

# 食品中赭曲霉毒素 A 检测方法研究进展

翟若涵, 蔡 瑞, 高振鹏, 岳田利, 袁亚宏, 王周利\*

(西北农林科技大学食品科学与工程学院, 杨凌 712100)

**摘 要:** 赭曲霉毒素 A(ochratoxin A, OTA)是曲霉属和青霉属等有毒真菌产生的一类次级代谢产物, 是常见污染食品的五种真菌毒素之一, 具有较强的肾毒性、肝毒性、神经毒性和免疫毒性, 以及致畸、致癌和致突变作用。OTA 广泛存在于各种谷物及其制品、葡萄与葡萄酒、咖啡等多种食品原料及其成品中, 严重威胁人体健康, 因此有必要建立快速、准确、灵敏的 OTA 检测方法。针对食品中 OTA 的检测, 目前已经拥有许多方法, 如薄层色谱法, 高效液相色谱法, 液相-质谱联用法以及酶联免疫吸附法等。本研究对赭曲霉毒素 A 不同检测方法的原理、优缺点等进行归纳总结, 旨在为食品中 OTA 的检测提供支持。

**关键词:** 赭曲霉毒素 A; 检测; 研究进展

## Research progress on detection methods of ochratoxin A in food

ZHAI Ruo-Han, CAI Rui, GAO Zhen-Peng, YUE Tian-Li, YUAN Ya-Hong, WANG Zhou-Li\*

(College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

**ABSTRACT:** Ochratoxin A(OTA) is a class of secondary metabolites produced by toxic fungi such as *Aspergillus* and *Penicillium*. OTA is one of the 5 major mycotoxins commonly contaminated in food and has strong nephrotoxicity, hepatotoxicity, neurotoxicity and immunotoxicity, as well as teratogenic, carcinogenic and mutagenic effects. OTA widely exists in various grains and their products, grapes and wine, coffee and other food raw materials and their finished products which seriously threaten human health, so it is necessary to establish a fast, accurate and sensitive OTA detection method. For the detection of OTA in food, there are many analytical methods, such as thin layer chromatography (TLC), high performance liquid chromatography (HPLC), liquid chromatograph mass spectrometer (LC-MS), enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), etc. This paper summarized the principles, advantages and disadvantages of different detection methods of ochratoxin A, in order to provide support for the detection of ochratoxin A in food.

**KEY WORDS:** ochratoxin A; detection; research progress

## 1 引 言

赭曲霉毒素(ochratoxins, OT)是一类由曲霉属和青霉属等有毒真菌产生的次级空间代谢产物, 由 7 种结构类似的化合物组成, 其中赭曲霉毒素 A(OTA)毒性最强且分布

最广<sup>[1]</sup>, 是潜在的致癌物。OTA 是一种结晶化合物, 无色, 微溶于水, 易溶于极性有机溶剂, 热稳定性强, 对以血清蛋白为代表的蛋白质高度亲和, 从而有助于其在器官中的生物积累<sup>[2]</sup>。加工或未加工的农产品都可能遭受 OTA 污染, 包括谷物类、豆类、坚果、咖啡、可可、啤酒等许多食品<sup>[3]</sup>。

**基金项目:** 国家十三五重点研发计划课题项目(2018YFC1602203)

**Fund:** Supported by National 13th Five-Year Key R&D Program Project (2018YFC1602203)

**\*通讯作者:** 王周利, 博士, 副教授, 主要研究方向为农产品加工与食品质量安全检测控制。E-mail: wzl1014@nwsuaf.edu.cn

**\*Corresponding author:** WANG Zhou-Li, Ph.D., Associate Professor, College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling 712100, China. E-mail: wzl1014@nwsuaf.edu.cn

2019 年, Hajok 等<sup>[4]</sup>利用高效液相色谱-荧光检测器法(high-performance liquid chromatography with fluorescence detector, HPLC-FD)对波兰西里西亚市场上可获得的 473 种食品样本进行了 OTA 检测。结果表明, 22% 的样品被 OTA 污染, 其中葡萄干中 OTA 含量最高, 达到 34.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 超标 3.5 倍。Benites 等<sup>[5]</sup>在 2017 年也曾采用 HPLC-FD 法检测葡萄牙市售烘焙咖啡中 OTA 的污染水平, 其中烘焙咖啡 OTA 污染的平均值为 1.84  $\text{mg}/\text{kg}$ , 最高含量可达 10.31  $\text{mg}/\text{kg}$ 。这些研究表明通过食品接触 OTA 的风险较高, 因此有必要对食品中的 OTA 污染开展评估和监测。本研究对赭曲霉毒素 A 不同检测方法的原理、优缺点等进行归纳总结, 旨在为食品中 OTA 的检测提供支持。

## 2 赭曲霉毒素 A 的毒性及危害

人体会通过 2 种途径摄入 OTA, 一是摄入被 OTA 直接污染的农作物, 二是摄入体内含有蓄积的 OTA 的动物性食物<sup>[6]</sup>。OTA 的主要靶器官为动物肾脏和肝脏, 其中对肾脏的影响最大, 剂量增大会导致肝脏病变<sup>[7]</sup>, 此外, OTA 还会促进巴尔干地方性肾病的产生<sup>[6]</sup>。Park 等<sup>[8]</sup>证明了 OTA 是通过抑制星形胶质细胞增殖和线粒体依赖性凋亡发挥神经毒性作用的。据统计, 慢性肾脏病是全球第五大死因, 而慢性肾病的发病率在 OTA 食品污染最严重的发展中国家中增长最快。随着人类生存环境的恶化, 糖尿病及肥胖等相关慢性疾病在全球范围流行, 以 OTA 为代表的霉菌污染对人类健康造成的有害影响必须得到重视<sup>[2]</sup>。

## 3 检测方法

### 3.1 国标方法

为了保障人民的身体健康, 我国积极建立了赭曲霉毒素 A 的相关限量及检测技术标准, GB 2761-2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》<sup>[9]</sup>规定 OTA 在谷物、谷物碾磨加工品及豆类中的限量为 5.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , GB 5009.96-2016《食品安全国家标准 食品中赭曲霉毒素 A 的

测定》<sup>[10]</sup>对不同种类的食品及农产品中的 OTA 详细规定了 5 种检测方法, 具体检出限和定量限如表 1。其中薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)是最早出现的用于真菌毒素检测的传统方法之一, 通常与其他技术联用, 利用特征的化学显色反应、板上光谱图和色谱保留规律, 对样品进行分离、定性和定量分析<sup>[11]</sup>。国际分析化学家协会(Association of Official Analytical Chemists, AOAC)早期多选择 TLC 为检测方法<sup>[12]</sup>, 我国在 2009 年以前一直都将 TLC 作为国家标准的检测方法<sup>[13]</sup>。Santos 等<sup>[14]</sup>采用一种基于免疫亲和净化的薄层色谱法测定生咖啡中的 OTA, 检测限为 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 方法灵敏度高。TLC 法具有操作简单、使用试剂价格低廉、样品易处理等优点, 但由于所需试剂较多、检测周期长、结果的重现性和灵敏度差以及无法实现自动化, 近年来应用 TLC 法检测真菌毒素的事例越来越少, 说明 TLC 法在检测真菌毒素领域的发展已陷入瓶颈; 高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)仍是检测赭曲霉毒素 A 的主要方法之一, 可同时进行定性和定量分析, 但对前处理要求较高, 设备昂贵, 耗时长, 灵敏度有待提高, 无法满足大批量样品快速检测的需要。酶联免疫吸附测定法作为一种快速筛查方法, 可适用于大批量样品的检测, 但存在假阳性, 对应结果还需要 HPLC 等进一步确认。因此, 对现有技术方法改造以及开发新型快速检测技术一直是毒素检测的热点。

### 3.2 仪器分析法

#### 3.2.1 高效液相色谱法

HPLC 是一种最常用的检测赭曲霉毒素的方法, 通过搭配不同的萃取、净化及柱前、柱后化学衍生系统, 有效分离各种真菌毒素, OTA 常采用荧光检测器进行检测。李克等<sup>[15]</sup>开发的 HPLC 法可以同时快速检测玉米和小麦中的玉米赤霉烯酮及赭曲霉毒素 A, 具有良好的回收率和精密度。梁桂娟等<sup>[16]</sup>利用 HPLC-FLD 法测定大米中的 OTA 含量, 结果表明该方法适合对样品的快速准确检测。

表 1 GB 5009.96-2016 中检测赭曲霉毒素 A 的方法  
Table 1 Method for detecting ochratoxin A in GB 5009.96-2016

基质	检测方法	检出限	定量限
粮食和粮食制品	免疫亲和层析净化液相色谱法	0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$	1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$
葡萄酒	离子交换固相萃取柱净化高效液相色谱法	0.1 $\mu\text{g}/\text{L}$	0.33 $\mu\text{g}/\text{L}$
玉米、小麦等粮食产品	免疫亲和和层析净化液相色谱-串联质谱法	1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$
玉米、小麦、大麦、大米及其制品	酶联免疫吸附测定法	1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$
小麦、玉米、大豆	薄层色谱测定法	-	-

注: -表示无。

HPLC 检测结果的准确需要稳定快速的样品前处理来保障。免疫亲和柱净化法(immunoaffinity column, IAC)依据抗原-抗体免疫反应的原理, 通过单克隆抗体选择性吸附提取液中的真菌毒素来进行分离净化<sup>[17]</sup>, 是一种常见的前处理方法。谢刚等<sup>[18]</sup>建立的全自动免疫亲和在线净化-HPLC 法可以同步在线进行样品净化和检测, 支持高通量样品检测, 检测效率高。王伟岗等<sup>[19]</sup>根据真菌毒素种类决定合适的填料自制复合免疫亲和柱, 避免抗体的不必要浪费及无关物质对检测结果的干扰, 检出限为 0.02~5.00  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 但此方法样品前处理过程耗时长、成本高, 不适合大量样品的常规检测。

### 3.2.2 液相色谱-质谱联用法

液相-质谱联用法(liquid chromatograph mass spectrometer, LC-MS)是将液相色谱与质谱相结合的方法, 可以同时进行定性判定和定量分析, 近年来也被广泛应用于 OTA 的检测。郑润生等<sup>[20]</sup>运用稀释法稀释干扰成分的浓度, 克服基质效应的影响, 建立 LC-MS/MS 法检测 10 种中药材和 3 种食品污染 OTA 的情况, 定量限为 25.0  $\text{ng}/\text{L}$ ; 孙月等<sup>[21]</sup>采用氨基固相萃取-HPLC-MS/MS 法测定粮食中 OTA 含量, 具有前处理简单、重复性好、回收率高、灵敏度高的优点; 林琳<sup>[22]</sup>改良了 QuEChERS 方法, 建立了同时检测谷物源性食品中 3 种赭曲霉毒素(OTA、OTB 和 OTC)的 HPLC-MS/MS 法, 该方法净化效果好, 灵敏度高, 检测速度快; 曾羲等<sup>[23]</sup>以 OTA-<sup>13</sup>C<sub>20</sub> 为内标, 采用 HPLC-MS/MS 法对 10 个批次的粮食及其制品中赭曲霉毒素 A 含量进行检测, 此法操作简便, 准确性好, 适合粮食及其制品中赭曲霉毒素的检测。

表 2 列举了上述部分采用仪器分析法测定赭曲霉毒素 A 的详细结果, 通过比较发现, 采用同位素内标-HPLC-MS/MS 法测定大米、小麦粉和黄豆酱中 OTA 的检测限最低, 灵敏度较高, 适合检测低浓度的赭曲霉污染的粮食及其制品。所列举的其他方法也各有其优势与适合的对象, 但设备昂贵, 操作复杂, 检测成本高、周期长等问题限制其大量推广。因此针对不同的测试对象, 要选择最合适的检测方案, 让仪器分析法最大程度地服务于 OTA 的检

测, 为保证食品安全提供重要支撑。

## 3.3 免疫化学法

### 3.3.1 酶联免疫吸附法

酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)是利用抗原-抗体间的特异性反应, 借助酶反应放大检测信号的一种免疫测定技术, 具有灵敏度高、选择性强、样品前处理无需净化(或只需简单净化)、样品处理量大等优点。章先等<sup>[24]</sup>基于纳米颗粒和生物素-亲和素信号系统建立的酶联免疫检测法(MNPs-bs-AuNPs-ELISA)缩短了检测时间, 降低了检测下限, 可满足谷物和饲料中 OTA 的快速定量检测; 张景等<sup>[25]</sup>建立了一种新型化学发光间接竞争酶联免疫分析方法(BA-Nb ELISA), 该方法测 OTA 时发光信号强度大且发光时间长, 检测结果灵敏度更高, 适用于痕量分析; Sun 等<sup>[26]</sup>采用生物素标记纳米体链霉亲和素扩增酶联免疫吸附法检测谷物中 OTA, 更有利于以 mAb 为基础的 ELISA, 具有经济、灵敏、准确的优点。但 ELISA 也存在抗原抗体制备困难, 试剂寿命短, 重现性较差, 容易出现假阳性等缺陷, 由此限制了方法的普及推广。

### 3.3.2 胶体金免疫层析技术

胶体金免疫层析技术(gold-immuno chromatographic assay, GICA)是将胶体金免疫技术和色谱层析技术相结合而产生的一种固相膜免疫分析方法。李鑫等<sup>[27]</sup>基于胶体金免疫层析原理研发的胶体金试纸条肉眼可视检测限为 0.25  $\text{ng}/\text{mL}$ , 检测时间为 10 min, 具有特异性强、灵敏度高、重现性好、保质期长等优点, 适用于农产品中 OTA 的现场快速筛查, 但因依靠胶体金显色, 只能定性判定无法定量分析; 黄巧莲等<sup>[28]</sup>根据侧向层析原理, 利用胶体金与赭曲霉毒素 A 单抗偶联物和赭曲霉毒素 A-牛血清白蛋白(BSA)偶联物(OTA-BSA)发明了一种试纸条, 灵敏度可达 1.0  $\mu\text{g}/\text{L}$ , 检测时间仅需 5 min, 适合推广应用于野外和临床检测中。GICA 具有操作简便、结果直观、检测迅速、污染较少等优点, 最初被主要应用于医学领域, 近年来在食品快速检测领域得到充分应用和发展, 为快速检测批量大、保鲜时间短的食品提供了极大帮助。

表 2 仪器分析法检测赭曲霉毒素 A  
Table 2 Instrumental analysis of ochratoxin A detection

基质	检测方法	线性范围	检测限/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	回收率/%	参考文献
玉米、小麦	HPLC-FLD	0.2~200 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.11	83.0~101.3	[15]
大米	HPLC-FLD	0~200 $\text{ng}/\text{mL}$	0.80	77.7~81.1	[16]
玉米、小麦	全自动免疫亲和在线净化-HPLC	0.0125~0.5 $\mu\text{g}/\text{L}$	0.24	80.1~106.9	[18]
小麦、玉米、大米、大豆	氨基固相萃取-HPLC-MS/MS	0.5~10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.25	83.2~98.6	[21]
谷物源性食品	QuEChERS-HPLC-MS/MS	1.0~50.0 $\text{ng}/\text{mL}$	0.50	84.6~107.0	[22]
大米、小麦粉和黄豆酱	同位素内标-HPLC-MS/MS	0.25~2.5 $\text{ng}/\text{mL}$	0.003 ~ 0.018	80.50~107.08	[23]

### 3.3.3 时间分辨荧光免疫分析技术

时间分辨荧光免疫分析技术(time-resolved fluoroimmunoassay, TRFIA)是一种建立在免疫吸附分离和时间分辨荧光技术基础上的微量物质检测技术。根据测定的反应产物的荧光强度和相对荧光强度的比值进行定量分析,推测反应体系中被分析物的浓度<sup>[29]</sup>。TRFIA 技术具有特异性好、灵敏度高、测定范围宽、试剂寿命长的优势,克服了 ELISA 无法一次测定多个样品的缺陷。黄飏等<sup>[30]</sup>建立的 TRFIA 法检测限为 0.02  $\mu\text{g/L}$ ,适用于大批量样品的筛查。但存在易受背景荧光干扰、荧光寿命短的不足,且使用了有毒有害物质、不利于人体健康。

### 3.3.4 化学发光酶免疫分析技术

化学发光酶免疫分析技术(chemiluminescence enzyme immunoassay, CLEIA)是迅速兴起的非放射性免疫分析技术的一种,具有方便快捷、成本低、灵敏度高、检测通量大等优点,被逐渐推广于检测食品安全领域的有毒有害物质。邱云青等<sup>[31]</sup>建立了 OTA 的免疫化学发光检测法,缩短了检测时间,减少了试剂用量,且检测结果的重现性较好,提高了传统 ELISA 法的灵敏度。但此方法也有化学发光时间短,有底物干扰,且过程中需使用有害试剂,威胁人体健康等问题。

### 3.3.5 免疫层析技术

免疫层析技术(immuno-chromatography assay, ICA)是结合了抗原抗体特异性反应的免疫技术与色谱层析技术发展起来的一种快速检测方法。赭曲霉毒素(OTA、OTB 和 OTC)在一定条件下容易相互转换,常以混合物的形式存在于食品原料中,对人畜健康造成严重威胁,因此同时检测 3 种赭曲霉毒素很有必要。Zhang 等<sup>[32]</sup>筛选出了一株能同时识别 OTA、OTB 和 OTC 的单克隆抗体,首次建立了同时检测 3 种主要赭曲霉毒素的 ICA 法,OTA、OTB 和 OTC 的可见检出限分别为 0.05、0.025、0.10  $\text{ng/mL}$ ,检测下限浓度分别为 0.50、0.25、0.50  $\text{ng/mL}$ ,该方法具有检测快速、灵敏度高、易操作等优点,OTA 的检出限低于以往报道的

大多数常规 ICAs 方法。

### 3.3.6 量子点标记荧光免疫层析法

量子点(quantum dot, QD)是指由 II - IV 族或 III - V 族元素组成的新型纳米材料。与传统有机荧光染料相比,量子点光稳定性更好,生物相容性更高,激发光谱宽且连续,发射光谱窄且对称,标记前后不改变抗体等大分子物质的生物活性,是一种理想的荧光标记物。杨晔等<sup>[33]</sup>采用量子点荧光微球标记 OTA 单克隆抗体,基于免疫层析原理,建立了 OTA 高灵敏荧光免疫层析检测方法(fluorescent immunochromatographic assay, FICGA)。结果表明,荧光量子点作为检测探针时,准确便捷且灵敏度更高,适用于定量分析。沙志聪等<sup>[34]</sup>基于量子点标记,构建了用于检测谷物中 OTA 残留量的免疫层析试纸条,检测限为 0.5  $\mu\text{g/L}$ ,检测时间不到 10 min,该试纸条特异性好、灵敏度高、检测快速,结果易于判断,满足了对谷物样品中 OTA 的现场定性半定量检测。由于 FICGA 对仪器设备要求低,适用于对大量样本的快速初筛,更易推广使用于基层检验机构和农产品加工企业。

### 3.3.7 免疫传感器检测技术

免疫传感器检测技术是依据抗原抗体间特异性识别作用而开发的一类新型生物传感器技术。Kunene 等<sup>[35]</sup>研发了适合检测咖啡样品中 OTA 的新型免标记电化学免疫传感器,制备的 BSA/anti-OTA/PdNPs/CF 对咖啡样品中的 OTA 表现出优异的电化学性能,选择性强且稳定性好,检测限可达 0.096  $\text{ng/mL}$ 。Qileng 等<sup>[36]</sup>基于 CdS/Ag<sub>2</sub>S 的多元线性回归和新型光谱免疫分析,构建了检测赭曲霉毒素的光电化学新体系,成功实现了对 3 种赭曲霉毒素的同时测定,检测限分别为 0.67、0.85、0.46  $\text{ng/L}$ ,对低浓度的 OTA、OTB 和 OTC 均表现出较高的灵敏度;Rehmat 等<sup>[37]</sup>以交联壳聚糖和羧甲基壳聚糖纳米基质为基底,建立了紧凑型表面等离子体共振生物传感器,用于咖啡中 OTA 的检测,其中壳聚糖的检出限为 5.7  $\text{ng/mL}$ ,羧甲基壳聚糖(CMC)为 3.8  $\text{ng/mL}$ ,方法具有经济易用、灵敏准确的特点,适用于农场

表 3 免疫学法检测赭曲霉毒素 A  
Table 3 Immunological detection of ochratoxin A

基质	检测方法	线性范围	检测限	回收率/%	参考文献
玉米、面粉、大豆	MNPs-bs-AuNPs-ELISA	0.02 ~ 0.73 $\text{ng/mL}$	0.01 $\text{ng/mL}$	85.6 ~ 115.7	[24]
葡萄干、葡萄汁	BA-Nb ELISA	0.05 ~ 6.08 $\text{ng/mL}$	0.01 $\text{ng/mL}$	73.32 ~ 91.36	[25]
谷物	生物素标记纳米体链霉亲和素扩增-ELISA	0.034 ~ 0.460 $\text{ng/mL}$	0.011 $\text{ng/mL}$	92.8 ~ 114.0	[26]
玉米、大麦	TRFIA	0.02 ~ 400 $\mu\text{g/L}$	0.02 $\mu\text{g/L}$	82.0 ~ 104.6	[30]
玉米	CLEIA	6 ~ 400 $\text{ng/mL}$	0.02 $\text{ng/mL}$	83.6 ~ 105.8	[31]
玉米、面粉、大豆	FICGA	0.05 ~ 0.59 $\text{ng/mL}$	0.04 $\text{ng/mL}$	83.2 ~ 117.8	[34]
咖啡	新型免标记电化学免疫传感器	0.5 ~ 20 $\text{ng/mL}$	0.096 $\text{ng/mL}$	-	[35]

注: -表示无。



表 4 基于适配体的快速检测技术检测赭曲霉毒素 A  
Table 4 Detection of ochratoxin A by aptamer-based rapid detection method

检测方法	线性范围	检测限	参考文献
基于 UCNPs 和 AuNPs 间 FRET 的适配体传感器	0.001 ~ 10 ng/mL	0.001 ng/mL	[39]
基于核酸适配子的 CdTe 发光量子点标记	$5 \times 10^{-11} \sim 1.0 \times 10^{-7}$ g/mL	$5 \times 10^{-11}$ g/mL	[41]
核酸适配体荧光传感器	0.005 ~ 1.00 ng/mL	3 pg/mL	[42]
基于酶包埋脂质体的比色适配体传感器	0.05 ~ 2.0 ng/mL	0.023 ng/mL	[43]
固相单步适配体传感器	0.1 ~ 1000 ng/mL	0.022 ng/mL	[45]
Apt/cDNA/cPC-AuNPs/NH <sub>2</sub> -AuE 传感器	$1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-2}$ ng/mL	$1.0 \times 10^{-6}$ ng/mL	[47]
基于金属有机框架的电化学生物传感器	0.1 ~ 5.0 nmol/L	0.03 nmol/L	[48]
以 SA/AgPt/PCN-223-Fe 为示踪剂的电化学传感器	20 fg/mL ~ 2 ng/mL	14 fg/mL	[49]

### 3.5 其他检测方法

除了上述检测方法外,近年来发展起来的流式微球技术、近红外光谱成像技术等也可用于赭曲霉毒素 A 的检测。肖昌彬等<sup>[50]</sup>为准确快速地分析麦芽中 OTA,开发了间接竞争流式微球技术,检出限为 0.12 ng/mL,方法检测灵敏度高、分析速度快、检测通量大,适合复杂基质体系中痕量小分子物质的检测;李素等<sup>[51]</sup>发明了用于检测啤酒中 OTA 的纳米金标记胺放大化学发光法,线性范围为 0.01 ~ 50 ng/mL,检出限为  $1.58 \times 10^{-3}$  ng/mL,该法兼具适配体和 AuNPs 的优点,灵敏度高且成本低;Senthilkumar 等<sup>[52]</sup>利用近红外高光谱成像系统(NIR)对贮藏大麦中的 OTA 污染进行监测,结果显示,对不同时期和不同程度的 OTA 污染分类准确率达 82%以上。相信在近红外光谱技术的不断发展与改进下,其在食品中赭曲霉毒素 A 检测领域的前景将更加广阔。

## 4 总结与展望

本研究总结了近年来食品中 OTA 检测方法的研究进展,发现不同的方法都各有利弊。传统的薄层色谱法已无法满足现代检测的需要。高效液相色谱法和液相-质谱联用法由来已久,具有免疫学方法无法复制的检测限低、重现性好、回收率高等优势,但操作繁琐、成本高、检测周期长等缺点,使其不适合大量推广于农产品的现场快速检测。基于免疫学原理的酶联免疫吸附法、胶体金免疫层析技术快速、灵敏、经济、准确,但也存在抗原抗体制备困难,有底物干扰,检测结果假阳性多,不利于人体健康等缺点。利用适配体作为特异性识别分子开发的生物传感器提高了 OTA 检测的特异性、稳定性和便捷性,非常适合 OTA 的现场快速检测,但灵敏度有待提高,无法满足同时检测多种物质的市场需求。目前一些新兴的检测方法,如近红外光谱技术、流式微球技术等,在真菌毒素的快速检测方面也得到了发展,但其推广需要更加深入的

研究。随着科学技术的不断更新,既要对现有的 OTA 检测技术不断完善,更要积极开发各种新型 OTA 检测技术,以满足市场快速检测的需要,保障人民的身体健康。

### 参考文献

- [1] 桑晓霞, 马江媛, 黄登宇. 赭曲霉毒素 A 检测方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(21): 7271-7277.
- [2] Sang XX, Ma JY, Huang DY. Research progress on detection methods of ochratoxin A [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(21): 7271-7277.
- [3] 贺亮, 郑文, 刘玉峰, 等. 赭曲霉毒素 A 研究进展[J]. 中国草食动物科学, 2017, 37(5): 59-61, 69.
- [4] He L, Zheng W, Liu YF, et al. Progress in ochratoxins A [J]. Chin Herbivore Sci, 2017, 37(5): 59-61, 69.
- [5] Klingelhöfer D, Braun M, Schöffel N, et al. Ochratoxin-Characteristics, influences and challenges of global research [J]. Food Control, 2020, (114): 107230.
- [6] Hajok I, Kowalska A, Piekut A, et al. A risk assessment of dietary exposure to ochratoxin A for the Polish population [J]. Food Chem, 2019, (284): 264-269.
- [7] Benites AJ, Fernandes M, Boleto AR, et al. Occurrence of ochratoxin A in roasted coffee samples commercialized in Portugal [J]. Food Control, 2017, (73B): 1223-1228.
- [8] 高翔, 李梅, 张立实. 赭曲霉毒素 A 的毒性研究进展[J]. 国外医学(卫生物学分册), 2005, (1): 51-55.
- [9] Gao X, Li M, Zhang LS. Research progress on toxicity of ochratoxin A [J]. J Environ Hyg, 2005, (1): 51-55.
- [10] 王颖, 张妮娜, 雒丽娜, 等. 赭曲霉毒素 A 检测方法的研究进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(5): 757-760.
- [11] Wang Y, Zhang NN, Luo LN, et al. Research progress on detection methods of ochratoxin A [J]. Chin J Health Lab Technol, 2014, 24(5): 757-760.
- [12] Park S, Lim W, You S, et al. Ochratoxin A exerts neurotoxicity in human astrocytes through mitochondria-dependent apoptosis and intracellular calcium overload [J]. Toxicol Lett, 2019, (313): 42-49.
- [13] GB 2761-2017 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量[S].
- [14] GB 2761-2017 National food safety standard-Mycotoxin limit in food [S].
- [15] GB 5009.96-2016 食品安全国家标准 食品中赭曲霉毒素 A 的测定[S].

- GB 5009.96-2016 National food safety standards-Determination of ochratoxin A in food [S].
- [11] 林乐明, 张乐洋, 宋文斌. 真菌毒素的薄层色谱法分析[J]. 色谱, 1990, (4): 233-236.  
Lin LM, Zhang LF, Song WB. Thin layer chromatography analysis of mycotoxins [J]. Chin J Chromatogr, 1990, (4): 233-236.
- [12] 李莉, 李硕, 王海燕, 等. 食品中致癌性生物毒素检测标准概述[J]. 食品工业科技, 2019, 40(13): 310-315, 321.  
Li L, Li S, Wang HY, *et al.* Review of standard detection methods of carcinogenic biotoxins in Foods [J]. Sci Technol Food Ind, 2019, 40(13): 310-315, 321.
- [13] 王帅, 陈贺, 张继军, 等. 牛奶中赭曲霉毒素检测方法研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2013, 40(S1): 78-81.  
Wang S, Chen H, Zhang JJ, *et al.* Research progress on detection methods of ochratoxin in milk [J]. Chin Anim Husband Veter Med, 2013, 40(S1): 78-81.
- [14] Santos EA, Vargas EA. Immunoaffinity column clean-up and thin layer chromatography for determination of ochratoxin A in green coffee [J]. Food Addit Contam Part A, 2002, 19(5): 447-458.
- [15] 李克, 潘丽红, 罗小虎, 等. 高效液相色谱同时检测谷物中玉米赤霉烯酮和赭曲霉毒素 A[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(6): 118-123.  
Li K, Pan LH, Luo XH, *et al.* Simultaneous determination of ochratoxin A and zearalenone in cereals by HPLC [J]. Food Res Dev, 2020, 41(6): 118-123.
- [16] 梁桂娟, 张琼, 杨波. 高效液相色谱-荧光检测法检测大米中的赭曲霉毒素 A[J]. 中国酿造, 2015, 34(8): 136-138.  
Liang GJ, Zhang Q, Yang B. Determination of ochratoxin A in rice by HPLC-FLD [J]. Chin Brew, 2015, 34(8): 136-138.
- [17] 赖先文, 张荷, 刘承兰. 稻米中黄曲霉毒素和赭曲霉毒素 A 的研究进展[J]. 食品工业科技, 2014, 35(22): 386-391.  
Lai XW, Zhang H, Liu CL. Research progress in aflatoxins and ochratoxin A in rice [J]. Sci Technol Food Ind, 2014, 35(22): 386-391.
- [18] 谢刚, 李丽, 黎睿, 等. 全自动免疫亲和在线净化-高效液相色谱法快速测定粮食中赭曲霉毒素 A[J]. 中国粮油学报, 2019, 34(6): 114-119.  
Xie G, Li L, Li R, *et al.* Development of a quick method for analysis of ochratoxin A in cereal using on-line immunoaffinity column clean-up and high performance liquid chromatography [J]. J Chin Cere Oils Assoc, 2019, 34(6): 114-119.
- [19] 王伟岗, 强敏, 端礼钦. 复合免疫亲和柱-高效液相色谱法同时测定谷物及其制品中 9 种真菌毒素[J]. 色谱, 2018, 36(12): 1330-1336.  
Wang WG, Qiang M, Duan LQ. Simultaneous determination of nine mycotoxins in cereal and cereal products by high performance liquid chromatography with composite immunoaffinity clean-up column [J]. Chin J Chromatogr, 2018, 36(12): 1330-1336.
- [20] 郑润生, 肖启衍, 邱薇, 等. 10 种中药材和 3 种食品污染赭曲霉毒素 A 的 LC-MS/MS 检测研究[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(2): 289-294.  
Zheng RS, Xiao QY, Qiu W, *et al.* Determination of contaminant ochratoxin A in 10 traditional Chinese medicines and 3 food samples by LC-MS/MS [J]. Chin J Pharm Anal, 2015, 35(2): 289-294.
- [21] 孙月, 赵晋铭, 贾雯晴, 等. 固相萃取-高效液相色谱串联质谱法检测粮食中赭曲霉毒素 A[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(6): 1416-1420.  
Sun Y, Zhao JM, Jia WQ, *et al.* Application of solid-phase extraction to determination of ochratoxin A in grains by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Jiangsu J Agric Sci, 2016, 32(6): 1416-1420.
- [22] 林琳. QuEChERS-HPLC-MS/MS 法检测谷物源性食品中 3 种赭曲霉毒素[J]. 食品工业, 2019, 40(12): 311-315.  
Lin L. Determination of 3 ochratoxins in cereal-derived food by QuEChERS-HPLC-MS/MS [J]. Food Ind, 2019, 40(12): 311-315.
- [23] 曾羲, 林子豪, 雷芬芬, 等. 同位素内标高效液相色谱-串联质谱法测定粮食及其制品中赭曲霉毒素 A、B 和 C[J]. 食品工业科技, 2019, 40(21): 239-244.  
Zeng X, Lin ZH, Lei FF, *et al.* Determination of ochratoxin A, B and C in cereals and its products by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry using an isotope internal standard [J]. Sci Technol Food Ind, 2019, 40(21): 239-244.
- [24] 章先, 何珂, 黄志伟, 等. 基于纳米颗粒的赭曲霉毒素 A 高灵敏酶联免疫检测方法的建立及应用[J]. 菌物学报, 2020, 39(3): 599-609.  
Zhang X, He K, Huang ZW, *et al.* Nanoparticle-based enzyme-linked immunosorbent assay for the sensitive detection of ochratoxin A [J]. Mycosystema, 2020, 39(3): 599-609.
- [25] 张景, 潘姝历, 马良, 等. 新型高灵敏赭曲霉毒素 A 间接竞争化学发光免疫分析法[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(3): 223-230.  
Zhang J, Pan SL, Ma L, *et al.* A novel highly sensitive indirect competitive chemiluminescence enzyme-linked immunoassay for ochratoxin A [J]. Food Ferment Ind, 2019, 45(3): 223-230.
- [26] Sun ZC, Wang XR, Tang ZW, *et al.* Development of a biotin-streptavidin-amplified nanobody-based ELISA for ochratoxin A in cereal [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2019, (171): 382-388.
- [27] 李鑫, 李培武, 张奇, 等. 农产品中赭曲霉毒素 A 免疫层析试纸条快速检测技术研究[J]. 中国油料作物学报, 2014, 36(5): 648-652.  
Li X, Li PW, Zhang Q, *et al.* Development of an immunochromatographic assay for ochratoxin A in agro-products [J]. Chin J Oil Crop Sci, 2014, 36(5): 648-652.
- [28] 黄巧莲, 金庆日, 章先, 等. 基于侧向层析原理的赭曲霉毒素 A 快速检测试纸条的研制[J]. 浙江农林大学学报, 2016, 33(3): 531-536.  
Huang QL, Jin QR, Zhang X, *et al.* An ochratoxin A test strip based on a lateral-flow immunochromatographic assay [J]. J Zhejiang A & F Univ, 2016, 33(3): 531-536.
- [29] 金晶, 赖卫华, 涂祖新, 等. 时间分辨荧光免疫分析技术的研究进展及在食品安全领域中的应用[J]. 食品科学, 2006, (12): 886-889.  
Jin J, Lai WH, Tu ZX, *et al.* Research progress and applications in food safety of time-resolved fluoroimmunoassay [J]. Food Sci, 2006, (12): 886-889.
- [30] 黄飏, 时瑾, 朱岚, 等. 赭曲霉毒素 A 时间分辨荧光免疫分析法的建立及其考核[J]. 标记免疫分析与临床, 2008, (3): 174-177.  
Huang B, Shi J, Zhu L, *et al.* Establishment and evaluation of time-resolved fluorescence immunoassay for ochratoxin A [J]. Label Immunoass Clin Med, 2008, (3): 174-177.
- [31] 邱云青, 王伟, 李凤琴. 化学发光酶免疫分析法检测食品中赭曲霉毒素[J]. 食品科学, 2010, 31(24): 432-435.  
Qiu YQ, Wang W, Li FQ. Detection of ochratoxin A in food by chemiluminescent immunoassay [J]. Food Sci, 2010, 31(24): 432-435.
- [32] Zhang MY, Yan LZ, Huang Q, *et al.* Highly sensitive simultaneous detection of major ochratoxins by an immunochromatographic assay [J]. Food Control, 2018, (84): 215-220.

- [33] 杨昞, 王作欢, 蒋小武, 等. 基于量子点标记的赭曲霉毒素 A 快速、高灵敏荧光免疫层析检测方法的建立及应用[J]. 菌物学报, 2019, 38(6): 1003–1013.  
Yang D, Wang ZH, Jiang XW, *et al.* Rapid and sensitive detection of ochratoxin A by using a quantum dots-based immunochromatographic assay [J]. *Mycosystema*, 2019, 38(6): 1003–1013.
- [34] 沙志聪, 其木格, 贾增艳, 等. 量子点标记免疫层析试纸条快速检测谷物中赭曲霉毒素 A[J]. 食品工业科技, 2019, 40(17): 191–195, 190.  
Sha ZC, Qi MG, Jia ZY, *et al.* Quantum dot-labeled immunochromatographic test strip for rapid detection of ochratoxin A in cereals [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2019, 40(17): 191–195, 190.
- [35] Kunene K, Weber M, Sabela M, *et al.* Highly-efficient electrochemical label-free immunosensor for the detection of ochratoxin A in coffee samples [J]. *Sens Actuat B Chem*, 2020, (305): 127438.
- [36] Qileng A, Yang SY, Wei J, *et al.* Construction of CdS/Ag<sub>2</sub>S-based broad-spectrum photoelectrochemical immunosensor for simultaneous assessment of ochratoxins by multivariable linear regression [J]. *Sens Actuat B Chem*, 2018, (267): 216–223.
- [37] Rehmat Z, Mohammed WS, Sadiq MB, *et al.* Ochratoxin A detection in coffee by competitive inhibition assay using chitosan-based surface plasmon resonance compact system [J]. *Colloids Surf B*, 2019, (174): 569–574.
- [38] 蔡小霞, 苑静, 林童, 等. 基于磁性材料的适配体传感器在赭曲霉毒素超灵敏检测中的研究进展[J/OL]. 食品与发酵工业, 2020, (3). <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.023443>.  
Cai XX, Yuan J, Lin T, *et al.* Research Progress of aptasensor based on magnetic material in ultratrace detection of ochratoxin [J/OL]. *Food Ferment Ind*, 2020, (3). <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.023443>.
- [39] 张莹莹, 钱志娟, 谢正军, 等. 基于上转换荧光纳米粒子和金纳米粒子间荧光共振能量转移的高灵敏赭曲霉毒素 A 检测方法研究[J]. 分析测试学报, 2018, 37(1): 31–38.  
Zhang YY, Qian ZJ, Xie ZJ, *et al.* Highly sensitive detection of ochratoxin A based on FRET from upconversion nanoparticles to gold nanoparticles [J]. *J Instrum Anal*, 2018, 37(1): 31–38.
- [40] Wang CK, Tan R, Chen D. Fluorescence method for quickly detecting ochratoxin A in flour and beer using nitrogen doped carbon dots and silver nanoparticles [J]. *Talanta*, 2018, (182): 363–370.
- [41] 李响. 基于核酸适配子的 CdTe 发光量子点标记赭曲霉毒素 A 检测新方法研究[J]. 粮食与油脂, 2018, 31(12): 88–91.  
Li X. A new method for detection of ochratoxin A in CdTe quantum dots based on aptamers [J]. *Cere Oils*, 2018, 31(12): 88–91.
- [42] 易守军, 何盼, 欧宝立, 等. 适配体传感法快速测定啤酒中赭曲霉毒素 A[J]. 光谱学与光谱分析, 2019, 39(7): 2283–2287.  
Yi SJ, He P, Ou BL, *et al.* A novel aptasensors assay for fast detection of ochratoxin A in beer [J]. *Spectrosc Spect Anal*, 2019, 39(7): 2283–2287.
- [43] Lin CY, Zheng HX, Sun M, *et al.* Highly sensitive colorimetric aptasensor for ochratoxin A detection based on enzyme-encapsulated liposome [J]. *Anal Chim Acta*, 2018, (1002): 90–96.
- [44] Tian FY, Zhou J, Fu RJ, *et al.* Multicolor colorimetric detection of ochratoxin A via structure-switching aptamer and enzyme-induced metallization of gold nanorods [J]. *Food Chem*, 2020, (320): 126607.
- [45] Kim K, Jo E, Lee KJ, *et al.* Gold nanocap-supported upconversion nanoparticles for fabrication of a solid-phase aptasensor to detect ochratoxin A [J]. *Biosens Bioelectron*, 2020, (150): 111885.
- [46] Rostami S, Zór K, Zhai DS, *et al.* High-throughput label-free detection of ochratoxin A in wine using supported liquid membrane extraction and Ag-capped silicon nanopillar SERS substrates [J]. *Food Control*, 2020, (113): 107183.
- [47] 闫好杰, 卫敏, 鲁丽媛, 等. 基于羧基化多孔碳-纳米金修饰电极的核酸适配体传感器检测赭曲霉毒素 A[J]. 分析试验室, 2018, 37(6): 661–665.  
Yan HJ, Wei M, Lu LY, *et al.* The detection of ochratoxin A based on nucleic acid apta sensor on the electrode modified by carboxylated porous carbon nano gold [J]. *Chin J Anal Lab*, 2018, 37(6): 661–665.
- [48] 王艺伟, 刘俏, 黄群, 等. 金属有机框架用于电化学检测赭曲霉毒素 A[J]. 分析试验室, 2018, 37(8): 880–883.  
Wang YW, Liu Q, Huang Q, *et al.* Electrochemical detection of ochratoxin A based on the metal organic framework [J]. *Chin J Anal Lab*, 2018, 37(8): 880–883.
- [49] Zhang J, Xu XJ, Qiang Y. Ultrasensitive electrochemical aptasensor for ochratoxin A detection using AgPt bimetallic nanoparticles decorated iron-porphyrinic metal-organic framework for signal amplification [J]. *Sens Actuat Chem*, 2020, (312): 127964.
- [50] 肖昌彬, 刘秋桃, 豆小文, 等. 基于间接竞争原理的流式微球技术快速检测麦芽中赭曲霉毒素 A[J]. 分析化学, 2016, 44(4): 625–632.  
Xiao CB, Liu QT, Dou XW, *et al.* Rapid detection of ochratoxin A in malt by cytometric bead array based on indirect competition principle [J]. *Chin J Anal Chem*, 2016, 44(4): 625–632.
- [51] 李素, 肖义波, 武乐, 等. 金标记羟胺放大化学发光检测赭曲霉毒素 A[J]. 分析测试学报, 2018, 37(1): 57–61.  
Li S, Xiao YP, Wu L, *et al.* Detection of ochratoxin A by hydroxylamine-amplified gold nanoparticles chemiluminescence [J]. *J Instrum Anal*, 2018, 37(1): 57–61.
- [52] Senthilkumar T, Jayas DS, White NDG, *et al.* Detection of fungal infection and ochratoxin A contamination in stored barley using near-infrared hyperspectral imaging [J]. *Biosys Eng*, 2016, (147): 162–173.

(责任编辑: 李磅礴)

## 作者简介



翟若涵, 主要研究方向为食品安全检测控制。

E-mail: 1062165835@qq.com



王周利, 博士, 副教授, 主要研究方向为农产品加工与食品质量安全检测控制。

E-mail: wz11014@nwsuaf.edu.cn