

2011~2015年花生和小麦制品中 黄曲霉毒素 B₁ 的检测

曹悦*, 刘晓莉, 陈世琼, 张杉, 蔡雪凤, 耿建强

(北京市海淀区产品质量监督检验所, 北京 100094)

摘要: **目的** 对 2011~2015 年花生和小麦制品中黄曲霉毒素 B₁ 进行检测分析和安全评价。**方法** 采用酶联免疫法对 2011~2015 年的 1140 个花生类和 6475 个小麦类制品的黄曲霉毒素 B₁ 的含量进行检测。**结果** 2011~2015 年检测的花生类制品合格率分别为 95.5%、98%、97.4%、98.3%和 98.7%; 检测的各种小麦类制品合格率均为 100%。**结论** 花生类制品合格率逐年上升, 但仍存在一定的质量隐患; 小麦类制品质量均符合国家规定限量。

关键词: 花生类制品; 小麦类制品; 黄曲霉毒素 B₁

Detection of aflatoxin B₁ in wheaten and peanut products in 2011~2015

CAO Yue*, LIU Xiao-Li, CHEN Shi-Qiong, ZHANG Shan, CAI Xue-Feng, GENG Jian-Qiang

(Beijing Haidian District City Product Quality Supervision and Inspection Institute, Beijing 100094, China)

ABSTRACT: Objective To detect the aflatoxin B₁ in peanuts and wheat products in 2011~2015. **Methods** The content of aflatoxin B₁ in 1140 peanut product samples and 6475 wheat product from 2011 to 2015 were detected by ELISA. **Result** The qualification rate of peanut products were 95.5%, 98%, 97.4%, 98.3% and 98.7% from 2011 to 2015, respectively. All wheat products met the standard. **Conclusion** The qualification rate of peanut products is increasing year by year, but there are still some quality hidden troubles. The qualification rate of wheat products is high and the quality is within national limitation.

KEY WORDS: peanut products; wheat products; aflatoxin B₁

1 引言

黄曲霉毒素是由黄曲霉(*Aspergillus flavus*)、特曲霉(*Aspergillus nomius*)和寄生曲霉(*Aspergillus parasiticus*)等产生的一类含有二氢呋喃环结构的次生代谢产物^[1, 2]。在潮湿炎热地区的食品和饲料中出现黄曲霉毒素的机率最高。它们存在于土壤、动植物和各种坚果中, 尤其花生、玉米、稻米、大豆和小麦等粮油产品特别容易被污染, 黄曲霉毒素是霉菌毒素中毒性最大、对人类健康危害极为突出的一类^[3]。目前已分离出的黄曲霉毒素及其衍生物有 20

多种, 其中黄曲霉毒素 B₁(AFB₁)的致癌性最强, 是诱发恶性肿瘤原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的主要因素之一^[4, 5]。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^[6]; 其毒性为氰化钾的 10 倍、砒霜的 68 倍^[7]。AFB₁污染的食品包括花生、玉米、稻谷、小麦和花生油等农产品及其加工产品^[8], 且以南方高温、高湿地区受污染最为严重。黄曲霉毒素 B₁ 化学性质稳定, 耐热性高, 280 °C 才可裂解, 故一般烹调和食品加工手段如炒、烘、熏等对其产生的破坏性甚小。

*通讯作者: 曹悦, 主要研究方向为食品安全分析。E-mail: cydharry@sina.com

*Corresponding author: CAO Yue, China National Food Safety Inspection and Supervision Center, Beijing 100094, China. E-mail: cydharry@sina.com

2003年联合国粮农组织(FAO)发布的全世界食品和饲料真菌毒素法规报告中显示,除国际食品法典委员会(CAC)的规定以外,全球100多个国家和地区制定了各类食品中黄曲霉毒素限量标准。食品中黄曲霉毒素 B_1 的限量范围为1~20 $\mu\text{g}/\text{kg}$,黄曲霉毒素总量(AFB_1 、 B_2 、 G_1 、 G_2)的限量范围为0~35 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。2011年我国发布的GB 2761-2011《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》中规定花生及其制品中黄曲霉毒素 B_1 的限量为20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。欧盟黄曲霉毒素限量标准中,黄曲霉毒素($B_1+B_2+G_1+G_2$)的限量值范围为0~15.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,在直接食用的花生中的限量值为4.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。黄曲霉毒素 B_1 的限量值范围为0~12.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,在直接食用的花生中的限量值为2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$;日本黄曲霉毒素限量标准中,食品中黄曲霉毒素的限量为10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。美国黄曲霉毒素限量标准食品中,黄曲霉毒素($B_1+B_2+G_1+G_2$)的最大残留限量为15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[9]。

目前食品中黄曲霉毒素 B_1 的检测方法主要有薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)、酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)^[10]、金标试纸法(gold immunochromatography assay, GIA)、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)和液相色谱-质谱法(liquid chromatograph mass spectrometry, LC-MS)^[11-13]。

ELISA法是基于抗原抗体特异性结合的酶联免疫吸附分析法。相对常用HPLC法和TLC法来说,其前处理简单,提取后就可直接测定,不需要再次净化;特异性强;分析时间短,一次可测定大量样本;检出浓度低;而且其灵敏度与TLC法或HPLC法相当或更高。但是ELISA法易出现假阳性结果,当出现阳性结果应用HPLC法确认^[14]。本研究采用ELISA法对2011~2015年的花生、花生糕点、花生油、花生酱等花生制品以及小麦面粉、面点主食、甜面酱、各种面类糕点等小麦制品中的黄曲霉毒素 B_1 进行

检测,阳性结果经HPLC法确认,并对检测结果进行分析和安全性评价。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

PowerWave XS 酶标仪(BioTek);移液器(Gilson); TPL-5-A 离心机(Anke); BS224S 电子天平(Sartorius);酶联免疫黄曲霉毒素 B_1 检测试剂盒(Europroxima)

甲醇(分析纯,北京化工厂);石油醚(分析纯,天津市富宇精细化工有限公司);实验室用水。

2.2 实验方法

2.2.1 样品前处理

所有样品均为全国多城市市场上随机购取。将样品粉碎后储存于阴凉通风干燥处。样品种类见表1。

油类样品:准确称取5 g于25 mL小烧杯中,用20 mL石油醚分次将样品转移到125 mL分液漏斗中,准确加入25 mL 70%甲醇水溶液,加塞振摇5 min,静置分层,收集下层甲醇水提取液,此液为样品提取液。取1 mL样品提取液,用1 mL蒸馏水稀释,取50 μL 稀释液进行分析。

其他样品:准确称取3 g于50 mL离心管中,加9 mL 80%甲醇水溶液混合,室温下振荡10 min,2000 g离心10 min,取50 μL 离心后的上清液加入150 μL 的稀释缓冲液,取50 μL 稀释液进行分析。

2.2.2 检测方法

检测方法按照GB/T 5009.22-2003《食品中黄曲霉毒素 B_1 的测定》中第二法(即酶联免疫法)^[15],并结合市售酶联免疫试剂盒使用说明书对样品进行测定。检测不合格样品按照GB/T 18979-2003《食品中黄曲霉毒素的测定免疫亲和层析净化高效液相色谱法和荧光光度法》^[16]。依据GB 2761-2011《食品中真菌毒素限量》^[17]对样品进行判定,见表2。

表1 检测的花生及小麦类样品
Table 1 Peanut and wheat samples

品种	年度及样品数量(个)					
	2011年	2012年	2013年	2014年	2015年	
花生类样品	花生	23	18	32	28	37
	花生糕点	13	9	29	30	27
	花生油	71	82	109	199	184
	花生酱	8	14	19	12	25
	其他	20	32	45	36	38
	总量	135	155	234	305	311
小麦类样品	小麦面粉	78	156	389	704	758
	面点主食	140	124	204	130	220
	各种面类糕点	836	764	785	620	340
	甜面酱	21	19	26	37	28
	其他	16	14	24	22	20
	总量	1091	1077	1428	1513	1366

表 2 食品中黄曲霉毒素 B₁ 限量指标
Table 2 Limit index of aflatoxin B₁ in foods

食品类别(名称)	限量(μg/kg)
小麦、大麦、其他谷物	5.0
小麦粉、麦片、其他去壳谷物	5.0
花生及其制品	20
花生油、玉米油	20
酱油、醋、酿造酱(以粮食为主要原料)	5.0

油类样品检测步骤: 每个样品做 2 个平行样, 每个平行样和标准品做双孔平行, 滴加 50 μL 0~50 ng/mL 标准品溶液于 A1、A2~F1、F2, 滴加 50 μL 各样品稀释液于板孔, 滴加 50 μL 酶结合物和抗体溶液于全部板孔, 封板, 摇板, 室温(25 °C)下温育 30 min, 洗板 3 次, 将微孔在吸水纸上拍干, 将 100 μL 底物溶液加入各微孔, 室温(25 °C)下暗处温育 15 min, 将 100 μL 终止液加入各微孔, 立即读取 450 nm 吸光值, 在相应软件中分析。

其他样品检测步骤: 每个样品做 2 个平行样, 每个平行样和标准品做双孔平行, 滴加 100 μL 0 ng/mL 标准品溶液于 A1、A2, 滴加 50 μL 0~0.5 ng/mL 标准品溶液于 B1、B2~H1、H2, 滴加 50 μL 各样品稀释液于板孔, 滴加 25 μL 的酶结合物和抗体溶液于除 A1、A2 外的全部板孔, 封板, 摇板 1 min, 37 °C 下暗育 1 h, 洗板 3 次, 将微孔在吸水纸上拍干, 将 100 μL 底物溶液加入各微孔, 室温(25 °C)下温育 30 min, 将 100 μL 终止液加入各微孔, 立即读取 450 nm 吸光值, 在相应软件中分析。

阳性样品经 HPLC 法确认。

3 结果与讨论

3.1 花生类制品黄曲霉毒素 B₁ 检测结果

2011~2015 年各种花生类制品中黄曲霉毒素 B₁ 的检测结果显示见表 3。由表 3 可知, 2011 年花生类制品合格率为 95.5%, 2012 年花生类制品合格率为 98%, 2013 年花生类制品合格率为 97.4%, 2014 年花生类制品合格率为 98.3%, 2015 年花生类制品样品合格率为 98.7%。

2011~2015 年, 花生合格率为 98.5%, 花生糕点合格率为 99.3%, 花生油合格率为 96.9%, 花生酱合格率为 93.5%, 其他花生均合格。综上所述, 花生油与花生酱的不合格率相对较高, 检测结果数值相对较高, 即花生类制品中花生油和花生酱易产生黄曲霉毒素 B₁。

3.2 小麦类制品黄曲霉毒素 B₁ 检测结果

2011~2015 年各种小麦类制品中黄曲霉毒素 B₁ 的检测结果显示见表 4。由表 4 可知, 2011~2015 年小麦类制品样品总量 6475 个, 不合格样品 0 个, 合格率为 100%, 产品质量均符合国家规定限量。

3.3 不合格产品中黄曲霉毒素 B₁ 的含量和安全性评价

本文检测了 2011~2015 年全国数千种市售花生和小麦制品中黄曲霉毒素 B₁ 的含量, 检测结果具有的一定代表性。其中各种花生类制品黄曲霉毒素 B₁ 的检测结果显示 0.02% 的样品黄曲霉毒素 B₁ 含量超出我国该类食品执行标

表 3 2011~2015 年花生类制品黄曲霉毒素 B₁ 检测结果
Table 3 Detection results of aflatoxin B₁ in peanut products in 2011~2015

种类	年度及合格率(%)				
	2011 年	2012 年	2013 年	2014 年	2015 年
花生	95.7	100	96.8	100	100
花生糕点	100	100	96.6	100	100
花生油	95.8	97.6	96.3	97.4	97.8
花生酱	75	92.9	100	100	100
其他	100	100	100	100	100
总量	95.5	98	97.4	98.3	98.7

表 4 2011~2015 年小麦类制品黄曲霉毒素 B₁ 检测结果
Table 4 Detection results of aflatoxin B₁ in wheat products in 2011~2015

种类	年度及合格率(%)				
	2011 年	2012 年	2013 年	2014 年	2015 年
小麦面粉	100	100	100	100	100
面点主食	100	100	100	100	100
各种面类糕点	100	100	100	100	100
甜面酱	100	100	100	100	100
其他	100	100	100	100	100
总量	100	100	100	100	100

准 GB 2761-2011 的规定。从表 3 看,花生、花生糕点、花生油和花生酱的含量均有超标。花生不合格产品中黄曲霉毒素 B₁ 的含量数值范围在 20~30 μg/kg,花生糕点不合格产品中黄曲霉毒素 B₁ 的含量范围在 20~25 μg/kg,花生油不合格产品中黄曲霉毒素 B₁ 的含量数值范围在 30~75 μg/kg,花生酱不合格产品中黄曲霉毒素 B₁ 的含量范围在 35~50 μg/kg。

各种小麦类制品中黄曲霉毒素 B₁ 的检测不合格样品 0 个,合格率为 100%,产品质量均符合国家规定限量。花生相对小麦而言,更易受到黄曲霉毒素 B₁ 的污染。在实验结果中花生黄曲霉毒素 B₁ 的含量最高为 27 μg/kg,花生糕点黄曲霉毒素 B₁ 的含量最高为 22 μg/kg,花生油黄曲霉毒素 B₁ 的含量最高为 72 μg/kg,花生酱黄曲霉毒素 B₁ 的含量最高为 50 μg/kg,均超出标准检出限范围。

市售的花生和花生糕点,相对花生油和花生酱这种花生的深加工产品来说,这种能肉眼可见花生或花生碎的产品合格率,高于肉眼不可见的花生深加工食品;黄曲霉毒素 B₁ 的含量也低于花生深加工食品;不合格样品数也略低于花生深加工食品。这种差异其原因有可能是花生深加工食品原料用量大,富集的含量增多,也可能是由于花生深加工食品的原材料储存不得当,受到污染。本研究也是为了生产者和消费者能够提高食用食品的安全意识,选用原料和食品时要注意,选择正规企业生产的在保质期内的食品。

4 结 论

通过对 2011~2015 年市场上 7615 个花生和小麦类制品进行检测发现,大部分的花生类制品黄曲霉毒素 B₁ 的含量符合安全限量规定,花生类制品合格率逐年上升;但黄曲霉毒素 B₁ 的含量数值范围没有太大变化,与往年持平,花生油和花生酱等花生制品还存在隐患。这说明在国家的大力监督下,生产企业自身遵守国家相关规定进行生产活动,产品符合国家规定,食品的安全性有了明显提高。检测的小麦类制品合格率为 100%,产品质量均符合国家规定限量。小麦类制品作为消费者必不可少的主食来源,其食品安全有着较好的保障。

参考文献

- [1] Deiner UL, Cole RJ, Sanders T H, *et al.* Epidemiology of aflatoxin formation by *Aspergillus flavus* [J]. *Annu Rev Phytopathol*, 1987, (25): 240-270.
- [2] Cotty PJ, Bhatnagar D. Variability among atoxigenic *aspergillus flavus* strains in ability to prevent aflatoxin contamination and production of aflatoxin biosynthetic pathway enzymes [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1994, (60): 2248-2251.
- [3] 丁晓雯, 柳春红. 食品安全学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2011. Ding XW, Liu CH. *Foodsafetyology* [M]. Beijing: China Agricultural University press, 2011.
- [4] Parkin DM, Bray F, Ferlay J. Global cancer statistics, 2002 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2005, 55(2): 74-108.
- [5] 曾运红, 谭卫仙. 原发性肝癌发病主要危险因素的 Meta 分析[J]. *现代预防医学*, 2004, 31(2): 172-174.
- [6] Zeng YH, Tan WX. Analysis on Meta as the major risk factor for primary liver cancer [J]. *Mod Prev Med*, 2004, 31(2): 172-174.
- [6] 焦凌梅. 菠萝蜜营养成分与开发利用价值[J]. *广西热带农业*, 2010, 1: 17-19.
- [7] Jiao LM. Nutrient composition and utilization value of jackfruit [J]. *Guangxi Trop Agric*, 2010, 1: 17-19.
- [7] Kim. Physicochemical and textural properties of jack-fruit seeds starch [J]. *J Korea Soc Food Nutr*, 1995, 4: 601-605.
- [8] 刘超, 景赞. 饲料中黄曲霉毒素 B₁ 的检测[J]. *中国果菜*, 2015, (12): doi: 10.3969/j.issn.1008-1038.2015.12.008.
- [8] Liu C, Jing Z. Detection of aflatoxin B₁ in feed [J]. *Chin fruit Veget*, 2015, (12): doi: 10.3969/j.issn.1008-1038.2015.12.008.
- [9] 范蓓, 李庆鹏, 哈益明. 关注黄曲霉毒素国内外限量标准, 完善食品安全保障措施[J]. *食品工业科技*, 2010, (12): 26-26.
- [9] Fan B, Li QP, Ha YM. Pay attention to aflatoxin limited standards at home and abroad, to improve food safety measures [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2010, (12): 26-26.
- [10] 邱杨, 刘建丽, 赵丽. 食品中黄曲霉毒素 B₁ 的抽查检验与安全评价[J]. *现代食品科技*, 2008, 24(10): 1055-1057.
- [10] Qiu Y, Liu JL, Zhao L. Inspection and safety evaluation of aflatoxin B₁ in food [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2008, 24(10): 1055-1057.
- [11] Sun XL, Zhao XL, Tang J, *et al.* Development of an immunochromatographic assay for detection of aflatoxin B₁ in foods [J]. *Food Control*, 2006, 17: 256-262.
- [12] Hyang Sook Chun, Hyun Jung Kim, Hyun Ee Ok, *et al.* Determination of aflatoxin levels in nuts and their products consumed in South Korea [J]. *Food Chem*, 2007, 102: 385-391.
- [13] 蔡其洪. 黄曲霉毒素检测方法的应用及进展[J]. *现代食品科技*, 2006, 2: 233-236.
- [13] Cai QH. Application and progress on detection methods of aflatoxin [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2006, 2: 233-236.
- [14] 高延伟. 酶联免疫吸附(ELISA)与高效液相色谱(HPLC)法检测粮谷中黄曲霉毒素 B₁ 方法比较[J]. *现代食品*, 2015, 13: 47-49.
- [14] Gao YW. Comparison of the determination of aflatoxin B₁ method in grain by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and high performance liquid chromatography (HPLC) [J]. *Mod Food*, 2015, 13: 47-49.
- [15] GB 5009.22-2003 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B₁ 的测定[S]. GB 5009.22-2003 National food safety standard-Determination of aflatoxin B₁ in foods [S].
- [16] GB/T 18979-2003 食品中黄曲霉毒素的测定 免疫亲和层析净化高效液相色谱法和荧光光度法[S]. GB/T 18979-2003 Determination of aflatoxin in foods-high performance liquid chromatography purification by immunoaffinity chromatography and fluorescence spectrophotometry[S].
- [17] GB 2761-2011 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量[S]. GB 2761-2011 National food safety standards-Limit quantity of mycotoxins in food [S].

(责任编辑: 姚菲)

作者简介



曹悦, 主要研究方向为食品安全分析。
E-mail: cydharry@sina.com