

粮食中杂色曲霉毒素污染和检测技术研究进展

林 滢*

(福建省粮油质量监测所, 福州 350001)

摘 要: 1954 年杂色曲霉毒素首次从杂色曲霉培养物中分离出, 是一种微黄色针状晶体有毒化合物, 由二呋喃环和氧杂蒽酮组成的基本结构与黄曲霉毒素十分相似, 其产生的毒性仅次于黄曲霉毒素, 被国际癌症研究机构归类为致癌物 2B 级, 对动物和人类健康存在极大的危害, 受到了国内外研究人员的关注。本文从杂色曲霉毒素的主要毒害作用和国内外研究人员对粮食中杂色曲霉毒素污染情况研究等方面进行系统综述, 并详细介绍了高效液相色谱-串联质谱法、高效液相色谱法、薄层色谱法、酶联免疫法和生物传感器测定法等粮食中杂色曲霉毒素主要分析检测技术的研究进展, 为粮食杂色曲霉毒素限量标准制定、安全风险评估和新型检测方法研发提供了理论依据。

关键词: 粮食; 杂色曲霉毒素; 毒害; 污染; 检测技术

Research progress on pollution and detection technology of sterigmatocystin in grain

LIN Huang*

(Institute of Grain and Oil Quality Supervision and Test of Fuiian Province, Fuzhou 350001, China)

ABSTRACT: Sterigmatocystin has been first isolated from *Aspergillus variegatus* culture in 1954, it is a slightly yellow needle crystal toxic compound, the basic structure composed of difuran ring and oxaanthrone is very similar to that of aflatoxin, its toxicity is second only to aflatoxin and is classified as carcinogen 2B by International Agency for Research on Cancer, it has great harm to animal and human health, which has attracted the attention of researchers at home and abroad. This paper systematically reviewed the main toxic effects of *Aspergillus variegatus* and the research on the pollution of *Aspergillus variegatus* in grain by researchers at home and abroad, and introduced in detail the research progress of main analytical and detection technologies of *Aspergillus variegatus* in grain, such as high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, high performance liquid chromatography, thin layer chromatography, enzyme-linked immunosorbent assay and biosensor determination, etc., provided a theoretical basis for the formulation of the limit standard of *Aspergillus variegatus* in grain, safety risk assessment and the development of new detection methods.

KEY WORDS: grain; sterigmatocystin; toxic; pollution; detection technology

0 引 言

真菌毒素(mycotoxins)是真菌在适宜的条件下代谢产

生的有毒次级代谢产物, 其中有 30 多种真菌菌株的代谢产物对动物和人类具有致病性^[1]。1954 年, 久山真平和初田勇一从杂色曲霉(*Aspergillus versicolor*)代谢产物中首次

*通信作者: 林滢, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: 83123722@qq.com

*Corresponding author: LIN Huang, Master, Senior Engineer, Institute of Grain and Oil Quality Supervision and Test of Fuiian Province, No.69, Jinqiao garden, Minhou County, Fuzhou 350001, China. E-mail: 83123722@qq.com

分离出来一种微黄色针状晶体的真菌毒素并将其命名为杂色曲霉毒素(sterigmatocystin, ST)^[2]。研究人员经过深入研究发现,杂色曲霉毒素主要由杂色曲霉、构巢曲霉(*Aspergillus nidulans*)、阿姆斯特丹曲霉(*Aspergillus amstelodami*)等真菌所产生的次级代谢产物,同时是黄曲霉(*Aspergillus flavus*)和寄生曲霉(*Aspergillus parasiticus speare*)合成黄曲霉毒素过程后期的合成前体物,可污染绝大多数粮食作物,尤其对大米、玉米、小麦污染严重。杂色曲霉毒素基本结构由二呋喃环和氧杂蒽酮连接组成(见图 1)^[3],与黄曲霉毒素十分相似,毒性也仅次于黄曲霉毒素^[4],对动物和人类的健康存在极大的危害^[5]。本文系统综述了杂色曲霉毒素主要毒害作用、粮食中杂色曲霉毒素污染情况和目前主要分析检测方法,以期为粮食中杂色曲霉毒素的防控提供理论依据。

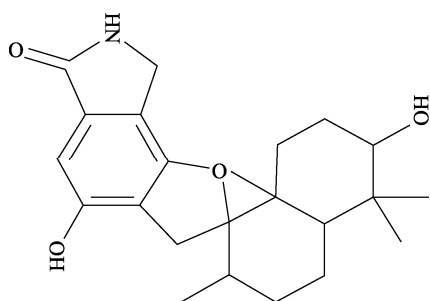


图 1 杂色曲霉毒素的化学结构式

Fig.1 Chemical structural formula of sterigmatocystin

1 杂色曲霉毒素的毒害作用

国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)将杂色曲霉毒素归类为 2B 级“可能的人类致癌物”,欧盟食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)于 2013 年 6 月 7 日发布了食品和饲料中的杂色曲霉毒素对公众的健康风险意见^[6]。目前,国内外研究表明杂色曲霉毒素的毒害作用主要为免疫毒性、遗传

毒性和致癌性(表 1)。

2 粮食中杂色曲霉毒素的污染

2.1 国外粮食中杂色曲霉毒素的污染

国外学者对粮食中杂色曲霉毒素污染的调查研究起步较早,20 世纪 80 年代在北海道的两个常温贮藏仓库的大米中均检测出杂色曲霉毒素,并且能培养出杂色曲霉菌^[15]。他们还发现在自然条件下,产毒菌一旦污染粮食,不论是生长期还是储存期都能产生杂色曲霉毒素。VERSILOVSKIS 等^[16]于 2006—2007 年对拉脱维亚的 95 份谷物样品进行分析发现杂色曲霉毒素的阳性检出率达 26%,并且主要集中在大麦和小麦样品中。KOVALENKO 等^[17]对俄罗斯玉米、大麦和小麦共 350 份样品进行杂色曲霉毒素检测,检出率分别为 5%~8%、1%~23%和 0%~21%。2015 年 EFSA 对 400 份来自 9 个欧洲国家的谷物样品进行检查,小麦、黑麦、玉米及大麦样品中杂色曲霉毒素检出率在 2%~6%之间,含量均低于 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$;而稻谷中杂色曲霉毒素检出率高达 96%,其中有 4%含量高于 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,大米中有 21%的检出率,这项试验结果表明,杂色曲霉毒素主要集中在谷物外层,经过脱壳能够有效地减少杂色曲霉毒素污染^[18]。GIORNI 等^[19]研究发现,不同种植年份对稻谷中杂色曲霉毒素的含量无显著性影响($P>0.05$),但随着稻谷的生长而不断积累,并在成熟期达到最高点。

2.2 国内粮食中杂色曲霉毒素的污染

国内杂色曲霉毒素对粮食的污染调查研究也在不断开展,楼建龙等^[20]发现不同粮食品种杂色曲霉毒素污染存在差异,污染情况大小程度表现为大米<面粉<玉米<稻谷<小麦<杂粮,验证了前人^[17,21]的脱壳粮食被污染程度要低于原粮的结论。李军等^[22]对山东省粮食中杂色曲霉毒素的污染情况进行调查,得到大米、玉米和小麦的检出率分别是 41.5%、45.3%和 89.8%,毒素含量范围在 1.0~4515.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间。田禾菁等^[23]为了完善杂色曲霉毒素

表 1 杂色曲霉毒素的毒害作用
Table 1 Toxic effects of sterigmatocystin

项目	相关研究	参考文献
免疫毒性	杂色曲霉毒素影响抗原的递呈,细胞免疫因子的分泌,免疫细胞的增殖、凋亡。杂色曲霉毒素能抑制小鼠腹腔巨噬细胞 IL-12 的分泌和表达;能通过影响小鼠胸腺与脾脏组织以及细胞中 Foxp ³⁺ 调节性 T 淋巴细胞来降低机体免疫耐受功能。	[7-8]
遗传毒性	杂色曲霉毒素具有与 DNA 结合的能力,进而引发 DNA 双链断裂,染色体畸变。杂色曲霉毒素造成大鼠骨髓细胞的急性细胞遗传毒性;诱发癌基因 <i>Ki-ras</i> 和抑癌基因 <i>P53</i> 的突变;增加罗非鱼的红细胞微核率,导致染色体断裂;使人胃粘膜上皮细胞中的 DNA 发生断裂并累计加重。	[9-11]
致癌性	杂色曲霉毒素导致雄性小白鼠肝细胞微粒体中细胞色素和细胞色素还原酶水平升高,肝细胞损伤、坏死;加快小鼠组肝细胞凋亡;降低人食管鳞状上皮细胞白细胞抗原 I 分子表达,导致恶变继发为食管癌。	[12-14]

膳食摄入量风险评估,开展了我国西南、西北、华东、华中、东北地区涉及12个省市共1580份样品的调查,大米、玉米、小麦的检出率分别为72%、89%和98%,平均毒素含量为13.9、32.2和68.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$,初步掌握中国3大主要粮食作物的杂色曲霉毒素的污染情况,同时从数据中分析也发现粮食杂色曲霉毒素的检出率和含量存在明显的地域和品种差异。孙武长等^[24]对吉林省3个地区的库存的新旧稻谷、小麦、玉米调查发现,6种样品的杂色曲霉毒素检出率为52.5%~100.0%,除新玉米外平均毒素含量在18.03~37.69 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间,污染情况程度大小表现为新玉米<新稻谷<陈玉米<陈稻谷<小麦,由此证明通过储藏可蓄积杂色曲霉毒素。杜娟^[25]对江苏省12个地区200份谷物样品研究发现,6份样品中含有杂色曲霉毒素,含量范围在20~67 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间。赵亚荣等^[26]对采集自我国大陆地区315份室温储存1~2年的米粉样品中杂色曲霉毒素的含量进行分析,结果发现米粉样品中杂色曲霉毒素的检出率为84.8%,平均含量为2.38 $\mu\text{g}/\text{kg}$,这说明我国大陆地区储存多年的米粉样品的杂色曲霉毒素污染情况严重,对内蒙古地区的燕麦、燕麦粉和燕麦片进行分析,发现3种样品中均检出低浓度的杂色曲霉毒素,检出率分别为0.7%、60%和13.5%^[27]。

在对粮食真菌毒素调查中发现^[26],稻谷、大米、小麦粉中杂色曲霉毒素检出率均比黄曲霉毒素 B_1 要高出11%~31%,由此可见,粮食中杂色曲霉毒素的污染已不容小觑,但相关的粮食中杂色曲霉毒素的限量标准还未完善,仅斯洛伐克和捷克制定了大米、面粉中杂色曲霉毒素5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的限量,美国、欧盟等没有规定其限量,我国现行

的食品中真菌毒素限量标准(GB 2761—2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》)中也没有关于杂色曲霉毒素的限量标准。由于杂色曲霉毒素的结构与黄曲霉毒素 B_1 相似,且毒性仅次于黄曲霉毒素 B_1 ,现阶段,科研人员一般参照黄曲霉毒素 B_1 的限量标准开展对粮食中杂色曲霉毒素调查研究和评估工作。

3 粮食中杂色曲霉毒素的检测方法

目前,粮食中杂色曲霉毒素测定方法主要有高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)、酶联免疫吸附分析法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)和生物传感器测定法(electrochemical biosensor)等。

3.1 高效液相色谱-串联质谱法

高效液相色谱-串联质谱法分辨率高,采用同位素内标法可进行成分准确定量。该方法已经过EN ISO 17025和欧委会2002/657/EC号决议认证^[28],并且在2016年作为我国GB 5009.25—2016《食品安全国家标准 食品中杂色曲霉毒素的测定》第一法广泛应用于粮食中杂色曲霉毒素的检测,是定性定量检测粮食中杂色曲霉毒素的确证方法。近几年来,研究人员研究重点主要集中在高效液相色谱-串联质谱法的粮食样品前处理技术上,不仅有效降低基质效应,还提高了方法的灵敏性和准确性(表2)。

表2 高效液相色谱-质谱法测定杂色曲霉毒素的研究结果

Table 2 Research results on determination of sterigmatocystin by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

前处理		色谱条件		质谱条件		测定数	检出限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	参考文献
提取方式	净化	洗脱	色谱柱	流动相	电离方式			
乙腈-水 (60:40, V:V)	正己烷	-	Agilent Eclipse Plus C ₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)	0.1%乙酸-甲 醇梯度洗脱	ESI+	8	定量限: 0.2	[29]
乙腈	MgSO ₄ 、NaCl、乙 二胺-N-丙基硅烷 (primary secondary amine, PSA)	-	XR-ODSIII C ₁₈ (2.0 mm×75 mm, 1.6 μm)	乙腈-0.1%甲 酸溶液梯度 洗脱	ESI+	1	0.03(大米)、 0.1(小米)	[30]
乙腈-水 (80:20, V:V)	Prime HLB 固相萃 取柱	乙腈	Shim-pack XR-ODS III (2.0 mm×75 mm, 1.6 μm)	70%甲醇等 度洗脱	ESI+	1	定量限: 0.5(玉 米、小麦)、0.8(花 生、黄豆)	[31]
乙腈-水 (80:20, V:V)	N-乙炔吡咯烷酮 和二乙烯基苯共聚 物填料柱或免疫 亲和柱	乙腈	C ₁₈ 柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)	甲醇-水梯度 洗脱	ESI+	1	0.6(大米、玉米和 小麦)、1.5(黄豆、 花生)	GB 5009.25— 2016
乙腈-水-甲酸 (85:14:1, V:V:V)	石墨化碳	-	ACQUITY UPLC BEH Shield RP18 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm)	乙腈-0.1%甲 酸溶液梯度 洗脱	ESI+/-	8	定量限: 0.5	[32]
乙腈-水 (85:15, V:V)	30 mg SiO ₂ + 30 mg C ₁₈	-	Atalantis T 3 (2.1 mm×150 mm, 3 μm)	乙腈-0.15% 甲酸溶液梯 度洗脱	ESI+	5	0.14	[33]

注: -表示该项没有使用试剂。

3.1.1 提取液选择

一方面, 粮食样品中均含油脂成分, 选用液液萃取方式可将极性较强的脂溶性杂色曲霉毒素提取出来。乙腈有较好的蛋白质沉淀功能, 作为提取液有机相可获得更加澄清的溶液; 另一方面, 粮食样品中水分含量较低, 为提高试验的回收率, 提取液中可加入适量的水, 因此研究人员多数选择乙腈-水溶液作为提取液对粮食中杂色曲霉毒素进行提取^[29,31-33]。同时, 杂色曲霉毒素具有较强的脂溶性, 提取液中乙腈有机相比比例低会导致提取率低, 回收率差; 提取液中若只含纯乙腈会导致渗透能力不足, 同样造成杂色曲霉毒素提取不完全的情况, 综合各个因素, 研究人员主要选择 80% 以上的乙腈-水体系作为提取液。

3.1.2 净化技术选择

选择具有高效、便捷、低成本的样品净化技术是粮食中杂色曲霉毒素痕量分析技术的发展方向。目前, 粮食样品主要有两种形式的净化技术, 一种是国家标准方法的固相萃取柱或亲和柱吸附杂色曲霉毒素后, 再进行洗脱收集, 而基于固相萃取柱或免疫亲和柱的净化技术尽管能够保证基质净化效果以及准确检测微量目标物^[34-35], 但其价格较高; 另一种方法是通过净化剂吸附溶液中的杂质后直接进样测试, 省去了洗脱的步骤, 可提高工作效率, 且减少成本。赵亚荣等^[30,36]考察了 C₁₈、弗罗里硅土、石墨化碳黑和 PSA 4 种吸附剂, 研究发现 PSA 具有弱的阴离子交换能力, 可通过氢键与糖、脂肪酸、有机酸和部分色素结合, 同时 PSA 中的一级和二级胺增加了与化合物的结合能力, 获得良好的净化效果。项瑜芝^[31]比较了经过 HLB 固相萃取柱净化后的洗脱液, 采用正己烷、石油醚脱脂和 Prime HLB 3 种方式再净化的结果, 发现 3 种再净化方式都能够去除油脂获得澄清溶液, 但经正己烷和石油醚处理的溶液由于杂色曲霉毒素溶解于非极性溶剂造成损失, 导致回收率小于 40%, 而 Prime HLB 的回收率可达到 89.2%。赵健等^[32]分析了石墨化碳、N-丙基乙二胺和硅胶的净化效果, 结果发现石墨化碳可有效去除小麦中的色素, 回收率在 70%~120%之

间。闫志光等^[33]研究了 SiO₂、NH₂、弗罗里硅土分别与 C₁₈ 的组合进行样品净化的效果, 发现 3 种净化方式处理的样品测定结果显著差异 ($P < 0.05$), SiO₂+C₁₈ 净化效果最好。

3.2 高效液相色谱法

高效液相色谱法是粮食中杂色曲霉毒素含量检测的常规研究分析方法(表 3), 其对杂色曲霉毒素的专属性很强, 具有灵敏度高、重现性好、普及性广等优点, 但对复杂基质样品存在杂峰干扰检测结果等问题。袁建等^[37]建立硅镁吸附柱-甲醇-氯仿前处理净化方式, 运用高效液相色谱法, 测定结果的重复性好(平均变异系数 3.84%), 回收率大于 75%。在此基础上, 袁建等^[38]将硅镁吸附柱替换成硅胶吸附柱, 选用乙醚-正己烷(20:80, V:V)作为洗脱剂, 较好地减少杂峰, 回收率可达到 86.59%。2016 年制定的国家标准中吸收研究人员的研究成果, 新加入第二法液相色谱法, 用乙腈-水溶液提取, 经均质、涡旋、超声、离心等处理, 取上清液用磷酸盐缓冲液稀释, 免疫亲和柱净化、洗脱, 氮气浓缩、流动相定容、微孔滤膜过滤, 液相色谱分离紫外检测器检测。魏雨佳^[39]采用双三元高效液相色谱技术, 结合 QuEChERS 盐包萃取、在线衍生及二极管阵列检测器(diode-array, DAD)和荧光检测器(fluorescence detection, FLD)双检测器联用技术, 同时测定包括杂色曲霉毒素的 4 种真菌毒素。

3.3 薄层层析法

薄层层析法操作简单, 不需要复杂精密的仪器设备, 试样中的杂色曲霉毒素经过提取、净化、浓缩、薄层展开等程序后, 与三氯化铝形成复合物显色, 复合物经加热在 365 nm 波长的紫外光激发下能产生持久的亮黄色荧光物质, 根据其在薄层上显示的荧光最低检出量来测定试样中杂色曲霉毒素的含量。薄层层析法有单向展开和双向展开两种方式, 在杂色曲霉毒素测定中主要采用双向展开法, 这样能有效去除试样中的杂质, 提高检测灵敏度。胡文娟等^[40]研究摸索出乙醚-正己烷-苯-氯仿-甲酸(3:9:1.5:1.5:0.6, V:V:V:V:V)横

表 3 高效液相色谱法测定杂色曲霉毒素的研究结果

Table 3 Research results on determination of sterigmatocystin by high performance liquid chromatography

前处理		色谱条件				检出限	参考文献
提取方式	净化	洗脱	色谱柱	检测波长/nm	流动相		
正己烷	硅镁吸附柱	2%甲醇-氯仿	Nova-Pak C ₁₈ (3.9 mm×150 mm, 4 μm)	246	甲醇-水(70:30, V:V)	0.017 μg/kg	[37]
正己烷	硅胶小柱	乙醚-正己烷 (20:80, V:V)	Nova-Pak C ₁₈ (3.9 mm×150 mm, 4 μm)	246	甲醇-水(70:30, V:V)	0.017 μg/kg	[38]
乙腈-水溶液 (80:20, V:V)	MAX 柱	乙腈	C ₁₈ (4.6 mm×150 mm, 3.5 μm)	325	乙腈-水梯度 洗脱	6 μg/kg	GB 5009.25— 2016
甲酸-乙腈(10:90, V:V) QuEChERS 盐包	Oasis Prime HLB 小柱	乙腈	Thermo C ₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm)	325	乙腈-水梯度 洗脱	1.5 ng/mL	[39]

向展开剂,再以苯-甲醇-冰醋酸(90:8:2 或 92.5:6:1.5, V:V:V)作为纵向展开剂,建立了双向薄层色谱法,该方法较好地消除了一些试样在薄层色谱上类似杂色曲霉毒素的荧光点干扰,减少了假阳性结果,在国家标准(GB 5009.25—2016)第三法薄层色谱法中也是运用胡文娟等^[40]的纵横两层展开剂。薄层层析法方法操作简单、试剂成本低廉,但是试验的重复性较差、灵敏度不高、使用试剂繁多,无法实现目测定量和自动化^[41],一般作为定性筛查方法。

3.4 酶联免疫法

早在 20 世纪 80 年代, MORRIS 等开启了 ELISA 杂色曲霉毒素检验序幕,田禾菁等^[42]在前人研究的基础上,通过研究粮食中杂色曲霉毒素的酶联免疫吸附检测技术,简化了试样中杂色曲霉毒素的提取和检测步骤,显著降低了检出限,提高了检验方法的特异性。谢冰等^[43]将合成的 ST-BSA 偶联物作为抗原,获得特异性良好的杂色曲霉毒素单克隆抗体 VerA₃,建立检测小麦、玉米、花生中杂色曲霉毒素超灵敏的 cELISA 法,检测限在 0.06~0.1 ng/g 之间,回收率为 83%~110%,批间和批内变异系数均小于 10%,可较好地运用于粗粮作物中杂色曲霉毒素含量的研究中。SINGH 等^[44]开发了一种无需对杂色曲霉毒素进行衍生化或通过免疫亲和色谱净化样品就能进行定量的多克隆抗体的竞争性间接酶联免疫吸附测定法(间接竞争 ELISA),用于检测小麦和玉米粉中的杂色曲霉毒素,在基质中的检测限为(0.19±0.04) ng/mL,变异系数小于 22%。酶联免疫法特异性好、提取方法简单、灵敏度和回收率高,可多个样品同时检测,但由于杂色曲霉毒素在试样中含量不高,免疫原性较弱,存在交叉反应并且特异性抗体制备困难等缺点,限制了其在杂色曲霉毒素测定中的应用^[45-46]。

3.5 生物传感器测定法

生物传感器是将组织、微生物、全细胞、细胞器、酶、核酸、抗原、抗体等生物识别元件进行特异性组装,获得的相互作用转化为可测信号的一类化学物质检测装置^[47-49]。陈俊华等^[50]将黄曲霉毒素氧化酶(afatoxin-oxidase, AFO)结合在壳聚糖-单壁碳纳米管(chitosan-single-walled carbon nanotubes, CS-SWCNTs)杂交膜中,再与聚邻苯二胺(poly-o-phenylenediamine, POPD)修饰的金电极(Au)组装成对杂色曲霉毒素敏感的生物传感器(AFO/CS-SWCNTs/POPD/Au)。黄曲霉毒素氧化酶对杂色曲霉毒素具有明显的电催化作用,表观米氏常数 K_m 达 7.13 $\mu\text{mol/L}$,催化电流与杂色曲霉毒素质量浓度在 10~310 ng/mL 范围内呈线性关系,相关系数达到 0.997,检出限为 3 ng/mL ($S/N=3$),其回收率在 87.6%~105.5%之间,响应时间在 10 s 以下。连续测定 11 次 20 ng/mL 的杂色曲霉毒素标准溶液电流值相对标准偏差为 3.9%,放置 1 个月的电流响应还有初始值 85.6%。试验证明了该组装的生物传感器的稳定性与重现性良好,测定方法简单快捷、成本低,

是测定粮食中杂色曲霉毒素的又一理想思路。

4 展望

粮食中杂色曲霉毒素的研究已经经历了很长一段时间了,虽然没有黄曲霉毒素那样受到广泛关注,但不能否认其对动物和人类的健康存在极大的危害。目前,我国粮食中杂色曲霉毒素的国家标准限量值仍是空白,科研人员只能参照黄曲霉毒素 B₁ 的限量标准开展工作,很难准确分析粮食中杂色曲霉毒素的危害程度,在研究中存在瓶颈。而制定准确的限量标准必须建立在杂色曲霉毒素的毒性研究、我国粮食真实污染状况和检测分析技术基础上。因此,国家要加大在杂色曲霉毒素相关领域研究的投入和力度,鼓励科研人员对杂色曲霉毒素机制的深入研究和粮食全品种、各地区的污染调查与分析。另外,在检测分析技术方面仍然有待提高,如高效液相色谱-串联质谱法、高效液相色谱法虽然检测结果准确,但是前处理步骤烦琐、效率较低、成本高;薄层色谱法、酶联免疫法、生物传感器测定法虽然方法操作简单,但是重复性较差、灵敏度不高、结果不够准确。研究人员今后要在前人研究的基础上,一方面研究建立简便、高效的粮食中杂色曲霉毒素前处理方法,在保证灵敏性和准确性的前提下,简化实验室样品前处理的步骤,提高工作效率;另一方面,结合新型检测技术,建立便捷、准确的杂色曲霉毒素快速检测方法,帮助科研人员快速获得准确的粮食杂色曲霉毒素污染数据。随着现代分析技术手段的不断发展,将来会有更多、高效的新型检测粮食中杂色曲霉毒素的方法供检测人员选择,这不仅有助于粮食污染状况分析,还为准确地进行风险评估和制定国家限量标准奠定基础,有效地保障国民的身体健康和粮食质量安全。

参考文献

- [1] ABDOLMALEKI K, KHEDRI S, ALIZADEH L, *et al.* The mycotoxins in edible oils: An overview of prevalence, concentration, toxicity, detection and decontamination techniques [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2021, 115: 500-511.
- [2] NIETO CHD, GRANERO AM, ZON MA, *et al.* Sterigmatocystin: A mycotoxin to be seriously considered [J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, (118): 460-470.
- [3] 李玮, 艾连峰, 马育松, 等. 超高效液相色谱-飞行时间质谱测定牛奶中 9 种真菌毒素[J]. *分析科学学报*, 2019, 35(5): 675-678.
LI W, AI LF, MA YS, *et al.* Determination of 9 kinds of mycotoxins in milk by ultra performance liquid chromatography-time of flight mass spectrometry [J]. *J Anal Sci*, 2019, 35(5): 675-678.
- [4] 王鸿雁. 固相萃取串联高效液相色谱检测谷物中杂色曲霉毒素[J]. *农业科技与信息*, 2017, (2): 29-31.
WANG HY. Determination of sterigmatocystin in cereals by solid phase extraction tandem high performance liquid chromatography [J]. *Agric Sci Technol Inform*, 2017, (2): 29-31.
- [5] VIEGAS C, NURME J, PIECKOVA E, *et al.* Sterigmatocystin in

- foodstuffs and feed: Aspects to consider [J]. *Mycology*, 2018, 11(5): 1–15.
- [6] PANEL EC. Scientific opinion on the risk for public and animal health related to the presence of citrinin in food and feed [J]. *Eur Food Saf Author J*, 2013, 11(6): 3254.
- [7] 邢凌霄, 张祥宏, 申海涛, 等. 杂色曲霉毒素对新生乳鼠致癌作用的实验研究[J]. *中华病理学杂志*, 2007, 36(4): 265–266.
- XING LX, ZHANG XH, SHEN HT, *et al.* Experimental study on carcinogenic effect of sterigmatocystin on neonatal rats [J]. *Chin J Pathol*, 2007, 36(4): 265–266.
- [8] 刘亚玲, 邢欣, 邢凌霄, 等. 杂色曲霉毒素对小鼠胸腺和脾脏转录因子 Foxp3+调节性 T 淋巴细胞的影响[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2009, 23: 188–194.
- LIU YL, XING X, XING LX, *et al.* Effect of sterigmatocystin on transcription factor Foxp3+ regulatory T lymphocytes of thymus and spleen in mice [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol*, 2009, 23: 188–194.
- [9] 曹文军, 王会艳, 张祥宏, 等. 杂色曲霉毒素致人胚肺细胞 P53 及 Ki-ras 基因突变的研究[J]. *卫生研究*, 2000, 29(3): 175–177.
- CAO WJ, WANG HY, ZHANG XH, *et al.* Mutation of p53 and Ki-ras gene in human fetal lung fibroblast cells in vitro by sterigmatocystin [J]. *J Hyg Res*, 2000, 29(3): 175–177.
- [10] ABDEL WMA, HASAN AM, ALY SE, *et al.* Adsorption of sterigmatocystin by montmorillonite and inhibition of its genotoxicity in the Nile tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Mutat Res*, 2005, 582(1-2): 20–27.
- [11] TONG PZ, ZHANG GJ, ZHANG XH, *et al.* Effects of sterigmatocystin on esophageal epithelium and experimental reflux esophagitis in rats [J]. *Mol Med Rep*, 2013, 8(4): 1043–1048.
- [12] SIVAKUMAR V, THANISLASS J, NIRANJALI S, *et al.* Lipid peroxidation as a possible secondary mechanism of sterigmatocystin toxicity [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2001, 20(8): 398–403.
- [13] 黄向华, 张祥宏, 左连富, 等. 杂色曲霉毒素对小鼠肝细胞凋亡和增殖影响的研究[J]. *中国实验动物学杂志*, 2002, 12(2): 109–112.
- HUANG XH, ZHANG XH, ZUO LF, *et al.* Effect of sterigmatocystin on apoptosis and proliferation of hepatocytes in KM mice [J]. *Chin J Lab Anim Sci*, 2002, 12(2): 109–112.
- [14] 佟盼琢, 张祥宏, 严霞, 等. 杂色曲霉毒素对人食管鳞状上皮细胞人类白蛋白抗原 I 分子表达的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2006, 23(4): 583–584.
- TONG PZ, ZHANG XH, YAN X, *et al.* Effects of sterigmatocystin on the expression of HLA class I in esophageal squamous cells *in vitro* [J]. *Chin J Exp Surg*, 2006, 23(4): 583–584.
- [15] 王殿升, 孙鹤龄, 张国柱. 杂色曲霉毒素研究进展[J]. *国外医学(卫生学分册)*, 1987, (2): 68–72.
- WANG DS, SUN HL, ZHANG GZ. Research progress of sterigmatocystin [J]. *Foreign Med Sci (Hyg)*, 1987, (2): 68–72.
- [16] VERSILOVSKIS A, BARTKEVICS V, MIKELSONE V. Sterigmatocystin presence in typical Latvian grains [J]. *Food Chem*, 2008, 109(1): 243–248.
- [17] KOVALENKO AV, SOLDATENKO NA, FETISOV LN, *et al.* More accurate determination of the minimum allowable level of sterigmatocystin in piglet feed [J]. *Russ Agric Sci*, 2011, 37(6): 504–507.
- [18] MOL HGJ, PIETRI A, MACDONALD SJ, *et al.* Survey on sterigmatocystin in food [J]. *Eur Food Saf Author Support Public*, 2015, 12(3): 1–55.
- [19] GIORNI P, RASTELLI S, FREGONARA S, *et al.* Monitoring phenolic compounds in rice during the growing season in relation to fungal and mycotoxin contamination [J]. *Toxins*, 2020, 12(5): 341.
- [20] 楼建龙, 田禾菁, 孟昭赫, 等. 胃癌、肝癌高发区和低发区粮食中杂色曲霉毒素污染量调查[J]. *卫生研究*, 1995, 4(1): 28–31.
- LOU JL, TIAN HJ, MENG ZH, *et al.* Detection of sterigmatocystin in food/feed samples from areas with various liver/stomach cancer incidences by enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *J Hyg Res*, 1995, 4(1): 28–31.
- [21] BERTUZZI T, ROMANI M, RASTELLI S, *et al.* Sterigmatocystin occurrence in paddy and processed rice produced in Italy in the years 2014–2015 and distribution in milled rice fraction [J]. *Toxins*, 2017, 9(3): 86.
- [22] 李军, 李森, 颜燕. 几种真菌毒素在山东省主粮中污染状况调查[J]. *粮食储藏*, 2000, 29(2): 42–44.
- LI J, LI S, YAN Y. Investigation of mycotoxins infestation in main grain of Shandong Province [J]. *Grain Storage*, 2000, 29(2): 42–44.
- [23] 田禾菁, 刘秀梅. 中国粮食中杂色曲霉毒素污染状况调查及分析[J]. *卫生研究*, 2004, 33(5): 606–608.
- TIAN HJ, LIU XM. Survey and analysis on sterigmatocystin contaminated in grains in China [J]. *J Hyg Res*, 2004, 33(5): 606–608.
- [24] 孙武长, 刘桂花, 杨红, 等. 粮食中真菌及真菌毒素污染调查[J]. *中国公共卫生*, 2005, 21(12): 1532–1532.
- SUN WC, LIU GH, YANG H, *et al.* Investigation on fungal and mycotoxin contamination in grain [J]. *Chin J Pub Health*, 2005, 21(12): 1532–1532.
- [25] 杜娟. 高效液相色谱法测定粮食中杂色曲霉毒素的研究[D]. 南京: 南京财经大学, 2011.
- DU J. Study on determination of sterigmatocystin in grains by HPLC [D]. Nanjing: Nanjing University of Finance and Economics, 2011.
- [26] 赵亚荣, 曾睿, 陈佩榕, 等. 我国大陆地区食品中柄曲霉毒素和黄曲霉毒素 B₁ 的污染调查[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(24): 9108–9114.
- ZHAO YR, ZENG R, CHEN PR, *et al.* Investigation on the contamination of sterigmatocystin and aflatoxin B₁ in food from mainland China [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(24): 9108–9114.
- [27] 赵亚荣, 陈智慧, 王琼珊, 等. 我国部分地区燕麦及其制品中柄曲霉毒素污染调查[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(5): 1674–1678.
- ZHAO YR, CHEN ZH, WANG QS, *et al.* Investigation on contamination of sterigmatocystin in oat and products in some areas of China [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(5): 1674–1678.
- [28] MONBALIU S, VAN PC, DETAVERNIER C, *et al.* Occurrence of mycotoxins in feed as analyzed by a multimycotoxin LC-MS/MS method [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(1): 66–71.
- [29] 曹娅, 孙利, 王明林, 等. 粮谷中 8 种痕量真菌毒素的定量分析方法[J]. *分析测试学报*, 2013, 32(2): 150–155.
- CAO Y, SUN L, WANG ML, *et al.* Accurate quantitative analysis method for 8 kinds of mycotoxins in cereal [J]. *J Instrum Anal*, 2013, 32(2): 150–155.
- [30] 赵亚荣, 石阶平, 黄健祥, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定大米与小米中柄曲霉毒素残留[J]. *分析测试学报*, 2016, 35(8): 1041–1045.
- ZHAO YR, SHI JP, HUANG JX, *et al.* Determination of sterigmatocystin in rice and millet by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2016, 35(8): 1041–1045.

- [31] 项瑜芝. 食品中展青霉素、杂色曲霉素及多种真菌毒素检测方法的研究[D]. 杭州:浙江工业大学, 2016.
XIANG YZ. Study on the analysis methods of patulin, sterigmatocystin and mycotoxins in food [D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2016.
- [32] 赵健, 陈国, 章豪, 等. UPLC-MS/MS 测定小麦中八种除草剂和真菌毒素[J]. 湖北农业科学, 2020, 59(21): 140-143.
ZHAO J, CHEN G, ZHANG H, *et al.* Determination of 8 residues of herbicide and mycotoxin in wheat by UPLC-MS/MS [J]. Hubei Agric Sci, 2020, 59(21): 140-143.
- [33] 闫志光, 田部男. QuEChERS-HPLC-MS/MS 法检测谷物源性运动食品中杂色曲霉素和黄曲霉毒素[J]. 中国酿造, 2021, 40(6): 172-175.
YAN ZG, TIAN BN. Determination of sterigmatocystin and aflatoxins in cereal-derived sports food by QuEChERS-HPLC-MS/MS [J]. China Brew, 2021, 40(6): 172-175.
- [34] 李磊, 韦柳丹, 周贻兵, 等. 固相萃取净化-超高效液相色谱串联质谱法测定菜籽油中交链孢霉毒素含量[J]. 中国油脂, 2021, 46(8): 119-122, 139.
LI L, WEI LD, ZHOU YB, *et al.* Determination of alternaria mycotoxins in rapeseed oil by solid phase extraction with ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. China Oils Fats, 2021, 46(8): 119-122, 139.
- [35] 李丽, 吴宇, 王海波, 等. 全自动免疫亲和固相萃取超高效液相色谱法测定粮油中黄曲霉毒素[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(7): 157-164.
LI L, WU Y, WANG HB, *et al.* High throughput method for analysis of aflatoxins in cereals and oils using automated immunoaffinity cleaning up and ultra high performance liquid chromatography [J]. J Chin Cere Oils Ass, 2020, 35(7): 157-164.
- [36] ZHAO YR, HUANG JX, MA LY, *et al.* Development and validation of a simple and fast method for simultaneous determination of aflatoxin B₁ and sterigmatocystin in grains [J]. Food Chem, 2017, 221: 11-17.
- [37] 袁建, 杜娟. 小麦中杂色曲霉毒素的硅镁吸附柱层析分离纯化及 HPLC 的定量分析[J]. 粮食储藏, 2010, 39(6): 40-43.
YUAN J, DU J. Determination of sterigmatocystin in wheat by HPLC with florisil column [J]. Grain Storage, 2010, 39(6): 40-43.
- [38] 袁建, 杜娟, 汪海峰, 等. 高效液相色谱法测定小麦中的杂色曲霉毒素[J]. 食品科学, 2011, 32(12): 174-177.
YUAN J, DU J, WANG HF, *et al.* Determination of sterigmatocystin in wheat by HPLC [J]. Food Sci, 2011, 32(12): 174-177.
- [39] 魏雨佳. 同时检测粮食中 4 种真菌毒素的方法建立及其联合毒性作用研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2018.
WEI YJ. Study on establishment of simultaneous detection method and combined cytotoxic effects of 4 kinds of mycotoxins in grain [D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2018.
- [40] 胡文娟, 田长清, 罗雪云, 等. 双向薄层色谱法测定粮食中的杂色曲霉毒素[J]. 微生物学通报, 1983, (6): 265-266.
HU WJ, TIAN CQ, LUO XY, *et al.* Determination of sterigmatocystin in grain by two-way thin layer chromatography [J]. Microbiol China, 1983, (6): 265-266.
- [41] 马江媛, 桑晓霞, 黄登宇. 黄曲霉毒素 B₁ 的检测方法[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(24): 8399-8404.
MA JY, SANG XX, HUANG DY. Detection method for aflatoxin B₁ [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(24): 8399-8404.
- [42] 田禾菁, 刘秀梅. 粮食中杂色曲霉毒素酶联免疫吸附测定方法[J]. 卫生研究, 2004, 4(1): 111.
TIAN HJ, LIU XM. Enzyme linked immunosorbent assay for sterigmatocystin in grain [J]. J Hyg Res, 2004, 4(1): 111.
- [43] 谢冰, 董晓云. 一种检测谷物和粮油作物中杂色曲霉毒素 cELISA 方法的建立[J]. 中国畜牧兽医, 2014, 41(10): 144.
XIE B, DONG XY. Establishment of an cELISA method for the detection of sterigmatocystin in cereals, cereals and oil crops [J]. China Anim Husb Vet Med, 2014, 41(10): 144.
- [44] SINGH G, VELASQUEZ L, HUET AC, *et al.* Development of a polyclonal antibody-based indirect competitive ELISA for determination of sterigmatocystin in wheat and corn flours [J]. Food Addit Contam A, 2019, 36(2): 1-9.
- [45] 方国锋, 王锡昌, 陶宁萍, 等. 河豚毒素的样品前处理与快速检测技术研究进展[J]. 分析测试学报, 2014, 33(12): 1447-1452.
FANG GF, WANG XC, TAO NP, *et al.* Current progress in sample pretreatment and rapid detection methods for tetrodotoxin [J]. J Instrum Anal, 2014, 33(12): 1447-1452.
- [46] 耿建暖. 酶联免疫法及其在食品中的应用研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2021, (19): 40-44.
GENG JN. Research progress of enzyme-linked immunosorbent assay and its application in food processing [J]. Heilongjiang Anim Sci Vet Med, 2021, (19): 40-44.
- [47] 王明光. 生物技术在食品安全检测中的最新应用[J]. 现代食品, 2021, (13): 34-36.
WANG MG. The latest application of biotechnology in food safety detection [J]. Mod Food, 2021, (13): 34-36.
- [48] 吴有雪, 吴美娇, 田亚晨, 等. 沙门氏菌检测生物传感器研究进展[J]. 食品科学, 2021, 42(3): 339-345.
WU YX, WU MJ, TIAN YC, *et al.* Progress in the development of salmonella biosensors [J]. Food Sci, 2021, 42(3): 339-345.
- [49] 董燕婕, 梁京芸, 王磊, 等. 基于荧光生物传感器的真菌毒素检测方法研究进展[J]. 中国食物与营养, 2020, 26(02): 24-30.
DONG YJ, LIANG JY, WANG L, *et al.* Research progress on fluorescence-based biosensors for the detection of mycotoxins [J]. Food Nutr China, 2020, 26(2): 24-30.
- [50] 陈俊华, 李世川, 姚冬生, 等. 黄曲霉毒素氧化酶/壳聚糖-单壁碳纳米管/聚邻苯二胺修饰电极对杂色曲霉毒素的检测[J]. 生物工程学报, 2009, 25(12): 2029-2035.
CHEN JH, LI SC, YAO DS, *et al.* Detection of sterigmatocystin based on the novel aflatoxin-oxidase/chitosan-single-walled carbon nanotubes/poly-phenylenediamine modified electrode [J]. Chin J Biotechnol, 2009, 25(12): 2029-2035.

(责任编辑: 于梦娇 郑 丽)

作者简介



林 滢, 硕士 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: 83123722@qq.com