

茶叶中黄曲霉毒素的安全性风险研究进展

郭明珠, 武爱波, 余佃贞*

(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: 茶叶是世界上最流行的饮品之一, 因其独特的风味和对人体有益的健康功能为消费者所喜爱。茶叶在生长、采摘、加工、运输及储存过程中可能存在潜在的黄曲霉毒素污染, 黄曲霉毒素是世界上已知毒性最大的真菌毒素, 对人类健康存在极大威胁。黄曲霉毒素主要有 4 种常见的亚型, 包括黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂。其中黄曲霉毒素 B₁ 是毒性最大的黄曲霉毒素, 被国际癌症研究机构列为 I 类致癌物。评估茶叶中是否存在黄曲霉毒素及其安全性风险具有重要意义。本文系统地综述了黄曲霉毒素的理化性质、致病机理, 以及茶叶中可能产黄曲霉毒素的微生物和黄曲霉毒素在茶叶中的检出情况等, 并探讨茶叶中黄曲霉毒素的潜在风险, 为茶叶中黄曲霉毒素的风险评估与防控提供支持。

关键词: 茶叶; 黄曲霉毒素; 安全性风险

Advances on the security risk of aflatoxin in tea

GUO Ming-Zhu, WU Ai-Bo, YU Dian-Zhen*

(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 most popular drinks all over the world, consumers are attracted by its unique flavor and beneficial health functions. Tea may be potentially contaminated with aflatoxin during the process of growth, harvest, production, transportation and storage. Aflatoxin is the most toxic mycotoxin known in the world and pose a great threat to human health. There are 4 kinds of common subtypes of aflatoxin, including aflatoxin B₁, B₂, G₁ and G₂. Aflatoxin B₁ is the most toxic aflatoxin and is classified as a class I carcinogen by the International Agency for Research on Cancer. It is important to evaluate whether aflatoxin exists in tea and its safety risk. This paper systematically summarized the physical and chemical properties and pathogenic mechanism of aflatoxin, possible aflatoxin-producing microorganisms as well as the status of aflatoxins detection in tea, and discussed the potential risks of aflatoxins in tea, so as to provide supports for the risk assessment and prevention of aflatoxin in tea.

KEY WORDS: tea; aflatoxin; security risk

0 引言

茶叶是从茶树上采摘嫩叶并经过特定工艺加工而成

的一种产品, 由于富含儿茶素、咖啡碱、肌醇和维生素 C 等有益成分被称为健康饮料, 是世界上最流行的饮料之一, 因此, 茶叶的饮用安全性与消费者健康及茶产业发展密切

基金项目: 上海市科技兴农技术创新项目(2019-02-08-00-02-F01145)、国家自然科学基金项目(32001809)

Fund: Supported by the Shanghai Agriculture Applied Technology Development Program (2019-02-08-00-02-F01145), and the National Natural Science Foundation of China (32001809)

*通信作者: 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

*Corresponding author: YU Dian-Zhen, Ph.D, Assistant Professor, Shanghai Institute of Nutrition and Health, University of Chinese Academy of Sciences, No.319, Yueyang Road, Xuhui District, Shanghai 200031, China. E-mail: dzyu@sibs.ac.cn

相关^[1]。2017年9月,方舟子质疑普洱茶中普遍含有致癌物质黄曲霉毒素,引起茶界内外广泛关注,也让消费者担忧普洱茶的饮用安全性。针对此次报道,广东省疾控中心抽检的148份普洱茶样品中,黄曲霉毒素检出率为2.03%(3/148),且3份阳性样品检出最大值为0.56 $\mu\text{g}/\text{kg}$,与GB 2761—2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》中AFB₁的最低限量0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (婴幼儿配方食品)相近。此外,广州市疾病预防控制中心在2013—2015年也对市面上的432份普洱茶样品进行检测,均未检出AFB₁^[2]。另一方面也有报道称,茶叶中一些生物活性物质具有解毒功效,例如多酚类成分具有改善黄曲霉毒素诱导小鼠肾脏脂质过氧化的作用^[3]。由此可见,关于茶叶安全性问题众说纷纭,因此有必要更科学地评价茶叶安全。

黄曲霉毒素(aflatoxin, AFT)是由黄曲霉(*Aspergillus flavus*)和寄生曲菌(*Aspergillus parasiticus*)等真菌产生的次级代谢产物^[4],主要包括18种亚型,其中黄曲霉毒素B₁(aflatoxin B₁, AFB₁)、AFB₂、AFG₁和AFG₂存在于天然的谷类和坚果中,对人类和动物危害最大^[5];AFM₁和AFM₂是AFB₁在动物体内主要的代谢产物,通常存在牛奶中^[6]。黄曲霉毒素产毒菌分布广泛,适宜茶叶种植的温暖潮湿气候有利于黄曲霉毒素产毒菌的生长及其黄曲霉毒素产生,茶叶在加热烘干生产过程中虽然能减少产毒真菌的数量,但由于黄曲霉毒素耐高温,已在茶叶中产生的黄曲霉毒素很难破坏^[7]。此外,茶叶在后续的储存、包装和运输过程中,也会因为处理不当导致黄曲霉毒素产毒菌污染再次发生^[1]。摩洛哥是我国最大的绿茶出口国,有报道称,从摩洛哥不同地区的零售商店和超市收集的129份绿茶样品中,有76份(58.9%)样本检出至少一种黄曲霉毒素污染,其中38份(29.5%)和12份(9.3%)分别超过了摩洛哥规定的某些香料和芳香植物中AFT总量和AFB₁的最高水平(10和5 $\mu\text{g}/\text{kg}$)^[8]。

我国的GB 2761—2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》规定了谷物、豆类、坚果、调味品及特殊膳食等食品中的AFB₁的限量标准,特殊膳食食品不能超过0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,其余谷物、豆类、坚果、调味品等限量值范围在5.0~20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间,谷物类中玉米及其制品限量标准最为宽泛,AFB₁含量最高不能超过20 $\mu\text{g}/\text{kg}$,未规定茶叶制品黄曲霉毒素限量标准。目前,国际上只有一小部分国家对茶叶中真菌毒素设置限量标准,如俄罗斯、哈萨克斯坦、白俄罗斯等限制生茶中的AFB₁不能超过5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。阿根廷规定凉茶中的AFB₁不能超过5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,AFT不能超过20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[9]。本文对黄曲霉毒素的理化性质、危害与致毒机理、茶叶中可能产黄曲霉毒素的产毒真菌、黄曲霉毒素的检测污染情况进行综述,分析探讨茶叶中的黄曲霉毒素潜在风险,以期对茶叶中的黄曲霉毒素污染风险评估和防控提供参考依据。

1 黄曲霉毒素的特性及危害

1.1 黄曲霉毒素理化性质及化学结构

黄曲霉毒素是一类二氢呋喃香豆素的衍生物,难溶于水,常温条件下一般为无色或淡黄色结晶^[10]。常见的黄曲霉毒素主要有6种,即AFB₁、AFB₂、AFG₁、AFG₂、AFM₁和AFM₂,结构见图1。在这6种常见黄曲霉毒素中,AFB₁和AFM₁产量较高,尤其是AFB₁产量最高,毒性最大,致癌性最强,国际癌症研究机构将AFB₁列为I类致癌物^[11]。黄曲霉毒素能够在烘烤及烹饪等条件下稳定存在,碱性条件下,黄曲霉毒素中的内酯环结构会被破坏,快速分解,而在酸性条件下可能又会可逆的形成黄曲霉毒素^[12]。一旦食品或饲料被黄曲霉毒素污染,将会对人类及动物的生命安全产生极大地威胁。

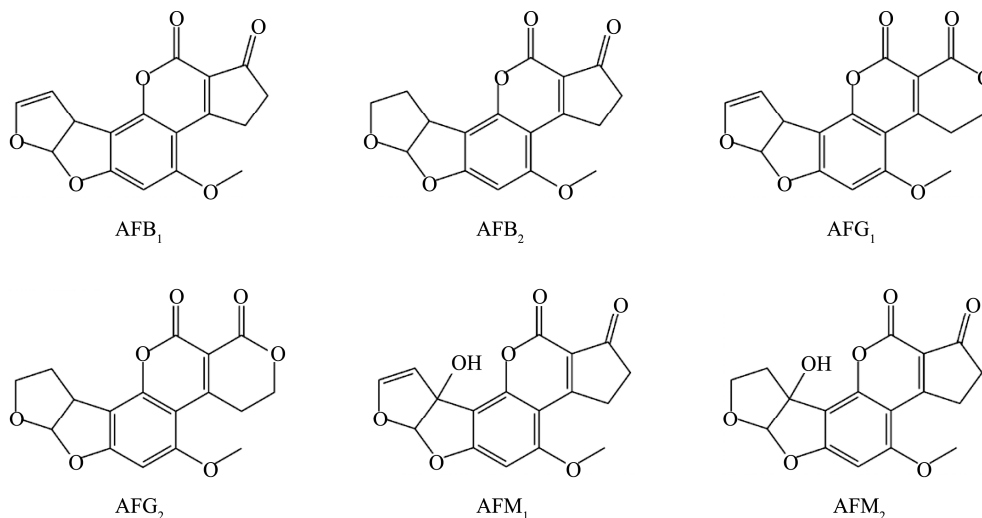


图1 黄曲霉毒素的主要类型及结构

Fig.1 Main types and structures of aflatoxins

1.2 黄曲霉毒素的危害和毒理

黄曲霉毒素能引起多种人类急性或慢性疾病,是目前已知毒性最大的真菌毒素,其中 AFB₁ 毒性最大,具有细胞毒性、肝毒性、遗传毒性、致癌性、免疫毒性等^[13]。值得注意的是,在农作物被黄曲霉毒素污染严重的东南亚和撒哈拉以南地区的一些国家,表现为较高的肝癌发病率和急性黄曲霉毒素中毒等相关疾病的发生,其中花生与玉米是受污染程度最高的作物,这说明黄曲霉毒素可能与一些人类疾病的发生有关^[14]。肝脏是人体中生物合成、分解代谢的重要器官,而线粒体凋亡在肝脏疾病的发生中起重要的作用^[15]。有研究者针对 AFB₁ 与肝癌之间的关系展开了研究,发现 AFB₁ 的致癌性主要通过肝脏线粒体中细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP450) 将 AFB₁ 代谢转化成毒性更大的环氧产物,黄曲霉毒素环氧代谢物结合在 DNA 鸟嘌呤残基上造成线粒体损伤,诱导产生细胞功能障碍和细胞凋亡^[16]。进一步研究发现,该环氧化合物还会与免疫活性细胞相互作用,影响其在全身的增殖以及免疫相关介质的产生,从而破坏先天和适应性免疫过程。此外,黄曲霉毒素会诱导细胞内原癌基因 P53 的表达,调节细胞内凋亡相关基因如 Bcl-2 与 Bax 的表达,参与线粒体损伤,从而引起线粒体依赖的细胞凋亡^[17]。有研究学者利用黄曲霉毒素生物标志物对黄曲霉毒素诱导肝癌的发生进行了评估,发现控制黄曲霉毒素污染可以避免肝癌和相关死亡病例^[18]。除此之外,AFB₁ 还通过激活非受体酪氨酸蛋白激酶/信号转导和转录激活因子 3 (Janus kinase 2/Signal transducers and activators of transcription 3, JAK2/STAT3) 信号通路诱导免疫毒性, JAK2/STAT3 是重要的细胞内信号转导通路,与细胞因子表达及细胞凋亡有关^[19]。

除了上述由黄曲霉毒素引起的健康问题以外,黄曲霉毒素还会造成营养不良疾病、生理和心理发育迟缓、生

殖、神经系统疾病等,已在人类或动物中得到证实,但其作用机制需要进一步阐明^[20]。尽管目前黄曲霉毒素致病机制的研究已经进行多年,但由于疾病的高度复杂性以及多样的风险因素,目前人们对黄曲霉毒素诱发疾病的程度和性质还没有很好地了解,未来明确黄曲霉毒素摄入量与造成不同急性或慢性疾病之间的关系极为重要。由于黄曲霉毒素的毒性较强,目前对于黄曲霉毒素致病机制的研究主要在肝细胞等细胞水平,以及动物模型例如鸡、斑马鱼等上开展^[21]。结合以往的研究模型,未来可开发改造出能够最大程度模拟人体生理状态的动物模型进行评估,进一步探究黄曲霉毒素的致病机制及黄曲霉毒素的毒理学分析,从而为避免黄曲霉毒素中毒提供保护措施或相关药物的研发提供理论支持。

2 产黄曲霉毒素的真菌及茶叶优势真菌分析

目前产生黄曲霉毒素的真菌主要为寄生曲霉菌 (*Aspergillus parasiticus*)、黄曲霉菌 (*Aspergillus flavus*) 等。此外,一些报道中也发现橡胶曲霉菌 (*Aspergillus ruber*)、文蒂曲霉菌 (*Aspergillus wentii*)^[22]、奥氏曲霉菌 (*Aspergillus ostianus*)^[23] 及微柔毛贝氏青霉菌 (*Penicillium puberulum* Bainier)^[24] 等均能产生黄曲霉毒素,黄曲霉毒素主要产毒菌见表 1。

茶叶在生长、采摘、生产、储存及运输等环节都有可能受到产毒真菌污染。近年来,随着人民生活水平的提高和国际贸易壁垒的日益森严,茶叶中真菌及真菌毒素等风险物质的限定标准也更加严苛。检测茶叶中真菌及真菌毒素含量对于茶叶饮用安全性、茶叶储存及相关行业标准具有一定的指导意义。有研究者在黑茶发酵过程的 4 个阶段采样,通过高通量测序分析四川黑茶在发酵过程中的真菌多样性,发现刚采摘的茶叶经过前期的发酵,真菌多样性

表 1 黄曲霉毒素主要产毒菌
Table 1 Major strains producing aflatoxins

属	种	产生黄曲霉毒素类型	参考文献
	黄曲霉菌 (<i>A. flavus</i>)	AFB ₁ 、AFB ₂	[4]
	寄生曲霉菌 (<i>A. parasiticus</i>)	AFB ₁ 、AFB ₂ 、AFG ₁ 、AFG ₂	[4]
	橡胶曲霉菌 (<i>A. ruber</i>)	AFB ₁	[22]
	奥氏曲霉 (<i>A. ostianus</i>)	AFB ₂	[23]
	诺氏曲霉 (<i>Aspergillus nomius</i>)	AFB ₁ 、AFB ₂ 、AFG ₁ 、AFG ₂	[25]
曲霉属	家蚕曲霉 (<i>Aspergillus bombycis</i>)	AFB、AFG	[26]
	假塔马里曲霉 (<i>Aspergillus pseudotamarii</i>)	AFB	[26]
	假稻曲霉菌 (<i>Aspergillus pseudocaelatus</i>)	AFB ₁ 、AFB ₂ 、AFG ₁ 、AFG ₂	[27]
	新寄生曲霉 (<i>Aspergillus novoparasiticus</i>)	AFB ₁ 、AFB ₂ 、AFG ₁ 、AFG ₂	[27]
	花生曲霉 (<i>Aspergillus arachidicola</i>)	AFB ₁ 、AFB ₂ 、AFG ₁ 、AFG ₂	[27]
	微小隐裂曲霉 (<i>Aspergillus minisclerotigenes</i>)	AFB、AFG	[28]
青霉属	微柔毛贝氏青霉菌 (<i>P. puberulum baineri</i>)	AFB ₁ 、AFB ₂ 、AFG ₁ 、AFG ₂	[24]

指数下降, 而到后期发酵阶段真菌多样性指数呈指数增长, 其中曲霉属(*Aspergillus* spp)等为优势菌种。但是这些曲霉属中的许多曲霉属菌产生和分泌多种酶, 如 α -淀粉酶、葡萄糖淀粉酶、纤维素酶、果胶酶、木聚糖酶、半纤维素酶和蛋白酶等, 这些酶通过分解蛋白质或脂质使食物有独特的香味, 因此茶叶中曲霉属等优势菌种的存在对其独特的香气形成有重要作用^[29]。MAO 等^[30]通过测序对同一茶园生产的 4 种不同年份六堡茶真菌多样性进行鉴定发现, 其中一份样本中曲霉属处于主要地位, 相对丰度达 95.27%, 而其余 3 份样本中优势菌株均为散囊菌属(*Eurotium* spp.), 但 4 种样品中曲霉属和散囊菌属均为优势菌株。ELSHAFIE 等^[31]对阿曼苏丹国当地的 48 份来自 4 种不同品牌的红茶进行检测, 发现黑曲霉(*Aspergillus niger*)为优势菌种, 其次为黄曲霉属、青霉属(*Penicillium* spp.)等, 并对以上菌株进行产毒测定, 均未发现有黄曲霉毒素的产生。此外, 有国外研究人员对中国、日本、葡萄牙等地袋装及散装绿茶样品检测发现, 在袋装绿茶中仅分离出黑曲霉, 而在散装绿茶中发现黑曲霉、黄曲霉等多种真菌, 表明茶叶的储存环境可能会增加真菌污染^[7]。有研究人员对茶来源的黑曲霉 RAF106 (*A. niger* RAF106)进行基因组序列分析发现, 该菌株基因组缺失黄曲霉毒素合成的基因簇, 被认为是安全的^[32]。高秀兵等^[33]对绿茶加工过程中微生物数量的变化进行了探究, 发现绿茶加工工序中, 霉菌总数在杀青后急剧减少, 但在摊凉后又急剧增加, 后续干燥过程后霉菌总数得到了控制, 表明在杀青摊凉过程中茶叶可能会受到霉菌污染。结合以上茶叶加工中可能出现的问题, 首先, 建议茶叶生产商动态监测茶叶中真菌种类及数目, 加强茶叶生产过程中的卫生要求。其次, 对茶叶各步加工过程及仪器不断设计优化, 不断完善茶叶加工过程, 生产出高品质茶叶。

综上所述, 茶叶发酵过程中存在的优势真菌对其风味的形成有重要作用, 与茶叶中茶多酚等一些物质的含量有密切关联, 有益的真菌对于茶叶的制作是必不可少的, 而有害真菌的污染将大大影响茶叶品质, 严重的甚至产生真菌毒素。因此, 希望茶叶相关监管部门能够建立一套完整的茶叶安全质量检测体系, 对具有茶叶生产资质的生产商要定时进行茶叶加工各个阶段的采样工作, 分离检测各阶段真菌和微生物种类及相对丰富度, 确保茶叶的质量安全, 并且制定茶叶中黄曲霉毒素等真菌毒素的限量标准。同时, 茶叶生产商也应建立标准化的工业流程, 在茶叶采摘、加工、包装及保存等过程中采用安全、科学的方法, 避免因加工或保存不当问题造成茶叶受潮导致黄曲霉菌生长和繁殖繁殖。

3 茶叶中黄曲霉毒素污染检测情况及安全性风险分析

黄曲霉毒素是茶叶生产和储存过程中最受关注的潜在化学污染物之一, 目前关于茶叶中检测黄曲霉毒素的研

究报道很多, 但因前处理和检测方法的不同, 各报道的研究结果也不一致。赵磊等^[34]通过对比酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunoadsorbent assay, ELISA)法与薄层层析法检测黄曲霉毒素灵敏度发现, ELISA 法特异性差、假阳性较高, 不建议用于检测黄曲霉毒素, 但薄层层析法也存在成本高、耗时等问题, 难以应用到大规模检测中。刘辉等^[35]建立了一种快速、简单、廉价、高效、可靠和安全的 QuEChERS-ELISA 法, 通过对样品进行 QuEChERS 前处理, 再利用 ELISA 法测定茶叶中黄曲霉毒素的含量, 同时采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)验证此方法的准确性, 结果发现 10 种茶叶有 4 种检测出黄曲霉毒素的污染, 且 HPLC 与 QuEChERS-ELISA 法检测的结果一致。由此可知, 虽然 ELISA 法简单快捷, 但易出现假阳性, 而结合一些新型的前处理方法能够大大增强 ELISA 法的准确性, 对该方法的实际应用与推广起到了推动作用。

随着真菌毒素检测技术的发展, HPLC 和高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)等开始被广泛应用到茶叶真菌毒素检测中。周少君等^[36]利用 HPLC-MS/MS 对广东省内 260 份黑茶、红茶、乌龙茶等发酵茶进行风险评估, 结果表明 158 份黑茶中检测到 3 份含有黄曲霉毒素, 但其检出值较小, 可忽略不计, 其他茶叶中均未检出, 并且作者统计茶叶黄曲霉毒素的人群暴露水平, 发现茶叶造成的暴露仅占不到 0.01%, 推测茶叶造成人群黄曲霉毒素污染风险较低。PAKSHIR 等^[37]对伊朗设拉子超市和茶叶市场 60 份茶叶样品检测发现, 有 40%茶叶样品检测出黄曲霉毒素污染($<10 \mu\text{g}/\text{kg}$), 但这些茶叶样品中均未超过我国常见食物中黄曲霉毒素的限量标准。ZHAO 等^[38]优化了一种 QuEChERS-HPLC-MS/MS 方法, 对国内超市中随机抽取的 126 种茶叶进行 AFB₁ 检测, 该方法检出限为 $0.2 \mu\text{g}/\text{kg}$, 结果并未在茶叶中检测到 AFB₁ 污染。CUI 等^[39]建立了一种免疫亲和和柱(immunoaffinity column, IAC)净化-液相色谱-质谱法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)对国内 158 份黑茶进行了检测, 该方法能同时检测茶叶中 AFB₁、AFB₂、AFG₁ 和 AFG₂ 的含量, 结果表明有两份检出了 AFT。与此同时, 通过对 3 个地区共 318 名茶叶消费者的 AFT 暴露量分析和癌症风险评估, 发现即使是最高 AFT 暴露组的癌症风险评估值也远低于可接受的致癌风险水平。由此可见, 市面上茶叶受真菌毒素污染较少, 目前由茶叶对人群造成的安全威胁较小。此外, 本实验室采用自主开发的液相色谱-质谱法对 20 份发酵后茶叶样品进行检测发现, 20 份样品中有 16 份检测出 AFB₁ 阳性, 含量为 $0.09\sim 0.67 \mu\text{g}/\text{kg}$, 3 份样品 AFG₁ 阳性, 含量平均为 $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$, 检测到的黄曲霉毒素污染水平也较低^[40]。除了黑茶, 红茶和绿茶中有检测出黄曲霉毒素污染外, 我国学者还在乌龙茶中检测出 AFB₂, 均值为 $5.76 \mu\text{g}/\text{kg}$ ^[41]。近年来,

以发光金属有机框架(luminescent metal organic frameworks, LMOFs)新型传感器为基础进行荧光检测 AFB₁ 的技术逐渐完善, 目前已有 Zn-MOFs、Zr-MOFs 及 Al-MOFs 等为荧光基底构建的荧光检测 AFB₁ 方法。其中 Al-MOFs 为基础的荧光检测茶叶中 AFB₁ 检出限低至 11.67 μg/kg, 是一种稳定且高效的检测方法^[42]。但是, 以上研究检出茶叶阳性样品中的黄曲霉毒素含量远低于美国食品药品监督管理局规定的 20 μg/kg 及欧盟规定的 15 μg/kg 的标准^[43-44]。

目前, 由于各种检测黄曲霉毒素方法的不断建立与改进, 能够更灵敏地对黄曲霉毒素进行检测。由于茶叶仅作为一种饮品进行饮用, 较一些谷物类等食品摄入量偏少, 并且在实际检测过程中, 茶叶中黄曲霉毒素含量普遍较低或没有, 表明饮茶导致的黄曲霉毒素健康风险较低, 有关茶叶中黄曲霉毒素的检测详见表 2。

分析表 2 发现, 目前茶叶中的黄曲霉毒素检测主要集中在发酵类黑茶, 红茶和绿茶也有少量涉及, 但很少关于青茶、黄茶和白茶中黄曲霉毒素的检测报道, 比较有争议的是茶叶中环境真菌能否产生黄曲霉毒素^[39]。有研究者做过普洱茶的渥堆模拟试验, 将黄曲霉菌人为接种在 3 组云南大叶种毛茶中, 结果未检出黄曲霉毒素, 却在灭过菌的一组茶叶中检出微量黄曲霉毒素(1.05 μg/kg), 这一结果也说明了在正常情况下, 茶叶在加工过程中黄曲霉菌很难生长和繁殖^[50]。从以上结果推测, 发酵茶普洱茶中检出的黄曲霉毒素可能是运输、储存及实验检测环境的污染, 不一定是加工过程中发酵后的产物, 从这一角度出发, 黑茶、红茶和绿茶等其他茶叶都有可能受到黄曲霉毒素的污染,

表 2 检出结果也证明了这一点。除此之外, 茶叶种类和检测技术的不同会造成黄曲霉毒素检测种类和含量差异, ELISA 检测值普遍偏高, 阳性率较高, HPLC-MS/MS 和 HPLC 等检测的阴性率居多, 且检测值较低, 但总体来说, 市面上茶叶中黄曲霉毒素的检出率不高。此外, 由于茶叶基质的复杂性, 尤其是普洱茶等发酵类茶叶, 不同的前处理方法将会直接导致茶叶中黄曲霉毒素含量检测的准确性, 这加大了茶叶中黄曲霉毒素风险评估的不确定性。

值得注意的是, 目前茶叶中黄曲霉毒素的检测主要集中在市面上茶叶成品中真菌毒素的检测与真菌的分离, 对于茶叶在生长、运输等环节造成的污染情况以及污染的溯源性研究较少, 在整个产销流程中, 哪些操作会增加黄曲霉毒素产毒菌污染风险, 还有待进一步研究评估。因此, 为更加准确地进行茶叶中黄曲霉毒素暴露风险评估, 应加大茶叶生产过程中真菌及真菌毒素溯源研究和检测, 优化茶叶中黄曲霉毒素的前处理方法和检测技术, 加大样品检测区域范围和样本量。另外, 由于黄曲霉毒素是脂溶性化合物, 难溶于水, 而茶叶主要温水冲泡后饮用, 黄曲霉毒素很难溶于茶汤中被食用入体内, 因此在实际饮用中茶水的黄曲霉毒素含量要远低于有机试剂提取后检测到的浓度^[41]。而通过饮茶摄入黄曲霉毒素造成黄曲霉毒素中毒的风险主要考虑 3 方面因素: 茶叶中的黄曲霉毒素含量; 泡茶过程中溶解到水中的黄曲霉毒素含量; 消费者饮茶频率。结合已有研究, 茶叶中黄曲霉毒素污染检出率较小, 且污染的茶叶中黄曲霉毒素含量基本低于俄罗斯等国家对茶叶中黄曲霉毒素的限量标准。因此, 由饮茶引起黄曲霉毒素中毒等风险较小。

表 2 茶叶中黄曲霉毒素的检测
Table 2 Detection of aflatoxins in tea

茶叶种类	样本量	检测方法	检测毒素类型	检出率/%	AFT 含量/(μg/kg)	参考文献
绿茶、红茶、乌龙茶	10	QuEChERS-ELISA 法	AFB ₁	40.0	1.80~4.10	[35]
		QuEChERS-HPLC 法			1.60~4.00	
普洱茶	148	HPLC-MS/MS 法	AFB ₁	2.1	0.26~0.56	[36]
红茶	45	HPLC-FLD 法*	AFB ₁ , AFG ₂	40.0	0.21~2.71	[37]
绿茶	15	HPLC-FLD 法	AFB ₁	13.3	2.80~2.82	
黑茶	158	IAC-UPLC-MS/MS 法	AFB ₁ , AFB ₂ AFG ₁ , AFG ₂	1.3	2.07~3.87	[39]
		ELISA 法		100.0	30.60~588.00	
普洱生茶	46	HPLC-FLD 法	AFB ₁ , AFB ₂ AFG ₁ , AFG ₂	10.9	0.32~0.68	[45]
		HPLC-MS/MS 法		0.0	0	
		ELISA 法		100.0	8.94~57.60	
普洱熟茶	40	HPLC-FLD 法	AFB ₁ , AFB ₂ AFG ₁ , AFG ₂	0.0	0	[46]
		HPLC-MS/MS 法		0.0	0	
绿茶	91	HPLC-MS/MS 法	AFB ₂ , AFG ₁	2.2	0.98~7.89	[46]
黑茶	108	HPLC 法	AFB ₁ , AFB ₂ , AFG ₁ , AFG ₂ , AFM ₁ , AFM ₂	0.0	0	[47]
普洱茶	174	HPLC-MS/MS 法	AFB ₁ , AFB ₂ AFG ₁ , AFG ₂	0.0	0	[48]
陈年老茶	121	QuEChERS-HPLC-MS/MS 法	AFB ₁ , AFB ₂ AFG ₁ , AFG ₂	0.8	0~34.00	[49]

注: *高效液相色谱-荧光检测法(high performance liquid chromatography-fluorescence detector, HPLC-FLD)。

4 结束语

茶叶在包装和仓储不当引起茶叶受潮都有可能为产毒真菌生长、繁殖提供条件,从而增加黄曲霉毒素污染的风险。目前关于茶叶中黄曲霉毒素的检测方法有很多,ELISA 法虽然简单快捷,但容易出现假阳性反应,适合茶叶真菌毒素的初步筛查,但不适用于准确定量。目前最灵敏的检测方法为液相色谱-质谱法,此方法测量得到的数据较为准确^[51]。此外,对茶叶中黄曲霉毒素进行安全性评估时应该选用合适的前处理方法,避免因前处理方法的不当造成检测结果不准确,引发民众对饮用茶叶的恐慌;此外,应加大茶叶样品检测区域范围和样本量,提高茶叶中黄曲霉毒素暴露评估准确性。有研究发现茶叶中的茶多酚等生物活性物质对黄曲霉毒素合成具有抑制作用,对因黄曲霉毒素引起的中毒具有一定的治疗作用^[52]。因此,应进一步评估、验证茶叶中的生物活性物质发挥黄曲霉毒素解毒作用的有效剂量,为茶叶功能成分的保健功效提供科学依据。对于茶叶样品中检测出的黄曲霉毒素的报道,一方面,我们应引起重视,加强茶叶加工过程中的真菌及真菌毒素污染检测和防控措施,降低茶叶中受真菌毒素污染的风险;另外一方面,加强茶叶中生物活性物质解毒功能及其作用机理的研究,以期对饮茶保健和科学饮茶提供更丰富的理论依据,从而促进茶产业健康可持续发展。

参考文献

- SEDOVA I, KISELEVA M, TUTELYAN V. Mycotoxins in tea: Occurrence, methods of determination and risk evaluation [J]. *Toxins (Basel)*, 2018, 10(11): 444.
- 廖玉婷. “普洱茶致癌说”不成立!——专访广东省疾控中心主任张永慧 [J]. *消费者报道*, 2018, (2): 32.
LIAO YT. The claim that Pu-erh tea causes cancer is not true! Interview with Zhang Yonghui, Director of Guangdong CDC [J]. *China Consum Rep*, 2018, (2): 32.
- EL-MEKKAWY HI, AL-KAHTANI MA, SHATI AA, *et al.* Black tea and curcumin synergistically mitigate the hepatotoxicity and nephropathic changes induced by chronic exposure to aflatoxin-B₁ in Sprague-Dawley rats [J]. *J Food Biochem*, 2020, 44(9): e13346.
- DHAKAL A, SBAR E. Aflatoxin toxicity [M]. Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing, 2022.
- YANG L, WANG Z. Advances in the total synthesis of aflatoxins [J]. *Front Chem*, 2021, 9: 779765.
- WANG L, HE K, WANG X, *et al.* Recent progress in visual methods for aflatoxin detection [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2021. DOI: 10.1080/10408398.2021.1919595
- VIEGAS C, SA F, MATEUS M, *et al.* Commercial green tea from Portugal: Comprehensive microbiologic analyses [J]. *Int J Food Microbiol*, 2020, 333: 108795.
- MANNANI N, TABARANI A, ABDENNEBI E, *et al.* Assessment of aflatoxin levels in herbal green tea available on the Moroccan market [J]. *Food Control*, 2020, 108: 5.
- SEDOVA I, KISELEVA M, TUTELYAN V. Mycotoxins in tea: Occurrence, methods of determination and risk evaluation [J]. *Toxins (Basel)*, 2018, 10(11): 444.
- MDQUADRI SH, NIRANJAN MS, CHALUVARAJU KC, *et al.* An overview on chemistry, toxicity, analysis and control of aflatoxins [J]. *Int J Chem Life Sci*, 2017, 2: 1071–1078.
- International Agency for Research on Cancer Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene [J]. *Monogr Eval Carcinog Risks Hum*, 2002, 82: 1–556.
- 郑燕. 基于 LC-MS 分析食品中的黄曲霉毒素及其降解产物[D]. 南昌: 南昌大学, 2011.
ZHENG Y. Study on the determination of aflatoxins in food and degradation products by LC-MS [D]. Nanchang: Nanchang University, 2011.
- PAULETTO M, TOLOSI R, GIANTIN M, *et al.* Insights into aflatoxin B₁ toxicity in cattle: An *in vitro* whole-transcriptomic approach [J]. *Toxins (Basel)*, 2020, 12(7): 429.
- BENKERROUM N. Aflatoxins: Producing-molds, structure, health issues and incidence in Southeast Asian and Sub-Saharan African countries [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17(4): 1215.
- ISLAM T, AFONSO MB, RODRIGUES CMP. The role of RIPK3 in liver mitochondria bioenergetics and function [J]. *Eur J Clin Invest*, 2022, 52(3): e13648.
- LI X, LV Z, CHEN J, *et al.* *Bacillus amyloliquefaciens* B10 can alleviate liver apoptosis and oxidative stress induced by aflatoxin B₁ [J]. *Food Chem Toxicol*, 2021, 151: 112124.
- CHENG YC, WU TS, HUANG YT, *et al.* Aflatoxin B₁ interferes with embryonic liver development: Involvement of p53 signaling and apoptosis in zebrafish [J]. *Toxicology*, 2021, 458: 152844.
- KIMANYA ME, ROUTLEDGE MN, MPOLYA E, *et al.* Estimating the risk of aflatoxin-induced liver cancer in Tanzania based on biomarker data [J]. *PLoS One*, 2021, 16(3): e0247281.
- ZHOU X, GAN F, HOU L. Aflatoxin B₁ induces immunotoxicity through the DNA methyltransferase-mediated JAK2/STAT3 pathway in 3D4/21 cells [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(13): 3772–3780.
- BENKERROUM N. Chronic and acute toxicities of aflatoxins: Mechanisms of action [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17(2): 423.
- GUO HW, CHANG J, WANG P, *et al.* Effects of compound probiotics and aflatoxin-degradation enzyme on alleviating aflatoxin-induced cytotoxicity in chicken embryo primary intestinal epithelium, liver and kidney cells [J]. *AMB Express*, 2021, 11(1): 35.
- PERRONE G, HAIDUKOWSKI M, STEA G, *et al.* Population structure and aflatoxin production by *Aspergillus* Sect. *Flavi* from maize in Nigeria and Ghana [J]. *Food Microbiol*, 2014, 41: 52–59.
- SANTOS-CISCON BAD, DIEPENINGEN A, MACHADO JDC, *et al.* *Aspergillus* species from Brazilian dry beans and their toxigenic potential [J]. *Int J Food Microbiol*, 2019, 292: 91–100.
- HODGES FA, ZUST JR, SMITH HR, *et al.* Mycotoxins: aflatoxin isolated from *Penicillium puberulum* [J]. *Science*, 1964, 145(3639): 1439.
- YUNES NBS, OLIVEIRA RC, REIS TA, *et al.* Effect of temperature on growth, gene expression, and aflatoxin production by *Aspergillus nomius* isolated from Brazil nuts [J]. *Mycotoxin Res*, 2020, 36(2): 173–180.
- TANIWAKI MH, FRISVAD JC, FERRANTI LS, *et al.* Biodiversity of mycobiota throughout the Brazil nut supply chain: From rainforest to consumer [J]. *Food Microbiol*, 2017, 61: 14–22.
- VIARO HP, SILVA JJ, SOUZA FL, *et al.* The first report of *A. novoparasiticus*, *A. arachidicola* and *A. pseudocaelatus* in Brazilian corn

- kernels [J]. *Int J Food Microbiol*, 2017, 243: 46–51.
- [28] SINGH P, MEHL HL, ORBACH MJ, *et al.* Phenotypic differentiation of two, orphologically similar aflatoxin-producing fungi from west Africa [J]. *Toxins (Basel)*, 2020, 12(10): 656.
- [29] YAN K, ABBAS M, MENG L, *et al.* Analysis of the fungal diversity and community structure in Sichuan dark tea during pile-fermentation [J]. *Front Microbiol*, 2021, 12: 706714.
- [30] MAO Y, WEI B, TENG J, *et al.* Analyses of fungal community by Illumina MiSeq platforms and characterization of *Eurotium* species on Liupao tea, a distinctive post-fermented tea from China [J]. *Food Res Int*, 2017, 99(Pt 1): 641–649.
- [31] ELSHAFIE AE, AL-LAWATIA T, AL-BAHRY S. Fungi associated with black tea and tea quality in the Sultanate of Oman [J]. *Mycopathologia*, 1999, 145(2): 89–93.
- [32] FANG Q, DU M, CHEN J, *et al.* Degradation and detoxification of aflatoxin B₁ by tea-derived *Aspergillus niger* RAF106 [J]. *Toxins (Basel)*, 2020, 12(12): 777.
- [33] 高秀兵, 段学艺, 张宝林, 等. 绿茶加工过程中农药残留、重金属含量及微生物数量的变化[J]. *西南农业学报*, 2012, 25(3): 958–961.
GAO XB, DUAN XY, ZHANG BL, *et al.* Changing of pesticide residue, heavy metal contents and microorganism quantity in processing of green tea [J]. *Southwest China J Agric Sci*, 2012, 25(3): 958–961.
- [34] 赵磊, 张美丽, 王沐, 等. 酶联免疫和薄层层析法检测茶叶中黄曲霉毒素 B₁ 的评价[J]. *黑龙江医药*, 2018, 31(6): 1190–1194.
ZHAO L, ZHANG ML, WANG M, *et al.* Evaluation of enzyme linked immunosorbent assay and thin layer chromatography for the determination of aflatoxin B₁ in tea [J]. *Heilongjiang Med J*, 2018, 31(6): 1190–1194.
- [35] 刘辉, 张燕. QuEChERS-酶联免疫快速检测法测定茶叶中黄曲霉毒素 B₁[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(4): 1307–1313.
LIU H, ZHANG Y. Simultaneous determination for aflatoxin B₁ in tea leaf by QuEChERS-enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *J Food Saf Qual*, 2015, 6(4): 1307–1313.
- [36] 周少君, 黄湘东, 汪廷彩, 等. 广东省常见发酵茶中黄曲霉毒素 B₁ 污染现状及暴露评估[J]. *中国食品卫生杂志*, 2018, (1): 93–98.
ZHOU SJ, HUANG XD, WANG TC, *et al.* Contamination levels and exposure assessment of aflatoxin B₁ in fermented tea from Guangdong Province [J]. *Chin J Food Hyg*, 2018, (1): 93–98.
- [37] PAKSHIR K, MIRSHAKARI Z, NOURAEI H, *et al.* Mycotoxins detection and fungal contamination in black and green tea by HPLC-based method [J]. *J Toxicol*, 2020, (6): 2456210.
- [38] ZHAO YR, ZENG R, WANG QS, *et al.* Aflatoxin B₁ and sterigmatocystin: Method development and occurrence in tea [J]. *Food Addit Contam A*, 2022, 15(1): 31–37.
- [39] 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.
- [40] 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(39): 129497.
- [41] 王鹭, 杨骅, 谢国祥, 等. 普洱茶、红茶、绿茶中真菌毒素的检测[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(24): 4801–4806.
WANG L, YANG H, XIE GX, *et al.* Determination of mycotoxins in Pu-erh tea, black tea, and green tea samples [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2017, 42(24): 4801–4806.
- [42] WANG F, LI Z, JIA H, *et al.* An ultralow concentration of Al-MOFs for turn-on fluorescence detection of aflatoxin B₁ in tea samples [J]. *Food Chem*, 2022, 383: 132389.
- [43] ALSHANNAQ A, YU JH. Occurrence, toxicity, and analysis of major mycotoxins in food [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2017, 14(6): 632.
- [44] SARMA UP, BHETARIA PJ, DEVI P, *et al.* Aflatoxins: Implications on health [J]. *Indian J Clin Biochem*, 2017, 32(2): 124–133.
- [45] 钟舒洁, 陈晓嘉, 周芳梅, 等. UPLC-MS/MS, HPLC 和 ELISA 法测定普洱茶中黄曲霉毒素研究[J]. *安徽农学通报*, 2021, 27(16): 15–19.
ZHONG SJ, CHEN XJ, ZHOU FM, *et al.* Determination of aflatoxin in Pu-erh tea by UPLC-MS/MS, HPLC and ELISA [J]. *Anhui Agric Sci Bull*, 2021, 27(16): 15–19.
- [46] AEJ A, CJ B, JG B, *et al.* Multi-mycotoxin contamination of green tea infusion and dietary exposure assessment in Moroccan population [J]. *Food Res Int*, 2021, 140: 109958.
- [47] YE Z, WANG X, FU R, *et al.* Determination of six groups of mycotoxins in Chinese dark tea and the associated risk assessment [J]. *Environ Pollut*, 2020, 261: 114180.
- [48] 胡琳, 师真, 赵丽, 等. 液相色谱-串联质谱法同时测定普洱茶中 16 种真菌毒素[J]. *浙江农业学报*, 2019, 31(10): 1700–1708.
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.
- [49] 刘文静, 黄彪, 傅建伟, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定陈年老茶中 16 种真菌毒素残留[J]. *食品科学*, 2021, 42(2): 299–305.
LIU WJ, HUANG B, FU JW, *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.
- [50] 陈宗懋. 普洱茶中的黄曲霉毒素问题[J]. *茶博览*, 2017, (9): 76–78, 7.
CHEN ZM. Aflatoxin in Pu-erh tea [J]. *Tea Times*, 2017, (9): 76–78, 7.
- [51] YAN C, WANG Q, YANG Q, *et al.* Recent advances in aflatoxins detection based on nanomaterials [J]. *Nanomaterials (Basel)*, 2020, 10(9): 1626.
- [52] JHA A, SHAH K, VERMA RJ. Aflatoxin-induced biochemical changes in liver of mice and its mitigation by black tea extract [J]. *Acta Pol Pharm*, 2012, 69(5): 851–857.

(责任编辑: 郑丽黄周梅)

作者简介



郭明珠, 硕士研究生, 主要研究方向为真菌毒素的危害与控制。

E-mail: guomingzhu2020@sibs.ac.cn



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: dzzyu@sibs.ac.cn