

黄曲霉毒素在粮食和食品中的危害及防治

摘要:粮油食品在贮存的过程中极易发霉,尤其是被黄曲霉污染而导致黄曲霉毒素超过国家标准。人食用含黄曲霉毒素超标的食品,会导致肝脏损伤甚至发生癌变。因此,采取有效措施防止粮油食品黄曲霉毒素的超标,是保证食品安全和减少经济损失的关键环节。

关键词:黄曲霉毒素(AFT);危害;检测方法;防治

目前,粮油食品的生物性污染问题随着食品质量问题而日益受到人们的普遍关注。真菌毒素的污染是导致食品污染的主要因素之一。据联合国粮农组织估计[1],全世界谷物供应25%受真菌毒素污染而不能食用。真菌毒素种类多,其中黄曲霉毒素是迄今发现污染农产品毒性最强的一类生物毒素,也是强致癌物,国家标准中对其有严格限定。因此掌握黄曲霉毒素检测方法和防治措施,对保障粮油食品质量安全尤为重要。

1 黄曲霉毒素产生

迄今为止,已发现黄曲霉毒素至少包含有黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2、M1、M2、P1、Q1、H1、GM、B2a、G2a 及毒醇等 20 种左右结构相似化合物[2],黄曲霉毒素 B1、B2、G1、G2、M1 及 M2 是粮食和食品中黄曲霉毒素

主要存在形式,其中黄曲霉毒素 B1 的毒性和致癌性最强。1993 年黄曲霉毒素被世界卫生组织(WHO)癌症研究机构划定为一类致癌物质[3],其作用的靶器官主要为肝脏,可引起人类和动物的肝脏病变和致癌,黄曲霉毒素是由黄曲霉、寄生曲霉、集蜂曲霉和溜曲霉等产生的具有生物活性二次代谢产物。几乎所有寄生曲霉均可产生 B 组和 G 组黄曲霉毒素,而黄曲霉则只有 50%菌株产生黄曲霉毒素,且只能产生 B 组黄曲霉毒素。

黄曲霉菌适宜生长温度为 12~42℃,相对湿度为 80%~85%。在 24~30℃之间,黄曲霉菌产毒量最高,在 48 h 内黄曲霉很快生长,当霉菌处于干燥、低温或与其它霉菌竞争应激情况时,就会产生黄曲霉毒素[4]。黄曲霉毒素对作物污染始于田间,收获后霉菌爆发和毒素污染通常是由于不良储藏条件和过高含水量所引起。黄曲霉毒素的污染及其程度因地理和季节因素以及农作物生长、收割储存的条件而异。潮湿和高温地区更适合于毒素的产生。产生黄曲霉毒素的霉菌可在各种各样的食物中生长,尤其是植物性食物,其中玉米、花生、棉籽等最易受黄曲霉毒素污染,果仁类也常受其污染。一般来说,谷物水分在 14%以上(花生水分在 9%以上)最适合黄曲霉繁殖和生长。

2 黄曲霉毒素理化性质

黄曲霉尽管种类繁多,但它们基本结构中都有二呋喃环和氧杂萘邻酮(又名香豆素),前者为其毒性结构,后者可能于其致癌有关。黄曲霉毒素难溶于水、己烷、乙醚和石油醚,易溶于甲醇、乙醇、氯仿、乙腈和二甲基甲酰胺等有机溶剂,分子量为 312~346,熔点为 200~300℃。黄曲霉毒素对光、热和酸稳定,耐高温,通常加热处理对其破坏很小,只有在熔点温度下才发生分解。黄曲霉毒素遇碱能迅速分解,pH 为 9~10 时迅速分解成几乎无毒的盐,但此反应可逆,即在酸性条件下有复原。因此在食品去毒时可利用这一化学反应。毒素纯品在高浓度下稳定,低浓度的纯毒素在紫外辐射易分解。5%的次氯酸钠溶液、Cl₂、NH₃、H₂O₂ 及 SO₂ 等均可与黄曲霉毒素起化学反应破坏其毒性。在自然条件下,食品中污染的黄曲霉毒素稳定性很强。黄曲霉毒素 B1 严重污染的稻谷,室温下自然存放已有 20 多年,毒性含量逐渐降低,但仍可检出黄曲霉毒素 B1。

3 黄曲霉毒素的分布

黄曲霉毒素存在于土壤、动植物、各种坚果、特别是花生和核桃中。在大豆、稻谷、玉米、通心粉、调味品、牛奶及奶制品、食用油等制品中也经常发现黄曲霉毒素。一般在热带和亚热带地区,食品中黄曲霉

毒素的检出率比较高,在我国,产生黄曲霉毒素的产毒菌种主要为黄曲霉,1980年从17个省粮食中分离了黄曲霉1660株,广西地区的产毒黄曲霉最多,检出率为58%。华中、华南、华北产毒株多,产毒量也大,东北、西北地区较少。

4 黄曲霉毒素危害性

黄曲霉毒素是一类由黄曲霉和寄生曲霉等霉菌代谢产生的生物毒素,其毒性非常强,其毒性相当于氰化钾的10倍,砒霜的68倍,敌敌畏的100倍,对人和动物肝脏、肾脏有很大危害。人类摄入被该毒素污染食品可诱发原发性肝癌、胃癌及肺癌等,致癌所需时间最短仅为24周;乙肝病毒携带者接触黄曲霉毒素后,引发肝癌的几率是一般人的60倍。由于黄曲霉毒素可以在农作物生长、收获、晾干、加工和储藏的任何环节,因此极易污染花生、玉米、大米、大

豆、食用植物油、饼粕及饲料等农产品,并由此直接进入食物链,造成淀粉类食品、动物性食品与肉、蛋、奶等的连锁污染。目前甚至在油料种子、干果、调味品、发酵产品、中药材及酒等农产品为原料的加工产品中发现了黄曲霉毒素。

4.1 引起急慢性中毒

黄曲霉毒素是剧毒物质,属肝毒素,除抑制DNA、RNA合成外,也抑制肝脏蛋白质合成。黄曲霉毒素引起人类急性中毒事件,国内外均有许多报道,我国台湾省有3家农民因食用黄曲霉毒素含量高(225.9!g/kg)的发霉大米,导致39人中有25人中毒,其中有3名儿童死亡。1974年印度两个邦中有200个村庄暴发黄曲霉中毒性肝炎,397人发病,死亡106人,中毒患者都食用过霉变的玉米(黄曲霉毒素含量高达6.25~15.6 mg/kg)。

4.2 致癌性

黄曲霉毒素有极强致癌性,尤其是B1的致癌性最强,其致癌力是奶油黄的900倍,比二甲基亚硝胺诱发肝癌的能力大75倍,比3,4苯并芘大4000倍。它主要诱使动物发生肝癌,也能诱发胃癌、肾癌、直肠癌及乳腺、卵巢、小肠等部位的癌症。乙型肝炎病毒携带者、吸烟者等,当黄曲霉毒素暴露时可发生协同作用,使发生原发性肝癌倾向明显增高,它是目前公认致癌性最强物质之一。鉴于黄曲霉毒素对人类巨大危害性,我国对其在食品中含量已有严格规定,其中,乳制品中黄曲霉毒素最高允许量为5!g/kg。FDA规定用于人类消费食物黄曲霉毒素B1水平为20!g/kg,牛奶0.5!g/kg,大多数动物饲料黄曲霉毒素B1水平在20~300!g/kg之间。联合国有关组织(如WHO、FAO及UNEP等)多次组织调查并提出控制标准[1]。1995年世界卫生组织制定食品中黄曲霉毒素B1最高允许浓度为15!g/kg,婴儿食品中不得检出;欧盟国家规定更加严格,要求人类生活

消费品中黄曲霉毒素B1含量不超过2!g/kg,总量不超过4!g/kg。

4.3 其它毒性

黄曲霉毒素可引起动物胆管上皮细胞增生及脾、肾、睾丸、大脑、神经系统病变。黄曲霉毒素还具有抑制免疫的特性,这可能与其对蛋白质合成的抑制作用有关。黄曲霉毒素对植物、微生物、两栖动物、鸟类、甲壳动物、软体动物及昆虫等都有毒害作用。

5 黄曲霉毒素检测方法

由于黄曲霉毒素污染已对人类健康构成严重威胁,目前国际上对农产品中黄曲霉毒素含量的检测已成为强制性贸易措施。近年来,国内外学者对AFT的检测研究不断进展,检测方法的灵敏度不断提高,特异性得到增强,高效、简便、经济的特点为AFT检测及预防效果的评价开辟了新途径。黄曲霉毒素的测定方法有多种,概括起来有化学分析法、仪器分析法、生物鉴定法及免疫分析法等[5]。

5.1 生物鉴定法

生物鉴定法是利用AFT能影响微生物、水生动物及家禽等生物体的细胞代谢,来鉴定AFT的存在,其特点是待检样品不需很纯,主要用于定性鉴定,包括:①抑菌试验;②对微生物遗传因

子影响试验;③细菌发光试验;④荧光反应;⑤组织培养检测法;⑥鸡胚试验;⑦鸭胚试验;⑧鳟鱼试验;⑨植物试验;⑩饲喂实验动物试验。这些方法专一性差,灵敏度低,一般只作为化学分析法的佐证。

5.2 化学分析法

最常用的为薄层层析法(TLC),适用于粮食及其制品、调味品等AFT B1的检测,主要是半定量。利用AFT B1具有荧光性的特点,提取和浓缩样品中的AFT B1,用单向或双向展开法在薄层上分离后,在365 nm紫外光照射下产生蓝紫色荧光,根据在薄层上显示荧光的最低检出量定量,其灵敏度为 $5\mu\text{g/kg}$ 。由于薄层层析法测定AFT B1不是很专一,样品中其他荧光物质的干扰易造成测定误差。方法有:①用多种溶剂系统展开,可将AFT B1、G1及各种AFT类似物分开;②采用层析斑点的化学试验,将样品提取物用甲酸亚硫酸酐或三氟醋酸处理,用衍生化的方法将AFT B1与其类似物分开;③层析斑点的物理试验,可根据紫外吸收光谱,红外吸收光谱和荧光屏光谱的差别,将非黄曲霉毒素和AFT分开。

5.3 仪器分析法

高效液相色谱法(HPLC)是20世纪70年代初发展起来的一种以液体为流动相的新型色谱技术,配以荧光检测器,则具有灵敏度高、分离能力强、特异性好及测定结果准确可靠等优点,国外已广泛地用于食品中AFT的测定。但由于食物样品成分复杂,在进行液相色谱分离分析前,需对样品作彻底有效地净化处理。常用的净化方法是柱色谱法,该法操作繁琐,且需使用大量有机溶剂。免疫亲和柱作为AFT特异有效的分离净化和浓缩手段,一出现就和高效液相色谱法结合用来测定粮食、饮料、尿、血及奶中的AFT。王光建等[6]将免疫亲和柱的高度特异性和高效液相色谱法的高分离能力相结合,所建立的花生和玉米中AFT B1、B2、G1及G2的测定方法,具有杂质干扰少、操作简便、使用有机溶剂少及灵敏准确等优点,整个分析操作可在15 min内完成。

5.4 免疫分析法

这种方法是利用免疫、酶及生化技术,开辟了AFT分析的新领域。目前应用的方法有放射免疫法、亲和层析法和酶联免疫法。①放射免疫法。特异性强、灵敏度高、比较准确迅速、操作简单及易于标准化。但也有严重的缺点,特别是需要特殊的设备和安全保护,妨碍了更广泛的应用;②亲和层析法。利用免疫化学反应原理,采用大剂量的单克隆抗体,选择性吸附提取液中的抗原物质-AFT。由于抗原-抗体反应具有高灵敏、高选择及高特异性等特点,从而大大提高了试样的净化效果及检测灵敏度,同时可显著减少有毒有害试剂的使用,十分有利于操作人员的健康和环境保护。张艺兵等[7]提出了1种以免疫亲和柱净化结合荧光光度法检测AFT的新方法,检测下限可达 $10\sim 12\text{ng/mL}$ 。20世纪90年代起,免疫亲和技术在食品分析领域得到了广泛应用;③酶联免疫法(ELISA)。基本原理是将抗体吸附于固相载体上,加入已经用酶标记的抗原与样品中的待测物混合物进行特异性的免疫反应,然后再加入酶的底物进行显色反应,通过颜色的深浅来判断样品中待测物的(抗原)含量。酶联免疫法大体分为两类:①用双抗体夹心法检测样本中的AFT。如Wogan将AFT B1牛血清白蛋白涂于微滴定板池,经初步培养后,加兔的AFT B1抗体和游离AFT B1用磷酸4-硝基苯酯作基质。以碱性磷酸酶-抗兔免疫球蛋白检测第一抗体的结合;②用竞争法检测样本中的AFT。如在涂抗体的小孔中,用乙烷萃取的AFT B1,并与结合了辣根过氧化酶的AFT B1室温下混合10min后,用水洗除去未结合的黄曲霉共轭物,加底物后在405 nm检测。ELISA法灵敏度高,比薄层法提高了近200~500倍[8,9],特异性强,荧光物质、色素及结构类似物对结果无干扰,而且回收率高,准确性好,提取方法简单,测定时间仅需2 h,可同时检测几十份样品,提高了工作效率。

6 黄曲霉毒素防治

6.1 黄曲霉毒素的预防

6.1.1 推广抗黄曲霉毒素的品种

维生素 E 是黄曲霉毒素生成的必要因素, 所以应使用种皮维生素 E 含量低的品种。

6.1.2 改良种植技术和收获方法

采用合理轮作, 优质果壳完整等。收获和储藏中尽量减少损伤, 剔除破损籽粒。受损原料易被霉菌从伤口处污染, 因此在收获和储存时, 尽量减少籽粒损伤, 避免虫害、鼠啃和磨压, 防止谷物、花生等表面受损; 剔除破损籽粒。

6.1.3 改良储藏方法

降低水分, 一般谷物含水量在 13% 以下, 玉米在 12.5% 以下, 花生仁在 8% 以下, 霉菌不易繁殖; 降

低温度, 理想储存条件是将粮食储存于干燥低温状态, 温度在 12℃, 能有效控制霉菌繁殖和产毒; 降低氧气浓度, 抑制黄曲霉菌的产生; 加强管理, 如优质仓库干燥、通风, 不要将已受污染的农产品与没有受污染的农产品混放。

6.1.4 不要将受黄曲霉毒素污染的饲料喂养牲畜

如黄曲霉毒素 B1 在奶牛体内能转化为有致癌作用的黄曲霉毒素 M1 而进入牛奶, 进而进入人体。

6.1.5 适时应用防霉剂

防霉剂添加, 可延长粮食保质期。常用防霉剂主要有丙酸或其盐、山梨醇及其盐类、双乙酸钠、延胡索酸等。其中有以丙酸及其盐类(丙酸钠、丙酸钙)应用最广。罗建伟等用臭氧处理黄曲霉毒素 B1 污染过的粮食, 可使粮食中污染黄曲霉毒素 B1 去除率达

90% 以上, 效果明显[10]。另外, 为防止粮食在储存过程中发热霉变, 目前还适用一些如溴甲烷、二氯乙烷及环氧乙烷等化学熏蒸剂。通过杀灭仓虫, 防止虫体表面沾染的霉菌菌丝孢子播散或直接防霉, 但使用时需注意安全。

6.2 黄曲霉毒素的去除

自黄曲霉毒素被发现以来, 人们就力图寻找脱毒的方法, 迄今为止, 已报道或应用的各种处理方法都有一定的局限性, 这很大程度上与农产品或食品的特殊属性有关, 尽管有些处理方法会影响食品的品质, 但由于能有效去毒, 挽回部分损失, 因而也有一定的应用价值。

6.2.1 挑选霉粒法

因黄曲霉毒素主要集中在霉坏、破损、皱皮、变色和虫蛀等的粮粒中, 这些带毒颗粒比健康颗粒轻, 外表也较易辨认, 可用机械或人工淘除。如将这些粮粒去除可使其含量大为降低。这种方法对花生仁及玉米去毒效果较好, 可在家庭和小规模生产中应用。

6.2.2 碾轧加工法

一般适用于受污染的大米, 因毒素在大米表层含量高, 碾轧加工成精米可减低毒素含量。

6.2.3 植物油加碱去毒法

油料种子受黄曲霉毒素污染后, 榨出的油中含毒素, 可用碱炼法去毒。因为不溶于水的黄曲霉毒素在碱性条件下, 可形成香豆素钠盐而溶于水, 故加碱

后用于水洗可将毒素去除。但要注意, 水洗液和沉下油泥中含有大量毒素, 须妥善处理。

6.2.4 加水搓洗法

在淘洗大米时, 用手搓洗, 随水倾去悬浮物, 如此反复 5~6 次, 煮熟后可去除大部分毒素, 但维生

素 B1 损失亦较多。

6.2.5 吸附去毒法

植物油受黄曲霉毒素污染, 可利用活性白土和活性炭吸附, 效果较好。

6.2.6 高温高压去毒法

黄曲霉毒素较耐高温,在 280℃高温下才能分解[11],因此一般烹调温度下难以消除。但高温高压下去毒效果较好。

6.2.7 烹调去毒法

炒菜时放油入锅后先加盐。花生油在 180℃高温下,加入适量的食盐,加热炒拌半分钟可以去除油品中 95%AFT B1,去毒效果良好[11]。

6.2.8 碾磨去毒法

在粮食中,黄曲霉毒素大部分集中于含脂肪较多的胚体和糠皮等部位。稻谷经精碾后,95%的毒素可去除。玉米磨粉也有类似的效果。

申贝技术部给出的黄曲霉毒素检测的解决方案:

7.1 黄曲霉毒素 B1

黄曲霉毒素B1

黄曲霉毒素是多种霉菌(如黄曲霉和寄生曲霉)产生的有毒代谢物,主要包括四种亚型(黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2,其中B1毒性最强,是主要的检测类型,但若其他类型的浓度较高,同样具有很大危害性)。它存在于谷物、坚果、棉花籽及其他食品或饲料中,具有致癌性,可导致人罹患肝癌、黄曲霉毒素中毒、瑞氏综合症和其他慢性疾病;动物可通过进食被污染的饲料接触到黄曲霉毒素。因此,大多数国家都限制食品或饲料中黄曲霉毒素B1的含量。

» Biostest黄曲霉毒素+赭曲霉毒素+玉米赤霉烯酮免疫亲和柱

» Sigma霉菌毒素标准品

» Charm ROSA 黄曲霉毒素快速定量检测条—谷物和饲料(国家行业标准LS/T 6111-2015)

Charm ROSA FAST5黄曲霉毒素(定量)快速检测条以免疫层析法为原理,运用ROSA侧流技术,使用70%甲醇提取样品中的黄曲霉毒素。样品提取物与检测条中有颜色的微粒反应。反应完成后,使用ROSA-M 读数仪读取检测区的颜色强度,并将结果换算为样品中黄曲霉毒素浓度(以ppb计)。

» HELICA黄曲霉毒素B1竞争性ELISA检测试剂盒

Helica黄曲霉毒素B1试剂盒可定量检测粮食、坚果、咖啡豆、谷物及其加工制品、其他商品及饲料中黄曲霉毒素B1含量。

» Helica黄曲霉毒素B1检测试剂盒-低基质

Helica黄曲霉毒素B1试剂盒-低基质可定量检测谷物、坚果、香料、婴幼儿配方食品和食用油等样品中的黄曲霉毒素B1。

» Helica黄曲霉毒素B1检测试剂盒-低基质

通过免疫亲和柱净化食品和饲料样品中的黄曲霉毒素,净化后的样品可用于HPLC分析。

» Biostest黄曲霉毒素+赭曲霉毒素免疫亲和柱

7.2 黄曲霉毒素总量

黄曲霉毒素总量

黄曲霉毒素是多种霉菌（如黄曲霉和寄生曲霉）产生的有毒代谢物，主要包括四种亚型（黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2，其中B1毒性最强，是主要的检测类型，但若其他类型的浓度较高，同样具有很大危害性）。它存在于谷物、坚果、棉花籽及其他食品或饲料中，具有致癌性，可导致人罹患肝癌、黄曲霉毒素中毒、瑞氏综合症和其他慢性疾病。动物可通过进食被污染的饲料接触黄曲霉毒素，引起生殖干扰、免疫抑制、牛奶和产蛋量减少，甚至死亡。因此，准确快速的检测食品或饲料中的黄曲霉毒素至关重要，大多数国家都限制食品或饲料中黄曲霉毒素总量的含量。

» Charm ROSA FAST5黄曲霉毒素快速定量检测条—谷物和饲料（国家标准行业标准）

» Helica黄曲霉毒素总量检测试剂盒-低基质

Helica黄曲霉毒素总量检测试剂盒-低基质可定量检测谷物、坚果、棉花籽以及高基质产品如青贮饲料和大多数香辛料等样品中黄曲霉毒素B1，B2，G1和G2的总量。

» Biostest黄曲霉毒素+赭曲霉毒素免疫亲和柱

» HELICA黄曲霉毒素总量ELISA检测试剂盒

Helica黄曲霉毒素总量试剂盒可定量检测粮食、坚果、棉籽、谷物和动物饲料等样品中黄曲霉毒素B1，B2，G1和G2。

» Biostest黄曲霉毒素免疫亲和柱

» Biostest黄曲霉毒素+赭曲霉毒素+玉米赤霉烯酮免疫亲和柱

» Sigma霉菌毒素标准品
