

# 粮食中霉菌污染检测方法现状及发展趋势

周玉庭, 任佳丽\*, 张紫莺

(中南林业科技大学食品科学与工程学院, 长沙 410004)

**摘要:** 粮食中霉菌污染, 尤其是产毒霉菌的污染是造成粮食损失、引起人类食源性疾病的重要原因。要实现粮食安全从被动应付向主动保障转变, 建立准确、快速、灵敏的检测方法显得尤为重要。本文分析了霉菌污染粮食的主要机制: 菌体污染和毒素污染。霉菌菌体污染的检测方法包括干片培养法、荧光分析法、微生物活性测定法、近红外光谱检测法和高光谱成像检测法等。毒素污染的检测方法包括高效液相色谱法、色谱-质谱联用法、酶联免疫吸附法和免疫生物传感器法等。本文分别比较了霉菌菌体检测法和霉菌毒素检测法的优缺点, 同时从霉菌污染的特点出发, 预测和展望了粮食中霉菌污染检测方法的发展趋势及研究重点, 希望对国内的粮食安全和粮食产业的发展有一定的参考价值。

**关键词:** 粮食; 霉菌; 霉菌毒素; 污染; 检测

## Current situation and development trends of detection methods for mold contamination in grains

ZHOU Yu-Ting, REN Jia-Li\*, ZHANG Zi-Ying

(College of Food Science and Engineering, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China)

**ABSTRACT:** Fungal contamination, especially mycotoxin contamination, is the major reason to result in grains loss and foodborne diseases in humans. To achieve food security guarantee from passive response to active transition, it is particularly important to establish accurate, rapid and sensitive detection method. The main mechanism causing mold contamination in grains contains cells contamination and mycotoxin contamination. The detection methods of mold contain dry sheet plate culture method, fluorescence analysis, microbial activity assay, near infrared spectrum method and hyperspectral imaging. The detection methods of mycotoxins include thin layer chromatography, high performance liquid chromatography, chromatography-tandem mass spectrometry, enzyme linked immunosorbent assay and immunosensor assay. The advantages and disadvantages of these methods were compared respectively. At the same time, the development trends and research priorities were speculated and forecasted from the characteristics of mold contamination. It has a certain reference value for the development of domestic grain security and grain industry.

**KEY WORDS:** grain; mold; mycotoxin; contamination; detection

基金项目: 国家自然科学基金项目(31340059)

**Fund:** Supported by the National Natural Science Foundation of China (31340059)

\*通讯作者: 任佳丽, 副教授, 硕士生导师, 主要研究方向为食品质量安全。E-mail: rjl\_cl@163.com

\*Corresponding author: REN Jia-Li, Associate Professor, College of Food Science and Technology, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China. E-mail: rjl\_cl@163.com

## 1 引言

霉菌污染, 尤其是产毒霉菌的污染严重影响了粮食质量和量的安全。霉菌污染对粮食主要产生两方面的危害, 一方面引起粮食变质, 降低粮食的食用价值, 带来巨大的经济损失。据联合国粮农组织估算, 全世界每年大约有 5%~7% 的粮食、饲料等农作物产品受霉菌污染, 所造成的经济损失可达数千亿美元。我国每年因霉菌污染造成的粮食损失高达 2100 万吨, 占全国粮食总产量的 4.2%, 是每年新增粮食产量的 4 倍多<sup>[1]</sup>; 另一方面霉菌毒素引起人与动物中毒, 威胁人类身体健康, 造成社会不稳定, 如部分黄曲霉和所有的寄生曲霉在代谢过程中会产生黄曲霉毒素, 黄曲霉毒素具有致癌、致畸、致突变作用, 危害也最为严重。

湖南是产粮大省, 季节多变, 气候高温潮湿, 极易导致粮食的霉变。因此, 对粮食中霉菌污染的早期检测是预防和控制粮食中霉菌污染的关键。本文在对霉菌引起粮食污染主要机制分析的基础上, 对粮食中霉菌菌体污染及其毒素污染的检测方法进行了综述, 并展望了适合粮食基质的检测方法的发展趋势。

## 2 霉菌污染粮食的主要机制

粮食很容易受到霉菌的污染, 现今发现对粮食造成污染的霉菌有 150 多种。按照霉菌污染途径可分为田间型霉菌和仓储型霉菌。田间型霉菌主要指青霉和镰刀菌属, 此类霉菌属野外菌株, 通常在粮食采收前就已经感染。仓储型霉菌主要以曲霉属为主, 霉菌生长在粮食的表面, 仓储型霉菌污染粮食与储藏条件密切相关<sup>[2,3]</sup>, 条件合适, 霉菌会在粮食基质上快速生长、繁殖, 消耗粮食基质营养成分, 影响粮食容重、营养价值和加工工艺品质, 由于霉菌菌体本身生长引起的污染, 可称之为霉菌菌体污染; 霉菌在粮食基质上大量繁殖的同时代谢产生霉菌毒素, 这种毒素是霉菌的次生代谢产物, 可导致人体健康受损, 甚至死亡, 这类粮食污染称之为霉菌毒素污染。目前已知的霉菌毒素有 300 多种, 这些毒素包括黄曲霉毒素、棕曲霉毒素、赭曲霉毒素 A(OTA)、展青霉素(PAT)、玉米赤霉烯酮(ZON)、伏马菌素、脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)、雪腐镰刀菌烯醇(NIV)、T-2 毒素和杂色曲霉毒素等。其中黄曲霉毒素就有 AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub> 等 18 种, 其中 AFB<sub>1</sub> 的检出率最高, 毒性最强, 它的毒性是砒霜的 68 倍。伏马菌素主要有伏马菌素 B<sub>1</sub>(FB<sub>1</sub>)和伏马菌素 B<sub>2</sub>(FB<sub>2</sub>), 该毒素具有生殖毒性、胚胎毒性和致癌性。其他的毒素如棕曲霉毒素、OTA 等均对肾脏有一定的伤害<sup>[4,5]</sup>。

## 3 霉菌污染检测方法

### 3.1 菌体污染的检测方法

#### 3.1.1 培养法

我国粮食霉菌检测的标准方法是传统的稀释平板计

数法, 该法检测结果可靠, 但是检测的时间较长, 且操作繁杂, 适合实验室操作。为了减短微生物培养时间, 提高鉴定效率, 近年来不断对传统培养鉴定法进行了改进, 出现了干片培养法。目前市场上干片培养法的代表产品当属美国 3M 公司开发的 Petrifilm 系列和日本 Nissui 公司开发的 Compact Dry 系列的微生物测试片<sup>[6,7]</sup>。国内中国检科院也开发了类似的 Easy Test 系列的微生物测试片, 主要检测对象有菌落总数、酵母霉菌以及各类细菌。Hajime 等<sup>[8]</sup>在日本 Sanita<sup>R</sup>-kun 系统的基础上, 得到一种以 2-(2-甲氧苯基)-3-(4-硝基苯基)-5-苯基-四唑氯为颜色指示剂干片培养基。所有酵母或霉菌 2~3 d 之内能获得检测结果。该法使检测时间由传统的 7~15 d 缩短为 2~3 d, 对于某些项目的测定, 其精确度与标准方法不相上下。

#### 3.1.2 化学分析法

##### (1) 荧光染色法

粮食中许多的霉菌产孢子, 分生孢子和囊孢子具有超强的耐热性, 能抵抗巴氏消毒并很好地存活下来, 即时检测孢子可保证日后粮食安全。荧光染色法相对传统培养法, 更快速方便, 适合粮食早期霉菌污染的检测。Kouichi 等<sup>[9]</sup>利用带有自动计数系统的荧光染色法检测了少量的孢子。孢子经过收集、培养、萌发后荧光染色 30 min, 然后用自动计数系统(MGS-10LD, 日本)计算出染色的菌丝, 可在 24 h 内检测出少量(1CFU/100 mL)的孢子。

##### (2) 微生物酶活性检测法

霉菌在进行新陈代谢的同时会产生胞外酶, 如淀粉酶、过氧化氢酶等。蔡静平<sup>[10]</sup>根据霉菌分泌过氧化氢酶的特性与粮食带菌量变化的联系提出了粮食微生物活性的概念, 微生物酶活性检测法就是利用菌体产酶的代谢特性间接检测粮食带菌量的方法, 该法不仅可反映粮食表面活菌的数量, 还可以提高储量霉菌的早期预防效率, 减少粮食的损失。

过氧化氢酶活性与菌体数量具有显著的线性相关性, 酶活性越大, 菌体数量就越多<sup>[11,12]</sup>。Zhang 等<sup>[13]</sup>利用一台安装有氧传感器的过氧化氢酶检测设备, 实时检测存储的小麦、稻谷等粮食作物中微生物的生长情况。结果发现微生物酶活性检测法与传统平板计数法结果的相关系数为 0.99, 耗时 10 min。蔡静平发现微生物活性与粮食品质也有显著的差异, 在菌体数量不变的情况下, 微生物活性有较大的差异, 但是和霉菌的生长趋势一致。因此, 实际中在霉菌还未大量生长的同时, 可以快速、准确的发现储粮的污染情况, 获得早期预防粮食霉变的准确信息。基于此, 微生物酶活性检测在仓储粮食的安全检测中有了一定的应用, 如田海娟等利用微生物活性检测技术研究了稻谷储粮期间微生物的活动规律, 并制定了仓储粮食的通风、加热等参数, 达到早期防霉储藏的目的<sup>[14,15]</sup>。

#### 3.1.3 物理分析法

##### (1) 近红外光谱检测法

近年来, 随着化学计量学、光纤、多组分多通道同时

测定技术的发展,近红外(near infrared reflection, NIR)分析技术正在以惊人的速度应用于食品、制药等很多领域中<sup>[16-18]</sup>。近红外光是介于可见光和中红外光之间的电磁波,波长范围为 780~2526 nm,通过建立待测参数与光谱之间的对应关系,测得样品的光谱图,分析光谱图得到所需要的质量参数数据,建立相应样品的测定模型。NIR 法具有高效、快速、无损伤及同时测定多组分等优点,其定标建模过程复杂繁琐,工作量大。刘聪等<sup>[19]</sup>应用近红外光谱(near infrared reflectance spectroscopy, NIRS)建立了室温贮藏下鲜枣内部霉菌菌落总数变化的动力学模型,并结合计量学方法对特征波数进行处理与比较,实现了鲜枣霉菌菌落总数变化的近红外模型的优选。Zhang 等<sup>[20]</sup>利用 NIRS 建立了稻米中霉菌菌落总数的最优模型,并进行了验证实验,结果显示待测样品中霉菌总数的预测数量与实际数量之间呈现一定的线性关系,相关系数为 0.897。

### (2) 高光谱成像检测法

高光谱成像(hyperspectral imaging, HSI)技术近年来得到快速发展和应用。HSI 系统主要包含高光谱仪、相机和镜头、照明单元、移动载物台和安装有图像获取软件的电脑。通过这些系统的扫描,样品的高光谱图可作为稍后被测样品的质量评估的依据。HSI 检测法最大的特点是不仅能反映样本的平面信息,而且能反映出样本的空间信息,但也面临着定标建模工作复杂而繁琐、技术要求高、工作量大以及花费高等问题,有待科学家们的进一步研究优化。

HSI 可 100%区分受污染小麦和未受污染小麦<sup>[21,22]</sup>,具有绝对的准确性。随后, Siripatrawan 等<sup>[23]</sup>用高光谱成像技术监测霉菌污染糙米程度,在 400~1000 nm 波长下,HSI 系统获得样品的反射图像,自组织映射(self organizing map, SOM)系统使数据可视化,偏最小二乘回归(partial least squares regression, PLSR)预测稻米霉菌生长情况,同时建立模型。随着菌落数的不断增加,HSI 光谱信号会逐渐减弱。整合 SOM,发现光谱和米曲霉总数之间有非常高的相关性,预测均方根误差(RMSEP)为 0.39 logCFU/g,模型决定系数( $R^2$ )可达到 0.97,结果表明,高光谱成像技术与 PLSR 联用可早期检测霉菌污染小麦的常见菌属。

### (3) 电子鼻仿生系统检测法

电子鼻是用于分析、检测挥发性化学成分的仪器。它是由性能彼此重叠的多个化学传感器和适当模式识别方法所组成的装置,它的原理是根据各种不同的气味测到不同的信号,并且将这些信号与经过“学习”和“训练”后建立的数据库中的信号加以比较,进行识别判断。电子鼻检测技术是依据微生物代谢特性快速检测粮食安全的方法,在粮食的早期霉变检测中发挥着重要作用。

Jonson 等<sup>[24]</sup>利用电子鼻结合人工神经网络识别技术,对不同气味的燕麦、黑麦和大麦以及含有不同麦角固醇和菌落总数的小麦进行了研究。结果显示神经网络的预测结

果与常规检测方法检测有很高的相关性。随后, Olsson 等<sup>[25]</sup>检测了瑞典粮仓中的大麦样品的湿度、真菌污染度、麦角固醇含量、OTA 含量和 DON 量,并利用电子鼻和气质联用仪分析了这些样品的挥发性成分。结果显示电子鼻不仅能够区分出赭曲霉污染的大麦,而且能够区分所产 OTA 含量大于和小于 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的大麦,该值与瑞典国家食品管理部门确定的正常谷物 OTA 含量极限值符合,验证了电子鼻可作为一种简单和快速的谷物霉变识别方法。我国于 2004 年研制出一套能够快速检测样品是否霉变的电子鼻装置,该装置能快速、准确地分析所测粮食中散发的气味,从而判定所测粮食是否霉变。

## 3.2 霉菌毒素污染的检测方法

目前,主要的霉菌毒素检测方法包括色谱法和免疫分析法。

### 3.2.1 色谱法

色谱法主要包括薄层色谱分析法(TCL),高效液相色谱法(HPLC)和色谱-质谱联用法。

#### (1) TCL 法

TCL 是传统的霉菌毒素检测方法,有单向展开和双向展开法,其中双向展开法具有更高的灵敏度,能进一步除去样品中的杂质。如张浩等<sup>[26]</sup>采用反  $\text{C}_{18}$  薄层板或正相薄层板,喷荧光胺做显色剂,在紫外灯下观察伏马菌素,其检测限低于 0.5 mg/g,如果换做阴离子交换柱(SAX 柱)的高效 TCL 法,将展开板浸入 0.16%的对甲基苯甲醛的酸性溶液中,伏马菌素检测限可达到 250 ng/g。TCL 法检测操作繁杂、灵敏度低、重现性差、检测周期长,随着 HPLC 和液相色谱-质谱联用法(LC-MS)的发展, TLC 应用程度有所下降,但由于设备简单,分析成本低,易于普及,国内外实验室仍有使用。

#### (2) HPLC 法

HPLC 法是在适宜的色谱条件下,采用固相萃取柱,根据被测物质结构的不同,使用不同的流动相,分离检测多种物质后再通过测量色谱峰的面积计算含量<sup>[27]</sup>。HPLC 法其精确度、灵敏度高,检测霉菌毒素的技术已经非常成熟,是目前最常用的检测技术。

如梨睿等<sup>[28]</sup>建立了免疫亲和柱层析净化-高效液相色谱法同时检测粮食中 AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、OTA 等 8 种霉菌毒素的方法,结果显示 AFB<sub>1</sub> 检测限达到 0.446 ng/mL,定量限为 1.471 ng/mL,线性相关系数达到了 0.9995。而对于具有荧光特性或荧光敏感度较低但经过衍生化处理的毒素,可采用高效液相色谱-荧光法(HPLC-FLD)法检测,如刘胜利等<sup>[29]</sup>建立了 HPLC-FLD 定量检测 ZON 的方法。检测结果表明,ZON 的检测限为 5.7  $\mu\text{g}/\text{L}$ ,相对标准偏差低于 4.01%,验证了上述 HPLC 检测霉菌毒素的准确有效性。

#### (3) 色谱-质谱联用法

色谱-质谱联用技术结合了色谱、质谱的优点,不仅能

定性, 而且能定量。色谱-质谱联用主要包含两大类: 气相色谱-质谱联用法(GC-MS)和液相色谱-质谱联用法(LC-MS)。GC-MS 法是检测 A 类单端孢霉烯族化合物类毒素的最佳选择, 也是分析 PAT、ZON 和链格孢霉毒素的常用方法。例如 Kharandi 等<sup>[30]</sup>使用 N,O-双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺衍生 PAT, 再用 GC-MS 测得回收率为 79.9%~87.9%, 检出限为 0.4  $\mu\text{g/L}$ , 但是该法需将氨基进行衍生化增强挥发性, 操作较繁杂。LC-MS 不需要对被检物质进行衍生化, 粮食中常见的霉菌毒素, 如 OTA、AFB<sub>1</sub> 等, 可以通过 LC-MS 法测得<sup>[31,32]</sup>, 检测限低。刘承兰等<sup>[33]</sup>采用液相色谱-电喷雾串联质谱法测定玉米中的 FB<sub>1</sub> 和 FB<sub>2</sub>。样品经提取、富集, 采用电喷雾正离子方式, 以多反应监测(MRM)方式进行检测, 得到的 FB<sub>1</sub> 和 FB<sub>2</sub> 平均回收率为 90%以上。

对于测定霉菌毒素种类多的样品, 可采用液相色谱与电子喷雾串联四级杆飞行时间质谱联用法(LC-ESI-QTOF-MS/MS)。QTOF 是一种高分辨率的快速质量分析器, 根据离子到达检测器的时间长短来确定待测物质。将四级杆质谱与 TOF 联用, 则可以进行二级质谱扫描, 从而对化合物进行准确的定性判断。Ala 等<sup>[34]</sup>利用 LC-ESI-QTOF-MS/MS 法成功检测了谷物、小麦、花生和玉米等粮食中的 AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub> 和 AFG<sub>2</sub>, 结果显示 4 种毒素的校正曲线的相关系数可达 0.998, 回收率达到 57.1%~108.7%, 相对标准偏差低于 16%, 最低检测限为 0.8  $\mu\text{g/kg}$ , 该法可实现同时检测多种霉菌毒素, 精确度更高。

各种色谱法各有优缺点, 研究者可以根据实验室具备的条件以及所测粮食情况来合理选择合适的色谱检测方法, 同时探索和改进检测技术来满足检测的要求。

### 3.2.2 免疫分析法

免疫分析法是将抗原抗体特异性反应与免疫标记技术相结合, 建立起来的分析检测方法, 标记技术主要包括放射标记、荧光标记和酶标记法。目前在霉菌毒素检测方面应用较多的是荧光免疫分析(FIA)、酶联免疫吸附法(ELISA)和免疫生物传感器法等<sup>[35]</sup>。

#### (1) FIA 法

FIR 法主要包括荧光偏振免疫分析法(FPIR)和时间分辨荧光免疫分析法(TR-FIA)。FPIR 检测法霉菌毒素利用反应分子的旋转速度与分子大小成反比的特点, 即检测荧光标记的霉菌毒素在结合抗体前后的偏振光值(FP)的变化。Maragos 等<sup>[36]</sup>以 ZON-AMF 为荧光标记物, 首先建立了 FPIR 检测玉米中 ZON 的方法, 结果发现其检测限为 0.11  $\mu\text{g/g}$ , ZON 的平均回收率为 100.2%, 检测一个样品时间为 10 min。TR-FIA 是以三价稀土离子(如钕  $\text{Eu}^{3+}$ 、铽  $\text{Tb}^{3+}$ 等)作为示踪物, 标记抗原和待测抗原共同竞争抗体形成免疫复合物, 利用时间分辨荧光仪, 测定复合物中稀土离子发射的荧光强度, 达到检测目的。该法已有多种霉菌毒素检测的研究报道, 如周彬等<sup>[37]</sup>利用抗 DON 多克隆抗体, 采

用纳米均相 TR-FIR 法建立检测玉米、小麦中 DON 的定量检测方法, 灵敏度为 0.007 ng/mL, 检测范围为 0.007~100 ng/mL, 回收率分别为 84%~110%、67%~100%。该分析方法稳定性好, 可测范围宽, TRFIA 的灵敏度较 FPIR 更高。

#### (2) ELISA 法

ELISA 是最经典也是最常用免疫分析技术, 主要通过改造毒素分子结构, 使其具有免疫原性, 产生特异性极强的单克隆抗体, 再用 ELISA 方法检测, 检测限可达到 5 ng/mL<sup>[38]</sup>。ELISA 检测霉菌毒素比较常用的是结合胶体金免疫技术和噬菌体展示技术<sup>[39]</sup>。

胶体金是氯金酸在还原剂作用下聚合成的金颗粒, 这种金颗粒能与多种大分子物质结合而不影响其活性。胶体金-ELISA 毒素检测试纸条, 只需 10~20 min 即可给出准确可靠的结果<sup>[40,41]</sup>。胶体金-ELISA 免疫法具有可靠、快速、成本低、敏感性强的特点, 可以实现半定量/定量检测, 目前在多重检测领域已经成为免疫学方法检测毒素的新趋势; 噬菌体展示技术则是通过寻求霉菌毒素替代品, 在噬菌体肽库中寻求各种霉菌毒素的模拟表位肽, 然后用这种表位肽替代试纸条中显色区中相应的毒素-载体蛋白进行 ELISA 检测。目前噬菌体展示技术已经得到了 DON、AFB、OTA、ZON 等的模拟表位肽<sup>[42-46]</sup>。用这些模拟表位肽替代检测中的毒素标本, 不但增加了检测人员的操作安全, 同时也减少了霉菌毒素可能对环境造成的污染, 成为一项新的发展趋势。

#### (3) 免疫生物传感器法

免疫传感器是将免疫结合反应信号转换为电信号, 再通过对电信号进行放大和数模转换, 测量出被测抗原或抗体及其浓度的传感器技术, 包括电化学免疫传感器和光纤免疫传感器等。刘梦琴等<sup>[47]</sup>介绍了电化学酶联免疫传感器来检测食物中的 AFB<sub>1</sub>, 灵敏度可达 4 ng/mL, 检测时间为 8 min, 特异性强。Liu 等<sup>[48]</sup>研究开发了基于微阵列电极生物电催化反应的黄曲霉毒素免疫生物传感器, 其最低检测限为 0.1 ng/mL。免疫生物传感器在检测毒素方面有着广阔的应用前景, 具有高选择性、响应快, 操作简单、携带方便等优点。由于分析速度快, 有望实现现场实时监测。

## 4 粮食中霉菌污染检测方法发展趋势

以上所述霉菌污染检测方法各有优缺点。传统培养鉴定法大多要耗费 8~10 d 时间, 而且程序复杂, 结果出来, 霉变可能已经无法控制, 开发的干片培养法虽然大大缩短了时间, 但仍然需要 2~3 d; NIR 法、HSI 法和电子鼻系统检测法可以快速无损检测样品, 同时还可以减少化学试剂的使用, 对人体健康和环境保护具有很大的益处, 但所需仪器昂贵, 需经特殊培训的技术人员操作; 德国 AIRSENSE 公司的 PEN<sub>3</sub> 当属全球最著名的电子鼻系统之一, 该系统可应用于霉菌实时监测<sup>[49]</sup>, 但该系统和配套软

件价格昂贵,且需依赖进口,严重制约了我国实时监测技术水平的提高,最关键的问题还在于,现有电子鼻在监测粮食霉菌污染方面有两大局限,一是灵敏度不够,二是抗干扰性差。色谱法是一种实验室确证方法,但所需仪器庞大昂贵,操作繁琐、专业性强,不适合粮食企业做大面积霉菌普查检测。免疫分析法既可测抗原,也可测抗体,方法灵敏度和特异性较强,但 Wang 等<sup>[50]</sup>指出,免疫技术在对小分子霉菌毒素的免疫分析中存在着诸多如抗体制备繁琐、假阳性检出率高、不稳定等缺点;因此,灵敏、特异、准确、稳定而且价格便宜的粮食中霉菌污染实时监测系统的研究势在必行。

大量研究表明<sup>[51-53]</sup>,霉菌污染粮食时,会产生一些典型的挥发性代谢产物,随着粮食种类、污染霉菌的种类、污染程度的改变,这些代谢产物会发生变化,因此,典型挥发性代谢产物组可作为实时监测并鉴别霉菌污染的指示物,如研究可识别痕量典型指示物的敏感膜阵列,同时选取合适的传感装置,则可构建粮食中霉菌污染实时监测的系统,结合模式识别法,可同时鉴别出霉菌种类,尤其是产毒霉菌,具体可涉及下列研究:(1)筛选能实现粮食中霉菌污染实时监测的指示物组。粮食中的各种有机成分在霉菌的分解作用下生成许多特殊的刺激嗅觉的挥发性物质,某些挥发性代谢产物在霉菌侵染的早期便产生,可作为实时监测霉菌早期污染的指示物,为获得快速、全面、完整的真菌污染信息,可将一组具有重复性的挥发性代谢物组关联起来做整体研究(2)研究对痕量指示物组有超灵敏、高特异性响应的微阵列芯片。早期产生的挥发性代谢物量少,因此微阵列芯片需对痕量指示物组有超灵敏、高特异性响应。而微阵列芯片的研制与微电极材料和结构密不可分,后者应当具有以下优势:当电极的一维尺寸从毫米级降至微米甚至纳米级时,表现出许多优良的电化学特性;易于在电极的单边修饰与指示物有超灵敏、高特异性响应的敏感膜;可通过改变微电极的电极参数来调控输出信号强度;可易于在基底上制备微阵列,通过修饰不同的敏感膜材料可实现对粮食中多挥发性成分的同时检测。(3)构建合适的传感系统。获取相应监测数据库,结合化学计量学方法建立粮食中霉菌污染实时监测及产毒霉菌鉴别的新方法。

总之,粮食中霉菌尤其是产毒霉菌污染的检测方法发展,应以实现食品安全保障从被动应付向主动保障转变为战略目标;应结合粮食基质的特点,研发具有响应灵敏度高、特异、准确、价格便宜,且操作简便的系统;应可实现粮食中霉菌尤其是产毒霉菌的早期、实时、在线监测,为及时、有效防控霉菌污染提供理论依据与技术支持,最终实现保障人民生活健康,经济免受损失的目的。

#### 参考文献

- [1] 贺筱蓉. 食品安全概论[M]. 江西: 科学技术出版社, 2005.  
He XR. Introduction to food safety [M]. JiangXi: Science Technology Press, 2005.
- [2] Adriana L, Zoe M. Distribution of microbial contamination within cereal grains [J]. *J Food Eng*, 2006, 72(4): 332-338.
- [3] 李新社, 陆步诗. 仓储稻谷霉菌污染情况调查[J]. 常德师范学院学报(自然科学版), 2000, 12(2): 75-77.  
Li XS, Lu BS. Study on the contamination of mould in paddy stored in barn [J]. *J Changde Teach Univ (Nat Sci Edit)*, 2000, 12(2): 75-77.
- [4] 严睿, 王远亮, 李宗军. 稻谷中霉菌及其毒素危害研究进展[J]. 湖南农业科学, 2009, 11: 85-87.  
Yan R, Wang YL, Li ZJ. Research progress of mold and mycotoxin in rice [J]. *Hunan Agric Sci*, 2009, 11: 85-87.
- [5] 孙武长, 刘桂华, 杨红, 等. 粮食中霉菌及霉菌毒素污染调查[J]. 中国公共卫生, 2005, 21(12): 1532.  
Sun WC, Liu GH, Yang H, *et al*. Study on the mold and mycotoxin in grains [J]. *China Public Health*, 2005, 21(12): 1532.
- [6] Benesh DL, Crowley ES, Bird PM. 3M Petrifilm environmental Listeria plate [J]. *J AOAC Int*, 2013, 96(2): 225-228.
- [7] Kodaka H, Goto K, Umeki K, *et al*. Comparative evaluation of the desoxycholate agar nissui food stamp and swab methods for estimating coliform organisms in poultry processing plants after cleaning in Japan [J]. *J Basic Microbiol*, 2004, 44(6): 445-450.
- [8] Hajime T, Masashi U, Hirokazu O. Evaluation of a novel dry sheet culture method (sanita-kun) for rapid enumeration of yeasts and molds in foods [J]. *J Microbiol Meth*, 2015, 109: 16-19.
- [9] Kouichi T, Nobuyasu Y, Takashi B, *et al*. Rapid enumeration of low numbers of moulds in tea based drinks using an automated system [J]. *J Food Microbiol*, 2011, 145(1): 365-369.
- [10] 蔡静平. 储粮微生物活性及其应用的研究[J]. 中国粮油学报, 2004, 19(4): 76-79.  
Cai JP. Studied on microbe activity of stored grains and its application [J]. *J Chin Cereals Oils Assoc*, 2004, 19(4): 76-79.
- [11] 郭雷, 蔡静平, 王海平, 等. 储粮主要危害性霉菌过氧化氢酶特性研究[J]. 郑州工程学院学报, 2003, 24(3): 14-18.  
Guo L, Cai JP, Wang HP, *et al*. Study on properties of catalases from the cereals molds [J]. *J Zhengzhou Inst Technol*, 2003, 24(3): 14-18.
- [12] Hansber W, Salas LR, Domínguez L. Fungal catalases: function, phylogenetic origin and structure [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2012, 525(2): 170-180.
- [13] Zhang SB, Zhai YS, Hua L, *et al*. A rapid detection method for microbial spoilage of agro-products based on catalase activity [J]. *Food Control*, 2014, 42: 220-224.
- [14] 田海娟, 蔡静平, 黄淑霞, 等. 稻谷储藏中温湿度变化与微生物活动相关性的研究[J]. 粮食储藏, 2006, 35(4): 40-42.  
Tian HJ, Cai P, Huang SX, *et al*. Study on the correlation between different temperature and humidity and microbe activity in paddy storage [J]. *Grain Storage*, 2006, 35(4): 40-42.
- [15] 张杰, 蔡静平, 郭钦, 等. 大型粮仓玉米就仓干燥的微生物危害控制技术[J]. 粮食储藏, 2005, 34(5): 38-40.  
Zhang J, Cai JP, Guo Q. The technology of in-store drying for maize of high moisture content maize against microbe in large warehouse [J]. *Grain Storage*, 2005, 34(5): 38-40.
- [16] 李娟, 李志海, 付湘晋. 稻谷新程度近红外快速无损检测的研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2012, 32(8): 2126-2130.

- Li J, Li ZH, Fu XJ. Study on rapid non-destructive detection of the freshness of paddy based on near infrared spectroscopy [J]. *Spectrosc Spect Anal*, 2012, 32(8): 2126–2130.
- [17] 王远宏, 常若葵, 张伟玉, 等. 基于近红外光谱的大米蛋白质含量的研究[J]. *农产品加工*, 2009, 7: 30–32.
- Wang YH, Chang RK, Zhang WY, *et al.* Researching determination model of protein content of rice by near infrared spectroscopy [J]. *Acad Period Farm Prod Proces*, 2009, 7: 30–32.
- [18] 梁晓艳, 吉海彦. 近红外光谱技术在农作物品质分析方面的应用[J]. *中国农学通报*, 2006, 22(1): 366–371.
- Liang XY, Ji HY. Applications of near infrared spectroscopy technology in analyzing the quality of crops [J]. *Chin Agri Sci Bull*, 2006, 22(1): 366–371.
- [19] 刘聪, 郭康权, 张强, 等. 基于近红外光谱的室温贮藏下鲜枣霉菌污染动力学模型[J]. *农业工程学报*, 2013, 1 (1): 278–284.
- Liu C, Guo KQ, Zhang Q, *et al.* Kinetic model of mold contamination in fresh jujube stored at room temperature based on near-infrared spectroscopy [J]. *T Chin Soc Agric Eng*, 2013, 1 (1): 278–284.
- [20] Zhang Q, Liu CH, Sun JK, *et al.* Rapid Non-destructive detection for molds colony of paddy rice based on near infrared spectroscopy [J]. *J Northeast Agric Univ*, 2014, 21(4): 54–60.
- [21] Bauriegel E, Giebel A, Geyer M, *et al.* Early detection of *Fusarium* infection in wheat using hyper-spectral imaging [J]. *Comput Electron Agr*, 2011, 75(2): 304–312.
- [22] Singh CB, Jayas D, Paliwal J, *et al.* Fungal damage detection in wheat using short-wave near-infrared hyperspectral and digital colour imaging [J]. *Int J Food Prop*, 2012, 15: 11–24.
- [23] Siripatrawan U, Makino Y. Monitoring fungal growth on brown rice grains using rapid and non-destructive hyperspectral imaging [J]. *Int J Food Microbiol*, 2015, 199: 93–100.
- [24] Jonsson A, Winqvist F, Schnurcr J, *et al.* Electronic nose for microbial quality classification of grains [J]. *Int J Food Microbiol*, 1997, 35(2): 187–193.
- [25] Olsson J, Lundstedt T. Detection and quantification of ochratoxin A and deoxynivalenol in barley grains by GC-MS and electronic nose [J]. *Int J Food Microbiol*, 2002, 72(3): 203–214.
- [26] 张浩, 侯红漫, 刘阳, 等. 伏马菌素检测方法的研究进展[J]. *中国粮油学报*, 2007, 22(4): 137–142.
- Zhang H, Hou HM, Liu Y, *et al.* Review on determination of fumonisin mycotoxins [J]. *J Chin Cere Oils Asso*, 2007, 22(4): 137–142.
- [27] Koppen R, Koch M, Siegel D, *et al.* Determination of mycotoxins in foods: current state of analytical methods and limitations [J]. *Appl Microbiol Biot*, 2010, 86(6): 1595–1612.
- [28] 黎睿, 谢刚, 王松雪, 等. 高效液相色谱法同时检测粮食中常见 8 种真菌毒素的含量[J]. *食品科学*, 2015, 36(6): 206–210.
- Li R, Xie G, Wang S, *et al.* Simultaneous analysis of 8 mycotoxins in grains by high performance liquid chromatography [J]. *Food Sci*, 2015, 36(6): 206–210.
- [29] 刘胜利, 王莹, 何成华, 等. 玉米赤霉烯酮的高效液相色谱-荧光法检测技术研究[J]. *南京农业大学学报*, 2011, 34(6): 100–104.
- Liu SL, Wang Y, He CH, *et al.* Study of zearalenone by high performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *J Nanjing Agri Univ*, 2011, 34(6): 100–104.
- [30] Kharandi N, Babri M, Azad J. A novel method for determination of patulin in apple juices by GC-MS [J]. *Food Chem*, 2013, 141(3): 1619–1623.
- [31] 林建忠, 邹伟, 张志刚, 等. LC/MS/MS 测定食品中黄曲霉毒素 B 的研究[J]. *检验检疫科学*, 2004, S1(Z1): 23–24.
- Lin JZ, Zou W, Zhang ZG, *et al.* Study on detection of AFB1 by LC/MS/MS in foods [J]. *Inspect Quarant Sci*, 2004, S1(Z1): 23–24.
- [32] Lindenmeier M, Schieberle P, Rychlik M. Quantification of ochratoxin A in foods by a stable isotope dilution assay using high-performance liquid chromatography and mass spectrometry [J]. *J Chromatogr*, 2004, 1023(1): 57–66.
- [33] 刘承兰, 许文娜. 液相色谱-电喷雾串联质谱法测定食品中的伏马菌素[J]. *分析化学*, 2005, 33(11): 1619–1622.
- Liu CL, Xu WN. Determination of fumonisin in food by high performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2005, 33(11): 1619–1622.
- [34] Ala YS, Guan HT, Richard CS. Determination of aflatoxins in food using liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time of flight mass spectrometry (LC-ESI-QTOF-MS/MS) [J]. *Food Control*, 2013, 31(1): 35–44.
- [35] Goslin JP. A decade of development in immunoassay methodology [J]. *Chin Chem*, 1990, 36(8): 1408–1427.
- [36] Maragos CM, Kim EK. Detection of zearalenone and related metabolites by fluorescence polarization immunoassay [J]. *J Food Protect*, 2004, 67(5): 1039–1043.
- [37] 周彬, 高雷, 金坚, 等. 纳米均相时间分辨荧光免疫法检测脱氧雪腐镰刀菌烯醇方法的建立[J]. *食品工业科技*, 2010, 31(8): 338–342.
- Zhou B, Gao L, Jin J, *et al.* Quantitative determination of deoxynivalenol using light initiated chemiluminescence assay [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2010, 31(8): 338–342.
- [38] 李华, 祭芳, 徐剑宏, 等. 赤霉毒素脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)酶联免疫检测方法研究[J]. *中国农业科学*, 2007, 40(4): 721–726.
- Li H, Ji F, Xu J H, *et al.* Enzyme-linked immunosorbent assay for deoxynivalenol (DON) [J]. *Sci Agri Sci*, 2007, 40(4): 721–726.
- [39] Maragos CM, Plattner RD, Miklasz SD. Determination of hydrolysed fumonisin B1 (HFB1) in corn by competitive direct enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *Food Addit Contam*, 1996, 13(1): 105–113.
- [40] 胡晓飞, 职爱民, 刘庆堂, 等. 霉菌毒素 ELISA 检测方法新进展[J]. *中国农学通报*, 2010, 26(8): 100–103.
- Hu XF, Zhi AM, Liu QT, *et al.* The advance of mycotoxin detection by ELISA [J]. *Chin Agri Sci Bull*, 2010, 26(8): 100–103.
- [41] Feldherr CM, Marshall JM. The use of colloidal gold for studies of intracellular exchanges in the ameba chaos [J]. *J Cell Biol*, 1962, 12(3): 640–645.
- [42] Wang S, Quan Y, Lee N, *et al.* Rapid determination of fumonisin in food samples by enzyme-linked immunosorbent assay and colloidal gold immunoassay [J]. *Agric Food Chem*, 2006, 54(7): 2491–2495.
- [43] Yuan Q, Pestka JJ, Hespeneide BM, *et al.* Identification of mimotope peptides which bind to the mycotoxin deoxynivalenol-specific monoclonal antibody [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1999, 65(8): 3279–3286.
- [44] Thirumala DK, Miller JS, Eddy G, *et al.* Phage-displayed peptides that mimic aflatoxin B<sub>1</sub> in serological reactivity [J]. *Appl Microbiol*, 2001, 90(3): 330–336.

- [45] Liu RR, Yu Z, He QH, *et al.* Study on screening mimicking epitope of ochratoxin A from phage display peptide library [J]. *J Hyg Res.*, 2005, 34(4): 448–450.
- [46] 何庆华, 刘仁荣, 许杨. 利用噬菌体肽库淘选玉米赤霉烯酮的模拟表位[J]. *食品科学*, 2007, 28(8): 241–243.  
He QH, Liu RR, Xu Y. Biopanning of zearalenone mimotope by phage displayed peptide bank [J]. *Food Sci.*, 2007, 28(8):241–243.
- [47] 刘梦琴, 黄勇, 刘阳新. 电化学酶联免疫传感器的发展概述[J]. *化学传感器*, 2007, 27(1):3–8.  
Liu MQ, Huang Y, Liu YX. A summary description of development in electrochemical enzyme-linked immunosensor [J]. *Chem Sensor*, 2007, 27(1):3–8.
- [48] Liu Y, Zong HQ, Xing F, *et al.* Immune-biosensor for aflatoxinB<sub>1</sub> based bioelectrocatalytic reaction on micro-comb electrode [J]. *Biochem Eng J*, 2006, 32(3): 211–217.
- [49] Kuske M., Romain A, Nicolas J. Microbial volatile organic compounds as indicators of fungi Can an electronic nose detect fungi in indoor environments [J]. *Build Environ*, 2005, 40: 824–831.
- [50] Wang Y, Liu N, Ning BA, *et al.* Simultaneous and rapid detection of six different mycotoxins using an immunochip [J]. *Biosens Bioelectron*, 2012, 34( 1): 44–50.
- [51] Borjesson T, Stollman U, Adamek P, *et al.* Analysis of volatile compounds for detection of molds in stored cereals [J]. *Cereal Chem*, 1989, 66:300–304.
- [52] Ito K, Yoshida K, Ishikawa T. Volatile compounds produced by the fungus *aspergillus oryzae* rice koji and their changes during cultivation [J]. *Ferment Bioeng*, 1990, 70(3): 169–172.
- [53] Hossain ME, Rahman GM, Freund MS, *et al.* Fabrication and optimization of a conducting polymer sensor array using stored grain model volatiles [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60: 2863–2873.

(责任编辑: 金延秋)

## 作者简介



周玉庭, 硕士, 主要研究方向为微生物检测。

E-mail: z579643@163.com



任佳丽, 副教授, 博士, 研究方向为食品检测技术开发和应用。

E-mail: rjl\_cl@163.com