

茶叶中产毒真菌污染现状及其生物防控研究进展

余佃贞, 武爱波*

(中国科学院大学, 中国科学院上海营养与健康研究所, 上海 200031)

摘 要: 茶是世界上三大饮品之一, 其饮用安全性对于消费者健康及茶产业发展尤为重要。产毒真菌在自然界中分布广泛, 茶叶在生长、采摘、加工、运输及仓储过程中存在潜在的真菌污染。真菌毒素是真菌代谢产生的一类有毒次级代谢产物, 会在茶叶基质中积累, 不仅给人类健康造成严重威胁, 也给全球经济带来巨大损失。我国是茶叶生产和出口大国, 随着国际贸易壁垒的日益森严, 进口国对茶叶中残留的微生物和真菌毒素检测愈加严格。此外, 检测茶叶中真菌及真菌毒素对于茶叶安全、茶叶仓储及相关行业标准具有一定的指导意义。本文综述了国内外红茶、黑茶、绿茶、白茶、青茶和黄茶中产毒真菌污染现状及生物防控的研究进展, 并就今后防控措施提出建议, 以期为茶叶中真菌及其真菌毒素安全控制提供参考, 促进茶产业健康可持续发展。

关键词: 茶叶; 真菌; 真菌毒素; 污染现状; 生物防控

Research progress on the contamination status and bio-control of fungi and mycotoxin in tea

YU Dian-Zhen, WU Ai-Bo*

(Shanghai Institute of Nutrition and Health, University of Chinese Academy of Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

ABSTRACT: Tea is one of the 3 major beverages all over the world, and its drinking safety is particularly important for consumers and the development of the tea industry. Enterotoxigenic fungi are widely distributed in nature, which can cause potential fungal contamination in tea growing, picking, processing, transporting and warehousing. Mycotoxins are toxic secondary metabolites produced by fungal metabolism, it can be accumulated in tea matrix, which poses a serious threat to human health and brings huge losses to global economy. China is a huge tea producer and exporter, with the increasingly severe international trade barriers, the importing countries increased their standards in the detection of microbial and mycotoxin residues in tea. In addition, the detection of fungi and mycotoxins in tea has certain guiding significance for tea safety, tea storage and related industry standards. This paper reviewed the research progress on the contamination status and bio-control of fungi and mycotoxin in 6 kinds of tea including black tea, dark tea, green tea, white tea, oolong tea and yellow tea, and then put forward some suggestions for future prevention measures to provide reference for prevention of fungi and mycotoxin in tea and promote the healthy and sustainable development of tea industry.

KEY WORDS: tea; fungi; mycotoxins; contamination status; bio-control

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1604404)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFC1604404)

*通信作者: 武爱波, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全与真菌毒素。E-mail: abwu@sibs.ac.cn

*Corresponding author: WU Ai-Bo, Ph.D, Professor, Shanghai Institute of Nutrition and Health, University of Chinese Academy of Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China. E-mail: abwu@sibs.ac.cn

0 引 言

中国、印度、肯尼亚、斯里兰卡、土耳其是世界上主要的茶叶生产国, 中国占世界茶叶产量的 43%。茶作为一种重要的经济作物, 有超过 50 多个国家和地区种植茶树, 是许多发展中国家重要的出口创汇来源。联合国粮农组织政府间茶叶小组的数据显示, 2008—2018 年间, 茶叶的消费量每年增长 4.5%^[1]。随着消费者对茶叶饮品需求量增加及茶叶健康功效的不断深入研究, 特别是在减肥降脂、调理代谢等方面的功效验证, 茶的饮用安全性越来越受到消费者的关注。

产毒真菌在自然界中分布广泛, 在茶树种植、采收、加工和储存等环节都可能产生真菌毒素污染。其中任一环节的操作疏忽都会促进真菌滋生, 增加真菌毒素(mycotoxins)污染的风险。真菌毒素是真菌在生长过程中产生的一类具有细胞、器官或机体毒性的次级代谢产物, 广泛存在于谷物粮食、饲料和食品中, 对人类健康造成严重威胁。据统计, 全球每年约有 25% 粮食作物被真菌毒素污染, 真菌毒素污染已经成为食品安全领域最重要的问题之一^[2]。目前已知的真菌毒素已超过 400 种, 主要包括黄曲霉毒素(aflatoxin, AFT)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)及其衍生型 15-乙酰基-DON (15-acetyldeoxynivalenol, 15-AcDON)、3-乙酰基-DON (3-acetyldeoxynivalenol, 3-AcDON)、雪腐镰刀菌烯醇(nivalenol, NIV)、T-2 毒素(T-2 toxin)、赭曲霉毒素 A (ochratoxin-A, OTA)及其赭曲霉毒素 B (ochratoxin-B, OTB)、伏马毒素(fumonisin, FBs)、玉米赤霉烯酮(zearalanone, ZEN)、展青霉素(patulin, PAT)、杂色曲霉毒素(sterigmatocystin, ST)、橘霉素(citrinin)、麦角生物碱(ergot alkaloid)、3-硝基丙酸(β -nitropropionic acid)和黄绿青霉素(citreoviridin, CIT)等^[3]。真菌毒素由于物理化学性质稳定, 在食品加工处理过程中很难被破坏, 这些毒素经食物链传递至人体, 可造成慢性和急性中毒, 具有致癌、致畸、致突变等危害, 对人体肝脏、肾脏、神经系统、内分泌系统和免疫系统等都具有毒性作用^[4]。

PAKSHIR 等^[5]从伊朗设拉子超市和茶叶市场随机抽检了 60 份茶叶样品, 利用高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)结合荧光检测器(fluorescence detector, FD)检测了茶叶样品中 AFT 和 OTA 的污染情况发现, 有 40% 茶叶样品存在 AFT 污染, 所有样品均检出 OTA, 其中 3 份红茶样品和 1 份绿茶样品毒素超过 GB 2761—2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》中的限量要求 10 $\mu\text{g/kg}$, 红茶中 OTA 的平均浓度高于绿茶, 进一步对茶叶样品真菌培养和鉴定发现, 红茶和绿茶主要污染真菌有黑曲霉(*Aspergillus niger*)、青霉属(*Penicillium*)和镰刀菌属(*Fusarium*)。此外, 普洱茶、茯砖茶等黑茶产品等通过微生物特殊发酵工艺制作, 发酵过程有曲霉属(*Aspergillus*)、青霉属等多种真菌参与, 因此极易受到真菌

毒素污染^[6-7]。我国各大茶区气候温暖潮湿, 茶叶在种植过程中极易受真菌毒素污染, 作为茶叶主要生产国, 也是 AFT 毒素污染最严重的国家之一。AFT 和 OTA 是茶叶中最先发现的两种真菌毒素^[8]。近年来对茶叶样本多种真菌毒素的分析发现, 除了 AFT 和 OTA 污染外, 还可能受到 FBs、DON 和恩镰孢菌素(enniatins, ENNs)污染。本文主要概述了红茶、黑茶、绿茶、白茶、青茶和黄茶中产毒真菌和真菌毒素污染现状, 通过茶叶中真菌毒素污染数据引起我国相关部门的重视, 为降低真菌毒素污染茶叶的风险, 提出加强茶叶真菌毒素检测技术和安全防控建议, 以期茶叶中的真菌及真菌毒素污染风险和防控提供参考依据。

1 茶叶中真菌污染研究

茶叶在生长、采集、加工、运输和储存的任何阶段都可能受到真菌污染, 如曲霉属、青霉属、拟青霉属(*Paecilomyces*)、枝孢属(*Cladosporium*)、链格孢属(*Alternaria*)、毛霉(*Mucor*)、镰刀菌属、根霉属(*Rhizopus*)、犁头霉属(*Absidia*)和木霉属(*Trichoderma*)^[9]。根据茶叶种类的不同, 可能会受到不同种类真菌的侵染。温暖潮湿的气候有利于茶叶的种植, 也为真菌的生长繁殖提供生长环境。近几年的研究发现, 红茶、绿茶和普洱茶等茶叶中存在产毒真菌的污染。在茶叶种植阶段, 田间真菌是产毒真菌主要来源, 在我国亚热带茶园土壤中鉴定出的主要真菌菌群为镰刀菌属^[10]。这一属真菌会在侵染茶叶的过程中释放出 DON 及其衍生物、T-2 和 HT-2、FBs 等真菌毒素。随后的茶叶生产、储存和运输阶段都可能存在真菌污染。REINHOLDS 等^[11]对当地超市销售的普洱茶、红茶、绿茶和乌龙茶等 140 份茶叶样品进行检测发现, 87% 的样品中检出真菌, 共鉴定出真菌种类 17 属 32 种, 菌落数范围为 $1.0 \times 10^1 \sim 9.0 \times 10^4$ CFU/g。目前关于茶叶中的真菌污染情况见表 1。因此, 茶叶在采集、生产、储存和运输等环节如何通过有效措施控制产毒真菌的污染, 实现安全生产和仓储是今后值得研究者关注的问题^[12]。

1.1 红茶中真菌污染

红茶是采摘茶树上新鲜的嫩叶, 经萎凋、揉捻(切)、发酵、干燥等一系列工艺过程精制而成的茶产品, 属全发酵茶。目前红茶中的真菌污染报道相对较多。HITOKOTO 等^[12]在 1974 年就对东京市售的茶叶产毒真菌污染展开了研究, 从 19 份红茶样本中分离获得了 259 株泡盛曲霉(*Aspergillus awamori*), 检测发现这些真菌在酵母蔗糖培养基上可产生 ST, 这一结果表明红茶中可能受到了真菌毒素污染。ELSHAFIE 等^[13]从购于马斯喀特的 4 个品牌 48 份红茶样品中分离鉴定出 5 种真菌, 进一步检测发现分离的 25 株黄曲霉均不产生 AFT。通过对捷克共和国收集的 10 份红茶样品检测发现霉菌平均菌落数为 0.08×10^3 CFU/g,

真菌种类达 37 种,其中以黄曲霉和烟曲霉污染率较高^[14]。CARRATURO 等^[15]从意大利收集的 16 份红茶样品鉴定出曲霉属、青霉属、根霉属和枝孢属。拉脱维亚大学研究团队对里加超市销售的 63 份红茶样品进行微生物检测,有 25.8%样品中霉菌菌落数超过 5.0×10^3 CFU/g,其中这大部分检出的阳性样品来自印度和斯里兰卡地区 ($5.0 \times 10^2 \sim 9.6 \times 10^3$ CFU/g),此外,还从样品中检出酵母 ($1.0 \times 10^2 \sim 9.6 \times 10^3$ CFU/g);利用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱法(matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)结合 Bruker MALDI-TOF 真菌数据库鉴定发现,63 份样品中 95%含有曲霉属、25%含有青霉属、3%含有根霉属、13%含有横梗霉属、3%含有镰刀菌属,其他种类真菌属检出率 3%^[11]。TONG 等^[16]对红茶生产过程中的微生物种群进行了表征分析发现,茶叶在加工过程中会改变茶叶微生物群落结构,其主要优势真菌为子囊菌门(Ascomycetes),检出包括可能产真菌毒素的黄曲霉属、青霉属和链格孢属等产毒菌。

从以上研究中可以发现,红茶中常检测到的污染真菌有曲霉属、青霉属、根霉属、枝孢霉属和木霉属,其中前两属占主导地位。在阿曼和捷克采集红茶样本中主要污染真菌为曲霉属,以黑曲霉属为主要代表;意大利的红茶样品中主要污染真菌有黑曲霉和塔宾曲霉(*Aspergillus tubingensis*);瑞典的红茶中发现有黑曲霉、黑曲霉酸(*Aspergillus acidus*)、泡盛曲霉和炭黑曲霉(*Aspergillus carbonarius*);而我国安徽红茶中检出的污染真菌主要有枝孢属、曲霉属,这表明不同地区红茶样品中污染的真菌种类存在差异,且茶叶在生产加工前后,其微生物群落结构也会发生变化。

1.2 黑茶中真菌污染

黑茶是采摘茶树新叶经过杀青、揉捻、渥堆(后发酵)和干燥四道工序制作而成。主要包括湖南黑茶、湖北青砖茶、四川藏茶、安徽古黟黑茶、云南普洱茶、广西六堡茶及陕西黑茶。过去,普洱茶中的发酵微生物黑曲霉一般认为安全的微生物。但近年来,随着对不同种类的黑曲霉代谢产物分析,黑曲霉中的一些种类可能会产生 OTA、AFT 和 FBs 毒素,因此普洱茶中的真菌菌群受到特别关注。

普洱茶在发酵过程中分离的常见真菌主要有曲霉属、酵母菌、青霉菌、根霉和毛霉^[24]。HITOKOTO 等^[12]对 11 份茶叶样品进行了真菌分离鉴定,发现有 2 份普洱茶样品真菌数量最多,其优势菌是杂色曲霉(*Aspergillus versicolor*)和聚多曲霉(*Aspergillus sydowii*)。ZHANG 等^[17]对普洱茶原茶和成熟茶的真菌和细菌多样性进行了研究发现,在叶片中分离鉴定出真菌 390 个操作分类单位(operational taxonomic units, OTUs),以黑曲霉、帚状曲霉(*Aspergillus penicilloides*)和 *Aspergillus cibarius* 为主;成熟茶中出现青

霉属,如 *Penicillium brocae* 和桔青霉(*Penicillium citrinum*)。HAAS 等^[18]对 36 份市售的云南普洱茶样品进行检测发现,霉菌菌落数范围为 $1.0 \times 10^1 \sim 2.6 \times 10^6$ CFU/g,黑曲霉酸和烟曲霉污染发生率达到 50%~80%。ZHAO 等^[19]从我国云南、湖北、湖南和广西等 4 个省份收集了普洱茶样本,从中分离到 76 株真菌,包括曲霉属和青霉属,进一步接种查氏酵母膏琼脂(Czapek yeast agar, CYA)进行产毒分析发现,黑曲霉 H101、炭黑曲霉 H9、棕曲霉 A69 (*Aspergillus ochraceus* A69)、塔宾曲霉 A71、构巢曲霉 A132 (*Aspergillus nidulans* A132)和鲜绿青霉 P105 (*Penicillium verrucosum* P105) 6 株真菌均可以产生 OTA 毒素。此外,研究人员对另一种黑茶茯砖茶样品研究发现,在发酵全过程总共检出真菌 138 个 OTUs,共 8 属 13 种,其中曲霉属是最主要优势菌,在发酵初期,帚状曲霉是优势菌,但在发酵中期,迅速被其他种曲霉所取代,通过培养和观察,推测曲霉属的增加可能是由于冠状曲霉(*Eurotium cristatum*)引起的^[20]。以往的许多报道也表明,在茯砖茶的生产过程中,冠状曲霉是主要优势真菌^[25]。从以上研究中发现,与红茶类真菌种类多样性不同,黑茶类样品中主要的真菌菌群主要是曲霉属和青霉属两大类真菌。

1.3 绿茶中真菌污染

绿茶是采摘茶树的新叶或芽,未经发酵,经杀青、整形、烘干等工艺制作而成,保留了茶叶中的茶多酚、儿茶素、维生素和叶绿素等天然营养物质,因此,绿茶在加工阶段被认为是受污染最少的。最近的调查显示,不恰当的储存会导致茶叶滋生微生物,对消费者的健康造成危害。ŘEZÁČOVÁ 等^[14]分离 10 份捷克市售绿茶样品中的真菌,发现均不产生 AFT。CARRATURO 等^[15]从意大利南部市场和网上商店购买的 16 份绿茶样品,并对茶包中的微生物进行了检测发现,其中 10 份样品中检出黑曲霉,3 份样品中检出塔宾曲霉,此外,样品中还检出团青霉、红青霉和短密青霉等真菌。WANG 等^[21]对杭州 3 个茶厂收集的蒸青绿茶进行微生物检测发现,霉菌菌落数范围为 $1.0 \times 10^2 \sim 1.0 \times 10^4$ CFU/g,并通过 PDA 培养基分离鉴定出一株曲霉(*Aspergillus* sp.)。值得一提的是,作者发现研磨茶叶可以将真菌菌落数从 5.6×10^4 CFU/g 降低至最终 15 CFU/g。REINHOLDS 等^[11]对 43 份本市销售的绿茶调查发现,霉菌菌落数范围为 $6.0 \times 10^1 \sim 1.6 \times 10^4$ CFU/g,其中 14 份茶叶样品中霉菌总量超过 5.0×10^2 CFU/g,值得注意的是,这些真菌检出阳性样品大部分产自中国;进一步对菌落进行分类鉴定,43 份绿茶样品中 29 份含有黑曲霉、24 份含有灰绿曲霉、2 份含有黄曲霉、6 份含有杂色曲霉,以上曲霉属(81%)检出占比最高,其他依次为青霉属(5%)、根霉属(2%)、毛霉属(2%)、枝孢霉属(2%)和镰刀菌属(2%),其他种类真菌属占比 12%。绿茶由于未经发酵,相比于红茶和黑茶两大类茶叶,以往的研究主要关于其抗氧化和健康功能机

制上, 而对其真菌污染情况研究较少。从以上研究发现, 绿茶中也存在曲霉属、青霉属和其他真菌属污染。绿茶是我国主要的出口茶, 随着贸易壁垒的日益森严, 进口国对绿茶中微生物检测愈加严格, 应引起重视。

1.4 其他茶叶中真菌污染

白茶、黄茶均属于轻微发酵茶, 青茶属于半发酵茶。关于白茶、黄茶和青茶中的真菌研究报道较少。管飘萍等^[22]从天福白茶中分离出一株棕曲霉。REINHOLDS 等^[11]对 14 份乌龙茶进行检测发现, 其中有 7 份检出真菌污染, 菌落数范围为 $1.0 \times 10^1 \sim 2.6 \times 10^2$ CFU/g, 曲霉属和青霉属为优势菌群。

茶叶本身或发酵过程中对真菌群落没有影响^[13], 在储存过程中可能滋生腐败真菌, 但因为储存时间久导致茶叶中残留的菌丝生物量丢失而未检出真菌, 由于真菌毒素理化性质稳定, 研究者可通过测定茶叶样本中真菌毒素进行真菌污染追踪^[26]。例如, 通过在茶叶样品中检出 DON 或 ENNs, 可以推测在收获前或加工过程中受到镰刀菌污染。

2 茶叶中真菌毒素污染

过去几十年, 茶叶的相关研究重点是在茶叶的消费对人体营养和健康的影响。然而, 关于茶叶本身的安全性并没有引起消费者的重视。MUHAMMAD 等^[27]综述了茶叶中可能受到的农药、重金属、多环芳烃、微生物、放射性核素、植物生长调节剂和真菌毒素的污染情况, 发现大多数浸出到茶水中的污染物没有被检测到, 或者由于茶叶基质效应导致污染物没有被检出, 又或者因为其含量低于监

管限度, 不会对公共健康造成危害, 所以并没有引起足够重视。随着茶叶中真菌毒素前处理方法和检测技术的不断优化, 近年来茶叶中频繁检出真菌毒素的报道引起消费者广泛关注^[5-6]。目前关于茶叶中真菌毒素检测情况见表 2。

2.1 红茶中的真菌毒素检测

目前已有不少研究者利用不同检测技术对红茶中可能存在的真菌毒素进行了检测。ABDELHAFEZ 等^[28]采用薄层层析(thin layer chromatography, TLC)测定了 4 份红茶粉样品, 发现均受到黄曲霉毒素 B₁ (aflatoxin B₁, AFB₁)和黄曲霉毒素 B₂ (aflatoxin B₂, AFB₂)污染, 含量为 2.8~21.7 μg/kg, 部分样品超出 GB 2761—2017 中的限量标准(5.0~20.0 μg/kg)。MARTINS 等^[29]在葡萄牙里斯本超市中采购了 18 份红茶样品中, 采用 HPLC 检出 16 份样品污染了 FB₁, 含量为 80~280 μg/kg, 但未检测到 FB₂。欧盟国家于 1995—1998 年检测了 139 份红茶样品, 发现 8 份样品 OTA 阳性, 含量为 0.03~10.3 μg/kg^[30]。POURETEDAL 等^[31]于 2010 年随机在德黑兰市场购买了 40 份红茶样品, 应用 HPLC 检测分析, AFT 污染率高达 75%, AFB₁ 的平均浓度为 10 μg/kg。MALIR 等^[32]在捷克共和国的红茶中检出浓度极高的 OTA (250 g/kg)。以上研究主要检测单一真菌毒素, 随着食品中真菌毒素检测技术的快速发展, 多种毒素的检测方法已应用在茶叶中。SANTOS 等^[33]采用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测了来自西班牙的红茶样品, 2 份红茶样品中真菌毒素检出率和含量范围分别为: T-2 (100%、40.6~42.8 μg/kg)、ZEN (100%、11.2~42.7 μg/kg)、

表 1 茶叶中微生物的检测
Table 1 Detection of microorganisms in tea

茶叶种类	国家/地区	样品量/份	微生物	菌落总数/种类	参考文献
红茶	东京	19	泡盛曲霉*	-	[12]
	马斯喀特	48	黄曲霉*	-	[13]
	捷克共和国	10	黄曲霉、烟曲霉等	0.08×10^3 CFU/g	[14]
	意大利	16	曲霉属、青霉属、根霉属和枝孢属:	$5.0 \times 10^1 \sim 3.0 \times 10^3$ CFU/g	[15]
	里加	63	曲霉属*(95%)、青霉属(25%)、根霉属(3%)、横梗霉属(13%)、 镰刀菌属(3%)	$1.0 \times 10^1 \sim 9.6 \times 10^3$ CFU/g	[11]
黑茶	中国安徽	6	亚隔孢壳属、枝孢属、曲霉属、	-	[16]
	东京	11	杂色曲霉*和聚多曲霉*	-	[12]
	中国	31	黑曲霉*、帚状曲霉*和桔青霉*、 <i>P. brocae</i> 菌 <i>P. citrinum</i>	390 个 OTUs	[17]
	奥地利	36	黑曲霉酸和烟曲霉等	$1.0 \times 10^1 \sim 2.6 \times 10^6$ CFU/g	[18]
	云南、湖北、 湖南和广西	-	黑曲霉、炭黑曲霉、棕曲霉、塔宾曲霉、 构巢曲菌和鲜绿青霉	-	[19]
绿茶	中国湖南	21	曲霉属*和青霉属*	138 个 OTUs	[20]
	捷克	10	黑曲霉*和黄曲霉	0.22×10^3 CFU/g	[14]
	意大利	16	黑曲霉*、塔宾曲霉、团青霉、产红青霉、 短密青霉	$1.2 \times 10^1 \sim 4.5 \times 10^3$ CFU/g	[15]
	杭州	19	曲霉属*	$1.0 \times 10^2 \sim 1.0 \times 10^4$ CFU/g	[21]
	里加	43	黑曲霉*、灰绿曲霉*、黄曲霉、杂色曲霉、 根霉属、毛霉属、枝孢霉属和镰刀菌属	$6.0 \times 10^1 \sim 1.6 \times 10^4$ CFU/g	[11]
白茶	天福	1	棕曲霉	-	[22]
乌龙茶	里加	14	青霉属*和曲霉属*	$1.0 \times 10^1 \sim 2.6 \times 10^2$ CFU/g	[11]

注: -表示文献中未计数; *标记为该菌占优势。

AFT (100%, 801.1~853.44 $\mu\text{g/kg}$)、OTA (100%, 3.0~4.7 $\mu\text{g/kg}$)、DON (100%, 149.1~179.9 $\mu\text{g/kg}$)、citrinin (100%, 18.0~42.23 $\mu\text{g/kg}$)、FBs 未检出。除了 FBs 外, 其他几种毒素共存于所有样品中。CHALY 等^[34]建立了红茶中包括 AFT、OTA、ZEN、 α/β -ZEN、FBs、T-2、H-T2、NIV、DON、3-AcDON、15-AcDON、ST、蛇形菌素(diacetoxyscirpenol)、镰刀菌酮 X (fusarenon X) 和 citrinin 等 21 种真菌毒素检测方法, 在 26 个红茶样品中, 仅 2 个样品检出 ST 污染, 但检测值在检出限(limit of detection, LOD)附近。REINHOLDS 等^[11]对市售的红茶样品进行检测发现, 63 份红茶样品中各真菌毒素检出率及含量范围分别为: DON 及其衍生型 3/15-AcDON (39%, 26.5~428 $\mu\text{g/kg}$)、AFT (9%, 0.39~3.45 $\mu\text{g/kg}$)、OTA (6%, 1.7~7.7 $\mu\text{g/kg}$)、交链孢烯(alternariol, ALT)及交链孢毒素 I (altertoxin I, ATX I) (3%, 0.8~1.3 $\mu\text{g/kg}$)。从以上研究中发现, 红茶中检出的真菌毒素主要有镰刀菌毒素、链格孢类毒素、ST、AFT、OTA、citrinin 等。不同的检测方法, 红茶中真菌毒素种类也会不同。ELISA 检测阳性样本率最高, 且检出值相比于其他方法也更高, 其次 HPLC 检测的结果也偏高, 二维液相色谱-飞行时间质谱法(2D liquid chromatography time-of-flight mass spectrography, 2D-LC-TOF-MS)检测的阳性样本率最低, 且灵敏性最好。因此, 针对阳性率和检测值偏高的样本, 应采用几种检测方法进行验证, 避免引起消费者不必要的恐慌。

2.2 黑茶中的真菌毒素检测

目前关于黑茶真菌毒素污染的风险已经引起了广泛的关注。很多研究报道了黑茶中存在 AFT、OTA、FBs、T-2 和 DON 等真菌毒素污染, 污染水平从 10~100 $\mu\text{g/kg}$ 不等, 尤其是我国黑茶样品经常被检出真菌毒素^[44]。但介于以上检测方法多局限于 ELISA, 由于黑茶含有大量酚类物质、茶色素及其他干扰物质, 使得该种技术在应用到茶叶中真菌毒素检测上易出现假阳性结果。随着检测技术的不断发展, HPLC 及高效液相色谱-质谱法(high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS)等技术被广泛应用。ZHAO 等^[35]建立了 HPLC 柱后光化学反应-荧光检测了市售普洱茶中 AFB₁, 该方法检出限 0.1 $\mu\text{g/kg}$, 8 份样品中均未检出 AFB₁ 污染。HAAS 等^[18]采用 HPLC 法检测了 36 份普洱茶样品, 其中 4 份样品 OTA 阳性, 含量为 0.65~94.7 $\mu\text{g/kg}$, 部分样品严重超出 GB 2761—2017 中的限量标准(5.0~20.0 $\mu\text{g/kg}$), 未检出 AFB₁、B₁、G₁、G₂ 和 FB₁、FB₂ 和 FB₃。ZHANG 等^[17]采用高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)对 31 份普洱茶样品进行了多组分分析, 结果表明普洱茶中存在 PAT 污染, 而 PAT 常于水果中发现。15 份生茶样品中 PAT 检出 9 份, 平均浓度为 1169 $\mu\text{g/kg}$, 16 个成熟茶样品中检出 2 份, 平均浓度为 915 $\mu\text{g/kg}$, 严重超出 GB 2761—2017 中的限量标准(50 $\mu\text{g/kg}$), 研究结果表明普洱茶在生产或仓储过程中受到

了桔青霉污染。HU 等^[36]建立了一种普洱茶中 AFT、FB₁-FB₃、NIV、DON、ZEN、OTA、T-2 及 ST 等 16 种真菌毒素的检测方法, 采用液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)对 174 份普洱茶样进行了测定, 其中有 53 份茶叶中检出 DON; 96 份茶叶检出 FB₁, 分别有 12 份茶叶检出 FB₂ 和 FB₃; 未检出其他真菌毒素, 且这 4 种真菌毒素含量为 0.2~6.0 $\mu\text{g/kg}$, 均低于 GB 2761—2017 中的限量标准。BOGDANOVA 等^[37]应用新建立的二维高效液相色谱-高分辨质谱法(2D high performance liquid chromatography time-of-flight high resolution mass spectrometry, 2D-HPLC-TOF-HRMS)对当地销售的普洱茶样品进行检测发现, 20 分样品中的真菌毒素阳性检出率及其含量范围分别为: DON、3/15-AcDON 和 DON-3-葡萄糖苷(DON-3-glucoside, D3G) (100%, 112~8946 $\mu\text{g/kg}$)、AFT (35%~40%, 0.33~9.2 $\mu\text{g/kg}$)、ALT 及其 ALX I (45%~50%, 1.3~42 $\mu\text{g/kg}$)、恩孢菌素(enniatin A/A₁/B/B₁、ENN A/A₁/B/B₁) (50%、25%、55%、55%, 0.5~143 $\mu\text{g/kg}$)、OTA/OTB (25%~60%, 0.76~30.2 $\mu\text{g/kg}$)、ST (40%, 1.2~93.4 $\mu\text{g/kg}$)、T-2 (50%, 4.7~18.9 $\mu\text{g/kg}$)、ZEN (35%, 4.7~56.1 $\mu\text{g/kg}$)。YAN 等^[38]等建立了测定发酵茶叶中 OTA 的专用方法, 并采用超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)进行了验证: 在 158 个采集的样本中, 有 2 个样本筛查出 OTA 污染。并首次基于本研究和其他同行参考文献中 OTA 污染情况进行了全面的风险评估, 分析结果表明发酵茶中 OTA 无健康风险, 但局限于样品量太少, 应加大样本量, 提高安全风险评估的准确性。从以上研究中发现, 与红茶、绿茶和其他茶类相比, 黑茶中的检出的真菌毒素种类是最多的, 且部分样品中的 OTA、PAT 含量超出了 GB 2761—2017 中的限量标准。因此, 在黑茶发酵过程中, 应严格筛选不产毒真菌, 并加强发酵过程控制, 避免引入产毒真菌, 建立安全的黑茶发酵体系。

2.3 绿茶中的真菌毒素检测

绿茶是世界上最受欢迎的饮料之一, 也是我国主要出口茶叶。由于制作工艺的差异, 过去普遍认为绿茶较少受微生物污染, 近年来在绿茶中也检测到各种真菌毒素的污染。CARRATURO 等^[15]分析了 16 份意大利南部市场绿茶样品, 有 68.8% 受到 OTA 污染, 平均含量为 7.22 $\mu\text{g/kg}$, 有部分样品浓度超出食品中 OTA 规定的限量标准 5 $\mu\text{g/kg}$ 。REINHOLDS 等^[11]检测了 43 份绿茶样品真菌毒素污染情况发现: DON (23%, 58.5~1792 $\mu\text{g/kg}$)、AFT (16%, 0.46~7.67 $\mu\text{g/kg}$)、OTA (9%, 1.1~3.4 $\mu\text{g/kg}$)、ST (7%, 1.2~1.8 $\mu\text{g/kg}$)、T-2 (2%, 8.1 $\mu\text{g/kg}$)、HT-2 (2%, 5.58 $\mu\text{g/kg}$)、ALT (7%, 1.1~3.7 $\mu\text{g/kg}$)、ALX I (2%, 2.71 $\mu\text{g/kg}$)。MANNANI 等^[9]首次评估了从摩洛哥 3 个地区(杰迪代、盖尼特拉和梅克内斯)的 129 种绿茶样品中 AFT 污染水平。首先采用了液相色谱-荧光检测器对 AFT 进行定量, 并利用 LC-MS/MS 对疑似污染真菌毒素样品进行确证。有 76 份(58.9%)受到了 AFT 污染。在阳性样本中, 梅

克内斯地区样本中的 AFB₁ 含量在 1.8~6.7 μg/kg 之间, 盖尼特拉样本中的 AFB₁ 含量在 4.4~41.8 μg/kg 之间, 总 AFT 最高检测值达 116.2 μg/kg。此外, 在 129 份样品中, 分别有 38 份 (29.5%) 和 12 份 (9.3%) 超过了摩洛哥法规规定的某些香料和芳香植物中总 AFT 和 AFB₁ 的最高限制值 10 和 5 μg/kg。从以上研究中发现, 绿茶中检出的主要真菌毒素包括镰刀菌毒素、链格孢毒素、OTA、AFT 和 ST。相比于红茶和黑茶样品, 其检出的真菌种类相对较少, 但有部分样品中的 OTA、DON 超出了 GB 2761—2017 中限量标准。因此, 要加强绿茶在采摘后新鲜叶片的清洗及生产工艺过程中操作规范, 避免产毒真菌的污染, 降低绿茶中真菌毒素安全风险。

2.4 其他茶叶中的真菌毒素检测

通过检索国内外相关文献发现, 关于白茶、黄茶和乌龙茶中的真菌毒素研究不多。SANTOS 等^[33]检测了西班牙市售的白茶样品, 样品中均受到 AFT、OTA、ZEN、DON、T-2 和 citrinin 污染。MONBALIU 等^[42]建立了茶叶中多种真菌毒素检测方法, 采用 UPLC-MS/MS 检测了不同种类的茶叶样品 (白茶、乌龙茶、黄茶、红茶、普洱茶、绿茶), 除了 1 份红茶样品中检出伏马毒素 (76 μg/kg), 其他样品均未检出。WANG 等^[41]利用 UPLC-MS/MS 法在部分乌龙茶样品中检出 AFB₂ 含量为 5.76 μg/kg。LIU 等^[43]利用 UPLC-MS/MS 法检测了不同种类的陈年老茶样品 (乌龙茶 38 份, 白茶 53 份), 其中 1 份乌龙茶样品检出 AFB₁ (34.0 μg/kg), 超出了我国相关食品的限量标准 (5.0~20.0 μg/kg)。

从以上研究结果中发现, 部分茶叶样品中检出的霉菌菌落数超出了食品标准 GB 7101—2015 规定的固体饮料霉菌 (50 CFU/g), 以及部分种类真菌毒素检出量超过了食品标准 GB 2761—2017 规定的限量。因茶叶种类不同、

基质的复杂性等的干扰, 以及检测方法差异, 对于真菌毒素的检测结果表现出交叉反应和高估倾向, 针对检测结果异常偏高的, 应采取谨慎态度, 通过采用多种不同检测方法进行相互确证来评估茶叶中真菌毒素安全风险。

3 茶叶中真菌及真菌毒素生物防控

3.1 微生物脱毒

茶叶是一种低蛋白且含水量很少的农产品, 细菌一般不适宜在茶叶上生存, 而真菌尤其是产毒真菌能很好地在茶叶中生长繁殖, 同时产生真菌毒素, 给人体造成健康风险。目前控制农产品中有害微生物及毒素主要方法主要包括物理法、化学法和生物防治法^[45]。黑茶中优势菌群为黑曲霉等曲霉属真菌^[18,46-47]。我国研究者发现黑曲霉不仅能抑制黄曲霉生长和产毒, 同时能降解 AFB₁^[48]。李冰^[49]也发现了一株黑曲霉发酵时降解 AFB₁ 效率达到 93.28%, 且发酵液胞外提取物转化 AFB₁ 能力最高, 这表明 AFB₁ 降解作用可能与黑曲霉分泌的蛋白酶相关。此外, 除了曲霉属真菌外, 左瑞雨等^[50]、饶胜其等^[51]和王晓敏等^[52]相继发现了某些芽孢杆菌属细菌能显著抑制黄曲霉菌生长。ZHAO 等^[19]从发酵后茶中分离出的 6 种不同种类的芽孢杆菌, 通过与茶叶中分离的 OTA 产毒真菌 (黑曲霉、塔宾曲霉、炭黑曲霉、构巢曲霉、鲜绿曲霉和赭曲霉) 共培养发现, 不仅能抑制真菌的生长, 还能抑制 OTA 的产生。进一步在茶基质上共培养芽孢杆菌菌株与产赭曲霉真菌, 芽孢杆菌对产赭曲霉真菌的生长也有显著抑制作用。通过分析芽孢杆菌粗提物对 OTA 产毒真菌有抑制作用发现, 抗真菌物质主要分类 2 类: 10 kDa 小分子多肽和 10 kDa 以上的抗真菌蛋白, 此研究成果对发酵后茶叶真菌污染的危害控制具有重要的指导价值。

表 2 茶叶中真菌毒素检测情况
Table 2 Detection of mycotoxins in tea

茶叶种类	地区	检测方法	检出率/%	真菌毒素含量/(μg/kg)	参考文献
红茶	埃及	TLC	AFB ₁ 、AFB ₂ : 100	2.8~21.7	[28]
		HPLC	FB ₁ : 89	80~280	[29]
		-	OTA: 6	0.03~10.3	[30]
	德黑兰	HPLC	AFT: 75	12.07*	[31]
			AFB ₁ : 28	10.0*	
	捷克	HPLC-FLD	OTA: 3	0.35~250	[32]
			T-2: 100	40.6, 42.8	
			ZEA: 100	11.2, 42.7	
			AFT: 100	801.1, 853.44	
			OTA: 100	3.0, 4.7	
	西班牙	ELISA	DON: 100	149.9, 179.9	[33]
			citrinin: 100	18.0, 42.23	
			FBs: 0	n.d.	
			ST: 8	0.4, 0.4	
			MT: 0	n.d.	
	俄罗斯	-	DONs: 39	26.5~428	[34]
			AFT: 9	0.39~3.45	
			OTA: 6	1.7~7.7	
			ALT、ATX I: 3	0.8~1.3	
黑茶	中国云南	HPLC	AFB ₁ : 0	n.d.	[35]
			OTA: 11	0.65~94.7	
	德国	HPLC	AFT: 0	n.d.	[18]
			FBs: 0	n.d.	

表 2(续)

茶叶种类	地区	检测方法	检出率/%	真菌毒素含量/(μg/kg)	参考文献
绿茶	中国云南	HPLC-MS/MS	PAT: 56 PAT: 13 DON: 30	1169* 915* 0.2~6.0	[17]
	中国云南	HPLC-MS/MS	FB ₁ : 55 FB ₂ : 7 FB ₃ : 7 12MT: 0 15-AcDON: 100 3-AcDON: 100 DON: 100 D3G: 100 AFB ₁ : 40 AFB ₂ : 35 AFG ₁ : 40 ALT: 45	0.2~6.0 0.2~6.0 0.2~6.0 n.d. 113~3601 145~4197 145~8946 122~2252 1.1~9.2 0.33~276 0.99~7.9 1.3~18.9	[36]
	拉脱维亚	2D-HPLC-TOF-HRMS	ALT X I: 50 ENN A: 50 ENN A ₁ : 25 ENN B: 55 ENN B ₁ : 55 OTA: 25 OTB: 60 ST: 40 T-2: 50 ZEN: 35	1.4~42 0.69~115 3.8~91.8 1.3~143 0.5~125 0.85~4.1 0.76~30.2 1.2~93.4 4.7~18.9 4.7~56.1	[37]
	中国	UPLC-MS/MS	OTA: 1	5.9, 36.5	[38]
	意大利	HPLC	AFT: 0	n.d.	[39]
	意大利	HPLC-FLD	OTA: 63	7.22*	[15]
	土耳其	HPLC	FBs: 0 DONs: 23 AFT: 16 OTA: 9 ALT: 7 ATX I: 2 AFB ₁ : 51 AFB ₂ : 59 AFG ₁ : 59 AFG ₂ : 59 T-2: 100 ZEA: 100 AFT: 100 OTA: 100 DON: 100 citrinin: 50 FBs: 50	n.d. 58.5~1792 0.46~7.67 1.1~3.4 1.1~3.7 2.71 1.8~41.8 1.2~75.4 8~30.2 1.3~76 34.5, 42.8 8.3, 11.2 94.2, 254.0 3.7, 4.9 259.1, 184.4 19.7 n.d. 5.76 n.d.	[40]
	里加	2D-LC-TOF-MS	AFB ₁ : 51 AFB ₂ : 59 AFG ₁ : 59 AFG ₂ : 59 T-2: 100 ZEA: 100 AFT: 100 OTA: 100 DON: 100 citrinin: 50 FBs: 50	1.1~3.4 1.1~3.7 2.71 1.8~41.8 1.2~75.4 8~30.2 1.3~76 34.5, 42.8 8.3, 11.2 94.2, 254.0 3.7, 4.9 259.1, 184.4 19.7 n.d. 5.76 n.d.	[11]
	摩洛哥	LC-MS/MS	AFB ₁ : 51 AFB ₂ : 59 AFG ₁ : 59 AFG ₂ : 59 T-2: 100 ZEA: 100 AFT: 100 OTA: 100 DON: 100 citrinin: 50 FBs: 50	1.2~75.4 8~30.2 1.3~76 34.5, 42.8 8.3, 11.2 94.2, 254.0 3.7, 4.9 259.1, 184.4 19.7 n.d. 5.76 n.d.	[9]
	白茶	西班牙	ELISA	3.7, 4.9 259.1, 184.4 19.7 n.d. 5.76 n.d.	[33]
	乌龙茶	国际	UPLC-MS/MS	AFB ₂ : 33 7MT: 0	[41]
	六大茶类	比利时、中国	UPLC-MS/MS	FB ₁ : 1 27 MT: 0	[42]
	乌龙茶、白茶和红茶	中国福建	UPLC-MS/MS	AFB ₁ : 1 OTA: 3 14MT: 0	[43]

注: MT: 真菌毒素, n.d.: 未检出; *所测样本的平均值; 高效液相色谱-荧光检测器(high performance liquid chromatography-fluorescence detector, HPLC-FLD)。

3.2 天然提取物脱毒

有研究者发现茶叶的水提取物虽不能抑制黄曲霉的生长,但是在高浓度条件下,茶叶的水提取物能够抑制 AFB₁ 的产生并下调 AFT 产毒基因 *aflR* 和 *aflS* 的表达,同时发现槲皮素和没食子酸的抑制活性要高于同等浓度下儿茶素类茶多酚的抑制活性,进一步研究证实槲皮素抑制 AFB₁ 产生的机制是通过激活黄曲霉菌抗氧化系统转录因子 Yap1,导致黄曲霉体内

的抗氧化酶活性增加,这种诱导机制很可能是槲皮素抑制 AFB₁ 产生的关键因素^[53]。因此槲皮素作为一种高效的 AFT 合成抑制剂,在茶叶等农产品 AFT 安全防控具有较高的应用价值。李浩等^[48]研究发现云南大叶种茶提取物对产毒黄曲霉 AS3.4408 (*A. flavus* AS3.4408)菌落的生长及产毒均具有显著的抑制作用,且抑制作用与茶提取物剂量成正相关作用,将菌株 AS3.4408 接种到云南大叶种茶叶中,菌株生长良好,但

茶叶基质未检测到 AFB₁、B₂、G₁ 和 G₂, 这一研究结果也表明了茶中的某种(些)成分对 AFT 的生物合成具有抑制作用。

4 结束语

茶叶采摘、原料存放、加工、储存、运输、仓储及到最后消费是一个漫长的过程,尤其是熟普洱茶是经过人工洒水渥堆发酵,如果这一系列过程处理不当导致茶叶受潮都有可能为产毒真菌生长、繁殖提供条件,从而增加真菌毒素污染的风险。从以上研究结果发现,部分茶叶样品中的真菌和真菌毒素指标都超过了我国食品中规定的相关限量标准。目前食品中微生物检测方法主要有:传统微生物检测方法、免疫检测技术、分子生物检测技术、生物传感检测技术、电导电阻检测技术、ATP 检测技术等^[54]。以上茶叶中的真菌微生物检测主要通过传统的微生物分离培养获得,这可能会导致很多低丰度的微生物未检出。真菌毒素的检测方法有很多,主要包括 ELISA、TLC、HPLC 和 LC-MS/MS 等^[43]。ELISA 虽然简单快捷,但易出现假阳性反应,适合茶叶真菌毒素的大量快速检测,但不适用于准确定量,特别是对于 AFT 类毒素易出现检出值异常偏高。因此在针对 AFT 检测时,应选用 HPLC、UPLC-MS/MS 等检测方法。值得注意的是,对于茶叶中真菌毒素检测偏高的,应采用几种检测方法进行验证,避免不可靠的数据引发消费者对茶叶安全性的恐慌。目前最灵敏的检测方法为 LC-MS/MS,已逐渐取代传统的液相色谱和 ELISA 技术应用于茶叶中真菌毒素的检测^[38,55]。茶叶由于基质的复杂性,在真菌毒素检测之前,还需要有效的前处理,以保证最后的检测结果。目前应用于基质中真菌毒素的提取方法包括固相萃取、超临界萃取、加速溶剂萃取、免疫亲和柱和 QuEChERS 技术^[56]。前面 3 种方法多数用于单一类真菌毒素的提取,对于多种真菌毒素报道较少。免疫亲和柱虽然能同时分析多种真菌毒素,但由于价格昂贵,增加了分析成本,限制了其广泛应用。QuEChERS 是近年来国际上最新发展起来的一种用于农产品检测的快速样品前处理技术,由于其高效、简便和环保的特点,逐渐成为真菌毒素研究领域的热点,并应用于茶叶中真菌毒素分析检测中。此外,应增加茶叶量和检测区域,提高茶叶中真菌毒素暴露评估准确性。GB 2761—2017 规定的真菌毒素限量标准仅包含 AFB₁、AFM₁、DON、PAT、OTA 和 ZEN,其他真菌毒素还未制定限量标准。不仅如此,我国茶叶中目前还未有真菌毒素限量标准,导致茶叶中真菌毒素暴露评估存在不准确。因此,除了制定食品中其他真菌毒素的相关标准外,在开展茶叶中微生物及真菌毒素污染检测及暴露评估分析时,应建立快速、灵敏、简便的检测技术,同时建立真菌微生物及真菌毒素污染防治体系,并对产毒真菌产毒机制展开深入研究,解析产毒真菌生长及产毒原理,以期在茶叶生产加工、仓储环节中抑制产毒真菌生长繁殖,从源头上解决真菌毒素污染。利用微生物及生物制剂来控制茶叶中产毒真菌和真菌毒素是未来研究的热点。一方面,在发酵茶叶加工过程中,筛选优质的不产毒菌株

进行发酵,同时监控发酵过程确保发酵工艺的安全性;在茶叶包装、仓储等过程中严格控制周围环境温度和湿度的变化,防止茶叶霉变。另一方面,可以从茶叶生长环境或基质中筛选拮抗产毒真菌的微生物,解析其抑菌机制;同时,针对不同类型的真菌毒素分子的毒性基团,利用生物基因大数据库,从头设计高效全新的脱毒蛋白,并利用基因工程技术对筛选到的候选脱毒基因进行改造,提高蛋白酶产量和理化性质。在茶叶制作工艺中,可以加入有益的微生物或酶蛋白来抑制有害微生物和真菌毒素污染,促进茶产业健康可持续发展。

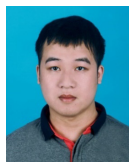
参考文献

- [1] SEDOVA I, KISELEVA M, TUTELYAN V. Mycotoxins in tea: Occurrence, methods of determination and risk evaluation [J]. *Toxins*, 2018, 10(11): 444.
- [2] ESKOLA M, KOS G, ELLIOTT CT, *et al.* Worldwide contamination of food-crops with mycotoxins: Validity of the widely cited 'FAO estimate' of 25 [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2020, 60(16): 2773–2789.
- [3] LEITE M, FREITAS A, SILVA AS, *et al.* Maize food chain and mycotoxins: A review on occurrence studies [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2021, 115: 307–331.
- [4] MARIN S, RAMOS AJ, CANO SG, *et al.* Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 60: 218–237.
- [5] PAKSHIR K, MIRSHEKARI Z, NOURAEI H, *et al.* Mycotoxins detection and fungal contamination in black and green tea by HPLC-based method [J]. *J Toxicol*, 2020, 2020: 2456210.
- [6] STOEVS SD. Food safety and increasing hazard of mycotoxin occurrence in foods and feeds [J]. *Crit Rev Food Sci*, 2013, 53(9): 887–901.
- [7] CUI P, YAN H, GRANATO D, *et al.* Quantitative analysis and dietary risk assessment of aflatoxins in Chinese post-fermented dark tea [J]. *Food Chem Toxicol*, 2020, 146: 111830.
- [8] KLINGELHOFER D, ZHU Y, BRAUN M, *et al.* Aflatoxin-Publication analysis of a global health threat [J]. *Food Control*, 2018, 89: 280–290.
- [9] MANNANI N, TABARANI A, ABDENNEBI EH, *et al.* Assessment of aflatoxin levels in herbal green tea available on the Moroccan market [J]. *Food Control*, 2020. DOI: 10.1016/j.foodcont.2019.106882
- [10] WANG LM, HUANG DF, FANG Y, *et al.* Soil fungal communities in tea plantation after 10 years of chemical vs. integrated fertilization [J]. *Chil J Agric Res*, 2017, 77(4): 355–364.
- [11] REINHOLDS I, BOGDANOVA E, PUGAJEVA I, *et al.* Determination of fungi and multi-class mycotoxins in *Camellia sinensis* and herbal teas and dietary exposure assessment [J]. *Toxins (Basel)*, 2020, 12(9): 555.
- [12] HITOKOTO H, MOROZUMI S, WAUKE T, *et al.* Studies on fungal contamination of foodstuffs in Japan: Fungal flora and incidence of toxin-producing fungi in green tea leaves marketing in Tokyo [J]. *J Food Hyg Soc Jpn*, 1974, 14(4): 364–370.
- [13] ELSHAFIE AE, LAWATIA TA, BAHRY SA. Fungi associated with black tea and tea quality in the Sultanate of Oman [J]. *Mycopathologia*, 1999, 145(2): 89–93.
- [14] ŘEŽÁČOVÁ V, KUBATOVA A. Saprobic microfungi in tea based on *Camellia sinensis* and on other dried herbs [J]. *Czech Mycol*, 2005, 57: 79–89.
- [15] CARRATURO F, CASTRO O, TROISI J, *et al.* Comparative assessment of the quality of commercial black and green tea using microbiology analyses [J]. *BMC Microbiol*, 2018, 18(1): 4.
- [16] TONG W, YU J, WU Q, *et al.* Black tea quality is highly affected during processing by its leaf surface microbiome [J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69(25): 7115–7126.
- [17] ZHANG Y, SKAAR I, SULYOK M, *et al.* The microbiome and metabolites in fermented Pu-erh tea as revealed by high-throughput sequencing and quantitative multiplex metabolite analysis [J]. *PLoS One*, 2016, 11(6): e0157847.
- [18] HAAS D, PFEIFER B, REITERICH C, *et al.* Identification and quantification of fungi and mycotoxins from Pu-erh tea [J]. *Int J Food Microbiol*, 2013, 166(2): 316–322.
- [19] ZHAO Z, LOU Y, SHUI Y, *et al.* Ochratoxigenic fungi in post-fermented tea and inhibitory activities of *Bacillus* spp. from post-fermented tea on ochratoxigenic fungi [J]. *Food Control*, 2021. DOI: 10.1016/j.foodcont.2021.108050

- [20] LI J, XU R, ZONG L, *et al.* Dynamic evolution and correlation between metabolites and microorganisms during manufacturing process and storage of fu brick tea [J]. *Metabolites*, 2021, 11(10): 703.
- [21] WANG H, TAO M, ZHANG H, *et al.* The mechanism on decreasing the microbiological contamination of superfine green tea powder by ball milling [J]. *LWT*, 2020, 134: 109966.
- [22] 管飘萍, MUNKHBAYAR Enkhbayar, 黄紫贝, 等. 茶叶中 23 株真菌的分离鉴定[J]. *江苏农业科学*, 2020, 48(16): 285–290.
- GUAN PP, MUNKHBAYAR E, HUANG ZB, *et al.* Screening and identifying of 23 strains of fungi in tea [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 2020, 48(16): 285–290.
- [23] LUO Y, LIU XJ, LI JK. Updating techniques on controlling mycotoxins-A review [J]. *Food Control*, 2018, 89: 123–132.
- [24] ZHAO ZJ, HU XC, LIU QJ. Recent advances on the fungi of Pu-erh ripe tea [J]. *Int Food Res J*, 2015, 22(3): 1240–1246.
- [25] MO HZ, ZHU Y, CHEN ZM. Microbial fermented tea-A potential source of natural food preservatives [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2008, 19(3): 124–130.
- [26] MINAEVA LP, ALESHKINA AI, MARKOVA YM, *et al.* Studying the contamination of tea and herbal infusions with mold fungi as potential mycotoxin producers: The first step to risk assessment (Message 1) [J]. *J Health Risk Anal*, 2019, (1): 93–102.
- [27] MUHAMMAD AA, CHOI JH, RAHMAN MM, *et al.* Residues and contaminants in tea and tea infusions: A review [J]. *Food Addit Contam A*, 2014, 31(11): 1794–1804.
- [28] ABDELHAFEZ AII, ELMAGHRABY OMO. Fungal flora and aflatoxin associated with cocoa, roasted coffee and tea powders in Egypt [J]. *Cryptog Mycol*, 1992, 13(1): 31–45.
- [29] MARTINS ML, MARTINS HM, BERNARDO F. Fumonisin B-1 and B-2 in black tea and medicinal plants [J]. *J Food Protect*, 2001, 64(8): 1268–1270.
- [30] ERDOGAN A, SERT S. Mycotoxin-forming ability of two *Penicillium roqueforti* strains in blue moldy tulum cheese ripened at various temperatures [J]. *J Food Protect*, 2004, 67(3): 533–535.
- [31] POURETAL Z, MAZAHARI M. Aflatoxins in black tea in Iran [J]. *Food Addit Contam B*, 2013, 6(2): 127–129.
- [32] MALIR F, OSTRY V, PFOHL-LESZKOWICZ A, *et al.* Transfer of ochratoxin A into tea and coffee beverages [J]. *Toxins*, 2014, 6(12): 3438–3453.
- [33] SANTOS L, MARIN S, SANCHIS V, *et al.* Screening of mycotoxin multicontamination in medicinal and aromatic herbs sampled in Spain [J]. *J Sci Food Agric*, 2009, 89(10): 1802–1807.
- [34] CHALY ZA, SEDOVA IB, KISELEVA MG. Occurrence of mycotoxins in tea [J]. *Prob Nutr*, 2018, 87: 199–200.
- [35] ZHAO H, WANG K, YANG W, *et al.* Determination of aflatoxins B1 in tea by high performance liquid chromatography-fluorescence detector with post-column photochemical reaction [J]. *J Tea Sci*, 2013, 33(3): 237–241.
- [36] HU L, SHI Z, ZHAO L, *et al.* Simultaneous detection and analysis of 16 kinds of mycotoxins in Pu-erh tea [J]. *Acta Agric Zhejiangensis*, 2019, 31(10): 1700–1708.
- [37] BOGDANOVA E, PUGAJEVA I, REINHOLDS I, *et al.* Two-dimensional liquid chromatography-high resolution mass spectrometry method for simultaneous monitoring of 70 regulated and emerging mycotoxins in Pu-erh tea [J]. *J Chromatogr A*, 2020, 1622: 461145.
- [38] YAN HB, ZHANG L, YE ZL, *et al.* Determination and comprehensive risk assessment of dietary exposure to ochratoxin A on fermented teas [J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69(40): 12021–12029.
- [39] ROMAGNOLI B, MENNA V, GRUPPIONI N, *et al.* Aflatoxins in spices, aromatic herbs, herb-teas and medicinal plants marketed in Italy [J]. *Food Control*, 2007, 18(6): 697–701.
- [40] OMURTAG GZ, YAZICIOGLU D. Determination of fumonisins B-1 and B-2 in herbal tea and medicinal plants in Turkey by high-performance liquid chromatography [J]. *J Food Protect*, 2004, 67(8): 1782–1786.
- [41] WANG L, YANG H, XIE GX, *et al.* Determination of mycotoxins in Pu-erh tea, black tea, and green tea samples [J]. *China J Chin Mater Med*, 2017, 42(24): 4801–4806.
- [42] MONBALIU S, WU A, ZHANG D, *et al.* Multimycotoxin UPLC-MS/MS for tea, herbal infusions and the derived drinkable products [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(24): 12664–12671.
- [43] LIU W, HUANG B, FU J, *et al.* Simultaneous determination of 16 mycotoxin residues in aged tea by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2021, 42(2): 299–305.
- [44] WU JY, YANG GY, CHEN JL, *et al.* Investigation for Pu-erh tea contamination caused by mycotoxins in a tea market in Guangzhou [J]. *J Basic Appl Sci*, 2014, 10: 349–356.
- [45] LESLIE JF, MORETTI A, MESTERHAZY A, *et al.* Key global actions for mycotoxin management in wheat and other small grains [J]. *Toxins (Basel)*, 2021. DOI: 10.3390/toxins13100725
- [46] ZHANG W, YANG R, FANG W, *et al.* Characterization of thermophilic fungal community associated with pile fermentation of Pu-erh tea [J]. *Int J Food Microbiol*, 2016, 227: 29–33.
- [47] 姜依何, 胥伟, 朱旗. 黑茶真菌污染研究进展及探讨[J]. *茶叶科学*, 2018, 38(3): 227–236.
- JIANG YH, XU W, ZHU Q. Research progress and discussion on fungal contamination of dark tea [J]. *J Tea Sci*, 2018, 38(3): 227–236
- [48] 李浩, 谭英智, 陈柱涛, 等. 云南大叶种晒青毛茶提取物对产毒黄曲霉生长及产毒的影响[J]. *现代食品科技*, 2015, 31(11): 101–106.
- LI H, TAN YZ, CHEN ZT, *et al.* Effect of Yunnan large-leaf *Camellia sinensis* extract on growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2015, 31(11): 101–106.
- [49] 李冰. 黑曲霉对黄曲霉毒素 B₁ 的降解及应用[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012.
- LI B. Degradation and application of aflatoxin B₁ by *Aspergillus niger* [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2012.
- [50] 左瑞雨, 常娟, 尹清强, 等. 乳酸菌和枯草芽孢杆菌对黄曲霉毒素产生菌生长的抑制作用研究[J]. *河南农业科学*, 2011, 40(3): 145–148.
- ZUO RY, CHANG J, YIN QQ, *et al.* Inhibition of *Lactobacillus* and *Bacillus subtilis* on the growth of *Aspergillus flavus* [J]. *J Henan Agric Sci*, 2011, 40(3): 145–148.
- [51] 饶胜其, 陈素雅, 高璐, 等. 一株黄曲霉拮抗细菌 F1 的筛选、鉴定及其抑菌特性[J]. *现代食品科技*, 2015, 31(12): 99–105.
- RAO SQ, CHEN SY, GAO L, *et al.* Screening, identification, and antifungal properties of a bacterial strain F1 with antagonistic activities against *Aspergillus flavus* [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2015, 31(12): 99–105.
- [52] 王晓敏, 王雪莹, 张会轩, 等. 一株黄曲霉细菌的分离鉴定及培养条件的优化[J]. *曲阜师范大学学报(自然科学版)*, 2018, 44(1): 86–90.
- WANG XM, WANG XY, ZHANG HX, *et al.* Screening and identifying of inhibition of *A. flavus* strain and response surface optimization of culture conditions [J]. *J Qufu Norm Univ*, 2018, 44(1): 86–90.
- [53] 张浩. 茶叶发酵过程中的多酚变化及其对黄曲霉产毒的抑制效应[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014.
- ZHANG H. Polyphenols changes in tea fermentation and the inhibitory effect on aflatoxin production [D]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University, 2014.
- [54] 王丹云, 黄海民, 朱俊玮, 等. 食品安全检验中微生物检测技术应用研究[J]. *中国口岸科学技术*, 2021, 3(10): 37–41.
- WANG DY, HUANG HM, ZHU JW, *et al.* Research on application of microbial detection technology in food safety inspection [J]. *China Port Sci Technol*, 2021, 3(10): 37–41.
- [55] ZHOU H, LIU N, YAN Z, *et al.* Development and validation of the one-step purification method coupled to LC-MS/MS for simultaneous determination of four aflatoxins in fermented tea [J]. *Food Chem*, 2021, 354: 129497.
- [56] 李俊超, 秦学磊, 吴圣江, 等. QuEChERS 前处理方法在食品检测中的应用进展[J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(24): 206–212.
- LI JC, QIN XL, WU SJ, *et al.* Progress in the applications of the QuEChers method in the food determination process [J]. *Food Res Dev*, 2021, 42(24): 206–212.

(责任编辑: 郑丽 张晓寒)

作者简介



余佃贞, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为真菌毒素的分子调控与控制研究。
E-mail: dzyu@sibs.ac.cn



武爱波, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全与真菌毒素。
E-mail: abwu@sibs.ac.cn