

山东临沂部分县区花生收获前后黄曲霉毒素 B₁ 污染情况研究

苏 祥¹, 刘建伟¹, 韩小敏², 秦泽明¹, 温红玲¹, 宋艳艳¹, 李凤琴², 赵 丽^{1*}

(1. 山东大学公共卫生学院卫生微生物学检验系, 济南 250012; 2. 国家食品安全风险评估中心, 北京 100021)

摘 要: **目的** 了解花生从收获前到收获、储存期间黄曲霉毒素 B₁(AFB₁)污染的环节, 为预防花生 AFB₁ 的污染提供科学依据。**方法** 2014 年, 在山东临沂市选择花生种植范围较广的 5 个县, 分别于收获前 1~2 周、收获时、收获晾干后 1 个月和储存 3 个月采集花生样本共 260 份, 酶联免疫法(ELISA)检测花生 AFB₁ 的污染情况, 并对结果进行分析。**结果** 260 份花生样品中, 收获前、收获时样品中 AFB₁ 均小于 2 µg/kg, 收获晾干后 1 个月和储存 3 个月各有 1 份样品 AFB₁ 含量严重超标, 分别是 81.07 µg/kg 和为 254.27 µg/kg, 阳性率均为 1.27%; 总阳性率为 0.77%。**结论** 2014 年临沂部分地区花生中 AFB₁ 阳性率较低, 污染主要发生在收获后的晾晒和储存期, 提示科学晾晒和储存是预防花生 AFB₁ 污染的重要措施之一。

关键词: 花生; 黄曲霉毒素 B₁; 酶联免疫法; 污染调查

Contamination of aflatoxin B₁ in peanuts around harvest from counties of Linyi in Shandong province

SU Xiang¹, LIU Jian-Wei¹, HAN Xiao-Min², QIN Ze-Ming¹, WEN Hong-Ling¹,
SONG Yan-Yan¹, LI Feng-Qin², ZHAO Li^{1*}

(1. Department of Laboratory Science of Sanitary Microbiology, School of Public Health, Shandong University, Jinan 250012, China; 2. China National Centre for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China)

ABSTRACT: Objective To investigate aflatoxin B₁ (AFB₁) contamination of peanuts from pre-harvest, harvest period to storage period, and to provide a scientific basis to prevent contamination of AFB₁ in peanuts. **Methods** In 2014, five counties of Linyi in Shandong province were chosen, and 260 peanut samples were collected in 1~2 weeks before harvest, harvest, post-harvest 1 month and 3 months storage, standardized enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits were used to detect AFB₁ content in peanuts, then, the results were analyzed. **Results** In 260 peanut samples, AFB₁ concentrations from all pre-harvest and harvest peanuts were less than 2 µg/kg, AFB₁ of 2 samples from 1 month after drying and 3 months storage were out of limits, the values were 81.07 µg/kg and 254.27 µg/kg, respectively. The positive rate was 1.27%, and total positive rate was 0.77%. **Conclusion** AFB₁ contamination of peanuts in this region occurred mostly in drying and storage period after harvest, scientific drying and storage were one of the most important measures to prevent AFB₁ contamination in peanuts.

KEY WORDS: peanuts; aflatoxin B₁; enzyme-linked immunosorbent assay; contamination survey

*通讯作者: 赵丽, 副教授, 主要研究方向为微生物检验。E-mail: dlzhl@sdu.edu.cn

*Corresponding author: ZHAO Li, Associate Professor, Department of Laboratory Science of Sanitary Microbiology, School of Public Health, Shandong University, Jinan 250012, China. E-mail: dlzhl@sdu.edu.cn

1 引言

黄曲霉毒素(aflatoxin, AF)的存在形式主要有4种: B₁, B₂, G₁和G₂, 是黄曲霉菌、寄生曲霉菌等菌株产生的次生代谢产物, 具有最强致癌性和毒性的是AFB₁, 国际癌症研究机构将其划定为I类致癌物^[1]。自20世纪60年代以来, 有关AF的危害在世界范围内被大量报道^[2], AFB₁污染主要分布在热带和亚热带地区^[3], 食品中污染最为严重的是花生及其制品^[4]。山东省是中国花生的主要出产省份之一, 其中临沂地区是山东花生的主要出产地区之一, 有研究显示该地区花生每年都存在不同程度的AFB₁的污染^[5,6]。目前关于花生中AFB₁污染的研究多是针对收获后花生及花生制品, 对花生从收获、晾晒到储存的各个环节AFB₁污染情况尚未见报道。本研究从花生收获前、收获时、收获后及储存一段时间采样, 研究不同环节花生中AFB₁的污染情况, 阐明花生中AFB₁污染的源头, 为预防花生黄曲霉毒素污染提供科学依据。

2 材料与方法

2.1 样品的采集

2.1.1 采样点和采样时间

2014年9月至2015年1月在山东临沂市花生种植范围较广的区县中选择沂水县、临沭县、莒南县、平邑县、沂南县5个县, 每个县选择10个农户作为采样点, 每个农户采集2份样品, 每份0.25 kg。采样时间分别是收获前1~2周、收获时、收获晾干后1个月、收获后储存3个月。

2.2 试剂及仪器

甲醇(分析醇, 华鲁恒升公司)

AgraQuant®AFB₁检测试剂盒(检测限为2 μg/kg, Romer公司)、研磨机(II型, Romer公司)、酶标仪(Synergy 2型, BioTek公司)。

2.3 采样方法

采集现场花生不去壳, 实验室检测之前将壳去掉。花生采集后应尽快送至实验室进行检测, 否则需4℃冰箱保存, 花生由农户常规储存。具体方法如下:

收获前、收获时花生: 每块农田选四周及中央共5个点, 花生刨出后, 去掉茎叶, 取带壳花生约

10 kg, 混合后取1 kg(去壳后约0.25 kg), 装入无菌采样袋备检。

收获晾干后1个月内花生: 每份样品采集量约1 kg, 装入无菌采样袋备检。

储存3个月花生: 如为包装袋, 应从每个包装袋上、中、下3层分别取样, 约10 kg, 混合后取1 kg(去壳后约0.25 kg), 装入无菌采样袋备检。

2.4 样品的制备和检测

2.4.1 样品前处理

花生去壳后, 取100 g花生样品, 研磨机磨碎后, 使其通过20目筛网, 混合并对样品进行2次取样。

2.4.2 AFB₁的提取

称取20 g研磨样品于干净并可密封的广口瓶中, 加入100 mL (70:30, V:V)甲醇/水萃取溶液, 密封广口瓶, 振荡3 min后, 静置, 上清液用滤纸过滤, 收集滤液待检。检测时, 用分析缓冲液对滤液进行1:2稀释。

2.4.3 AFB₁检测

按照AgraQuant®黄曲霉毒素B₁ ELISA检测试剂盒操作说明。AFB₁标准品浓度依次为0、2、5、20、50 μg/kg, AFB₁浓度为0时(不含AFB₁)测定吸光度为B₀, 不同浓度AFB₁标准品测定吸光度为B_i(i为1,2,3,4), 计算百分吸光度B_i/B₀, 以AFB₁含量的对数值为横坐标(X), B_i/B₀的logit值为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 根据样品在标准曲线中的B_i/B₀的logit值求得每份样品的AFB₁含量。该试剂盒检测限为2 μg/kg, 定量范围2~50 μg/kg, 小于2 μg/kg的样品即在试剂盒检测范围内未有AFB₁检出, 大于50 μg/kg的样品需要做适当稀释后, 再进行检测, 然后乘以稀释倍数进行定量。

2.5 统计学处理

所以数据采用SPSS 20.0软件进行处理。

3 结果与分析

3.1 ELISA检测花生中AFB₁的标准曲线

见图1, AFB₁浓度在2~50 μg/kg范围内, AFB₁浓度的对数值与B_i/B₀的Logit值呈线性关系, 线性方程为 $Y = -1.0504X + 1.09512$, 决定系数 $r^2 = 0.9980$, 试剂盒说明中要求 $r^2 > 0.985$ 时实验结果有效, 本次实验结果可信。

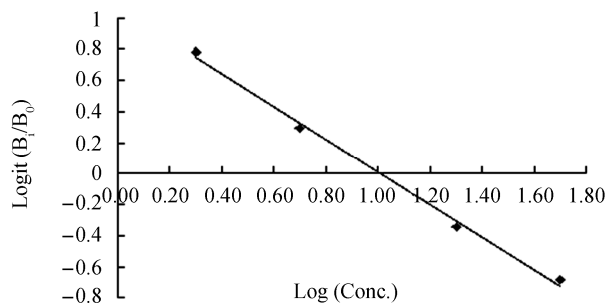


图 1 ELISA 检测花生中 AFB₁ 的标准曲线
Fig. 1 Standard curve of AFB₁ in peanuts by ELISA

3.2 花生中 AFB₁ 检测结果

不同地点, 不同时间采集花生中 AFB₁ 检测结果见表 1, 收获前、收获时各采集样品 60 份和 40 份, 花生样品中 AFB₁ 含量均小于 2 μg/kg; 收获晾干后 1 月内采集花生 80 份, 其中有 1 份 AFB₁ 超过 50 μg/kg, AFB₁ 含量为 81.07 μg/kg, 超过国家标准 20 μg/kg, 超标率为 1.27%; 收获晾干 3 个月采集花生 80 份, 其中有 1 份 AFB₁ 超过 50 μg/kg, AFB₁ 含量为 254.27 μg/kg, 超标率为 1.27%。所有样品中, AFB₁ 总超标率为 0.77%。

4 讨 论

按照国家现行标准规定, 花生仁及花生制品的 AFB₁ 限量值(MLs)为 ≤ 20 μg/kg, 目前国际上将 AFB₁ < 5 μg/kg 视为无黄曲霉毒素污染风险^[7]。我国花生 AFB₁ 污染普遍, 南北方污染差别普遍偏大, 南方比较重, 北方比较轻^[8-11]。山东地区的花生产量占全国的 1/3, 出口量占 60%, 山东地区花生 AFB₁ 的污染

情况对全国花生产业影响重大^[8]。2006 年孙秀山等^[13]对山东 6 个花生主产区 12 个县市的花生进行抽样调查, 结果表明山东产花生没有受到 AFB₁ 的污染。杜献明等^[5]研究了 2008~2009 年临沂 9 个县的花生收获时 AFB₁ 污染情况, 东区(莒南县和临沭县)阳性率最高, 2 年 AFB₁ 污染率分别为 13.0%和 21.7%, 其次是南区(郯城县和苍山县)和北区(沂水县和沂南县), 西区(蒙阴县、费县和平邑县)2 年 AFB₁ 阳性率均为 0, 其中沂水县所在的北区 2008 年 AFB₁ 阳性率为 0, 2009 年 AFB₁ 阳性率为 4.3%。本研究检测了 2014 年山东省临沂市莒南县、临沭县、沂水县、沂南县、平邑县 5 个县区收获前、收获时、晾干后 1 个月和储存 3 个月共 260 份花生中 AFB₁ 的含量, 结果表明, 收获前和收获时花生中 AFB₁ 均低于 2 μg/kg, 可视为无 AFB₁ 污染, 收获时花生中 AFB₁ 阳性率低于 2008 年和 2009 年。

花生在生长、收获、储存、运输的每个阶段都有可能受到 AFB₁ 的污染, 影响 AFB₁ 产生的重要因素有花生的水分含量、环境温度和相对湿度。26~28 ℃ 是黄曲霉生长的最适温度, 相对湿度越高越适宜黄曲霉生长^[14]。此外, 土壤中黄曲霉的污染与花生中 AFB₁ 的含量有关, 本研究组成员在 2012 年对临沂部分地区土壤中黄曲霉进行检测, 结果显示, 土壤中黄曲霉平均污染率为 8%^[6], 虽然土壤存在一定程度的黄曲霉污染, 但是本次检测的收获前和收获时的花生样品中 AFB₁ 均低于 2 μg/kg, 表明花生生长期黄曲霉毒素污染的影响因素较为复杂。在储存期时, 花生黄曲霉毒素污染影响因素除了花生的水分含量、温度、相对湿度外, 还有储存时间。陈彤等^[15]研究表明, 花生中 AFB₁ 的含量随平衡相对湿度的升高而增加, 随贮存时间延长, 其含量也不断增加。本研究结果显

表 1 不同时期花生样品中 AFB₁ 检测结果
Table 1 Results of AFB₁ content of peanuts at different times

采集时间	样品数量	不同 AFB ₁ 污染的样品数量			阳性率(%)
		<2 μg/kg	2~50 μg/kg	>50 μg/kg	
收获前	60	60	0	0	0
收获时	40	40	0	0	0
晾干后 1 月内	80	79	0	1	1.27
储存 3 个月	80	79	0	1	1.27
合计	260	258	0	2	0.77

示, 晾干后 1 个月和储存 3 个月的花生样品中, 各有 1 个样品超过国家标准, 分别为 81.07 和 254.27 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 这 2 个 AFB₁ 超标样品均来源于沂水县, 沂水县花生 AFB₁ 阳性率为 1.25%。表明晾晒和储存不当是花生 AFB₁ 污染的原因之一。

综上所述, 临沂部分地区花生受 AFB₁ 的污染比较轻, 部分晾干后 1 个月和储存 3 个月的样品中 AFB₁ 超标, 提示花生收获后, 需执行正确的农业操作规范, 进行科学及合理晾晒和储存, 以减少花生中 AFB₁ 的污染。

参考文献

- [1] Parkin DM, Bray F, Ferlay J. Global cancer statistics, 2002 [J]. CA Cancer J Clin, 2005, 55(2): 74–108.
- [2] Bhatnagar D, Yu J, Ehrlich KC. Toxins of filamentous fungi [A]. Chem Immunol, 2002, 81: 167–206.
- [3] 莫新少. 黄曲霉毒素 B₁ 暴露及控制的研究进展[J]. 护士进修杂志, 2009, 24(1): 32–34.
Mo XS. The progress of exposure and control with aflatoxin B₁ [J]. J Nurses Train, 2009, 24(1): 32–34.
- [4] 梁炫强, 潘瑞炽. 花生收获前黄曲霉侵染因素研究[J]. 中国油料作物报, 2000, 22(4): 66–70.
Liang XQ, Pan RZ. Infection factors of aflatoxin pollution before peanut harvest [J]. Chin J Oil Crop Sci, 2000, 22(4): 66–70.
- [5] 杜献明, 裴道国, 姚知渊, 等. 临沂地区花生生长期黄曲霉毒素污染状况及控制措施[J]. 花生学报, 2011, 40(3): 46–48.
Du XM, Pei DG, Yao ZY, *et al.* Situation and controlling measures of the aflatoxin contamination in the growing season peanut in Linyi area [J]. J Peanut Sci, 2011, 40(3): 46–48.
- [6] 韩小敏, 王伟, 李凤琴, 等. 山东临沂部分地区 2012 年产花生真菌污染调查[J]. 中国食品卫生杂志, 2013, 25(6): 501–504.
Han XM, Wang W, Li FQ, *et al.* Survey on fungi contamination of peanut harvested in 2012 collected from parts of Linyi district in Shandong [J]. Chin J Food Hyg, 2013, 25(6): 501–504.
- [7] 段淑芬, 胡文广, 戴良香. 花生黄曲霉毒素国家标准与绿色贸易壁垒[J]. 中国农学通报, 2006, 22(6): 95–98.
Duan SF, Hu WG, Dai LX. The national standards for peanut aflatoxin and the technical barrier s in international trade [J]. Chin Agric Sci Bull, 2006, 22(6): 95–98.
- [8] 王守经, 祝清俊, 胡鹏, 等. 花生及其制品的黄曲霉毒素污染与防控措施[J]. 中国食物与营养, 2010, (3): 14–16.
Wang SJ, Zhu QJ, Hu Peng, *et al.* Contamination of aflatoxin in peanut and peanut-products and its prevention methods [J]. Food Nutr China, 2010, (3): 14–16.
- [9] 马皎洁, 邵兵, 林肖惠, 等. 我国部分地区 2010 年产谷物及其制品中多组分真菌毒素污染状况研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2011, 23(6): 481–488.
Ma JJ, Shao B, Lin XH, *et al.* Study on the natural occurrence of multi-mycotoxin in cereal and cereal-based product samples collected from parts of China in 2010 [J]. Chin J Food Hyg, 2011, 23(6): 481–488.
- [10] 邱文倩, 傅武胜. 福建省市售花生及花生制品中 4 种黄曲霉毒素污染调查[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(10): 2443–2447.
Qiu WQ, Fu WS. Contamination of aflatoxins in peanuts and peanut products from Fujian [J]. Chin J Health Lab Technol, 2012, 22(10): 2443–2447.
- [11] 蔡梅, 吉文亮, 刘华良, 等. 江苏地区市售花生和玉米中黄曲霉毒素总量监测结果分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(11): 2504–2505.
Cai M, Ji WL, Liu HL, *et al.* Monitoring on total aflatoxins in commercial peanuts and corn in Jiangsu area [J]. Chin J Health Lab Technol, 2013, 23(11): 2504–2505.
- [12] 杨洁, 张勇, 杨萍, 等. 山东省花生产业发展现状分析[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(9): 433–436.
Yang J, Zhang Y, Zhang P. Development situation analysis of peanut industry in Shandong [J]. Jiangsu Agric Sci, 2014, 42(9): 433–436.
- [13] 孙秀山, 单世华, 王传堂, 等. 山东花生黄曲霉毒素污染情况调查初报[J]. 山东农业科学, 2006, (5): 57–58.
Sun XS, Shan SH, Wang CT, *et al.* Preliminary investigation of peanut aflatoxin contamination in Shandong [J]. Shandong Agric Sci, 2006, (5): 57–58.
- [14] 刘付香, 李少雄, 王文皓, 等. 广东花生产区土壤黄曲霉产毒菌落分布初步研究[J]. 花生学报, 2010, 39(4): 23–26.
Liu FX, Li SX, Wang WH, *et al.* Studies on distribution of *Aspergillus flavus* clony in soil in Guangdong [J]. J Peanut Sci, 2010, 39(4): 23–26.
- [15] 陈彤, 王常青, 李小凡, 等. 间接 ELISA 检测不同储存条件下花生中黄曲霉毒素 B₁[J]. 中国油脂, 2014, 39(9): 88–91.
Chen T, Wang CQ, Li XF, *et al.* Determination of aflatoxin B₁ in peanut under different storage conditions by indirect ELISA [J]. China Oil Fat, 2014, 39(9): 88–91.

(责任编辑: 李振飞)

作者简介

苏 祥, 硕士研究生, 主要研究方向
为微生物检验。
E-mail: susu223344@126.com

赵 丽, 副教授, 硕士生导师, 主要研
究方向为微生物检验。
E-mail: dlzhl@sdu.edu.cn