DOI:10.12441/spyswjs.20240530001 [文章编号] 1673-1689(2025)09-0040-11

黑曲霉FS10脱除喷浆玉米皮中玉米赤霉烯酮的发酵条件优化

吴梦影[1,2] 杨 阳[1,2] 王进瑶[1,2] 叶永丽[1,2] 盛利娜[1,2] 纪 剑[1,2*] 孙秀兰[1,2]

(1. 江南大学食品学院,江苏 无锡 214122; 2. 江苏集萃未来食品技术研究所有限公司,江苏 无锡 214200)

摘要:【目的】确定通过黑曲霉(*Aspergillus niger*,*A. niger*)FS10进行固态发酵来脱除喷浆玉米皮中玉米赤霉烯酮(zearalenone,ZEN)的最佳发酵条件。**【方法】**以ZEN脱除率为指标,通过单因素试验和响应面法,对发酵过程中的主要影响因素(接种体积质量比、发酵温度、发酵时间、料液比)进行优化,并比较了最优发酵条件下,喷浆玉米皮在固态发酵前后的主要营养物质的质量分数变化。**【结果】**黑曲霉FS10脱除喷浆玉米皮中ZEN的最优发酵条件为接种体积质量比120 μL∶1 g、发酵温度26 ℃、发酵时间5.5 d、料液比1 g∶1.4 mL。在该条件下,黑曲霉菌株对喷浆玉米皮中ZEN的脱除率达(70.04±1.88)%。且相较于发酵前,发酵后的喷浆玉米皮中粗蛋白质质量分数从(19.92±0.20)%提升至(21.94±0.42)%,总氨基酸质量分数从(16.240±0.165)%提升至(18.510±0.034)%。**【结论】**黑曲霉FS10不仅能高效脱除喷浆玉米皮中的ZEN,还能提升喷浆玉米皮作为动物饲料的营养价值。该研究为受ZEN污染的喷浆玉米皮的合理利用和充分开发提供了理论依据。

关键词:喷浆玉米皮;黑曲霉FS10;玉米赤霉烯酮;响应面法

Optimization of Fermentation Conditions for the Removal of Zearalenone from Corn Gluten Feed by *Aspergillus niger* FS10

WU Mengying[1,2] *YANG Yang*[1,2] *WANG Jinyao*[1,2] *YE Yongli*[1,2] *SHENG Li'na*[1,2] *JI Jian*[1,2*] *SUN Xiulan*[1,2]

(1. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Institute of Future Food Technology, JITRI, Wuxi 214200, China)

Abstract: [**Objective**] This study aims to determine the optimal solid-state fermentation conditions for the removal of zearalenone (ZEN) from corn gluten feed by *Aspergillus niger* (*A. niger*) FS10. [**Method**] With the removal rate of ZEN as the indicator, single-factor experiments and response surface method were employed to optimize the key fermentation parameters (inoculation volume-to-mass ratio, fermentation temperature, fermentation duration, and solid-to-liquid ratio). Furthermore, changes in mass fractions of key nutritional components in corn gluten feed before and after solid-state fermentation under the optimal conditions were analyzed. [**Result**] The optimal fermentation conditions were established as follows: an inoculation volume-to-mass ratio of 120 μL∶1 g, a fermentation temperature of 26 ℃, fermentation duration of 5.5 d, and a solid-to-liquid ratio of 1 g∶1.4 mL. Under these conditions, the removal rate of ZEN reached (70.04±1.88)%. The mass fraction of crude protein in corn gluten feed increased from (19.92±0.20)% before fermentation to (21.94±0.42)%

基金项目:国家"十四五"重点研发计划项目(2022YFF1100703)。

通信作者:纪剑(1988—),男,博士,研究员,博士研究生导师,主要从事食品安全检测与主动防控研究。E-mail:jijian@jiangnan.edu.cn

收稿日期:2024-05-30 **修回日期:**2024-07-05

after fermentation, while the mass fraction of total amino acids rose from (16.240±0.165)% to (18.510±0.034)%. [**Conclusion**] *A. niger* FS10 not only efficiently removes ZEN from corn gluten feed but also enhances its nutritional value as animal feed. The findings provide a scientific basis for the sustainable utilization and exploitation of corn gluten feed despite ZEN contamination.

Keywords: corn gluten feed; *Aspergillus niger* FS10; zearalenone; response surface method

玉米是我国第一大粮食作物，也是我国食用最多的粮食作物之一[1]。喷浆玉米皮是玉米淀粉生产过程中的主要副产物之一[2]，因被蛋白质含量高及能量高的玉米浆喷洒过而具有较高的营养价值[3]，主要用作动物饲料。我国玉米霉变情况严重[4]，导致其受真菌毒素污染的情况也不容乐观。喷浆玉米皮由浓缩玉米浆喷洒发酵而成，玉米原料中的真菌毒素会随着加工过程而浓缩富集到喷浆玉米皮中，导致其在饲料工业中的安全应用受到限制[5]。GB 13078—2017《饲料卫生标准》中规定，饲料原料中，玉米的ZEN最高限量为500 μg/kg，而喷浆玉米皮的ZEN最高限量为1 500 μg/kg。全国玉米及玉米副产物中真菌毒素污染情况较严重，玉米副产物中ZEN污染最严重。2019—2020年的调查结果表明，玉米副产物中ZEN检出率达100%，超标率达9.63%，这2年ZEN的平均检出质量分数分别为233.70、739.51 μg/kg[6]，说明包括喷浆玉米皮在内的玉米副产物受ZEN污染的程度呈上升趋势。因此，需重视喷浆玉米皮中ZEN污染问题。

ZEN是镰刀菌属真菌在作物生长过程中产生的霉菌毒素，在小麦、玉米、大麦和高粱等谷物和农产品中常被检出，对家禽生长和人类健康构成了巨大威胁[7-8]。有研究报道，ZEN具有雌激素活性，与家畜体内的雌激素受体结合后，可能对动物体造成一系列生殖毒性、遗传毒性和致癌性等[9]。若ZEN通过被污染的肉类、奶类等食品进入人体，会影响机体的生殖及发育功能[10-11]。据联合国粮食及农业组织（FAO）和世界卫生组织（WHO）的报告，每人每日对ZEN的最大耐受摄入量为0.5 μg/kg（以体质量计）[12]。

ZEN污染给人和动物造成危害的同时，还会造成粮食的直接经济损失。目前ZEN的脱除方法主要分为物理法、化学法及生物法[13-16]。其中物理法和化学法对ZEN均为非靶向脱除，且在一定程度上会破坏食品原料及饲料的营养成分；此外，化学物质的加入还可能产生有毒物质，造成安全隐患，这进一步限制了通过物理法和化学法脱除ZEN的发展[17]。与物理法和化学法不同，生物法具有作用条件温和、特异性强及成本低等特点，展现出较大的应用前景，受到研究人员的广泛关注[18-19]。

已有一些研究利用生物菌株脱除饲料中的ZEN：Xu等[20]筛选到了一株能高效降解ZEN的淀粉液化芽孢杆菌，该菌株对实际受污染小麦样品中ZEN的降解率达到了62.1%；郭瑞等[21]用蜡样芽孢杆菌与2株乳酸菌对饲料原料进行混合固态有氧发酵，发现其能完全降解饲料中的ZEN，且发酵后的饲料是安全、可饲用的。此外，研究报道还证明利用微生物固态发酵喷浆玉米皮不仅能作用于ZEN，还能在一定程度上提升其作为饲料的营养价值。典姣姣等[22]的研究表明，微生物固态发酵后的喷浆玉米皮的粗蛋白质质量分数提高了8.29%，大大提升了其作为饲料的利用率和附加值。任中帅等[23]的研究发现，黑曲霉固态发酵喷浆玉米皮可有效提高其作为饲料的利用率，且相较于发酵前，发酵后的喷浆玉米皮中纤维素和半纤维素含量大大减少。这说明利用微生物对饲料进行固态发酵的技术已经较为成熟，并且随着微生物固态发酵机理研究的深入，固态发酵必将在饲料生产中发挥重要作用。

作者所在课题组前期从中国发酵大豆中分离得到一株食品级非产毒黑曲霉菌株FS10，且通过研究证明其能够降解多种真菌毒素[24-26]。因此，作者使用该菌株固态发酵被ZEN污染的喷浆玉米皮，通过单因素试验和响应面法筛选得到最优发酵参数，并测定最优发酵参数下喷浆玉米皮的主要营养物质水平，旨在为促进喷浆玉米皮作为饲料资源的安全利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黑曲霉FS10：保藏于中国典型培养物保藏中心，保藏编号为CCTCCM2013703；喷浆玉米皮：烘干，存在较严重的ZEN污染情况（2.97~3.36 mg/kg），某玉米加工企业；ZEN标准品（纯度≥98.50%）：北京普华仁生物技术开发有限公司；甲醇（色谱纯）、乙腈（色谱纯）、三氯甲烷（分析纯）：国药集团化学试剂有限公司；氯化钠（分析纯）、吐温-80（分析纯）：上海泰坦科技股份有限公司。

含体积分数0.05%吐温-80的无菌生理盐水：9 g氯化钠溶于1 000 mL蒸馏水中，溶解后加入500 μL吐温-80，混匀，121 ℃灭菌20 min，冷却后备用。

PDA培养基：马铃薯浸粉5.0 g，葡萄糖20.0 g，琼脂15.0 g，氯霉素0.1 g，蒸馏水定容至1 000 mL，121 ℃灭菌20 min。

1.2 仪器与设备

高效液相色谱仪：Agilent 1260型，美国Agilent Technologies公司；全自动立式蒸汽灭菌锅：CT90A型，上海伯能仪器有限公司；洁净工作台：SW-CJ-2FD型，苏州安泰空气技术有限公司；生化培养箱：SPX-250B-Z型，上海博迅医疗生物仪器股份有限公司；多功能粉碎机：BJ-800A型，德清拜杰电器有限公司；高速离心机：Sorvall ST 16R型，美国Thermo Fisher Scientific公司；徕卡光学显微镜：DMi1型，徕卡显微系统（上海）有限公司；电子天平：AX224ZH型：奥豪斯仪器（常州）有限公司；涡旋振荡器：VXMNAL型，奥豪斯仪器（常州）有限公司；超声波清洗机：SB-5200DTD型，宁波新芝生物科技股份有限公司；冷冻干燥机：SCIENTZ-10N/A型，宁波新芝生物科技股份有限公司；离心浓缩仪：SCIENTZ-10LS型，宁波新芝生物科技股份有限公司。

1.3 方法

1.3.1 黑曲霉FS10孢子悬浮液的制备

从-80 ℃冰箱中取出黑曲霉FS10，于室温解冻，吸取100 μL接种于PDA培养基上，用一次性无菌涂布棒涂布均匀，置于恒温（28 ℃）培养箱培养5 d，用无菌接种环刮取黑曲霉FS10接种至新的PDA培养基中，置于恒温（28 ℃）培养箱培养5 d，获得稳定传代的黑曲霉FS10菌株。用含体积分数0.05%吐温-80的无菌生理盐水制备菌浓度为1×10^6 CFU/mL的黑曲霉FS10孢子悬浮液。

1.3.2 黑曲霉FS10固态发酵喷浆玉米皮

粉碎喷浆玉米皮并过50目筛，收集于玻璃容器中，用纱布报纸封口后于121 ℃灭菌20 min，待其冷却至室温后备用。参照GB/T 14699—2023《饲料 采样》进行喷浆玉米皮的无菌操作采样，准确称取5 g样品置于一次性无菌培养皿中，将一定体积的无菌水与孢子悬浮液充分混匀后，全部接种至样品中并搅拌均匀，置于恒温培养箱中，在设定的温度下恒温有氧发酵一定时间。

1.3.3 喷浆玉米皮中ZEN的测定

称取1 g样品，按照料液比1 g∶3 mL依次加入超纯水和三氯甲烷，充分涡旋混匀后超声10 min，然后在25 ℃、8 000 r/min的条件下离心10 min，收集下层的三氯甲烷层，重复提取3次，于真空冷冻干燥机中干燥3 h，加入1 mL体积分数50%的甲醇进行复溶，过0.22 μm有机滤膜后转入色谱小瓶中待测。

配制质量浓度分别为10、20、50、100、200、500、1 000、2 000、5 000 mg/L的ZEN标准溶液。液相色谱条件为：赛默飞C18反相柱（150 mm×4.6 mm×4 μm）和紫外检测器（VWD，波长254 nm），进样量20 μL，流动相为乙腈-水溶液（体积比为60∶40），流量0.6 mL/min，柱温30 ℃，等度洗脱15 min。

1.3.4 固态发酵单因素试验设计

以ZEN脱除率为指标，以接种体积质量比（黑曲霉FS10孢子悬浮液体积与喷浆玉米皮质量的比值，μL∶g）、发酵温度、发酵时间和料液比（喷浆玉米皮质量与无菌水体积的比值，g∶mL）作为影响因素，探究各因素对喷浆玉米皮的ZEN脱除率的影响。按照式（1）计算ZEN脱除率。

$$R=\frac{C_1-C_2}{C_1}\times100\% \quad (1)$$

式中：

R——ZEN脱除率，%；

C_1——发酵前样品中ZEN质量分数，mg/kg；

C_2——发酵后样品中ZEN质量分数，mg/kg。

1）接种体积质量比对喷浆玉米皮中ZEN脱除率的影响：将分别按接种体积质量比10 μL∶1 g、

50 μL∶1 g、100 μL∶1 g、150 μL∶1 g、200 μL∶1 g取的黑曲霉FS10孢子悬浮液，与按料液比1 g∶1.0 mL取的无菌水充分混匀，倒入喷浆玉米皮中并充分搅匀，置于30 ℃的恒温培养箱发酵4 d后取出，分别计算ZEN脱除率。

2）发酵温度对喷浆玉米皮中ZEN脱除率的影响：将按接种体积质量比100 μL∶1 g取的黑曲霉FS10孢子悬浮液，与按料液比1 g∶1.0 mL取的无菌水充分混匀，倒入喷浆玉米皮中并充分搅匀，分别置于20、25、30、35、40 ℃的恒温培养箱中发酵4 d后取出，分别计算ZEN脱除率。

3）发酵时间对喷浆玉米皮中ZEN脱除率的影响：将按接种体积质量比100 μL∶1 g取的FS10孢子悬浮液与按料液比1 g∶1.0 mL取的无菌水充分混匀，倒入喷浆玉米皮中并充分搅匀，置于30 ℃的恒温培养箱中分别发酵2、3、4、5、6 d后取出，分别计算ZEN脱除率。

4）料液比对喷浆玉米皮中ZEN脱除率的影响：将分别按料液比1 g∶0.8 mL、1 g∶1.0 mL、1 g∶1.2 mL、1 g∶1.4 mL、1 g∶1.6 mL取的无菌水，与按接种体积质量比100 μL∶1 g取的黑曲霉FS10孢子悬浮液充分混匀，倒入喷浆玉米皮中并充分搅匀，置于30 ℃的恒温培养箱发酵4 d后取出，分别计算ZEN脱除率。

1.3.5　响应面优化试验设计

根据上述单因素结果选择较优发酵参数（接种体积质量比、发酵温度、发酵时间、料液比）作为响应变量，以ZEN脱除率为响应值，进行响应面优化试验设计。

1.3.6　喷浆玉米皮中粗蛋白质质量分数和氨基酸组成的测定

参照GB/T 6432—2018《饲料中粗蛋白的测定 凯氏定氮法》测定喷浆玉米皮中粗蛋白质质量分数。参照GB/T 18246—2019《饲料中氨基酸的测定》测定喷浆玉米皮中氨基酸质量分数。

1.4　数据处理

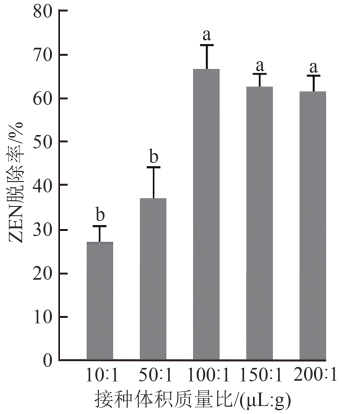
每个试验设置3组平行，结果以“平均值±标准差”表示，$P<0.05$代表差异显著。使用Design-Expert 11软件进行响应面试验设计，使用GraphPad Prism 8.0和SPSS 26软件对数据进行单因素及显著性分析。

2　结果与讨论

2.1　单因素试验结果

2.1.1　最优接种体积质量比的确定

黑曲霉FS10接种体积质量比对喷浆玉米皮中ZEN脱除率影响较大。如图1所示，随着黑曲霉FS10接种体积质量比的增加，喷浆玉米皮的ZEN脱除率总体呈先增加后趋于稳定的趋势。当接种体积质量比为10 μL∶1 g、50 μL∶1 g、100 μL∶1 g时，ZEN脱除率逐渐升高；在接种体积质量比为100 μL∶1 g时，ZEN脱除率达到最大值（66.79%）；接种体积质量比为150 μL∶1 g、200 μL∶1 g时，ZEN脱除率略有下降然后趋于平稳。说明黑曲霉FS10接种体积质量比会影响其在喷浆玉米皮中的生长情况，进而产生不同的ZEN脱除效果。接种体积质量比过低会延长菌株的生长发酵周期；接种体积质量比过高则会导致菌株生长旺盛，使得微生物在发酵体系中形成强烈的竞争关系，从而抑制其在发酵体系中的生长。因此，选择100 μL∶1 g为最优接种体积质量比。



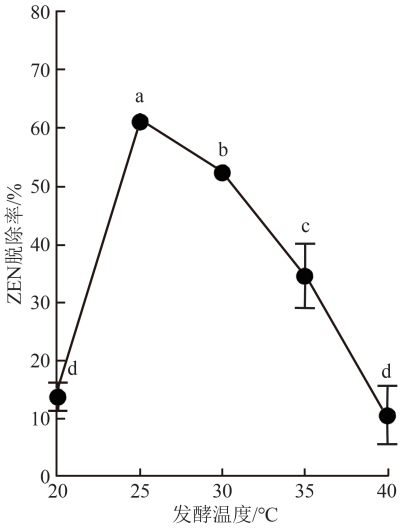
图中不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

图1　接种体积质量比对ZEN脱除率的影响

Fig. 1　Effect of inoculation volume-to-mass ratio on the removal rate of ZEN

2.1.2　最优发酵温度的确定

如图2所示，当发酵温度为20~25 ℃时，随着发酵温度的升高，ZEN脱除率持续上升；当发酵温度为25 ℃时，ZEN脱除率达到最大值（61.42%）；随着发酵温度的继续上升，ZEN脱除率呈现快速下降的趋势，这可能是由于发酵温度偏离了黑曲霉FS10的最适生长温度。发酵温度升高会加快



图中不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

图 2　发酵温度对 ZEN 脱除率的影响

Fig. 2　Effect of fermentation temperature on the removal rate of ZEN

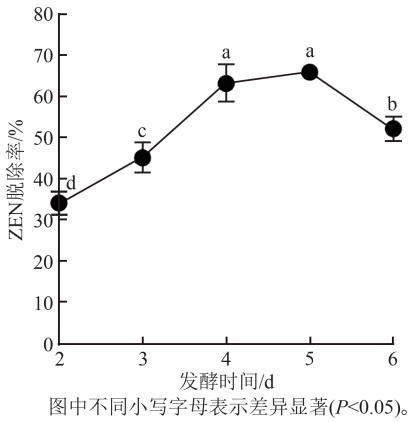
酶促反应速度，从而加速菌体的生长繁殖，但温度过高会导致酶失活，进而间接影响菌体的正常生长[27]。因此，选择 25 ℃为最优发酵温度。

2.1.3　最优发酵时间的确定

如图 3 所示，当发酵时间为 2~5 d 时，ZEN 脱除率逐渐升高；当发酵时间为 5 d 时，ZEN 脱除率达到最大值（65.74%）；当发酵时间为 6 d 时，ZEN 脱除率略微下降，这可能由于发酵时间略长，供黑曲霉 FS10 生长的必需物质有限，导致黑曲霉发酵活力降低，从而影响喷浆玉米皮的固态发酵进程。因此，选择 5 d 为最优发酵时间。

2.1.4　最优料液比的确定

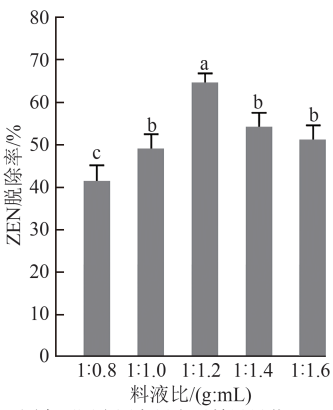
如图 4 所示，当料液比为 1 g∶0.8 mL、1 g∶1.0 mL、1 g∶1.2 mL 时，ZEN 脱除率逐步增加；当料液比为 1 g∶1.2 mL 时，ZEN 脱除率达最大值（64.44%）；当料液比为 1 g∶1.4 mL、1 g∶1.6 mL 时，ZEN 脱除率出现下降趋势。结果表明，发酵体系中，无菌水过少或过多都不利于黑曲霉 FS10 脱除喷浆玉米皮中的 ZEN。当发酵体系中无菌水较少时，发酵环境过于干燥，这可能导致微生物生长很慢或不能生长，从而影响发酵进程；当发酵体系中无菌水较多时，可能造成氧气传质不足，限制真菌的生长，从而导致真菌生物量减少[28]。因此，选择 1 g∶1.2 mL 作为最优料液比。



图中不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

图 3　发酵时间对 ZEN 脱除率的影响

Fig. 3　Effect of fermentation duration on the removal rate of ZEN



图中不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

图 4　料液比对 ZEN 脱除率的影响

Fig. 4　Effect of solid-to-liquid ratio on the removal rate of ZEN

2.2　响应面优化试验结果

2.2.1　响应面优化试验设计与结果

在单因素试验的基础上，选择各因素的最优发酵参数[接种体积质量比（A）、发酵温度（B）、发酵时间（C）、料液比（D）]作为响应变量，以 ZEN 脱除率为响应值（y），进行响应面优化试验设计，试验因素与水平设计见表 1。利用响应面试验设计中的 Box-Behnken 方法进行多因素交互试验设计，试验设计与结果见表 2。

表 1　因素与水平

Table 1　Factors and levels

水平	因素			
	接种体积质量比/（μL∶g）	发酵温度/℃	发酵时间/d	料液比/（g∶mL）
−1	50∶1	20	4	1∶1.0
0	100∶1	25	5	1∶1.2
1	150∶1	30	6	1∶1.4

通过Design-Expert 11对试验数据进行多元二次回归拟合及方差分析，得到回归方程：y=61.68+3.66A+4.17B+7.74C+7.64D+3.71AB+3.73AC−2.96AD−5.71BC+1.12BD+1.59CD−3.92A^2−19.72B^2−10.62C^2−3.60D^2。回归模型的方差及显著性分析结果见表3，回归模型的F为17.82且P<0.000 1，说明该回归模型极显著，而失拟项不显著（P>0.05），说明该模型的拟合度较好[29]。相关系数为0.946 9，变异系数为9.67%，说明模型预测值与实际值之间偏差较小，可用于分析试验结果，且能较好地反映各因素与响应值之间的关系[30-31]。根据F可以看出，各因素的主效应关系为：C>D>B>A。

表2　试验设计与结果

Table 2　Experimental design and results

序号	因素水平				ZEN脱除率/%
	A	B	C	D	
1	1	1	0	0	49.98
2	−1	0	−1	0	34.19
3	0	0	−1	1	49.24
4	−1	−1	0	0	36.06
5	−1	0	0	−1	41.68
6	0	1	0	−1	31.80
7	0	0	1	−1	45.04
8	0	−1	0	1	37.03
9	0	0	0	0	58.59
10	0	0	1	1	66.73
11	0	1	1	0	37.26
12	0	1	−1	0	34.05
13	−1	0	0	1	61.05
14	0	−1	−1	0	17.06
15	0	0	0	0	60.37
16	0	−1	0	−1	25.38
17	0	1	0	1	47.94
18	1	0	0	−1	56.24
19	1	0	1	0	61.90
20	0	0	0	0	69.04
21	0	0	−1	1	33.91
22	0	0	0	0	65.12
23	0	−1	1	0	43.09
24	0	0	0	0	55.27
25	1	0	−1	0	36.91
26	1	0	0	1	63.78
27	1	−1	0	0	31.77
28	−1	1	0	0	39.44
29	−1	0	1	0	44.25

2.2.2 各因素的交互作用

由表3可知，发酵温度与发酵时间的交互作用显著（$P<0.05$），其他交互项之间的交互作用不显著（$P>0.05$）。三维响应面图显示了任意2种因素交互作用对ZEN脱除率的影响，其坡度的陡峭程度可以反映出这2种因素交互作用对ZEN脱除率的影响是否明显[32-33]。如图5所示，各响应面模型均为凸型曲面，各响应值随着其对应的各因素值的增大呈现先增加到极值而后减小的趋势，平面等高线图的圆心即为该条件下ZEN脱除率达到最大值的稳定点。

表3 模型的方差与显著性分析结果

Table 3 Results of variance and significance analysis of the model

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
模型	4 938.06	14	352.72	17.82	<0.000 1	***
A	160.63	1	160.63	8.12	0.012 9	*
B	208.95	1	208.95	10.56	0.005 8	**
C	719.17	1	719.17	36.34	<0.000 1	***
D	701.23	1	701.23	35.43	<0.000 1	***
AB	54.98	1	54.98	2.78	0.117 8	NS
AC	55.71	1	55.71	2.81	0.115 6	NS
AD	34.95	1	34.95	1.77	0.205 1	NS
BC	130.33	1	130.33	6.58	0.022 4	*
BD	5.01	1	5.01	0.25	0.622 6	NS
CD	10.12	1	10.12	0.51	0.486 3	NS
A^2	99.78	1	99.78	5.04	0.041 4	*
B^2	2 523.05	1	2 523.05	127.47	<0.000 1	***
C^2	732.26	1	732.26	37.00	<0.000 1	***
D^2	84.14	1	84.14	4.25	0.058 3	NS
残差	277.10	14	19.79			
失拟项	158.63	10	15.86	0.54	0.807 1	NS
纯误差	118.47	4	29.62			
总误差	5 215.15	28				
相关系数	0.946 9					
校正决定系数	0.893 7					
变异系数/%	9.67					

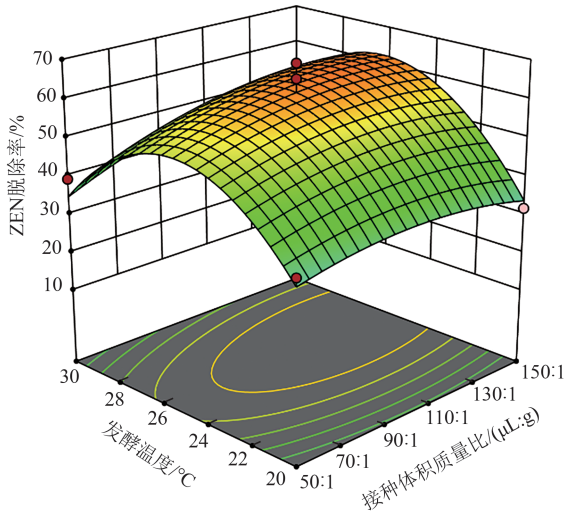
注：“NS”表示差异不显著；“*”表示差异显著（$P<0.05$）；“**”表示差异高度显著（$P<0.01$）；“***”表示差异极显著（$P<0.001$）。

2.2.3 最优发酵条件的响应面试验优化结果

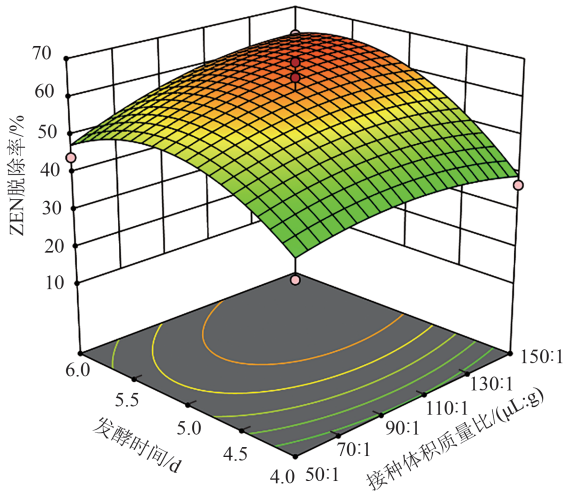
根据Design-Expert 11软件得出黑曲霉FS10通过固态发酵脱除喷浆玉米皮中ZEN的最优参数为接种体积质量比118.2 μL∶1 g、发酵温度25.50 ℃，发酵时间5.48 d，料液比1 g∶1.4 mL，预测的理论ZEN脱除率为68.33%。结合实际发酵情况，该研究选取接种体积质量比120 μL∶1 g、发酵温度26 ℃、发酵时间5.5 d、料液比1 g∶1.4 mL的发酵条件来脱除喷浆玉米皮中的ZEN，3组平行试验下得出实际ZEN脱除率为（70.04±1.88）%，与理论值的相对误差为1.71%，说明用该模型对发酵条件进行优化是可行的，具有统计学意义。

2.3 最优发酵参数下喷浆玉米皮中主要营养物质水平

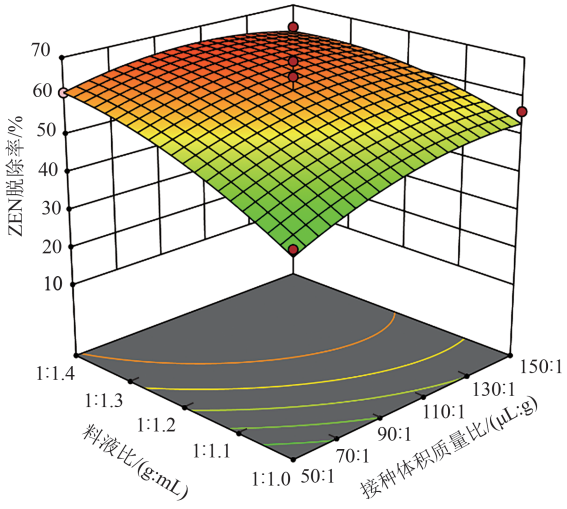
在最优发酵条件下，对喷浆玉米皮进行固态发酵，并对发酵前后喷浆玉米皮中的粗蛋白质质量分数和氨基酸组成进行测定。结果显示，发酵



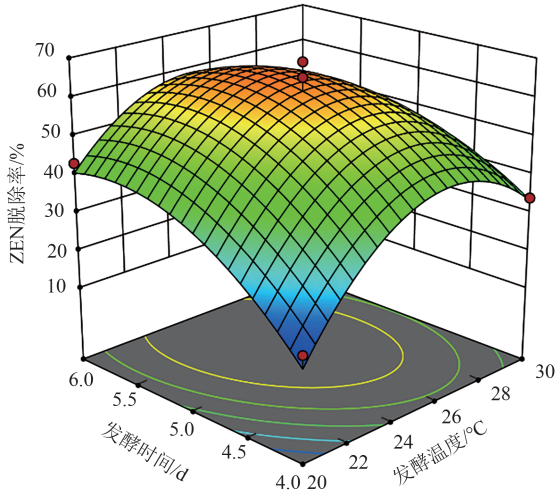
(a) 接种体积质量比与发酵温度的交互作用响应面图



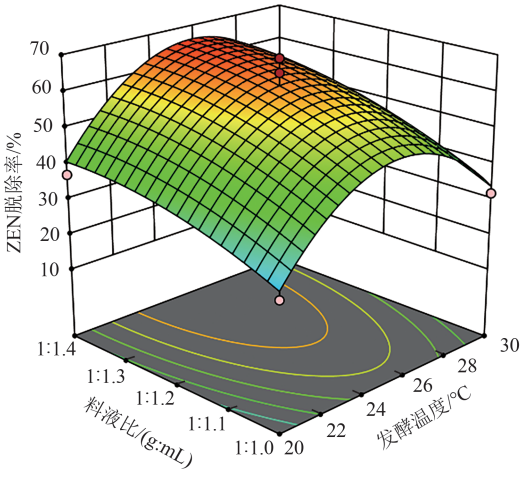
(b) 接种体积质量比与发酵时间的交互作用响应面图



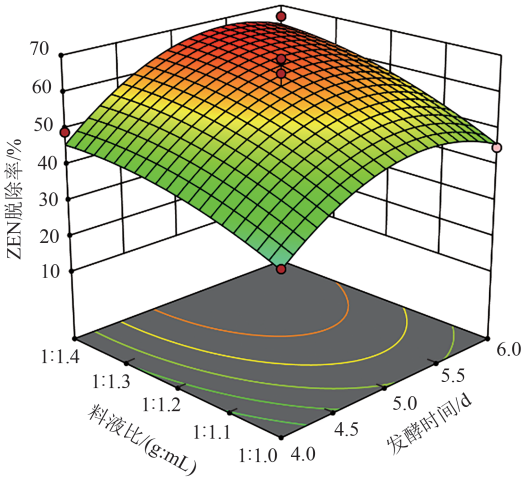
(c) 接种体积质量比与料液比的交互作用响应面图



(d) 发酵温度与发酵时间的交互作用响应面图



(e) 发酵温度与料液比的交互作用响应面图



(f) 发酵时间与料液比的交互作用响应面图

图5　各因素交互作用的响应面图

Fig. 5　Response surface plots of effects of interactions between factors

前后喷浆玉米皮中的粗蛋白质质量分数分别为(19.92±0.20)%、(21.94±0.42)%，相较于发酵前，发酵后的喷浆玉米皮中粗蛋白质质量分数提升了2.02%。喷浆玉米皮发酵前后氨基酸组成及质量分数见表4。喷浆玉米皮中氨基酸种类丰富，且相较于发酵前，发酵后的总氨基酸质量分数提升了2.270%，其中脯氨酸的质量分数最高，为(3.577±0.081)%；其次为谷氨酸，为(3.333±0.018)%。此外，发酵后的喷浆玉米皮中必需氨基酸质量分数较发酵前提升了0.746%，表明喷浆玉米皮经固态发酵脱毒后仍具有较高的饲用价值。因此，黑曲霉FS10固态发酵不仅可以对喷浆玉米皮进行ZEN脱毒，还能提升其作为动物饲料的营养价值，这为喷浆玉米皮的合理利用和充分开发提供了方法和理论依据。

表4 黑曲霉FS10固态发酵前后喷浆玉米皮中氨基酸组成变化

Table 4 Changes in amino acids composition of corn gluten feed before and after solid-state fermentation with *A. niger* FS10

氨基酸种类	发酵前氨基酸质量分数/%	发酵后氨基酸质量分数/%
天冬氨酸	1.272±0.012^{a}	1.251±0.007^{a}
苏氨酸	0.841±0.017^{a}	0.800±0.004^{b}
丝氨酸	0.689±0.013^{b}	0.712±0.003^{a}
谷氨酸	2.950±0.030^{b}	3.333±0.018^{a}
甘氨酸	0.855±0.012^{a}	0.872±0.006^{a}
丙氨酸	1.009±0.014^{b}	1.355±0.007^{a}
半胱氨酸	0.095±0.003^{a}	0.087±0.002^{b}
缬氨酸	0.913±0.011^{b}	1.042±0.006^{a}
甲硫氨酸	0.141±0.004^{b}	0.160±0.003^{a}
异亮氨酸	0.539±0.004^{b}	0.597±0.004^{a}
亮氨酸	1.234±0.014^{b}	1.568±0.004^{a}
酪氨酸	0.390±0.003^{b}	0.421±0.017^{a}
苯丙氨酸	0.463±0.002^{b}	0.555±0.001^{a}
组氨酸	0.543±0.009^{b}	0.648±0.011^{a}
赖氨酸	0.546±0.006^{b}	0.599±0.003^{a}
精氨酸	0.713±0.002^{b}	0.936±0.005^{a}
脯氨酸	3.049±0.021^{b}	3.577±0.081^{a}
总氨基酸	16.240±0.165^{b}	18.510±0.034^{a}

注：表中不同小写字母代表固态发酵前后氨基酸质量分数差异显著(P<0.05)。

3 结论

综上所述，该研究最终确定利用黑曲霉FS10脱除喷浆玉米皮中ZEN的最优发酵条件为接种体积质量比120 μL∶1 g、发酵温度26 ℃、发酵时间5.5 d、料液比1 g∶1.4 mL，在此条件下黑曲霉FS10对喷浆玉米皮中ZEN的脱除率达(70.04±1.88)%。此外，经过黑曲霉FS10固态发酵后，喷浆玉米皮中粗蛋白质质量分数提升了2.02%，总氨基酸质量分数提升了2.270%，且脯氨酸、谷氨酸的质量分数位居前列，必需氨基酸质量分数较发酵前提升了0.746%，表明通过固态发酵对喷浆玉米皮的ZEN进行脱毒可以促进其作为动物饲料的资源化利用。

参考文献

[1] 刘姗. 我国玉米产业发展现状及发展趋势[J]. 江西农业，2017(5)：66-67.
LIU S. Current status and development trends of China's corn industry[J]. Jiangxi Agriculture，2017(5)：66-67.(in Chinese)

[2] 董玮. 玉米及其后加工产品的营养价值分析[J]. 现代食品，2019(15)：83-85.
DONG W. Analysis of nutritional value of maize and its post-processed products[J]. Modern Food，2019(15)：83-85.(in Chinese)

[3] 李运杰，贾梦可，弓浩杰，等. 喷浆玉米皮、玉米胚芽粕和玉米DDGS的工艺特点及营养价值特性[J]. 饲料工业，2023(5)：106-112.
LI Y J，JIA M K，GONG H J，et al. Process and nutritional characteristics of corn bran，corn germ meal and corn distillers dried grains with solubles (DDGS)[J]. Feed Industry，2023(5)：106-112.(in Chinese)

[4] 苏青云，齐莎日娜，雷元培，等. 2022年中国饲料和原料中霉菌毒素污染调查报告[J]. 饲料工业，2024，45(9)：121-125.
SU Q Y，QI S R N，LEI Y P，et al. A survey report on the mycotoxin contamination of Chinese raw materials and feed in 2022[J]. Feed Industry，2024，45(9)：121-125.(in Chinese)

[5] 陈晓园，张恩东，沈乃东，等. 玉米深加工中真菌毒素污染、检测及降解研究进展[J]. 粮食与饲料工业，2019(2)：48-52.

CHEN X Y，ZHANG E D，SHEN N D，et al. Progress of contamination，determination and degradation of mycotoxins in corn processing［J］. Cereal & Feed Industry，2019（2）：48-52.（in Chinese）

［6］雷元培，周建川，郑文革，等. 2019—2020年中国饲料原料和饲料中霉菌毒素污染调查报告[J]. 饲料工业，2022，43（20）：59-64.
LEI Y P，ZHOU J C，ZHENG Wen'ge，et al. A survey report on the mycotoxin contamination of compound feed and its raw materials of China in 2019—2020［J］. Feed Industry，2022，43（20）：59-64.（in Chinese）

［7］ROPEJKO K，TWARUŻEK M. Zearalenone and its metabolites-general overview，occurrence，and toxicity[J]. Toxins，2021，13（1）：35.

［8］徐炜，张玉磊，施妍，等. 真菌毒素降解酶及其在饲料与食品行业中的研究现状[J]. 食品与生物技术学报，2023，42（1）：1-17.
XU W，ZHANG Y L，SHI Y，et al. Studies on mycotoxin degrading enzymes and their applications in feed and food industries[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2023，42（1）：1-17.（in Chinese）

［9］LIU J D，APPLEGATE T. Zearalenone（ZEN）in livestock and poultry：dose，toxicokinetics，toxicity and estrogenicity[J]. Toxins，2020，12（6）：377.

［10］ELWEZA A E，MAREY M A，ELESH I F，et al. Zearalenone interferes with the sperm-triggered inflammation in the bovine uterus *in vitro*：negative impact on sperm motility and survival[J]. Reproductive Toxicology，2022，107：81-89.

［11］ZHENG W L，PAN S Y，WANG G G，et al. Zearalenone impairs the male reproductive system functions *via* inducing structural and functional alterations of Sertoli cells[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology，2016，42：146-155.

［12］董宇涵，刘鹏飞，吴正宗，等. 玉米赤霉烯酮的性质与脱除技术研究进展[J]. 粮食与油脂，2022，35（12）：10-14.
DONG Y H，LIU P F，WU Z Z，et al. Research progress on properties and removal technology of zearalenone[J]. Cereals & Oils，2022，35（12）：10-14.（in Chinese）

［13］ZHENG Y Z，HOSSEN S M，SAGO Y，et al. Effect of milling on the content of deoxynivalenol，nivalenol，and zearalenone in Japanese wheat[J]. Food Control，2014，40：193-197.

［14］LI Y，TIAN G Y，DONG G Y，et al. Research progress on the raw and modified montmorillonites as adsorbents for mycotoxins：a review［J］. Applied Clay Science，2018，163：299-311.

［15］QI L J，LI Y L，LUO X H，et al. Detoxification of zearalenone and ochratoxin A by ozone and quality evaluation of ozonised corn［J］. Food Additives & Contaminants：Part A，2016，33（11）：1700-1710.

［16］HASSAN Z U，AL THANI R，ALSAFRAN M，et al. Selection of *Bacillus* spp. with decontamination potential on multiple *Fusarium* mycotoxins［J］. Food Control，2021，127：108119.

［17］JI J，YU J，YE Y L，et al. Biodegradation methods and product analysis of zearalenone and its future development trend：a review［J］. Food Control，2023，145：109469.

［18］ZHANG Y L，OUYANG B B，ZHANG W L，et al. An overview of chemical，physical and biological methods for zearalenone elimination：recent advances and future prospective[J]. Food Control，2023，154：110011.

［19］纪剑，于坚，王良哲，等. 真菌毒素的降解技术研究进展[J]. 食品与生物技术学报，2022，41（5）：1-10.
JI J，YU J，WANG L Z，et al. Research progress in mycotoxin degradation technology［J］. Journal of Food Science and Biotechnology，2022，41（5）：1-10.（in Chinese）

［20］XU J H，WANG H J，ZHU Z W，et al. Isolation and characterization of *Bacillus amyloliquefaciens* ZDS-1：exploring the degradation of zearalenone by *Bacillus* spp.［J］. Food Control，2016，68：244-250.

［21］郭瑞，张香香，董维璇，等. 降解多种真菌毒素的芽孢杆菌的筛选鉴定及其发酵饲料应用[J]. 饲料工业，2024，45（2）：125-131.
GUO R，ZHANG X X，DONG W X，et al. Screening of a *Bacillus* that can degrade a variety of mycotoxins and its application in fermented feed[J]. Feed Industry，2024，45（2）：125-131.（in Chinese）

［22］典姣姣，黄亮，董贞，等. 喷浆玉米皮混菌固态发酵饲料的研究[J]. 饲料研究，2016，39（8）：51-54.
DIAN J J，HUANG L，DONG Z，et al. Study on solid fermented feed of spout corn husk mixed with bacteria［J］. Feed Research，2016，39（8）：51-54.（in Chinese）

［23］任中帅，张晶，肖雯予，等. 黑曲霉固态发酵喷浆玉米皮的研究[J]. 黑龙江畜牧兽医，2021（16）：99-104，152-153.
REN Z S，ZHANG J，XIAO W Y，et al. Study on solid-

state fermentation of sprayed corn bran by *Aspergillus niger*[J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine,2021(16):99-104,152-153.(in Chinese)

[24] XU D, WANG H X, ZHANG Y Z, et al. Inhibition of non-toxigenic *Aspergillus niger* FS10 isolated from Chinese fermented soybean on growth and aflatoxin B_1 production by *Aspergillus flavus*[J]. Food Control,2013,32(2):359-365.

[25] SUN X L, HE X X, XUE K S, et al. Biological detoxification of zearalenone by *Aspergillus niger* strain FS10[J]. Food and Chemical Toxicology,2014,72:76-82.

[26] YANG Y, JI J, WU S, et al. Efficient biodegradation of patulin by *Aspergillus niger* FS10 and metabolic response of degrading strain[J]. Foods,2023,12(2):382.

[27] 陈芬. 发酵法生产葡萄糖酸钠工艺的优化[J]. 武汉纺织大学学报,2013,26(6):27-31.
CHEN F. Studies on optimizing fermentation conditions to produce sodium gluconate[J]. Journal of Wuhan Textile University,2013,26(6):27-31.(in Chinese)

[28] 吴其飞,黄达明,陆建明,等. 固态发酵新技术与反应器的研究进展[J]. 饲料工业,2003,24(8):43-47.
WU Q F, HUANG D M, LU J M, et al. Current research development of solid state fermentation technology and equipment[J]. Feed Industry, 2003, 24(8): 43-47.(in Chinese)

[29] 王小博,刘健南,郑琳,等. 辉光放电等离子体降解啤酒中T-2毒素[J]. 食品与机械,2024,40(3):12-17,25.
WANG X B, LIU J N, ZHENG L, et al. Study on the degradation of T-2 toxin in beer by glow discharge plasma [J]. Food & Machinery, 2024, 40(3): 12-17, 25.(in Chinese)

[30] 朱蒙蒙,李国莹,顾秋亚,等. 响应面法优化青春双歧杆菌增殖培养基[J]. 食品与生物技术学报,2019,38(4):111-117.
ZHU M M, LI G Y, GU Q Y, et al. Optimization of enrichment medium for *Bifidobacterium adolescentis* by response surface methodology[J]. Journal of Food Science and Biotechnology,2019,38(4):111-117.(in Chinese)

[31] 秦雅莉,于福田,赵笑颍,等. 发酵乳杆菌SS-31培养基及发酵条件的优化[J]. 食品与生物技术学报,2022,41(12):48-57.
QIN Y L, YU F T, ZHAO X Y, et al. Optimization of *Lactobacillus fermentum* SS-31 culture medium and fermentation conditions[J]. Journal of Food Science and Biotechnology,2022,41(12):48-57.(in Chinese)

[32] WEN Y, SU C M. Optimization of ultrasonic assisted extraction and bioactivity of *Ophiopogon japonicus* polysaccharides by response surface methodology[J]. Starch,2023,75(3/4):2200213.

[33] 桑丁巴毛,任小莉,许丹,等. 高原红树莓咀嚼片制备工艺的响应面优化及感官评价[J]. 食品工业,2023,44(12):12-18.
SANG D, REN X L, XU D, et al. The optimization of the formula of highland red raspberry(*Rubusi daeus* L.) chewable tablets by response surface methodology and sensory evaluation[J]. The Food Industry, 2023, 44(12):12-18.(in Chinese)

（责任编辑：闫林红）