛活动, 粮食很容易发生霉变。在温度为 30°C 条件下储藏 35 d, 不同 ZnO-NPs 处理的玉米水分含量整体呈下降趋势, 从原来的 18% 降到 16% 左右。储藏到第 21 d 两组玉米的水分含量均呈下降趋势, 在第 28 d 后两组玉米的水分含量回升且缓慢趋于稳定, 到达水分平衡(图 5)。经单因素方差分析, 各处理水分含量与对照相比, 无显著性差异($P>0.05$)。结果表明在该储藏条件下氧化锌纳米复合物对玉米储藏过程中水分含量的变化不会产生较大影响。

2.3.2 不同浓度 ZnO-NPs 处理玉米储藏期间脂肪酸值变化

玉米是脂肪含量较高的粮食, 在储藏过程中易发生脂类的分解, 脂肪酸是主要的水解产物。因此, 脂肪酸值是判断玉米是否适合储藏的重要指标。在整个模拟储藏过程中, 玉米脂肪酸值整体呈上升趋势。对照组从储藏初期脂肪酸值就显著升高($P<0.05$), 从最初的 29 mg/100 g 上升

至 185 mg/100 g, 增加了 156 mg/100 g, 达到了重度不易存状态(图 6)。一方面是因为高水分玉米霉菌活动旺盛, 在短时间内极易发生霉变。另一方面是高水分玉米在三酰基甘油的水解作用下脂肪酸值快速增加, 即使在储藏后期玉米可能存在缺氧呼吸的条件下, 由于其水分含量较高, 依然会继续快速发生脂肪酸水解, 最终导致脂肪酸值快速上升^[28]。处理组脂肪酸值也整体呈上升趋势, 在储藏 35 d 后上升至 130 mg/100 g 左右, 达到不宜存储状态。处理组脂肪酸值含量始终低于对照组($P<0.05$)。高水分玉米在高温条件下储藏, 脂肪酸值在较短时间内就会发生很大变化, 玉米品质快速发生劣变, 而添加 ZnO-NPs 会在一定程度上延缓玉米品质发生劣变。

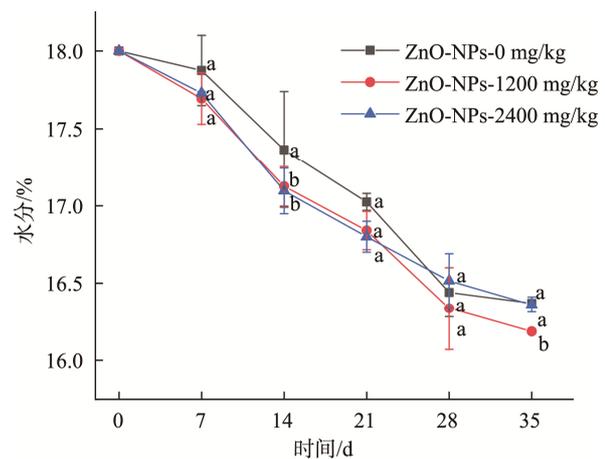


图 5 玉米储藏期间水分变化
Fig.5 Moisture changes during corn storage

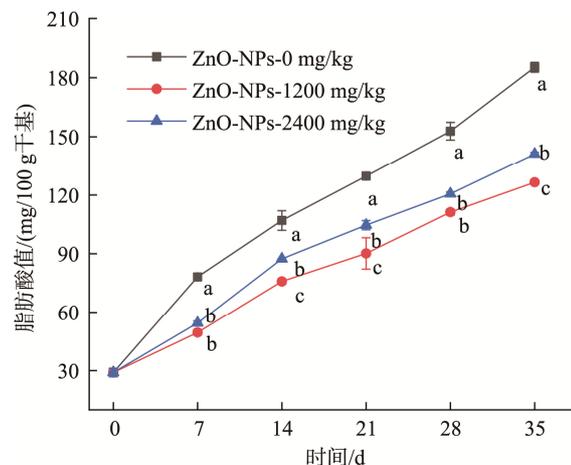


图 6 玉米储藏期间脂肪酸值变化
Fig.6 Changes in fatty acid value of corn during storage

2.3.3 不同浓度 ZnO-NPs 处理玉米储藏期间 MDA 变化

MDA 是膜脂氧化的最终产物, MDA 含量的高低可以衡量植物细胞膜脂过氧化程度的强弱。随着储藏时

间的延长, 植物本身系统清除能力将有所下降, MDA 含量不断上升, 造成对膜和细胞的伤害。在模拟储藏过程中 MDA 含量与储藏时间呈显著正相关($P < 0.05$), 随着储藏时间的增加, 对照组 MDA 含量增至 $0.6204 \mu\text{mol/g}$, 相比于原始 MDA 含量增加了 2 倍左右(图 7)。处理组 MDA 含量整体处于上升趋势, 最终 MDA 含量为 $0.6578 \mu\text{mol/g}$ 。储藏前期对照组和处理组无显著性差异($P > 0.05$), 而从 14 d 开始 ZnO-NPs 添加量为 2400 mg/kg 时 MDA 含量显著高于对照组。结果说明低浓度 ZnO-NPs 添加量对细胞膜有一定的保护作用, 而高浓度氧化锌添加量使玉米中 Zn^{2+} 含量增加, 扰乱了锌的动态平衡, 从而对细胞膜系统造成破坏。具体表现为 MDA 水平的增加, 以及抗氧化酶和下降。赵威等^[29]将不同浓度的 ZnO-NPs 添加到玉米幼苗的生长过程中探究其酶活及 MDA 的变化也得到了相同的结果。

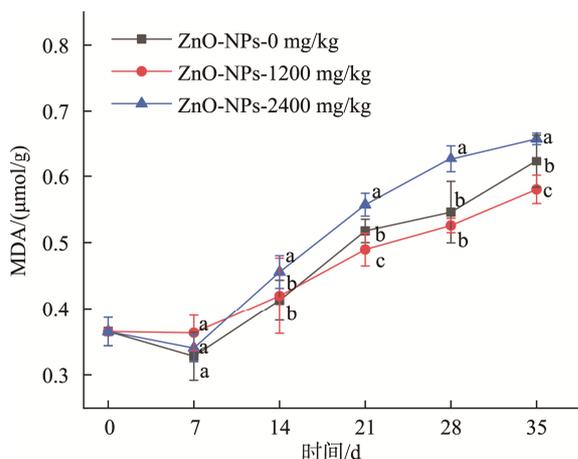


图 7 玉米储藏期间 MDA 含量变化
Fig.7 Changes of MDA content in corn during storage

2.3.4 不同浓度 ZnO-NPs 处理玉米储藏期间电导率变化

随着玉米储藏时间的延长, 细胞膜脂过氧化作用加剧, 细胞膜完整性降低, 透性增大, 从而浸出液中析出较多的电解质或可溶性物质, 进而导致电导率的升高。随着储藏时间的延长, 不同 ZnO-NPs 处理的玉米浸出液电导率均呈持续增加的趋势(图 8)。对照组玉米在储藏 35 d 后电导率增加至 $31.04 \mu\text{S}/(\text{cm}\cdot\text{g})$, 增加了 $18.02 \mu\text{S}/(\text{cm}\cdot\text{g})$, 处理组分别增加了 12.58 、 $23.21 \mu\text{S}/(\text{cm}\cdot\text{g})$ 这和周显青^[30]等研究结果一致。前期储藏过程中对照组和处理组无显著性差异($P > 0.05$), 但在储藏 14 d 后开始有显著性差异, ZnO-Nps 添加浓度为 2400 mg/kg 时电导率高于对照组, 而添加浓度为 1200 mg/kg 时低于对照组。研究表明, ZnO-NPs 对植物脂质过氧化和抗氧化代谢有一定的影响^[31], 结果表明在高温储藏条件下高浓度的 ZnO-NPs 添加量在储藏后期会加剧玉米脂质过氧化。

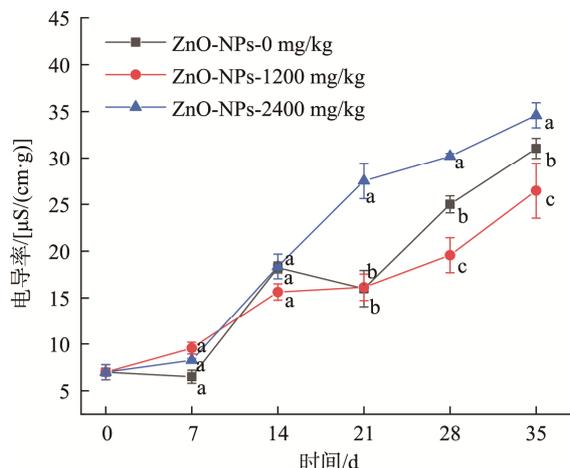


图 8 玉米储藏期间电导率变化
Fig.8 Changes in electrical conductivity of corn during storage

2.3.5 不同浓度 ZnO-NPs 处理玉米储藏期间过氧化物酶变化

在整个储藏过程中对照组和处理组玉米过氧化物酶(peroxidase, POD)活性总体均呈下降趋势(图 9)。对照组玉米在经过 35 d 的储藏后, 呈现先升高后下降的趋势, 由原来的 569 U/g 最终降为 298 U/g 。研究表明玉米受病原菌侵染后会产生活性氧, 而 POD 是体内重要的内源活性氧清除剂, 同时还有参与木质素的聚合、限制病原菌的侵染和扩展的作用^[32]。在储藏 7 d 时, 玉米受霉菌侵染, POD 防御反应被激活, 使其含量增加。之后 POD 的活性降低, 清除过氧化物的能力下降, 造成 H_2O_2 等活性氧积累, 导致细胞膜的膜脂质过氧化, 进而对细胞造成严重损伤, 这和姜喜艳等^[33]研究结果一致。而 1200、2400 mg/kg ZnO-NPs 处理组玉米 POD 活性呈下降趋势, ZnO-NPs 添加量为 1200 mg/kg 时和对照组无显著性差异, 而和添加浓度 2400 mg/kg 时过氧化物酶活性相比于对照组显著降低, 这和前面结果相同, 也和 SRIVASTAV 等^[34]研究结果相符合。

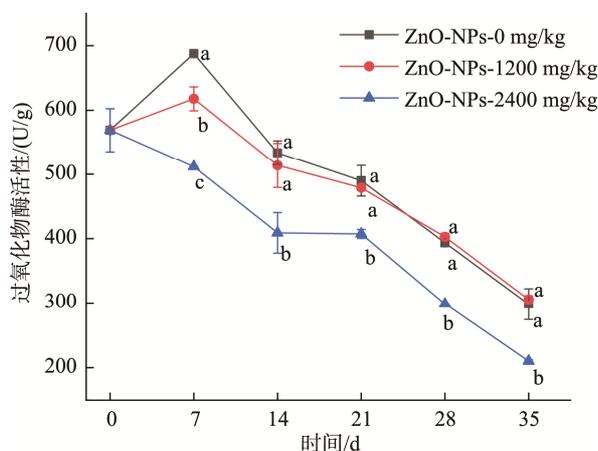


图 9 玉米储藏期间 POD 活性的变化
Fig.9 Changes in fatty acid value of corn during storage

2.4 玉米品质指标之间的线性相关性

ZnO-NPs 添加浓度和霉菌量呈显著负相关($P<0.01$), 和 POD 呈负相关, 但是和其他储藏指标无显著相关性(表 3), 数据表明添加 ZnO-NPs 可以显著的抑制玉米储藏过程中霉菌的生长, 延缓玉米品质劣变。储藏时间和 POD 呈显著性负相关($P<0.01$), 和脂肪酸值、MDA 和电导率呈显著性正相关。相关系数从大到小依次为 MDA、电导率、脂肪酸值($P<0.01$)。

通过储藏时间和各指标间的相关性分析, 结果和上文分析所得出的结论基本一致。即脂肪酸值、MDA、电导率、POD 活性受玉米储藏时间和品质劣变影响较大, 能反映品质劣变。而菌落总数和脂肪酸值、MDA 和电导率呈显著性正相关以及和 POD 活力呈显著性负相关, 说明玉米霉变会对玉米品质有较大的影响, 寻找绿色安全的抑菌方式对中国储粮安全有重大的意义。

表 3 玉米储藏品质指标相关性分析
Table 3 Correlation analysis of storage quality index of maize

指标	脂肪酸值	MDA	电导率	POD	菌落总数	储藏时间	ZnO-NPs 添加浓度
脂肪酸值	1						
MDA	0.660**	1					
电导率	0.622**	0.874**	1				
POD	-0.588**	-0.909**	-0.901**	1			
菌落总数	0.412*	0.699**	0.618**	-0.577**	1		
储藏时间	0.707**	0.941**	0.932**	-0.913**	0.716**	1	
ZnO-NPs 添加浓度	0.225	0.135	0.166	-0.311	-0.565**	0.000	1

注: *表示显著相关性, $P<0.05$, **表示极显著相关性, $P<0.01$ 。

3 结论

本研究将不同浓度的 ZnO-NPs 添加到玉米中进行模拟储藏, 结果表明, 玉米储藏过程中主要优势真菌为黄曲霉、桔青霉、温特曲霉、查氏青霉、黑曲霉。储藏时间和霉菌量呈显著性正相关, ZnO-NPs 添加浓度和玉米中霉菌量呈显著性负相关, 添加 ZnO-NPs 能够有效的抑制储藏过程中霉菌的生长繁殖, 且添加浓度为 2400 mg/kg 时抑菌效果较好。通过对玉米储藏品质指标的监测, 结果发现纳米氧化锌颗粒在一定浓度下对玉米 POD 活性有促进作用, 随着储藏时间的增加, 玉米中脂肪酸值、电导率、MDA 显著上升, POD 活力显著下降, 水分也呈下降趋势。储藏时间和 POD 呈显著性负相关, 和脂肪酸值、MDA 和电导率呈显著性正相关。说明低浓度 ZnO-NPs 添加量对细胞膜有一定的保护作用, 而高浓度氧化锌添加量会对细胞膜系统造成破坏, 使玉米 MDA、电导率水平的增加, 以及抗氧化酶活性的下降。这都表明 ZnO-NPs 在玉米储藏过程中有效抑制微生物生长的同时, 低浓度氧化锌添加量对玉米品质不会造成破坏, 在电导率、MDA、POD 活性等指标上还有有益的作用, 这会大大促进 ZnO-NPs 在粮食储藏中的应用进程。

参考文献

- [1] WANG L, LIU B, JIN J, *et al.* The complex essential oils highly control the toxigenic fungal microbiome and major mycotoxins during storage of maize [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 1643.
- [2] 曹勇, 许秀颖, 赵城彬, 等. 新采收玉米籽粒中水分状态对淀粉热特性的影响[J]. *食品科学*, 2018, 39(12): 79-84.
CAO Y, XU XY, ZHAO CB, *et al.* Effects of moisture status in newly

- harvested corn kernels on the thermal properties of starch [J]. *Food Sci*, 2018, 39(12): 79-84.
- [3] 彭田园, 高东辉, 李明奇, 等. 玉米储藏过程中的真菌污染及防控技术研究进展[Z]. 2022.
PENG TY, GAO DH, LI MQ, *et al.* Research progress on fungal contamination and control technology during corn storage [Z]. 2022.
- [4] None. Integration of fluorescence and reflectance visible near-infrared (VNIR) hyperspectral images for detection of aflatoxins in corn kernels [J]. *Transact Asae Am Soc Agric Eng*, 2016, 59(3): 785-794.
- [5] 王改利. 玉米储藏期霉菌活动、品质变化及挥发性物质成分分析[D]. 郑州: 河南工业大学, 2010.
WANG GL. Analysis of mold activity, quality changes and volatile substances in corn during storage [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2010.
- [6] 周迎春. 浅谈玉米的储存和保管[J]. *科技创新与应用*, 2012, (25): 332.
ZHOU YC. On the storage and storage of corn [J]. *Sci Technol Innov Appl*, 2012, (25): 332.
- [7] MANNAA M, KIM KD. Influence of temperature and water activity on deleterious fungi and mycotoxin production during grain storage [J]. *Mycobiology*, 2017, 45(4): 240-254.
- [8] 李慧, 王若兰, 渠琛玲, 等. 玉米储藏霉变条件及其品质研究[J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2018. DOI: 10.16433/j.cnki.issn1673-2383.2018.04.006
LI H, WANG RL, QU CL, *et al.* Study on the condition and quality of corn storage mildew [J]. *J Henan Univ Technol (Nat Sci Ed)*, 2018. DOI: 10.16433/j.cnki.issn1673-2383.2018.04.006
- [9] 罗家宾, 王建闯. 偏高水分玉米保管探索[J]. *粮食问题研究*, 2014, (5): 47-49.
LUO JB, WANG JC. Exploration on the storage of high moisture corn [J]. *Food Issues Res*, 2014, (5): 47-49.
- [10] 李听听. 玉米和小麦储藏中真菌多样性及真菌毒素的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2015.
LI TT. Research on fungal diversity and mycotoxins in corn and wheat storage [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2015.

- [11] QIU J, LU Y, HE D, *et al.* *Fusarium fujikuroi* species complex associated with rice, maize, and soybean from Jiangsu Province, China: Phylogenetic, pathogenic, and toxigenic analysis [J]. *Plant Dis*, 2020, 104(8): 2193–2201.
- [12] 张新中, 丁辉, 彭涛, 等. 真菌毒素检测与限量标准的现状与问题分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(18): 6149–6156.
ZHANG XZ, DING H, PENG T, *et al.* Analysis of the current situation and problems of mycotoxins detection and limit standards [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(18): 6149–6156.
- [13] 陈皆全. 2017~2019年百色市玉米真菌毒素污染状况调查及分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(12): 4029–4033.
CHEN JQ. Investigation and analysis of corn mycotoxins contamination in Baise City from 2017 to 2019 [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(12): 4029–4033.
- [14] SUN Q, LI J, LE T. Zinc oxide nanoparticle as a novel class of antifungal agents: Current advances and future perspectives [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(43): 11209–21120.
- [15] 张素芬. 掺杂氧化锌纳米复合材料的制备及其抗菌性能研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2021.
ZHANG SF. Preparation and antibacterial properties of doped zinc oxide nanocomposites [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2021.
- [16] MOTSHEKGA SC, SINHA RAYS, MAITY A. Synthesis and characterization of alginate beads encapsulated zinc oxide nanoparticles for bacteria disinfection in water [J]. *J Colloid Interf Sci*, 2018, 512: 686–692.
- [17] COLOMBO G, CORTINOVIS C, MOSCHINI E, *et al.* Cytotoxic and proinflammatory responses induced by ZnO nanoparticles in *in vitro* intestinal barrier [J]. *J Appl Toxicol*, 2019, 39(8): 1155–1163.
- [18] SVETLICHNYI V, SHABALINA A, LAPIN I, *et al.* ZnO nanoparticles obtained by pulsed laser ablation and their composite with cotton fabric: Preparation and study of antibacterial activity [J]. *Appl Surf Sci*, 2016, 372: 20–29.
- [19] PODASCA VE, BURUIANA T, BURUIANA EC. UV-cured polymeric films containing ZnO and silver nanoparticles with UV-Vis light-assisted photocatalytic activity [J]. *Appl Surf Sci*, 2016, 377: 262–273.
- [20] PRADEL KC, DING Y, WU W, *et al.* Optoelectronic properties of solution grown ZnO n-p or p-n core-shell nanowire arrays [J]. *ACS Appl Mater Interf*, 2016, 8(7): 4287–4291.
- [21] ZHANG DD, HU S, WU Q, *et al.* Construction of ZnO@mSiO₂ antibacterial nanocomposite for inhibition of microorganisms during *Zea mays* storage and improving the germination [J]. *LWT*, 2022, 168.
- [22] 王若兰, 张丽丽, 曹志帅, 等. 储藏微环境下小麦胚细胞超微结构变化及衰老机制研究[J]. *中国粮油学报*, 2014, 29(10): 77–82.
WANG RL, ZHANG LL, CAO ZH, *et al.* Ultrastructural changes and aging mechanism of wheat germ cells under storage microenvironment [J]. *Chin J Cereal Oils Ass*, 2014, 29(10): 77–82.
- [23] 马良. 超低水分含量小麦和玉米储藏稳定性研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2015.
MA L. Study on storage stability of ultra-low moisture content wheat and corn [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2015.
- [24] LIU J, LIU S, ZHANG X, *et al.* Effect of gallic acid grafted chitosan film packaging on the postharvest quality of white button mushroom (*Agaricus bisporus*) [J]. *Postharvest Biol Technol*, 2019, 147: 39–47.
- [25] 渠琛玲, 万立昊, 李慧, 等. 玉米霉变程度与敏感品质变化关系研究[J]. *中国粮油学报*, 2019, 34(11): 76–80.
QU CL, WAN LH, LI H, *et al.* Study on the relationship between the degree of mildew and sensitive quality changes in corn [J]. *Chin J Cereal Oils Ass*, 2019, 34(11): 76–80.
- [26] TOURNAS VH, NIAZI NS. Potentially toxigenic fungi from selected grains and grain products [J]. *J Food Saf*, 2018, 38(1): e12422.
- [27] 张守梅, 张娜娜, 李寒松, 等. 山东省部分地区 2018 年收获玉米的真菌污染状况研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(18): 6376–6380.
ZHANG SM, ZHANG NN, LI HS, *et al.* Study on fungal contamination of corn harvested in some areas of Shandong Province in 2018 [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(18): 6376–6380.
- [28] RAJARAMMANNA R, JAYAS DS, WHITE NDG. Comparison of deterioration of rye under two different storage regimes [J]. *J Stored Prod Res*, 2010, 46(2): 87–92.
- [29] 赵威, 陈先良, 王长进, 等. 纳米氧化锌对玉米幼苗生长及酶活性的影响[J]. *安徽农学通报*, 2021, 27(9): 22–26.
ZHAO W, CHEN XL, WANG CJ, *et al.* Effects of nano-zinc oxide on growth and enzyme activity of maize seedlings [J]. *Anhui Agric Sci Bull*, 2021, 27(9): 22–26.
- [30] 周显青, 张玉荣, 张勇. 储存玉米膜脂损伤指标的研究[J]. *中国粮油学报*, 2008, (3): 148–151.
ZHOU XQ, ZHANG YR, ZHANG Y. Study on the damage index of stored corn membrane lipids [J]. *Chin J Cereal Oils Ass*, 2008, (3): 148–151.
- [31] SANTACREU DI, COLLADO R, DIAZ L, *et al.* Antioxidant system aberrations as response to generation of reactive oxygen species (ROS) in low/intermediate-1 risk myelodysplastic syndrome [J]. *Leukemia Res*, 2013, 37: S127–S8.
- [32] 曾永三, 王振中. 豇豆与锈菌互作中的多酚氧化酶和过氧化物酶活性及其与抗性的关系[J]. *植物保护学报*, 2004, (2): 145–50.
ZENG YS, WANG ZZ. Activity of polyphenol oxidase and peroxidase in the interaction between cowpea and rust fungi and their relationship with resistance [J]. *Chin J Plant Protect*, 2004, (2): 145–50.
- [33] 娄喜艳, 张红岩, 张鑫. 串珠镰刀菌诱导玉米活性氧及保护酶系变化研究[J]. *吉林农业科学*, 2014, 39(2): 57–60.
LOU XY, ZHANG HY, ZHANG X. Study on the changes of reactive oxygen species and protective enzymes induced by *Fusarium moniliformes* in maize [J]. *Jilin Agric Sci*, 2014, 39(2): 57–60.
- [34] SRIVASTAV A, GANJEWALA D, SINGHAL RK, *et al.* Effect of ZnO nanoparticles on growth and biochemical responses of wheat and maize [Z]. 2021.

(责任编辑: 韩晓红 郑 丽)

作者简介



周显青, 博士, 教授, 主要研究方向为谷物科学及产后加工与利用。

E-mail: xianqingzh@163.com



张咚咚, 博士, 副教授, 主要研究方向为粮食储藏、储粮生态因子互作关系。

E-mail: medong@126.com