

氨气熏蒸降解玉米中黄曲霉毒素 B₁ 的条件优化

陈志娟, 刘 阳*, 邢福国, 梁俊平, 刘 畅

(中国农业科学院农产品加工研究所, 农业部农产品加工与质量控制重点开放实验室, 北京 100193)

摘 要: 为提高氨气对玉米中黄曲霉毒素 B₁(AFB₁)的降解效率, 首先通过单因素试验研究氨熏温度、氨气浓度、氨熏时间及玉米含水量对黄曲霉毒素 B₁降解率的影响, 然后通过二次回归正交试验设计及响应面分析确定主要影响因素的最优参数组合: 温度 37℃、玉米含水量 20%、氨气体积分数 7.05%、氨熏时间 96h, 在此条件下玉米中 AFB₁降解率的模型预测值为 90.4%, 实测值为 92%, 两者较接近。

关键词: 玉米; 黄曲霉毒素 B₁; 氨气熏蒸法; 二次回归正交设计

Optimization of Ammonia Fumigation for Degradation of Aflatoxin B₁ in Maize

CHEN Zhi-juan, LIU Yang*, XING Fu-guo, LIANG Jun-ping, LIU Chang

(Key Laboratory of Agricultural Products Processing and Quality Control, Ministry of Agriculture, Institute of Agro-Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: One-factor-at-a-time method and quadratic orthogonal rotational combination design combined with response surface analysis were used to optimize temperature, ammonia concentration, fumigation time and moisture content in maize affecting degradation efficiency of ammonia fumigation towards aflatoxin B₁ (AFB₁) in maize. Results showed that the optimal values of the above parameters were determined as follows: temperature 37 °C, moisture content in maize 20%, ammonia concentration 7.05% and fumigation time 96 h. Under such conditions, the predicted value of degradation ratio of AFB₁ in maize was up to 90.4% and its experimental value was 92%.

Key words: maize; AFB₁; ammonia method; quadratic orthogonal rotational combination design

中图分类号: TS210.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)08-0033-05

黄曲霉毒素(aflatoxin, AFT)是由黄曲霉(*Aspergillus flavus*)、寄生曲霉(*Aspergillus parasiticus*)及特曲霉(*Aspergillus nomius*)产生的一类次级代谢产物, 是自然界中毒性最强的物质之一, 具有致突变性、致畸性及致癌性^[1-2]。根据其在紫外光下薄层层析板上所显示的荧光颜色不同可分为 B₁、B₂、G₁、G₂、M₁、M₂ 等。其中 B₁ 的毒性最强, 是氰化钾的 10 倍、砒霜的 68 倍。

我国南方高温高湿地区, 玉米较普遍受到 AFT 的污染, 在广西玉米中黄曲霉毒素的检出率为 72%^[3]。王若军^[4]从内蒙、宁夏、黑龙江、北京、辽宁、天津、湖南、湖北、河北、江苏、浙江、福建、海南等省区采集的 31 份玉米样品中黄曲霉毒素的检出率为 83.9%。2005 年的调查发现玉米中黄曲霉毒素的平均含量为 29.6

μg/kg, 而国标中规定的含量为 20 μg/kg。这说明我国玉米受黄曲霉毒素污染的情况十分严重。

据报道, 辐照法^[5]、二氧化氯浸泡法^[6]、生物法^[7-10]等均可降解黄曲霉毒素, 但以上方法存在降解成本较高或处理复杂的问题, 而氨熏法在降解玉米中黄曲霉毒素的同时, 不会破坏被处理物的营养价值, 并且处理简单、成本较低, 适于大规模应用。Ordean 等^[11]于 1978 年报道质量比为 1.1% 的氨气可以在 7 个月内使玉米中初始含量为 90 μg/kg 的黄曲霉毒素 B₁ 降低至痕量。Bagley 等^[11]1979 年的研究发现, 提高氨熏温度及样品湿度可以加速氨气对毒素的降解。本实验研究探讨氨气法降解玉米中黄曲霉毒素 B₁ 的主要影响因素, 然后通过二次正交回归组合设计及响应面分析对各因素进行优化, 得出氨气法降解玉米中黄曲霉毒素 B₁ 的最优参数组合, 以期以

收稿日期: 2009-06-18

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(0032007003); “十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAK02A18)

作者简介: 陈志娟(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为农产品质量与食品安全。E-mail: czj19850124@163.com

*通信作者: 刘阳(1965—), 男, 研究员, 博士, 研究方向为食品质量与安全 and 食品生物技术。E-mail: liuyangg@hotmail.com

较低成本得到较高的降解率。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

玉米粒购于北京市海淀区西北旺市场。

黄曲霉毒素标准品 美国 Sigma 公司; 乙腈(分析纯) 国药集团化学试剂有限公司; 三氟乙酸(分析纯) 上海诺泰化工有限公司; 乙腈、甲醇(均为色谱纯) 美国 Fisher 公司; 纯净水 杭州娃哈哈食品有限公司。

2695 高效液相色谱仪、2475 荧光检测器 美国 Waters 公司; D10 氮吹仪 杭州奥盛仪器有限公司; TGL-16G 型离心机 上海安亭科学仪器厂; Vortex Genius 3 型振荡器 广州 IKA 公司; YP/JY 型电子天平 上海越平科学仪器有限公司。

1.2 样品准备

称取 700g 玉米粒于 2L 的三角瓶, 加入 70mL 蒸馏水, 即蒸馏水占玉米粒质量的 10%, 121℃ 灭菌 20min, 室温冷却, 无菌条件下加入 10mL 黄曲霉菌悬液, 35℃ 培养 15d。将培养好的玉米粒碾磨成粉, 检测毒素含量大约为 700μg/kg, 与未接菌玉米粉以质量比 1:9 混匀使毒素最终含量为 70~80μg/kg。

1.3 水分含量调节

玉米粉中水分含量参照 GB/T 5497—85《粮食、油料检验: 水分测定法》方法测定, 130℃ 定时烘干法。经测定玉米粉中初始水分含量为 11.6%, 含水量为 A 的玉米粉的湿度调节方法是通过公式计算出。

$$\text{水的添加量} / (\text{g}/100\text{g 干玉米粉}) = \frac{100\text{g} \times A - 11.6\text{g}}{1 - A}$$

1.4 黄曲霉毒素提取及检测方法^[12]

称取 2g 玉米粉于 150mL 三角瓶中, 加入 8mL 乙腈-蒸馏水(84:16, V/V), 振荡提取 1h; 静置后过滤上清液, 取 2mL 滤液至尖底刻度试管中, 60℃ 氮吹至干; 向试管中加入 200μL 正己烷和 100μL 三氟乙酸衍生, 剧烈振荡 30s; 静置 5min, 再加入 900μL 纯净水-乙腈(9:1, V/V), 剧烈振荡 30s; 静置 10min, 移取下层溶液至 1.5mL 的离心管中, 以 10000r/min 的转速离心 5min, 取上清液进行高效液相色谱分析。

高效液相色谱仪与一个 2475 型荧光检测器及一个 C₁₈ 柱相连, 所有仪器受控于 Waters 操作系统。分析过程的流速为 0.6mL/min, 进样量为 25μL, 流动相为纯净水-乙腈-甲醇(70:17:17, V/V)及 100% 甲醇。

1.5 黄曲霉毒素 B₁ 含量计算

采用单点校正法, 以 25ng/mL AFB₁ 的峰高为参

比, 样品测定液中某成分的峰高与相应的参比峰高相比较, 求得样品测定液中黄曲霉毒素 B₁ 的含量, 再由测定液与原样品的关系, 换算得样品中的黄曲霉毒素 B₁ 含量, 计算公式如下:

$$\text{黄曲霉毒素 B}_1 \text{ 含量} (\mu\text{g}/\text{kg}) = \frac{H \times 25\text{ng}/\text{mL} \times 1\text{mL} \times 8\text{mL}}{H' \times 2\text{mL} \times 2\text{g}}$$

式中: H 和 H' 分别为样品中黄曲霉毒素和对应标准品的峰高。

1.6 氨气熏蒸处理

取 30g 染菌玉米放入布袋中, 悬挂于 5.6L 下口瓶中, 密封, 用注射器吸出空气, 然后充入氨气(所吸出的空气量与所充入的氨气体积相同), 置于恒温箱中。单因素试验与二次回归正交试验的每个处理均有 3 个平行。

1.7 试验设计及统计分析

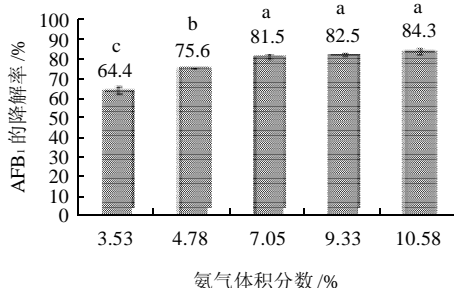
首先对可能影响玉米中黄曲霉毒素 B₁ 降解率的氨气体积分数、氨熏温度、玉米含水量及氨熏时间 4 个因素进行单因素试验, 以确定各因素合适的水平范围。依据单因素试验结果, 运用 4 因素的二次回归正交组合原理, 共设计 27 个试验组。由于湿度不同, 样品中初始毒素含量也有差异, 因此本试验以黄曲霉毒素的降解率作为氨熏指标。

根据 SAS 9.0^[13] 的响应面回归分析来评估样品含水量、温度、时间及氨气浓度对黄曲霉毒素含量的影响。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 氨气体积分数对氨气熏蒸法降解玉米中 AFB₁ 的影响



氨气体积分数 = 下口瓶充入的氨气体积 / 下口瓶体积; a、b、c、d、e 表示不同处理间的差异显著性, 字母不同代表两处理组间差异显著, 字母相同代表两处理组间差异不显著。下同。

图1 氨气体积分数对氨气降解玉米中 AFB₁ 的影响

Fig.1 Effect of ammonia concentration on degradation of AFB₁ in maize

图1为氨熏温度为37℃、玉米含水量为20%、氨熏时间为48h条件下,不同氨气体积分数对氨气降解玉米中AFB₁的影响。从图1可以看出,AFB₁的降解率随着氨气体积分数的提高呈上升趋势,当氨气体积分数为3.53%、4.78%及7.05%时,不同温度处理对玉米中AFB₁降解率的影响有显著差异,但氨气体积分数大于7.05%的不同处理组间,差异不明显。这说明氨气体积分数达到一定程度时,就不再是影响降解率的关键因素。

2.1.2 氨熏温度对氨气熏蒸法降解玉米中AFB₁的影响

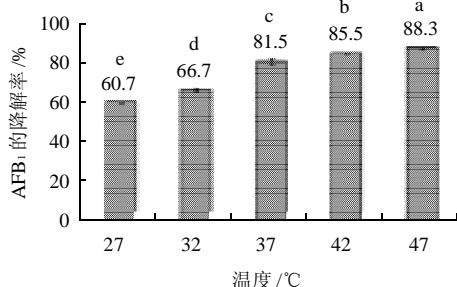


图2 温度对氨气降解玉米中AFB₁的影响

Fig.2 Effect of temperature on degradation of AFB₁ in maize

图2为氨气体积分数为7.05%、氨熏时间为48h、玉米含水量为20%条件下,不同氨熏温度对氨气降解玉米中AFB₁的影响。从图2可以看出,AFB₁的降解率随着氨熏温度的升高呈上升趋势,且不同温度处理对玉米中AFB₁的降解率的影响有显著差异,当氨熏温度小于42℃时,AFB₁的降解率随着温度的提高而升高很快,但进一步提高温度,AFB₁降解率的升高趋势变缓,考虑降解成本,确定二次回归正交设计中温度范围为25~45℃。

2.1.3 玉米含水量对氨气熏蒸法降解玉米中AFB₁的影响

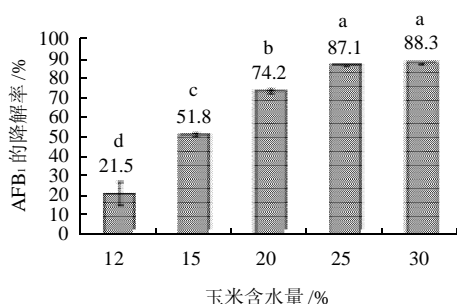


图3 玉米含水量对氨气降解玉米中AFB₁的影响

Fig.3 Effect of moisture content in maize on AFB₁ degradation

图3为氨气体积分数为7.05%、氨熏时间为48h、氨熏温度为37℃条件下,不同玉米含水量对氨气降解玉米中AFB₁的影响。从图3可以看出,AFB₁的降解率随着玉米含水量的提高呈上升趋势,12%、15%、20%及

25%的玉米含水量对玉米中AFB₁降解率的影响有显著差异,含水量大于25%的处理组间,差异不明显,因此在下一步的回归正交设计中选择玉米含水量范围为11.6%~25%。

2.1.4 氨熏时间对氨气熏蒸法降解玉米中AFB₁的影响

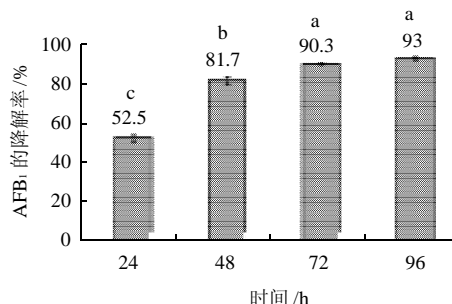


图4 氨熏时间对氨气降解玉米中AFB₁的影响

Fig.4 Effect of treatment time on degradation of AFB₁ in maize

图4为氨气体积分数为7.05%、玉米含水量为20%、氨熏温度为37℃条件下,不同氨熏时间对氨气降解玉米中AFB₁的影响。从图4可看出,AFB₁的降解率随着氨熏时间的延长呈上升趋势,24、48h及72h的氨熏时间对玉米中AFB₁降解率的影响有显著差异,氨熏时间大于72h的不同处理组间,差异不明显。但考虑到时间因素在4个因素中成本较低,因此,确定二次回归正交设计中氨熏时间的范围为24~120h。

2.2 二次回归正交设计试验

在以上单因素试验基础上,选取氨气体积分数、氨熏温度、玉米含水量、氨熏时间为试验因素,以玉米中AFB₁的降解率为试验指标,采用二次回归正交试验组合设计法安排试验,4个因素各水平的因子编码和水平见表1,试验方案及结果见表2。

表1 因素水平编码表
Table 1 Factors and levels in quadratic orthogonal rotational combination design

| 因素 | 水平 | | | | |
|-------------------------|---------|------|------|------|---------|
| | + 1.547 | + 1 | 0 | - 1 | - 1.547 |
| X ₁ 氨熏温度/℃ | 45.0 | 41.5 | 35.0 | 28.5 | 25.0 |
| X ₂ 玉米含水量/% | 25.0 | 22.5 | 18.0 | 13.5 | 11.0 |
| X ₃ 氨气体积分数/% | 10.58 | 9.33 | 7.05 | 4.78 | 3.53 |
| X ₄ 氨熏时间/h | 120 | 103 | 72 | 41 | 24 |

2.2.1 模型的建立及显著性分析

采用SAS 9.0对试验数据进行二次响应面回归分析,得到的二次多项式: $Y = -514.67 + 12.75X_1 + 21.13X_2 + 6.24X_3 + 1.66X_4 - 0.16X_1^2 + 0.0038X_2X_1 - 0.005634X_3^2 - 0.3922X_2^2 + 0.1238X_3X_1 - 0.2904X_3X_2 -$

$$0.0244X_4X_1 - 0.0073X_4X_2 - 0.003853X_4X_3 - 0.031049X_4^2。$$

表2 二次回归正交组合设计及试验结果

Table 2 Arrangement and experimental results of quadratic regression orthogonal combination design

| 试验号 | 矩阵设计 | | | | 玉米中黄曲霉毒素B ₁ 的降解率/% | | |
|-----|-----------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------------|-------|-------|
| | X ₁ 氨熏温度/℃ | X ₂ 玉米含水量/% | X ₃ 氨气体积分数/% | X ₄ 氨熏时间/h | 试验值 | 拟合值 | 拟合误差 |
| 1 | (41.5) | 1(22.5) | 1(9.33) | 1(103) | 94.1 | 100.5 | -6.4 |
| 2 | 1 | 1 | 1 | -1(41) | 89.6 | 90.1 | -0.5 |
| 3 | 1 | 1 | -1(4.78) | 1 | 91.3 | 91.4 | -0.1 |
| 4 | 1 | 1 | -1 | -1 | 70.6 | 72.2 | -1.6 |
| 5 | 1 | -1(13.5) | 1 | 1 | 63.7 | 64.0 | -0.3 |
| 6 | 1 | -1 | 1 | -1 | 47.8 | 51.3 | -3.5 |
| 7 | 1 | -1 | -1 | 1 | 34.1 | 43.0 | -8.9 |
| 8 | 1 | -1 | -1 | -1 | 19.6 | 21.6 | -2.0 |
| 9 | -1(28.5) | 1 | 1 | 1 | 81.2 | 78.0 | 3.2 |
| 10 | -1 | 1 | 1 | -1 | 68.2 | 61.6 | 6.6 |
| 11 | -1 | 1 | -1 | 1 | 77.5 | 76.3 | 1.2 |
| 12 | -1 | 1 | -1 | -1 | 52.6 | 51.1 | 1.5 |
| 13 | -1 | -1 | 1 | 1 | 41.2 | 41.9 | -0.7 |
| 14 | -1 | -1 | 1 | -1 | 24.7 | 23.4 | 1.3 |
| 15 | -1 | -1 | -1 | 1 | 29.9 | 28.2 | 1.7 |
| 16 | -1 | -1 | -1 | -1 | 5.1 | 0.9 | 4.2 |
| 17 | 1.547(45.0) | 0(18.0) | 0(7.05) | 0(72) | 90.9 | 76.3 | 14.6 |
| 18 | -1.547(25.0) | 0 | 0 | 0 | 30.3 | 43.1 | -12.8 |
| 19 | 0(35.0) | 1.547(25.0) | 0 | 0 | 87.7 | 90.7 | -3.0 |
| 20 | 0 | -1.547(11.0) | 0 | 0 | 27.9 | 23.2 | 4.7 |
| 21 | 0 | 0 | 1.547(10.58) | 0 | 88.4 | 88.7 | -0.3 |
| 22 | 0 | 0 | -1.547(3.53) | 0 | 66.3 | 64.2 | 2.1 |
| 23 | 0 | 0 | 0 | 1.547(120) | 84.0 | 77.8 | 6.2 |
| 24 | 0 | 0 | 0 | -1.547(24) | 44.1 | 48.5 | -4.4 |
| 25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 76.8 | 76.1 | 0.7 |
| 26 | 0 | 0 | 0 | 0 | 75.3 | 76.1 | -0.8 |
| 27 | 0 | 0 | 0 | 0 | 73.4 | 76.1 | -2.7 |

表3 回归模型方差分析

Table 3 Analysis of variance for developed quadratic regression model describing degradation ratio of AFB₁ under different ammonia fumigation conditions

| 回归项 | 平方和 | 自由度 | R ² | F值 | P值 |
|-----|---------|-----|----------------|-------|----------|
| 一次项 | 1537 | 4 | 0.8543 | 66.05 | < 0.0001 |
| 二次项 | 1612.45 | 4 | 0.0896 | 6.92 | 0.004 |
| 交互项 | 311.49 | 6 | 0.0173 | 0.89 | 0.5304 |
| 总模型 | 17291 | 14 | 0.9612 | 21.23 | < 0.0001 |

从表3可知, $P_{模型} < 0.0001$, 因此试验所选用的二次回归模型具有高度的显著性。总模型的相关系数达到0.9612, 说明该模型能解释96.12%响应值的变化, 仅有总变异的3.88%不能用此模型来解释, 因此该模型拟合程度较好。可以用此模型分析氨熏法各因素对玉米中黄曲霉毒素B₁降解率的影响情况。

从表4可以看出, 模型一次项 X_1 、 X_2 极显著, X_4 显著, X_3 不显著, 二次项 X_1^2 、 X_2^2 极显著, X_4^2 显著,

X_3^2 不显著, 交互项均不显著。即氨熏温度及玉米含水量对玉米中黄曲霉毒素B₁的降解率影响极显著; 氨熏时间显著; 氨气体积分数不显著; 四者之间的交互作用不显著。

表4 回归方程系数显著性检验

Table 4 Significance test for each term of developed quadratic regression model describing degradation ratio of AFB₁ under different ammonia fumigation conditions

| 参数 | 自由度 | 回归系数估计 | 标准误差 | T值 | P值 | 显著性 |
|-------------------------------|-----|-----------|----------|-------|--------|-----|
| 截距 | 1 | -514.6764 | 101.3661 | -5.07 | 0.0003 | ** |
| X ₁ | 1 | 12.752423 | 4.1094 | 3.10 | 0.0091 | ** |
| X ₂ | 1 | 21.133561 | 4.8838 | 4.33 | 0.0010 | ** |
| X ₃ | 1 | 6.248962 | 0.1511 | 0.72 | 0.4803 | |
| X ₄ | 1 | 1.660756 | 0.5686 | 2.92 | 0.0128 | * |
| X ₁ ² | 1 | -0.164414 | 0.0537 | -3.06 | 0.0099 | ** |
| X ₂ X ₁ | 1 | 0.003846 | 0.0652 | 0.06 | 0.9539 | |
| X ₃ ² | 1 | -0.392275 | 0.1105 | -3.55 | 0.0040 | ** |
| X ₃ X ₁ | 1 | 0.123868 | 0.002274 | 0.96 | 0.3558 | |
| X ₃ X ₂ | 1 | -0.290438 | 0.002274 | 0.96 | 0.1450 | |
| X ₃ ² | 1 | 0.024476 | 0.000135 | 0.06 | 0.9560 | |
| X ₄ X ₁ | 1 | -0.007320 | 0.009463 | -0.77 | 0.4543 | |
| X ₄ X ₂ | 1 | -0.003853 | 0.0137 | -0.28 | 0.7829 | |
| X ₄ X ₃ | 1 | -0.031049 | 0.000477 | -1.15 | 0.2733 | |
| X ₄ ² | 1 | -0.005634 | 0.002342 | -2.40 | 0.033 | * |

2.2.2 主因素效应分析

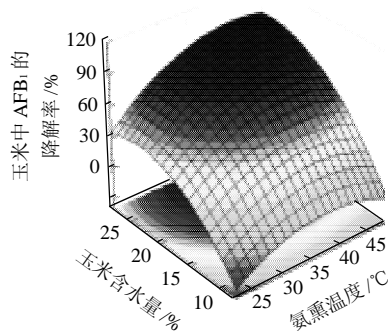
表5 各因素方差分析结果

Table 5 Analysis of variance for each parameter affecting degradation ratio of AFB₁

| 因素 | 自由度 | 平方和 | 均方 | F值 | P值 |
|--------|-----|---------|---------|-------|----------|
| 氨熏温度 | 5 | 3045.15 | 609.03 | 10.46 | 0.0005 |
| 玉米含水量 | 5 | 10684 | 2136.89 | 36.72 | < 0.0001 |
| 氨气体积分数 | 5 | 1565.63 | 313.12 | 5.38 | 0.0080 |
| 氨熏时间 | 5 | 2310.95 | 462.19 | 7.94 | 0.0016 |

从表5可以看出, 4个因素的P值均小于0.01, 因此4个因素对玉米中AFB₁的降解率均有极显著影响, 根据各因素P值大小可以看出, 4个因素的影响程度有差异, 其中玉米含水量>氨熏温度>氨熏时间>氨气体积分数。这说明氨气体积分数虽对所得到的二次回归模型的影响不显著, 但对玉米中AFB₁的降解率是有显著影响的。因此, 在确定最优水平时, 这一因素不应忽略。

2.2.3 因素交互效应分析



A. 玉米含水量和氨熏温度

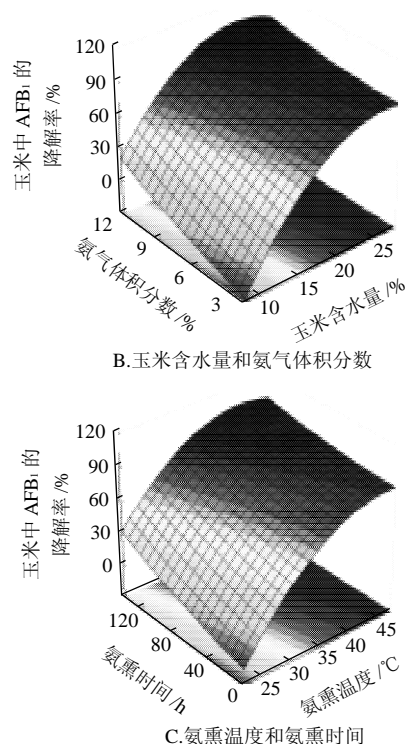


图5 玉米含水量和氨熏温度、玉米含水量和氨气体积分数及氨熏温度和氨熏时间对玉米中 AFB₁ 降解率的影响

Fig.5 Response surface plots showing the pairwise interaction effects of temperature, ammonia concentration, moisture content and fumigation time on degradation ratio of AFB₁

图5是对玉米中 AFB₁ 降解率影响较大的两个因素交互作用的响应面图。由图5A可知,当玉米含水量与温度均处于较低水平时,降解率随因素水平提高增加比较明显,当温度为37~40℃,玉米含水量为18%~21%时,继续提高各因素水平,降解率变化趋于平缓;由图5C可知,当玉米含水量为11%~18%时,降解率处于较低水平,当玉米含水量增至18%~22%,氨气体积分数为7%~9%时,降解率达到较高水平;由图5C可知,当温度为35℃以下时,降解率随时间的延长提高不明显,当温度为37~41℃时,降解率随时间的延长提高很快,当时间延长至90h以上时,降解率变化趋于平缓。

由以上分析可知,尽管各因素对降解率影响均呈正相关,方程不存在最大值,但是通过分析可以确定一个最优区域,使得降解率变化在此区域内随各因素水平的提高趋于平缓。在以上分析的基础上,确定各因素的最优区域分别为:温度37~40℃、玉米含水量18%~21%、氨气体积分数7%~9%、氨熏时间90h以上。

2.2.4 提取条件的优化及验证

在以上分析所确定的最优区域基础上,将以上各因素水平代入所得到的二次回归方程,根据所得到的理论降解率的变化,最终确定温度为37℃、玉米含水量为

20%、氨气体积分数为7.05%、氨熏时间为96h的最优组合方案,在此条件下降解率可以达到90.4%,进一步提高各因素水平,降解率提高不明显。

在以上优化条件下进行验证实验,共进行3次实验,验证平均降解率为92%,与理论值90.4%非常接近,同时也进一步验证了数学回归模型的正确性。

3 结论

氨气法可以有效降解玉米中的黄曲霉毒素,且已经证实其生成物无毒^[14],但由于氨熏周期比较长,达到6~7个月^[10-11]之久,不适于实际应用。本研究通过单因素和响应面试验确定了氨气法降解 AFB₁ 的最优参数组合为玉米含水量20%、氨熏温度37℃、氨气体积分数7.05%、氨熏时间96h,在较短的时间内,以较低成本使 AFB₁ 的降解率达到92%,使氨气熏蒸降解黄曲霉毒素的方法更有利于实际应用。

参考文献:

- [1] HARRISON J, CARVAJAL M, GARNER R. Does aflatoxin exposure in the United Kingdom constitute a cancer risk[J]. *Environmental Health Perspectives*, 1993, 99(5): 99-105.
- [2] GOURAMA H, BULLERMAN L. *Aspergillus flavus* and *Apergillus parasiticus*: aflatoxigenic fungi of concern in foods and feeds[J]. *Journal of Food Protection*, 1995, 58(12): 1395-1404.
- [3] 胡兰. 饲料黄曲霉毒素的研究进展[J]. *饲料工业*, 2001(3): 20-23.
- [4] 王若军. 中国饲料及饲料原料受霉菌污染的调查报告[J]. *饲料工业*, 2003(7): 53-54.
- [5] HOOSHMAND H, KLOPFENSTEIN C F. Effects of gamma irradiation on mycotoxin disappearance and amino acid contents of corn, wheat, and soybeans with different moisture contents[J]. *Plant Foods for Human Nutrition*, 1995, 47(3): 227-238.
- [6] 张勇, 朱宝根. 二氧化氯对霉变玉米黄曲霉毒素 B₁ 脱毒效果的研究[J]. *食品科学*, 2001, 22(10): 68-71.
- [7] 朱新贵, 林捷. 几种食品微生物降解黄曲霉毒素作用的研究[J]. *食品科学*, 2001, 22(10): 65-68.
- [8] DEVEGOWDA G, RAJU M, SWAMY H. Mycotoxins: novel solutions for their counteraction[J]. *Feedstuffs*, 1998, 70: 12-16.
- [9] RAJU M, DEVEGOWDA G. Influence of esterified-glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxicosis (aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin)[J]. *British poultry science*, 2000, 41(5): 640-650.
- [10] ORDEAN L, BREKKE, ARETHUR C. Aflatoxin inactivation in corn by ammonia gas: laboratory trials[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1978, 26(6): 1383-1389.
- [11] BABLEY E B. Decontamination of corn containing aflatoxin by treatment with ammonia[J]. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 1979, 56(9): 808-811.
- [12] 高秀芬, 计融, 李燕俊, 等. 高效液相色谱法测定玉米中的黄曲霉毒素[J]. *中国食品卫生杂志*, 2007, 19(2): 105-109.
- [13] 高慧璇. 实用统计方法与SAS系统[M]. 北京: 北京大学出版社, 2001: 20-75.
- [14] THOMAS J, ALAN D. High field ¹H. NMR studies on the ammonia-ation of aflatoxin B₁[J]. *Tetrahedron*, 1989, 45(8): 2451-2464.