

一种生物防腐剂在呕吐毒素水提液中的应用

金晓林¹, 高晓芳², 张东升^{3*}

(1. 盐城市粮油质量监测中心, 江苏盐城 224001; 2. 无锡市惠山区环境监测站, 江苏无锡 214174; 3. 无锡创谱生物科技有限公司, 江苏无锡 214122)

摘要 [目的]考察一种生物防腐剂 ProClin 300 在小麦、玉米及饲料水提基质液中的抑菌效果和对呕吐毒素(DON)的测定影响。[方法]采用微生物挑战性试验验证 ProClin 300 对 5 种指示菌的抑菌能力,同时采用免疫亲和柱净化-高效液相色谱法(IAC-HPLC)测定水提液中 DON 的含量。[结果]不同水提基质液中 ProClin 300 添加量为 0.02% ~ 0.10%,分别于(28±1)℃(霉菌试验)及(37±1)℃(细菌试验)下放置 21 d,7 d 后均无菌落生长显示含 0.02%及以上防腐剂对 5 种指示菌有杀菌作用,且呕吐毒素含量均未发生显著变化($P>0.05$)。[结论]ProClin 300 能有效抑菌,对呕吐毒素检测无影响,可延长水提样本液的保存期,有利于缩短阳性样本的前处理周期。

关键词 生物防腐剂;呕吐毒素;提取液;抑菌

中图分类号 TS 202.3 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2020)08-0191-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.08.047



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Application of Biological Preservative in Water Extract of Deoxynivalenol

JIN Xiao-lin¹, GAO Xiao-fang², ZHANG Dong-sheng³ (1. Yancheng Grain and Oil Quality Monitoring Centre, Yancheng, Jiangsu 224001; 2. Wuxi Huishan District Environmental Monitoring Station, Wuxi, Jiangsu 214174; 3. Wuxi Chuangpu Biotechnology Co., Ltd., Wuxi, Jiangsu 214122)

Abstract [Objective] The research aimed to investigate the bacteriostatic effect of ProClin 300, a biological preservative, in wheat, corn and feed water extract matrix solution, and its influence on the determination of deoxynivalenol (DON). [Method] Microbial challenge test was used to verify the bacteriostatic ability of ProClin 300 against five kinds of indicator bacteria, and the content of DON in water extract was determined by high performance liquid chromatographic method with immunoaffinity column clean-up. [Result] The amount of ProClin 300 added to different water-extracted matrix solutions was 0.02%–0.10%, and placed at 28±1 °C (mould test) and 37±1 °C (bacteria test) for 21 days respectively. There was no colony growth on the plate after 7 days, the results showed that the preservative containing 0.02% or more had bactericidal effect on five kinds of indicator bacteria, and the content of DON did not change significantly ($P>0.05$). [Conclusion] ProClin 300 can effectively inhibit bacteria, has no effect on the detection of DON, and can prolong the storage period of water extracted sample solution.

Key words Biological preservative; Deoxynivalenol (DON); Extract; Bacteriostat

脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON),又称呕吐毒素,是由小麦赤霉病菌禾谷镰刀菌复合群产生一种单端孢霉烯族真菌毒素^[1]。联合国粮农组织(FAO)和世界卫生组织(WHO)已将 DON 确定为最危险的自然发生食品污染物之一^[2],国际癌症研究中心(IARC)于 1993 年将其列为三类致癌物^[3]。小麦和玉米是我国最大的粮食经济作物,受气候的影响极易发生镰刀菌的侵染, DON 含量是当前食品安全、粮食安全及饲料安全风险监测中最重要卫生指标之一。

仅 2016 年江苏省小麦粉中 DON 专项监测的样本数量达 160 份,2018 年全国饲料质量安全监测的各类饲料产品 7 424 批次,2019 年全国政策性粮食库存数量和质量大清查中,仅江苏省涉及 DON 检测的样本数量多达 1 000 份^[4-6]。面对集中庞大的检测样本,通常采用快检初筛,阳性样本再经高效液相色谱仪确认^[7],但繁琐的二次称量、提取、离心等工作必不可少,因 DON 易溶于水,常采用水提取,若不及时冷藏处理,样本提取液极易发生腐败变质影响后续检测,能否保持水提样本的基质不变化,便于后续液相分析前的富集净化,这对于缩短检测周期具有重要的现实意义。

新一代高效生物防腐剂 ProClin,因具有广谱抗菌性、作用速度快、使用剂量少、pH 适用范围广(pH 2.0~8.5)、化学稳定性好,毒性远低于硫柳汞、叠氮化钠等同类产品,且与水

可以任意比混合等特点,被 Supelco 公司广泛应用于体外诊断试剂的防腐中^[8-9]。ProClin 300 主要活性成分是 2-甲基-4-异噻唑啉-3-酮和 5-氯-2-甲基-4-异噻唑啉-3-酮,在与细胞膜接触后可渗透到膜内抑制胞内酶的活性,降低胞内能量水平,从而抑制细菌、真菌和酵母等微生物的生长。为解决生物样本处理后保存期短的问题,笔者尝试在小麦、玉米及成品饲料的水提溶液中添加不同浓度的 ProClin 300, (28±1)℃、(37±1)℃下放置 21 d,考察其抑菌效果和对 DON 含量测定(免疫亲和柱净化-高效液相色谱法)的影响,评价其在样本处理液中的防腐能力和对净化过程中抗原、抗体的结合影响。

1 材料与方法**1.1 试验材料**

1.1.1 材料。 DON 标准品[100.7 μg/mL,纯度≥98%,GBW(E)100304,溶剂乙腈],购自国家粮食科学研究院。ProClin 300,购自上海闪锦分子生物。甲醇、乙腈(色谱纯)购自德国 Merck 公司。其余试剂均为分析纯;试验用水均为超纯水。小麦、玉米来源盐城地方粮食储备库。饲料样本,由江苏省兽药饲料畜产品质量安全检测中心提供。白色念珠菌(CMCC(F)98001)、大肠埃希氏菌(ATCC8739)、金黄色葡萄球菌(CMCC(B)26003)、铜绿假单胞菌(CMCC(B)10104)、黑曲霉(CMCC(F)98003)均购自广东省食品微生物安全工程技术研究开发中心菌种保藏中心。大豆酪蛋白琼脂培养基、沙氏葡萄糖琼脂培养基、营养琼脂斜面培养基,均购自广东环

作者简介 金晓林(1962-),男,江苏盐城人,高级工程师,从事食品安全与品控研究。*通信作者,副研究员,从事食品安全与营养研究。

收稿日期 2019-01-19

凯微生物科技。沙氏培养基斜面,购自杭州滨和微生物试剂有限公司。

1.1.2 仪器。BCM-1000A 生物洁净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;GHP-9270 生化培养箱,上海一恒;T6 新悦可见分光光度计,北京普析通用;LC-20AT 液相色谱仪(含 SPD-20A 紫外检测器),日本岛津;Amethyst C₁₈-H 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),美国赛芬;AP-01P 型真空泵,天津奥特赛恩斯;无菌溶剂过滤器,美国康宁;934-AH 玻璃纤维滤膜(直径 11 cm),英国 Whatman;DON 免疫亲和柱(柱容量≥1 200 ng/支,交叉反应:抗 DON 单抗与 DON、15-Ac-DON、3-Ac-DON 及 NIV 的交叉反应分别为 100%、220%、<0.2%、<0.1%),无锡创谱生物科技提供。

1.2 试验方法

1.2.1 样本处理液的制备。参照 GB 5009.111—2016、GB 4789.15—2016 及 GB/T 30956—2014^[10-12] 前处理方法,略有改动。平行称取粉碎的小麦、玉米及饲料样本 25.0 g 各 2 份于无菌含玻璃珠的三角瓶中,加无菌水 225 mL,振荡器往复振荡提取 60 min,静置 20 min。上清过 0.45 μm 无菌滤膜,合并平行滤液,每种样本分别取 20 mL 于 50 mL 无菌离心管中,共 3 组(细菌组、霉菌组、DON 组),每组设定不同添加浓度的 ProClin 300(0.02%、0.05%、0.10%),4 °C 备用。

1.2.2 微生物挑战性试验^[13]。

1.2.2.1 试验用菌液的配制。试验前各取 1 株标准菌株分别接种到普通斜面培养基上,细菌所需温度(37±1)°C,恒温培养 48 h,霉菌所需温度(28±1)°C,培养 6 d,直至产生孢子。用少量的无菌生理盐水分别将菌苔洗出,充分摇匀,离心,经适量无菌水稀释分别制成 10⁹ CFU/mL 细菌悬液(以 650 nm 对应的吸光度 0.15 时的菌液浓度约 10⁸ CFU/mL 进行推测^[14])以及 10⁷ CFU/mL 酵母和霉菌悬液(以 650 nm 对应的吸光度 1.0 时的菌液浓度约 10⁷ CFU/mL 进行推测),混合细

菌量比例采用体积 1:1:1,霉菌和酵母混合比例也采用体积比 1:1。置 4 °C 冰箱冷藏备用,且 24 h 内添加使用。以平板计数的浓度为横坐标、对应 650 nm 下的吸光度为纵坐标,考察混合菌悬液的线性关系。

1.2.2.2 挑战试验。细菌组中加入 0.2 mL 细菌混悬液,霉菌组加入 0.2 mL 的霉菌和酵母孢子混悬液,使得受检样本最终含菌量分别达 10⁷、10⁵ CFU/mL,充分混匀。分别将样品置于(37±1)°C(细菌培养)及(28±1)°C(霉菌及酵母)条件下,在接菌后 0、7、14、21 d 取样进行分析,每次取 1.0 mL 进行平板计数,以微生物浓度的对数值进行记录。

1.2.3 DON 高效液相色谱测定。取样时间同“1.2.2”,取 DON 组样本 3 mL,PBS(0.01 mol/L,pH 7.4)稀释至 30 mL,过玻璃纤维滤纸,取 20 mL 过免疫亲和柱净化,净化过程如 GB 5009.111—2016 及 GB/T 30956—2014 所描述。2.0 mL 色谱纯甲醇洗脱,氮气挥干,1 mL 流动相复溶,过 0.22 μm 有机相滤膜后 HPLC 测定。色谱条件:Amethyst C₁₈-H 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),岛津 SPD-20A 紫外检测器,检测波长 220 nm,流动相乙腈-水(16:84),等度洗脱,流速 1.0 mL/min;柱温箱 35 °C,进样体积 20 μL。

1.3 统计分析 应用 SPSS 16.0 软件,所有数据采用均值±标准差($\bar{x}\pm S$)表示,数据对比采取新复极差分析, $P>0.05$,差异无统计学意义,不同小写字母具有显著性差异($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 不同菌吸光度与菌液浓度的线性关系 从图 1a 可以看出,3 种致病菌悬液的混合,浓度在 0.13×10⁹~0.84×10⁹ CFU/mL 时,吸光度与浓度呈良好的线性关系,且 1.0×10⁸ CFU/mL 的混悬液对应的吸光度在 0.29,这与董自艳等^[14] 的研究报道基本一致。由于霉菌与酵母的个体直径远大于细菌,相同浓度下,其吸光度要高于细菌,由图 1b 可以发现 0.02×10⁷~0.20×10⁷ CFU/mL 吸光度与浓度决定系数 R² 达 0.998 2。

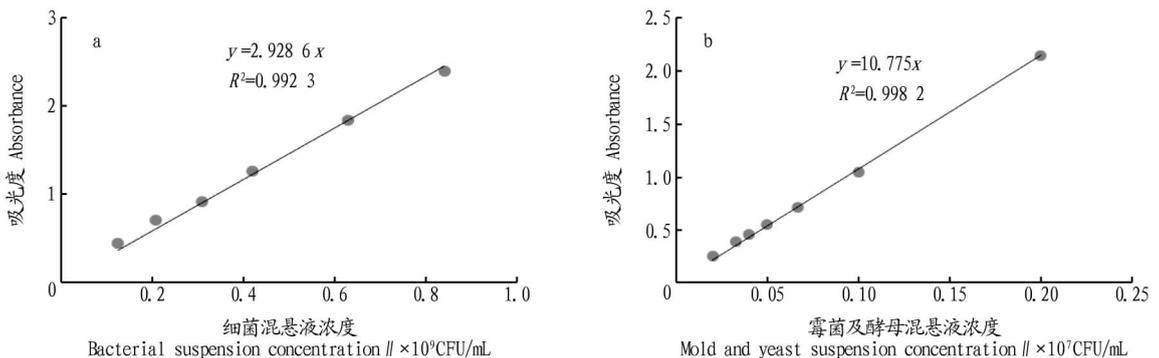


图 1 不同混悬液的浓度与吸光度的线性关系

Fig.1 Linear relationship between concentration of different suspensions and absorbance

2.2 不同防腐剂量对细菌及霉菌挑战性试验 从表 1 的抑菌效果来说,ProClin 300 对于霉菌及细菌的抑制效果非常好,7 d 后不同浓度的添加均无菌落生长(细菌的稀释度为 0.1 和 0.01,霉菌为原液),展示了低剂量具有较强的杀菌能力。小麦及玉米为农产品,收储过程未对带菌量进行限量要求,饲料的生产过程包括热杀菌过程,但是饲料的水提液营养极为丰富,虽然初始浓度较低,若不添加防腐剂,很容易腐

败变质。从饲料卫生指标^[15] 中可知,饲料原料的细菌限量要求小于 2×10⁶ CFU/g,霉菌限量要求小于 4×10⁴ CFU/g。试验的添加浓度换算成固体浓度略高于限量值。

按照化妆品、盥洗用品与香料协会(CTFA)标准要求^[16],在第 7 天时,细菌及霉菌数分别下降 99.9%、90.0%,且 28 d 内呈现连续下降的趋势,则防腐效果优良。该试验结果显示,ProClin 300 添加量≥0.02%时,7 d 后细菌、霉菌对数值分

表 1 不同防腐剂量对细菌和霉菌挑战性试验随时间的变化

Table 1 Time-varying challenge tests of bacteria and mold with different preservative doses

样本 Sample	防腐剂添加量 Preservatives added//%	细菌(对数值计) Bacteria (logarithmic meter)				霉菌/酵母(对数值计) Mold /Yeast (logarithm meter)			
		0	7 d	14 d	21 d	0	7 d	14 d	21 d
小麦 Wheat	0.02	6.80±0.04 a	<1 a	—	—	4.19±0.04 a	—	—	—
	0.05	6.83±0.07 a	<1 a	—	—	4.40±0.05 a	—	—	—
	0.10	6.80±0.05 a	<1 a	—	—	4.15±0.03 a	—	—	—
玉米 Corn	0.02	7.18±0.04 a	<1 a	—	—	4.30±0.03 a	—	—	—
	0.05	7.02±0.05 a	<1 a	—	—	4.22±0.06 a	—	—	—
	0.10	6.89±0.03 a	<1 a	—	—	4.14±0.05 a	—	—	—
配合饲料 Com- pound feed	0.02	7.13±0.02 a	<1 a	—	—	4.35±0.07 a	—	—	—
	0.05	7.05±0.05 a	<1 a	—	—	4.25±0.04 a	—	—	—
	0.10	6.99±0.03 a	<1 a	—	—	4.40±0.07 a	—	—	—

注: 同列不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$); "—" 表示原液测试无菌落生长

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$); "—" means no colony growth during stock solution test

别下降至 1 和 0, 通过了挑战试验。对比林竹^[17] 的研究报道, 其固体化妆品细菌和霉菌混合试验菌添加浓度分别为 10^6 、 10^5 CFU/g, 优选的防腐体系苯氧乙醇 (0.5%) 与甲基异噻唑啉酮 (0.06%) 的结果显示 7 d 细菌对数值下降了 2, 霉菌对数值下降了 4; 从固体换算至液体中的防腐剂浓度在 0.050% 和 0.006%, 抑制效果的差异主要受复合的防腐体系及浓度影响。

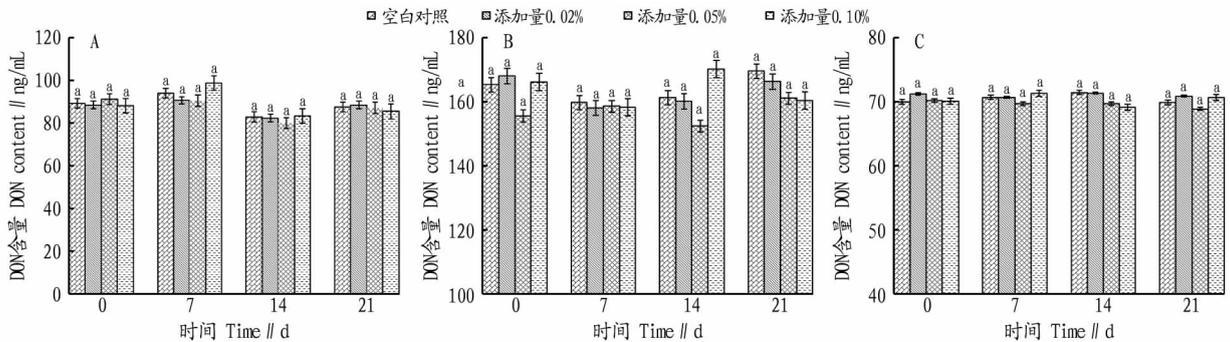
2.3 不同防腐剂量下 DON 含量检测 在不添加防腐剂的空白对照组, 研究人员发现, 水提液在 24 h 后, 已经发生腐败变质, 48 h 后溶液的 pH 达 4.5~5.0, 为防止酸性溶液影响抗原抗体的结合, 采用 PBS 缓冲溶液进行稀释后过免疫亲和柱, 保证抗原抗体的结合。对不同样本第 21 天添加不同防腐剂量下的 DON 含量 (表 2) 进行方差分析, 发现 $F(27.86) > F_{0.05}(2.30)$, 表明不同防腐剂量间无显著差异。图 2 则说明在不同样本的水提液中, 未添加防腐剂的空白对照和添加防

腐剂在连续 21 d 下的 DON 含量无显著差异 ($P>0.05$)。但腐败变质的气味会无法使分析人员愉快地进行工作。

表 2 第 21 天添加不同防腐剂量下的 DON 含量 ($n=3$)

Table 2 DON content with different antiseptic doses added on day 21

样本 Sample	防腐剂量 Antiseptic dose//%	DON ng/mL
小麦 Wheat	0(空白对照)	88.37±0.30
	0.02	87.58±0.79
	0.05	86.68±0.78
	0.10	89.34±0.59
玉米 Corn	0(空白对照)	163.21±0.97
	0.02	162.24±0.83
	0.05	156.57±0.96
	0.10	163.85±0.97
饲料 Feed	0(空白对照)	70.43±0.06
	0.02	70.50±0.13
	0.05	70.42±0.39
	0.10	70.02±0.13



注: 不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)

Note: Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$)

图 2 小麦 (A)、玉米 (B) 和饲料 (C) 3 种基质添加不同防腐剂量 DON 含量随时间的变化

Fig.2 Variation of DON content in wheat (A), corn (B) and feed (C) with different preservative doses over time

3 讨论与结论

评价一种生物防腐剂的效力通常需筛选最适 pH 和初始菌量。吴慧清等^[18] 研究报道在 pH 6.0 以下及起始菌悬液浓度均低的情况下, 壳聚糖复合生物防腐剂对于 5 种指示菌抑菌的效果最好, 但考虑到样本后期免疫亲和柱的净化, 需磷酸盐缓冲溶液 (0.01 mol/L PBS, pH 7.4) 稀释至 pH 7~8, 以保证抗体有效捕获提取液中的 DON, 即使按照 5 倍稀释来说, 净化 2 mL 的原液实际上过柱体积为 10 mL, 如此将延长净化处理的时间。对于防腐剂的添加量理应随初始带菌量的增

加而增加, 为保证 ProClin 300 添加浓度的适用性, 研究人员进行了 50 份小麦、20 份玉米及 30 份仔猪配合饲料的初始菌落总数、霉菌和酵母测定发现, 原始样本菌落总数均小于 10^5 CFU/mL, 霉菌和酵母含量均小于 10^5 CFU/mL, 与狄元冉等^[19]、高延玲等^[20] 报道生物饲料添加剂及饲料中致病微生物的污染水平基本一致。

从免疫亲和净化原理^[21] 来看, 水提液中的 DON 通过层析柱, 与固定在琼脂糖凝胶上的单抗发生抗原抗体的结合反应, 淋洗环节可有效地去除包括防腐剂在内的杂质。已有研

究报道^[22-23],ProClin 不会对诊断试剂中的关键酶如辣根过氧化物酶(HRP)及碱性磷酸酶(AP)与底物的结合产生影响,研究人员在对比含DON的PBS溶液(添加ProClin 300至0.5%,对照组ProClin 300浓度0),过免疫亲和柱净化-液相测定后发现,相同浓度峰面积差异<5%,再次表明高浓度ProClin 300存在下对于抗DON抗体与抗原的结合反应没有影响。

该试验结果表明,添加≥0.02% ProClin 300的水提基质液可常温放置21 d,为阳性样本后续过免疫亲和柱净化,减少了繁琐的称量、提取、离心等前处理过程。添加了ProClin 300的样本提取液冷藏状态下存储时间更长,但氧化带来的风险仍需关注。另外,对于其他霉菌毒素的提取液(一定浓度的甲醇或乙腈溶液)是否有作用,还需进一步的探索。

参考文献

- [1] 史建荣,刘馨,仇剑波,等.小麦中镰刀菌毒素脱氧雪腐镰刀菌烯醇污染现状与防控研究进展[J].中国农业科学,2014,47(18):3641-3654.
- [2] 武传欣,程小丽,孙伟.粮食中呕吐毒素的研究进展[J].粮食加工,2016,41(4):48-51.
- [3] 常敬华,赵月菊,邢福国,等.脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)的毒性及其生物转化研究进展[J].食品与发酵工业,2014,40(4):101-107.
- [4] 关于印发《2016年江苏省小麦粉中脱氧雪腐镰刀菌烯醇专项监测方案》的通知[A/OL].(2016-08-10)[2016-08-10]http://wjw.zhenjiang.gov.cn/ywgl/swjd/gzdt/201608/t20160810_1760596.htm
- [5] 国家发展和改革委员会,国家粮食和物资储备局,财政部,等.关于印发全国政策性粮食库存数量和质量大清查实施方案的通知[A/OL].(2019-02-12)[2019-02-12].http://www.cofeed.com/soybean/19022614555.html.
- [6] 农业农村部办公厅关于2018年全国饲料质量安全监测结果的通报[A/OL].(2019-04-18)[2019-04-18].http://www.moa.gov.cn/govpublic/XMYS/201904/t20190424_6212564.htm.
- [7] 季一顺,胡斌,周红梅,等.液相色谱检测脱氧雪腐镰刀菌烯醇前处理过

- 程的优化[J].河南工业大学学报(自然科学版),2011,32(3):56-58.
- [8] PROCLIN 系列防腐剂[J].生命科学仪器,2004(1):23-24.
- [9] MURAYAMA H, MATSUURA N, KAWAMURA T, et al. A sensitive radioimmunoassay of insulin autoantibody: Reduction of non-specific binding of [¹²⁵I]insulin[J]. Journal of autoimmunity, 2006, 26(2):127-132.
- [10] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局.食品安全国家标准 食品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇及其乙酰化衍生物的测定:GB 5009.111—2016[S].北京:中国标准出版社,2017.
- [11] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数:GB 4789.15—2016[S].北京:中国标准出版社,2017.
- [12] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会.饲料中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的测定 免疫亲和柱净化-高效液相色谱法:GB/T 30956—2014[S].北京:中国标准出版社,2015.
- [13] 熊家娟.药品中防腐剂的抗菌效力测定与评价[J].中国药事,2005,19(10):592-594.
- [14] 董白艳,戴颀,马仕洪,等.紫外-可见分光光度法快速确定细菌菌液的浓度[J].中国药品标准,2014,15(2):120-121.
- [15] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会.饲料卫生标准:GB 13078—2017[S].北京:中国标准出版社,2017.
- [16] 张怡,王珊珊,龚盛昭,等.几种复合防腐剂在化妆品中的防腐效果及评价[J].广东化工,2014,41(6):78-80.
- [17] 林竹.婴儿洗类产品防腐剂抑菌效果及评价[J].北京日化,2015(4):44-46.
- [18] 吴慧清,吴清平,石立三,等.壳聚糖复合生物防腐剂的抑菌效果研究[J].食品科学,2007,28(10):112-117.
- [19] 狄元冉,李博,董鹏,等.生物饲料添加剂中微生物污染情况调查分析[J].饲料工业,2019,40(18):20-24.
- [20] 高延玲,张发旺,班付国,等.饲料中致病性微生物监测结果分析[J].上海畜牧兽医通讯,2013(1):18-19.
- [21] 袁艺,陆廷瑾,沈腾腾,等.免疫亲和柱的制备及在真菌毒素检测中应用的研究进展[J].食品工业科技,2013,34(24):396-400.
- [22] 邹建文.BSA 检测(ELISA)试剂盒的研制[D].咸宁:湖北科技学院,2019:22-29.
- [23] 黄倩云,吴思应,李慧,等.体外诊断试剂防腐剂的选择策略[J].生物技术通讯,2013,24(4):592-594.

(上接第190页)

留量为27.4mg/kg;利用SPSSV21.0软件进行统计分析,方差分析表明临渭区与蒲城县结果差异不显著,其他县区结果均差异显著,即二氧化硫本底值差异具有统计学意义。

3 结论与讨论

该研究表明,滴定法测定生姜中二氧化硫的重复性和回收率均相对较高,且操作相对简便,值得进行推广应用。选取的5个县区共50批次的生姜,排除人为硫磺熏蒸的前提下,均检出不同程度的二氧化硫残留,残留量为8.5~45.0 mg/kg,平均残留量达27.4 mg/kg,说明不同县区生姜中均存在二氧化硫的天然本底。经过对相关文献的查询,生姜中二氧化硫天然本底的存在主要来源于空气及土壤中的含硫物质,且因品种和栽培方式的差异同样会导致其累积二氧化硫的水平不同^[11]。所以以GB 2760—2014的限量值来判定新鲜生姜是否合格不一定适用。目前关于新鲜生姜中二氧化硫残留值鲜见报道,因采样、运输及储存等条件的限制,此次研究仅对渭南市5个县区的样品进行测定和分析,采样量、代表性和覆盖率均存在一定的局限性,对全省乃至全国的新鲜种植生姜中二氧化硫天然本底值有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] 袁观富,樊亚鸣,何芝洲,等.干姜及其提取物中二氧化硫的研究现状及

- 展望[J].中国调味品,2014,39(8):119-124.
- [2] 王成芳,赵于芳,王颖莉,姜葵,粉葛,白芷中二氧化硫残留量的检测分析[J].食品工程,2018(4):60-62.
- [3] 李时珍.本草纲目[M].北京:人民卫生出版社,2010:385-386.
- [4] 李雪莲,杨丽,陈鸿平,等.食品中亚硫酸盐研究进展[J].亚太传统医药,2015,11(3):34-37.
- [5] 李莉峰,徐立伟.生姜综合利用研究进展及前景分析[J].农业科技与装备,2011(7):17-19.
- [6] 万素英,李琳,王慧君.食品防腐与食品防腐剂[M].北京:中国轻工业出版社,1998:84-109.
- [7] 张静,马占玲,汪莹,等.食品中亚硫酸盐的毒性和检测方法综述[J].食品安全质量检测学报,2015,6(8):3211-3216.
- [8] 张帆.蒸馏滴定法测定食品中二氧化硫的研究[J].世界最新医学信息文摘,2019,19(13):49-50.
- [9] 温艳霞.二氧化硫在食品加工中的使用和安全现状分析[J].农产品加工,2018(9):73-74,78.
- [10] 胡桂仙,赖爱萍,袁玉伟,等.消费者膳食中二氧化硫残留的累积性风险评估[J].中国农业科学,2017,50(7):1317-1325.
- [11] 张倩勉,邓玉秀,刘星,等.香菇中二氧化硫本底值的研究[J].食品安全质量检测学报,2019,10(5):1325-1329.
- [12] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.食品安全国家标准 食品添加剂使用标准:GB 2760—2014[S].北京:中国标准出版社,2015.
- [13] STONYS D B. Determination of sulfur dioxide in foods by modified Monier-Williams distillation and polarographic detection[J]. J Assoc Anal Chem, 1987, 70(1): 114-117.
- [14] HOLAK W. In determination of sulfite in foods by differential pulse polarography[J]. Dev Food Sci, 1986, 12:711-721.
- [15] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.食品安全国家标准 食品中二氧化硫的测定:GB 5009.34—2016[S].北京:中国标准出版社,2017.