

混菌发酵消减大米中镉的工艺优化

Optimization of the technology for reducing cadmium in rice by mixed fermentation

陈瑶 廖卢艳 吴卫国

CHEN Yao LIAO Lu-yan WU Wei-guo

(湖南农业大学食品科技学院, 湖南长沙 410128)

(College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)

摘要:以镉含量为 0.977 8 mg/kg 的超标大米为原料,脱镉率为衡量指标,利用单因素试验和 Box-behnken 中心组合试验对罗伊氏乳杆菌+发酵乳杆菌+植物乳杆菌(体积比=1:1:1)发酵消减大米中镉的工艺条件进行优化,重点考察发酵温度、发酵时间、大米粒度、料液比、接种量对脱镉率的影响。结果表明:罗伊氏乳杆菌+发酵乳杆菌+植物乳杆菌(体积比=1:1:1)发酵消减大米中镉的最佳工艺条件为大米粒度 40 目,接种量 3%,料液比 1:5 (g/mL),温度 37℃,时间 21 h,该工艺条件下脱镉率可达到 89.98%,与模型预测值(89.736 2%)相近。

关键词:镉;大米;乳酸菌;发酵

Abstract: Rice with cadmium content of 0.977 8 mg/kg was studied as the main material, its cadmium removal rate was regard as the basic measuring index. The process parameters of reducing techniques for cadmium-tainted rice were optimized by single factor test and Box-behnken response surface design. The investigation were focused on the effects of temperature, time, mesh number of rice, solid-liquid ratio, and inoculation amount. The optimal parameters were found as follows: mesh number of rice 40, inoculation amount 3, solid-liquid ratio 1:5, treated at 37℃ for 21 h. Under this optimum conditions, the cadmium removal rate was 89.98%, which was similar to the predicted value of 89.736 2%.

Keywords: Cadmium; rice; lactobacillus; fermentation

近年来,“镉大米”的出现引发了人们对大米食用安全性的担忧与焦虑。另外,因镉大米存在的安全问题而造成了大量粮食资源的浪费。防治大米镉污染的根本途径即从源头

出发,修复镉污染稻田及水源。选育镉富集能力低的水稻也是减轻大米镉污染的有效手段^[1]。但这些技术的推广和普及在短期内难以实现。通过加工技术实现大米脱镉,是解决镉超标大米利用问题的应急之策,有利于稻米行业的健康发展和粮食安全^[2]。研究^[3-4]表明,通过砻谷、碾米和浸泡等物理方法均能降低大米中的镉含量,物理法设备简单、成本低,但脱镉率较低。田阳^[3]发现镉含量高于 0.323 mg/kg 的镉超标稻谷很难通过简单的砻谷碾米等物理方式使镉含量降低至达标。化学法能取得较好的脱镉效果,但经过酸式或碱式浸提得到的脱镉大米制品应用范围窄,还有可能造成化学残留^[5-6]。微生物法在大米镉脱除方面前景广阔,一方面,针对镉超标严重的大米,采用微生物法可以有效脱镉,为富镉米的深加工及综合利用提供了有效转化途径;另一方面,经过微生物发酵作用还可以提升大米的口感和品质^[7-8]。目前的微生物脱镉研究主要围绕单一菌种展开,如植物乳杆菌、发酵乳杆菌、长双歧乳杆菌等^[9-10]。而多菌种发酵的优势明显优于单一菌种,很多重要的化学反应仅靠纯种发酵是无法顺利进行的,采用混菌发酵可以弥补单一菌种发酵不足的缺点^[11-14]。此外,由于混菌发酵过程中代谢产物更为丰富,混菌发酵脱镉效率可能会提高。

本研究结合了微生物脱镉和混菌发酵的优势,以镉超标大米为原料,选用植物乳杆菌、发酵乳杆菌、罗伊氏乳杆菌、鼠李糖乳杆菌 4 种常用于食品工业的益生菌复配成发酵剂,消减大米中的镉,通过对比试验选择具有最佳脱镉能力的菌种组合,利用响应面法优化获得发酵脱镉的最佳工艺参数,以期对镉超标稻米的治理和用途转换提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大米:早籼米(镉含量 0.977 8 mg/kg),产地湖南省株洲县;

鼠李糖乳杆菌冻干粉、植物乳杆菌冻干粉:广东环凯微

基金项目:2017 年湖南省研究生科研创新项目(编号:CX2017B375);农业部、财政部专项(编号:农办财函[2016]6号)

作者简介:陈瑶,女,湖南农业大学在读硕士研究生。

通信作者:吴卫国(1968—),男,湖南农业大学教授,博士。

E-mail: 1061051403@qq.com

收稿日期:2017-05-04

生物科技有限公司；

罗伊氏乳杆菌冻干粉、发酵乳杆菌冻干粉：中国食品发酵工业研究院；

硝酸、高氯酸：优级纯，国药集团化学试剂有限公司；

镉标准储备液：1 000 μg/mL，中国计量科学院；

MRS 培养基、MRS 肉汤：广东环凯微生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

立式压力蒸汽灭菌锅：LDZX-50KB 型，上海申安医疗器械厂；

无菌操作台：SW-CJ-IFD 型，苏州佳宝净化工程设备有限公司；

生化培养箱：SPX-250BS-II 型，上海新苗医疗器械制造有限公司；

台式离心机：TD5A 型，湖南赫西仪器装备有限公司；

电热鼓风干燥箱：101A-3ET 型，天津市泰斯特仪器有限公司；

电子天平：BS201S 型，北京赛多利斯天平有限公司；

原子吸收分光光度计：AA-7000 型，日本岛津有效公司；

不锈钢数显电热板：DB-1 型，北京市永光明医疗仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 菌种的活化及菌悬液的制备

(1) 冻干菌种的复活：在无菌条件下开启装有菌种的安瓿管，加入复苏液(MRS 肉汤)，轻轻旋转安瓿管，将冻干菌种粉制成悬浮液，然后用移液枪吸取适量菌液，移至灭菌的 MRS 液体培养基，在 36 ℃ 下培养 24~48 h，直至液体培养基浑浊。

(2) 菌悬液的制备：无菌条件下制备一系列稀释度的菌液接种至灭菌的 MRS 琼脂平板上，37 ℃ 恒温培养 24 h，采用稀释平板计数对菌落计数，稀释至浓度达到 10⁵ CFU/mL 即可。

1.3.2 大米粉发酵

(1) 大米粉样品的制备：大米除杂后，用粉碎机粉碎，依次通过 100,80,60,40,20 目的标准筛，分别分装编号。排气密封后存放在阴凉、干燥、易通风处，备用。

(2) 发酵大米粉的制作工艺：准备 20~70 mL 的超纯水置于锥形瓶中灭菌(121 ℃, 20 min)，准确称量 10.00 g 过筛的大米粉样品置于已灭菌的去离子水中，充分混合均匀。再将不同比例混合的乳杆菌菌悬液(植物乳杆菌、罗伊氏乳杆菌、发酵乳杆菌、鼠李糖乳杆菌)接种到大米浆液中，菌悬液的接种量为 1%~6%。用封口膜将锥形瓶密封后置于 20~40 ℃ 恒温培养箱中发酵 12~32 h。空白组不接种，加入等量的 0.3% 的苯甲酸钠于恒温培养箱 35 ℃ 浸泡发酵 21 h^[15]。待发酵完毕后倒去发酵液，用去离子水清洗 4 次，将发酵后的米粉转入离心管中，再用 40 mL 的去离子水洗涤锥形瓶 4 次，洗液合并于离心管中。用离心机脱水(3 000 r/min, 5 min)，脱水后的大米粉置于 55 ℃ 的热风干燥箱中干燥至恒重，再用自封袋密封后置于冰箱 4 ℃ 保存备用。

1.3.3 大米中镉含量的测定

(1) 样品消解：称取干大米试样 0.3~0.5 g(精确至 0.000 1 g)，采用湿法消解，消解液为 10 mL 硝酸—高氯酸混合溶液(体积比为 9：1)，待消解完后将消化液转移至容量瓶，用 1% 的硝酸溶液定容至刻度，同时做空白试验^{[16]2-3}。

(2) 标准曲线的绘制：调整原子吸收分光光度计至最佳状态，参数条件：波长 228.8 nm，狭缝宽度 0.7 nm，灯电流 8 mA，灰化温度 550 ℃，灰化时间 30 s，原子化温度 1 800 ℃，原子化时间 3 s^{[18]3}。配制含镉量分别为 0.0,0.5,1.0,1.5,2.0 ng/mL 的标准系列溶液，注入 20 μL 的标准系列溶液和 5 μL 的基改剂溶液(10 g/L 磷酸二氢铵溶液)于石墨炉中，测其吸光度值，得到吸光值与镉浓度的标准曲线(见图 1)，平行测定 3 次，结果取平均值。

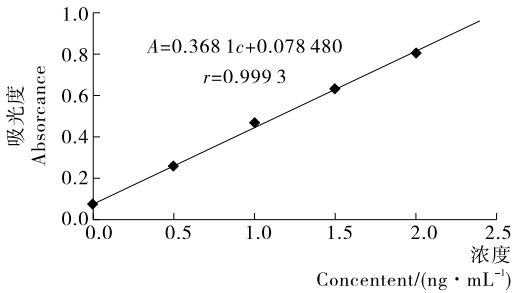


图 1 镉标准曲线

Figure 1 Cadmium standard curve

(3) 样品中镉含量的测定：吸取 20 μL 的样品消化液和 5 μL 的基改剂溶液(10 g/L 磷酸二氢铵溶液)于石墨炉中，测其吸光值，按式(1)求出样品中的镉含量，平行测定 3 次，结果取平均值。

$$X = \frac{(C_1 - C_0) \times V}{m \times 1\,000} \tag{1}$$

式中：

X——试样中镉含量，mg/kg；

C₁——试样中消化液中的镉含量，ng/mL；

C₀——空白液中的镉含量，ng/mL；

V——试样消化液定容总体积，mL；

m——试样质量，g；

1 000——换算系数。

1.3.4 大米脱镉率 按式(2)计算：

$$X = \frac{(W_0 - W_1)}{W_0} \times 100\% \tag{2}$$

式中：

X——脱镉率，%；

W₀——原料大米中镉的含量，mg/kg；

W₁——发酵脱镉后大米中镉的含量，mg/kg。

1.3.5 发酵剂脱镉效果的比较

(1) 单菌脱镉效果：在相同试验条件下[大米目数 20 目，发酵温度 35 ℃，发酵时间 25 h，料液比 1：4 (g/mL)，接种量 3%]，选取发酵乳杆菌、罗伊氏乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、植物乳杆菌，以脱镉率为考察指标，研究各菌种单独脱除大米中重金属镉的效果。

(2) 混菌脱镉效果:在相同试验条件下[大米粒度 20 目米,发酵温度 35 ℃,发酵时间 25 h,料液比 1:4 (g/mL),接种量 3%],选取植物乳杆菌分别与发酵乳杆菌、罗伊氏乳杆菌、鼠李糖乳杆菌按体积比 1:1,2:1 混合复配成两菌型发酵剂,植物乳杆菌与发酵乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、罗伊氏乳杆菌依次组合复配成三菌型发酵剂(体积比 1:1:1),以脱镉率为考察指标,研究混菌发酵剂脱除大米中重金属镉的效果。

每个试验重复 3 次,试验数据均以平均值±标准偏差表示。通过对比试验,选取脱镉效果最好的菌种或菌种组合作为后续试验的发酵剂。

1.3.6 单因素试验设计 单因素试验采用以下试验操作进行,选取上一步得到的脱镉效果最好菌种组合:罗伊氏乳杆菌:发酵乳杆菌:植物乳杆菌(体积比 1:1:1)作为发酵剂,以脱镉率为指标,每个试验做 3 次平行试验,试验数据均以平均值±标准偏差表示。

(1) 温度:固定大米粒度 20 目,发酵时间 25 h,料液比 1:4 (g/mL),接种量 3%,发酵温度分别为 20,25,30,35,40 ℃,研究发酵温度对脱镉率的影响。

(2) 时间:固定大米粒度 20 目,发酵温度 37 ℃,料液比 1:4 (g/mL),接种量 3%,发酵时间分别为 12,16,20,24,28,32 h,研究发酵时间对脱镉率的影响。

(3) 目数:固定发酵温度 37 ℃,发酵时间 25 h,料液比 1:4 (g/mL),接种量 3%,大米粒度分别为 20,40,60,80,100 目,研究大米目数对脱镉率的影响。

(4) 料液比:固定大米粒度 20 目,发酵温度 37 ℃,发酵时间 25 h,接种量 3%,料液比分别为 1:2,1:3,1:4,1:5,1:6,1:7 (g/mL),研究料液比对脱镉率的影响。

(5) 接种量:固定大米粒度 20 目,发酵温度 37 ℃,发酵时间 25 h,料液比 1:4 (g/mL),接种量分别为 1%,2%,3%,4%,5%,6%,研究接种量对脱镉率的影响。

1.3.7 响应面试验设计 根据单因素试验结果,选取料液比、温度、时间为自变量,以脱镉率为响应值。根据 Box-Behnken Design 中心组合试验设计原理,运用 Design Expert 8.0.6 软件设计 3 因素 3 水平响应面试验,并对试验数据进行分析优化,得出大米发酵降镉的最佳工艺。

2 结果与分析

2.1 发酵剂脱镉效果的比较

由表 1 可知,混菌发酵的脱镉效果明显优于纯种发酵脱镉的效果,以三菌混合发酵脱镉效果最佳。其中脱镉效果最佳的菌种组合为罗伊氏乳杆菌:发酵乳杆菌:植物乳杆菌=1:1:1 (体积比),脱镉率可达(88.46±0.45)%,因此选择该混合菌种,作为后续试验的发酵剂。混菌发酵效果较好的原因是混菌发酵利用了不同菌株作用效果的差异,具有多菌共生酶系互补的特点,使得混菌发酵产酶和产酸能力远高于单一菌株,并能克服中间产物过大对发酵产物生成的不良影响^[17-18]。

2.2 单因素试验结果

2.2.1 温度对脱镉率的影响 由图 2 可知,20 ℃时的脱镉

表 1 发酵剂脱镉效果的比较[†]

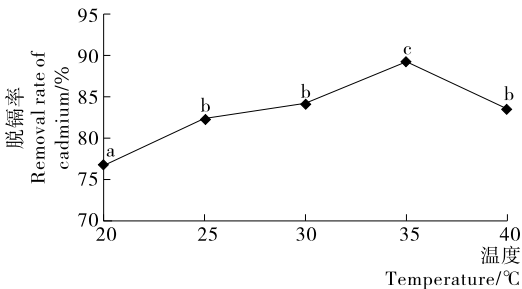
Table 1 The removal rate of cadmium in rice

发酵剂类型	名称	脱镉率/%
单菌型	鼠李糖乳杆菌	64.39±0.41
	罗伊氏乳杆菌	35.59±0.37
	发酵乳杆菌	68.62±0.92
	植物乳杆菌	81.98±0.48
混菌型	鼠李糖乳杆菌+植物乳杆菌(1:1)	69.58±1.03
	发酵乳杆菌+植物乳杆菌(1:1)	74.54±0.45
	罗伊氏乳杆菌+植物乳杆菌(1:1)	76.62±1.08
	鼠李糖乳杆菌+植物乳杆菌(1:2)	79.67±0.48
	发酵乳杆菌+植物乳杆菌(1:2)	80.58±0.33
	罗伊氏乳杆菌+植物乳杆菌(1:2)	78.36±0.80
	鼠李糖乳杆菌+发酵乳杆菌+植物乳杆菌(1:1:1)	86.52±0.63
	鼠李糖乳杆菌+罗伊氏乳杆菌+植物乳杆菌(1:1:1)	84.06±0.51
	罗伊氏乳杆菌+发酵乳杆菌+植物乳杆菌(1:1:1)	88.46±0.45

[†] 括号内为体积比。

率最低,随着温度的升高脱镉率逐渐升高,在 35 ℃时脱镉率达到最高值,之后脱镉率明显下降,说明过高和过低的温度都不利于大米中重金属镉的去除。乳酸菌发酵脱除大米中的镉主要是依靠微生物代谢产物——乳酸、蛋白酶等的作用,同时菌体本身对重金属也有吸附作用^[19-20]。低温时脱镉率较低可能是低温时乳酸菌生长缓慢,其代谢产物也较少,不利于镉的溶出。而高温导致大量菌体自溶,乳酸菌的活菌数大量下降,削弱了微生物及其代谢产物对镉的淋滤作用^[21]。此外,微生物分泌的胞外聚合物存在大量具有重金属亲和性的阴离子基团,温度过高使胞外聚合物的活性降低,导致重金属的吸收效率变低^[22]。因此选择 35 ℃为中心点进行后续试验。

2.2.2 时间对脱镉率的影响 由图 3 可知,随着发酵时间的延长,脱镉率也随之增加,当发酵时间达到 24 h 之后,脱镉率增加趋势变缓。可能是在发酵前期,随着微生物大量生长

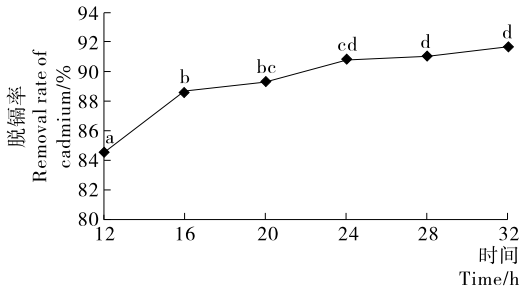


相同字母表示经邓肯氏新复极差法检验在 P<0.01 水平上差异不显著

图 2 温度对脱镉率的影响

Figure 2 Effect of temperature on removal rate of cadmium

繁殖,代谢产物大量累积,游离态的镉溶出速度较快,大量结合态的镉也随着发酵的进行逐渐溶出,脱镉率随之上升;当发酵时间继续延长,乳酸菌的活菌数量逐渐下降,镉的溶出逐渐接近饱和状态,脱镉率则增加缓慢。同时,随着发酵时间的延长,发酵液的 pH 也越来越低,过低的 pH 环境影响了金属离子与吸附活性点位的接触,不利于微生物对重金属的吸附^[23-24]。由于 24 h 之后的脱镉率增加幅度不明显,考虑到经济效益,选择 20 h 为中心点进行后续的试验。

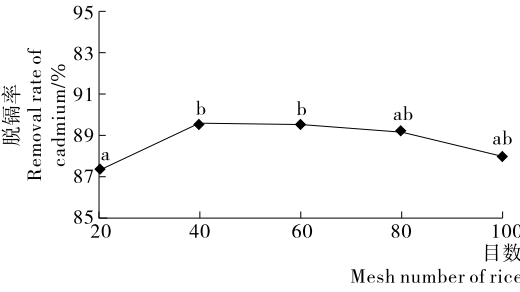


相同字母表示经邓肯氏新复极差法检验在 $P<0.01$ 水平上差异不显著

图 3 时间对脱镉率的影响

Figure 3 Effect of time on removal rate of cadmium

2.2.3 大米目数对脱镉率的影响 由图 4 可知,脱镉率随大米目数的增加总体变化趋势不大。当大米目数为 20 目时,脱镉率最低,随着大米粉越来越细,脱镉率先增加后下降。可能是大米目数变大,加速了微生物脱镉的反应速率,有利于游离态镉的溶出;但大米粉粒度继续降低,米粉的粒度过小,溶液的黏度增大,减弱了游离态镉向外溶出的速率。因此在之后的试验中固定大米粒度为 40 目。

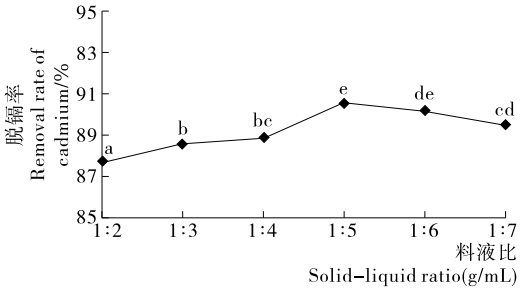


相同字母表示经邓肯氏新复极差法检验在 $P<0.01$ 水平上差异不显著

图 4 大米目数对脱镉率的影响

Figure 4 Effect of mesh number of rice on removal rate of cadmium

2.2.4 料液比对脱镉率的影响 由图 5 可知,随着料液比的增加,脱镉率先升高后下降。当料液比较小小时,脱镉率也相对较低,可能是去离子水的用量较小,发酵液的 pH 偏小,大米中淀粉大量水解,可溶性物质大量溶出,此时溶液的黏度较大,影响了金属离子与吸附活性点位的结合,导致镉溶出比较困难^[25-26]。随着料液比的增大,发酵液的 pH 随之增加,加快了镉的溶出,然而当料液比继续增加会稀释发酵液的浓度,同时微生物的代谢产物体积分数随之下降。因此选

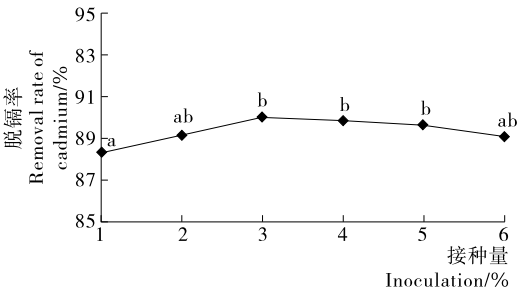


相同字母表示经邓肯氏新复极差法检验在 $P<0.01$ 水平上差异不显著

图 5 料液比对脱镉率的影响

Figure 5 Effect of solid-liquid ratio on removal rate of cadmium

择料液比 1:5 (g/mL) 为中心点进行后续响应面优化。
2.2.5 接种量对脱镉率的影响 由图 6 可知,随着接种量的增加,脱镉率先增加后下降。接种量较小时,初始活菌数较少,微生物代谢产物的积累也较少,从而不利于镉的脱除;随着接种量的增加,镉脱除率逐渐升高。但继续增加接种量,脱镉率并未继续升高。因为当接种量过大时,菌体生长环境中可供利用的营养物质有限,菌种之间产生竞争,生长繁殖的速率减慢,使得镉脱除的效率也随之缓慢下降^[26]。因此,后续试验接种量固定为 3%。



相同字母表示经邓肯氏新复极差法检验在 $P<0.01$ 水平上差异不显著

图 6 接种量对脱镉率的影响

Figure 6 Effect of inoculation amount on removal rate of cadmium

2.3 响应面试验结果与分析

2.3.1 响应面分析试验结果 响应面因素设计水平见表 2。运用 Design Expert 8.0.6 软件,对表 3 中的试验数据进行多元回归分析,得到脱镉率与所选 3 个因素的回归方程为:

$$Y=88.99+0.58A+2.37B+2.13C+0.31AB+2.68AC-1.67BC-7.09A^2-2.64B^2-3.40C^2, \tag{3}$$

对表 3 试验数据进行方差分析,结果见表 4。由表 4 可知,模型的 $F=296.23, P<0.0001$,表示模型显著,且模型的失拟项 $P=0.1203>0.05$,不显著,表明模型的拟合度较好,残差均由随机误差引起。模型的决定系数 $R^2=0.9974$,表明脱镉率实际值与预测值之间具有较好的拟合度,调整系数 $R^2_{adj}=0.994$,说明该模型能用于解释 99.4% 响应值的变化,预测系数 $R^2_{pre}=0.9682$,说明该模型预测性较好,因此,该模型可用于分析和预测大米发酵的脱镉率。模型中 B、C、AC、

BC、A²、B²、C²对响应值的影响均为极显著,说明温度和时间是影响脱镉率的重要因素。根据表 4 中各因素 *F* 值的大小可得,影响脱镉率的因素主次顺序为:温度>时间>料液比。

2.3.2 响应面交互作用分析 由图 7 可知,料液比和发酵温度之间的交互作用等高线图呈圆形,说明两者交互作用不是很显著。由图 8 可知,发酵时间对脱镉率的影响大于料液比,且发酵时间与料液比之间的等高线图呈椭圆形,说明两者之间存在较强的交互作用。由图 9 可知,发酵温度对脱镉率的影响略大于发酵时间,且两者之间存在较强的交互作用。

2.3.3 最优工艺条件的确定与验证 在各因素选定范围内,对回归模型进行分析优化,得到的大米发酵脱镉最佳工艺条

表 2 响应面试验设计因子水平表

Table 2 Factors and levels of response surface experiment

编码水平	A 料液比(g/mL)	B 温度/℃	C 时间/h
−1	1 : 4	30	16
0	1 : 5	35	20
1	1 : 6	40	24

表 3 响应面试验设计与结果

Table 3 Experimental design and results of Box-Behnken

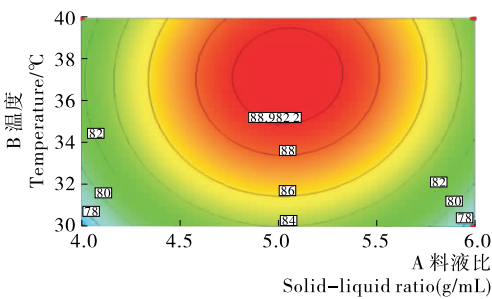
试验号	A	B	C	脱镉率/%
1	−1	0	1	77.04
2	0	0	0	89.14
3	0	1	−1	84.72
4	0	−1	−1	76.34
5	0	0	0	88.72
6	0	1	1	86.21
7	−1	1	0	80.64
8	1	−1	0	77.26
9	−1	0	−1	78.71
10	0	0	0	88.39
11	0	0	0	88.93
12	0	−1	1	84.52
13	1	0	−1	74.59
14	−1	−1	0	76.83
15	0	0	0	88.77
16	1	0	1	83.65
17	1	1	0	82.32

表 4 回归模型方差分析[†]

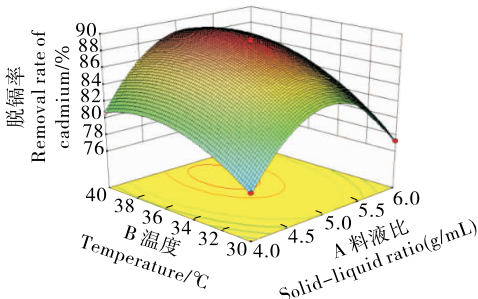
Table 4 Variance analysis of regression model

方差来源	自由度	离均差平方和	均方	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值	显著性
模型	9	440.00	48.89	296.23	<0.000 1	* *
A	1	2.65	2.65	16.03	0.005 2	*
B	1	44.84	44.84	271.70	<0.000 1	* *
C	1	36.38	36.38	220.44	<0.000 1	* *
AB	1	0.39	0.39	2.37	0.167 8	
AC	1	28.78	8.78	174.41	<0.000 1	* *
BC	1	11.19	11.19	67.80	<0.000 1	* *
A ²	1	211.58	211.58	1282.03	<0.000 1	* *
B ²	1	29.32	29.32	177.65	<0.000 1	* *
C ²	1	48.78	48.78	295.58	<0.000 1	* *
残差	7	1.16	0.17			
失拟项	3	0.85	0.28	3.68	0.120 3	不显著
净误差	4	0.31	0.077			
总误差	16	441.15				

[†] * * 表示 *P*<0.01,差异极显著; * 表示 *P*<0.05,差异显著。



(a) 等高线图



(b) 曲面图

图 7 料液比和温度交互影响脱镉率的等高线图及曲面图

Figure 7 Response surface plot and its corresponding contour plot showing the effects of solid-liquid ratio and temperature on removal rate of cadmium

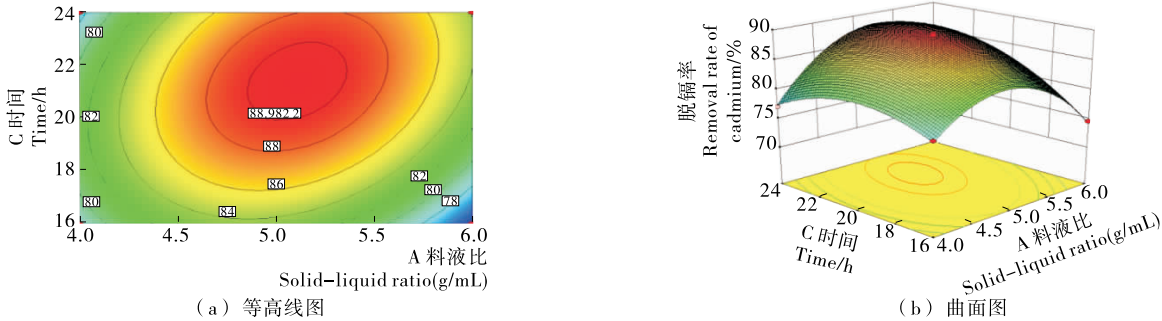


图 8 料液比和时间交互影响脱镉率的等高线图及曲面图

Figure 8 Response surface plot and its corresponding contour plot showing the effects of solid-liquid ratio and time on removal rate of cadmium

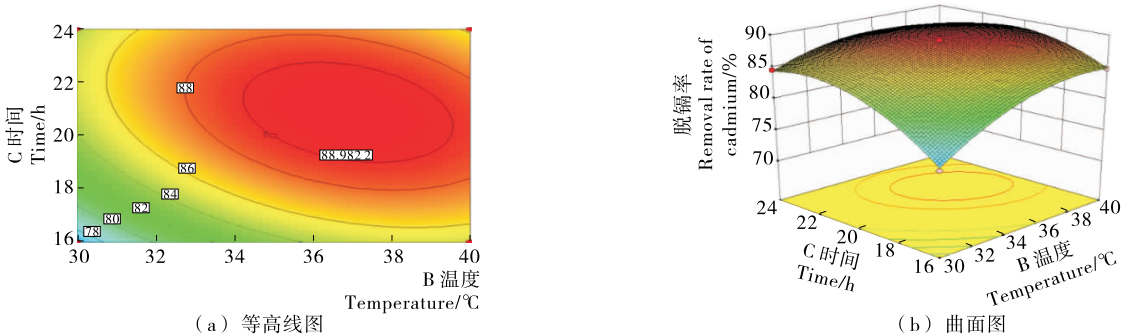


图 9 温度和时间交互影响脱镉率的等高线图及曲面图

Figure 9 Response surface plot and its corresponding contour plot showing the effects of temperature and time on removal rate of cadmium

件为:料液比 1 : 5.1 (g/mL),温度 36.86 ℃,时间 21.04 h,在此条件下预测脱镉率为 89.736 2%。为验证此方法的结果,并考虑实际可操作性,将最佳工艺参数修正为:料液比 1 : 5 (g/mL),温度 37 ℃,时间 21 h。并进行 3 次平行实验,脱镉率分别为 89.85%,90.01%,90.08%。实际脱镉率平均值为 89.98%,与模型拟合良好,说明该模型能够较好地预测大米发酵脱镉的效果。

3 结论

本试验对混菌发酵的脱镉效果进行了研究,发现混菌发酵的脱镉效果明显比单菌纯种发酵的效果好,脱镉率最高菌株组合即罗伊氏乳杆菌+发酵乳杆菌+植物乳杆菌(体积比 1 : 1 : 1)。通过响应面优化了乳酸菌混合发酵消减大米中镉的工艺条件为:大米目数 40 目,接种量 3%,料液比 1 : 5 (g/mL),温度 37 ℃,时间 21 h,在此工艺条件下脱镉率可达到 89.98%,与模型预测值 89.736 2%相近。空白组未进行发酵的大米镉脱除率仅为 4.38%。

本研究虽获得了较好的脱镉效果,但其脱镉机制还有待进一步研究。近年来,关于微生物脱除重金属的研究尚处于起步阶段。为了加速微生物脱镉技术在大米脱镉中的应用,还需要进一步了解脱镉菌株的生理特征,代谢产物对脱镉率的影响,以及各种发酵参数之间的关系。进一步优化工艺条件,尽可能地提高脱镉菌种的利用效率。

参考文献

[1] 郑陶,李廷轩,张锡洲,等.水稻镉高积累品种对镉的富集特性

[J]. 中国农业科学, 2013, 46(7): 1 492-1 500.

[2] 魏益民,魏帅,郭波莉,等.含镉稻米的分布及治理技术概述[J].食品科学技术学报, 2013, 31(2): 1-6.

[3] 田阳. 稻米加工技术对产品镉含量的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2013: 11-14.

[4] 刘晶,任佳丽,林亲录,等.大米浸泡过程中重金属迁移规律研究[J].食品与机械, 2013, 29(5): 66-67.

[5] 彭志兵,莫逆,杨学文.乳酸浸提去除大米粉中镉的研究[J].粮食科技与经济, 2016, 41(5): 39-42.

[6] 许艳霞,倪小英,袁毅,等.溶剂浸提技术消减稻米中镉含量[J].粮食科技与经济, 2015, 40(5): 36-39.

[7] 张丽娜,解万翠,杨锡洪,等.微生物法脱除重金属技术的研究进展[J].食品工业科技, 2015(24): 356-359.

[8] 周显青,李亚军,张玉荣.不同微生物发酵对大米理化特性及米粉食味品质的影响[J].河南工业大学学报:自然科学版, 2010, 31(1): 4-8.

[9] HALTTUNEN T, SALMINEN S, TAHVONEN R. Rapid removal of lead and cadmium from water by specific lactic acid bacteria[J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 114(1): 30-35.

[10] 傅亚平,廖卢艳,刘阳,等.乳酸菌发酵技术脱除大米粉中镉的工艺优化[J].农业工程学报, 2015, 31(6): 319-326.

[11] BADER J, MASTGERLACH E, POPOVIC M K, et al. Relevance of microbial coculture fermentations in biotechnology[J]. Journal of Applied Microbiology, 2010, 109(2): 371-87.

[12] PETTIT R K. Mixed fermentation for natural product drug discovery[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2009, 83(1): 19-25.

酸、挥发酯增高;16%,20%组,亚硝酸盐峰迟于其余 3 组,且峰值更低;挥发酸含量先上升后下降;14%,18%组,蛋白质分解成氨基酸的效率高于其余 3 组;发酵豇豆硬度、胶黏性、咀嚼性,基本呈先下降后上升的趋势;感官评定结果表明,水分添加量过低、过高,都对产品感官和品质有不利影响。单从水分来看,添加 14%~16%的水能保证产品品质较好,发酵 30 d 后,符合绿色食品的要求(4 mg/kg)。

本试验对干豇豆的发酵条件进行了初步试验,在其他条件一定时,发现水分对发酵结果起到了一定的影响。但豇豆的其它发酵条件仍需进一步的探索。

参考文献

[1] 罗铭泳,姚詹武,陈东康,等. 豇豆的营养成分分析及保健功能[J]. 中国果菜, 2006(2): 40-40.

[2] 程小兵,熊建华. 豇豆的贮藏和脆片加工技术[J]. 中国果菜, 2017(1): 8-10.

[3] XIONG Tao, SONG Su-hua, HUANG Xu-hui, et al. Screening and identification of functional lactobacillus specific for vegetable fermentation[J]. Journal of Food Science, 2013, 78(1): M84-M89.

[4] SHARMA V, MISHRA H N. Fermentation of vegetable juice mixture by probiotic lactic acid bacteria[J]. Nutra Foods, 2013, 12(1): 17-22.

[5] KETS E, TEUNISSEN P, BONT J D. Effect of compatible solutes on survival of lactic acid bacteria subjected to drying[J]. Applied & Environmental Microbiology, 1996, 62(1): 259-261.

[6] BARBOSA J, BORGES S, TEIXEIRA P. Effect of different conditions of growth and storage on the cell counts of two lactic acid bacteria after spray drying in orange juice[J]. Beverages, 2016, 2(2): 8.

[7] 李雨枫,谢靓,蒋立文,等. 不同发酵工艺对酸豆角品质的影响[J]. 中国酿造, 2015, 34(2): 64-67.

[8] 谭亦成,谭兴和,刘甜甜. 腌制方法对酸豆角质量的影响[J]. 食品与机械, 2011, 27(4): 32-34.

[9] 汤春兰,杨文珍. 电位滴定法测定食品中游离氨基酸[J]. 天津化工, 1999(3): 35-37.

[10] 郭秀兰,唐仁勇,刘达玉,等. 盐分腌制对大头菜滋味、质构和挥发性成分的影响[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(1): 51-54.

[11] 张婷,杨波,罗瑞明,等. 苦苦菜发酵过程中主要发酵菌种及滋味物质的变化[J]. 食品与机械, 2015, 31(3): 23-27.

[12] DI C R, CODA R, DE A M, et al. Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation[J]. Food Microbiology, 2013, 33(1): 1-10.

[13] 胡博涵,吴晖,赖富饶,等. 耐盐乳酸菌的筛选及其在剁辣椒发酵中的应用[J]. 食品与机械, 2014, 30(1): 51-54.

[14] 陈兵,田波,原韬,等. 酸菜发酵液中抑菌物质的提取与鉴定[J]. 食品与机械, 2011, 27(5): 123-125.

[15] 何淑玲. 泡菜发酵过程中亚硝酸盐生成和降解机理的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2006: 1-45.

[16] 张锐,吴祖芳,沈锡权,等. 榨菜低盐腌制过程的微生物群落结构与动态分析[J]. 中国食品学报, 2011, 11(3): 175-180.

[17] CHEN Xuan, ZHANG Yan, CHEN Yu-long, et al. Research progress on the formation mechanism and analysis technics of flavor in fermented vegetables[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science & Technology, 2014, 14(2): 217-224.

[18] 钟敏,宁正祥. 辣椒自然乳酸发酵中的变化及影响发酵质量的几个因素[J]. 食品与机械, 2001(6): 13-14.

[19] 李胜元,谷向春,肖冬光. 荔枝酒发酵过程中挥发酸含量的控制[J]. 酿酒科技, 2007(2): 65-66.

[20] 陈弦,张雁,陈于陇,等. 发酵蔬菜风味形成机制及其分析技术的研究进展[J]. 中国食品学报, 2014, 14(2): 217-224.

[21] WU Jin-hai. Influence of changes of fermentation ways on texture and anti-oxidation performance of vegetable-pickle with flavor of garlic[J]. Food & Fermentation Industries, 2007, 33(12): 26-28.

(上接第 49 页)

[13] 徐德阳,王莉莉,杜春梅. 微生物共培养技术的研究进展[J]. 微生物学报, 2015, 55(9): 1 089-1 096.

[14] 雷群英. 大米中镉的微生物法脱除及其应用品质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2015: 11-19.

[15] 王锋,鲁战会,薛文通,等. 浸泡发酵大米成分的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2003(1): 11-14.

[16] 国家卫生计生委. GB 5009.15—2014 食品中镉的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.

[17] 赵德安. 混合发酵与纯种发酵[J]. 中国调味品, 2005(3): 3-8.

[18] BERTRAND S, BOHNI N, SCHNEE S, et al. Metabolite induction via microorganism co-culture: a potential way to enhance chemical diversity for drug discovery[J]. Biotechnology Advances, 2014, 32(6): 1 180.

[19] 傅亚平,吴卫国,王巨涛. 乳酸菌发酵脱除大米粉中重金属镉的机理[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(3): 104-108.

[20] 曾晓希. 抗重金属微生物的筛选及其抗镉机理和镉吸附特性研究[D]. 长沙: 中南大学, 2010: 61-69.

[21] 冯镇,张兰威. 乳酸菌发生自溶的影响因素研究[J]. 中国乳品工业, 2003, 31(3): 7-9.

[22] 王婷婷. 微生物对重金属的吸附作用及其影响因素[J]. 生物学教学, 2012, 37(11): 9-10.

[23] 张海欧,周维芝,马玉洪,等. 微生物胞外聚合物对重金属镉的解毒作用及红外光谱分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2013, 33(11): 3 041-3 043.

[24] 杨彦平. 三株嗜酸性微生物表面质子及重金属吸附行为研究[D]. 长沙: 中南大学, 2013: 31-77.

[25] KINOSHITA H, SOHMA Y, OHTAKE F, et al. Biosorption of heavy metals by lactic acid bacteria and identification of mercury binding protein[J]. Research in Microbiology, 2013, 164(7): 701.

[26] GHORBANI F, YOUNESI H, GHASEMPOURI S M, et al. Application of response surface methodology for optimization of cadmium biosorption in an aqueous solution by Saccharomyces cerevisiae[J]. Chemical Engineering Journal, 2008, 145(2): 267-275.