

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250208004

引用格式: 杨焕春, 常向彩, 孙向东. 哈尔滨地区水稻真菌产毒力及市售大米真菌毒素污染风险评估[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(13): 291–298.

YANG HC, CHANG XC, SUN XD. Toxigenic capacity of rice fungi in Harbin Area and risk assessment of fungal toxin contamination in commercially available rice [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(13): 291–298. (in Chinese with English abstract).

哈尔滨地区水稻真菌产毒力及市售大米真菌毒素污染风险评估

杨焕春¹, 常向彩¹, 孙向东^{2*}

(1. 安顺学院化学化工学院, 安顺 561000; 2. 黑龙江省农业科学院农产品质量安全研究所, 哈尔滨 150086)

摘要: 目的 探究哈尔滨地区地产大米真菌毒素污染情况并对其进行风险评估。**方法** 采用液相色谱-串联质谱法检测市售地产稻花香 2 号大米黄曲霉毒素 B₁ (aflatoxin B₁, AFB₁)和赭曲霉毒素 A (ochratoxin A, OTA)的含量。通过 Monte Carlo 模拟, 采用非参数概率评估方法和点评估方法, 评估了哈尔滨地区不同人群通过食用大米对 AFB₁ 和 OTA 的膳食暴露风险。**结果** 建立了 AFB₁ 和 OTA 的膳食暴露模型。研究发现无论是 AFB₁, 还是 OTA, 儿童都是高风险人群, 尤其是儿童中的高消费人群, 通过食用大米导致肝癌的潜在风险较大。**结论** 哈尔滨地区居民食用大米导致 AFB₁ 和 OTA 暴露的健康风险总体较低, 但儿童高消费人群潜在健康风险较大, 需要引起高度注意, 其他人群无明显的健康风险。

关键词: 哈尔滨; 水稻; 真菌; 毒素; 风险评估

Toxigenic capacity of rice fungi in Harbin Area and risk assessment of fungal toxin contamination in commercially available rice

YANG Huan-Chun¹, CHANG Xiang-Cai¹, SUN Xiang-Dong^{2*}

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Anshun University, Anshun 561000, China;
2. Quality and Safety Institute of Agricultural Products, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences,
Harbin 150086, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the contamination of fungal toxins in locally produced rice in Harbin Area, and conduct a risk assessment. **Methods** The content of aflatoxin B₁ (AFB₁) and ochratoxin A (OTA) in commercially available locally produced Daohuaxiang No.2 rice were detected using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Through Monte Carlo simulation, non-parametric probabilistic assessment methods and point assessment methods were employed to evaluate the dietary exposure risk of different populations in Harbin to AFB₁ and OTA through the consumption of rice. **Results** A dietary exposure model for AFB₁ and OTA has been established. This study found that both AFB₁ and OTA pose a high risk to children, especially those with high

收稿日期: 2025-02-08

基金项目: 安顺市科技计划项目[安市科农重(2023)01号, 安市科平(2023)07号]; 哈尔滨市优秀学科带头人基金项目(2019RAXYJ085)

第一作者: 杨焕春(1978—), 女, 硕士, 实验师, 主要研究方向为食品质量安全研究。E-mail: 541557434@qq.com

*通信作者: 孙向东(1965—), 男, 博士, 研究员, 主要研究方向为农产品质量安全风险评估研究。E-mail: xdsun65@yahoo.com

consumption levels, who had a greater potential risk of developing liver cancer through rice consumption.

Conclusion The overall health risk of AFB₁ and OTA exposure through rice consumption among residents in Harbin is relatively low. However, there is a significant potential health risk for high-consuming children, which requires much more attention. Apparent health risks were not found for other populations.

KEY WORDS: Harbin; rice; fungi; toxins; risk assessment

0 引言

黄曲霉菌是一种腐生型好氧真菌,也是目前分布最广泛,研究报道最多的黄曲霉毒素产生菌,其在 12~48 °C 均可生长^[1]。黄曲霉分布广泛,主要污染花生、玉米、大米等粮食及农作物。黄曲霉毒素主要是由黄曲霉(*Aspergillus flavus*)、寄生曲霉(*Aspergillus parasiticus*)等曲霉属真菌产生的次级代谢产物,具有剧毒性、致突变性、强致癌性,对人和动物肝脏组织有强破坏作用,能够诱导原发性肝癌等疾病^[2];主要有黄曲霉毒素 B₁ (aflatoxin B₁, AFB₁)、AFB₂、AFG₁、AFG₂ 等类型,其中以 AFB₁ 毒性和致癌性最强,被国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)列为 I 类致癌物^[3]。

赈曲霉(*Aspergillus ochraceus*)是一种丝状真菌,在玉米、花生、棉籽、大米、坚果、水果等农产品中广泛分布^[4]。赈曲霉产孢能力很强,其孢子散落在空气中能够诱导儿童哮喘和人类肺炎^[5-6]。赈曲霉在适宜的条件下可以产生一系列毒素,包括 A、B、C 等 7 种结构类似的化合物,其中以赈曲霉毒素 A (ochratoxin A, OTA)毒性最大、分布最广^[7]。此外,在一些动物副产品,如牛奶和动物肾脏、肝脏、血液中也发现,并且会随食物链最终进入人体,严重危害人体健康^[8-10]。OTA 能够导致动物和人类的肝脏、肾脏损伤,并有致畸、致突变、致癌和免疫抑制作用^[11-12],还可能与巴尔干地方性肾病和泌尿系统肿瘤有关^[13-14],被 IARC 列为 2B 类人类潜在致癌物^[15]。

黄曲霉毒素、OTA 等真菌毒素污染已成为影响粮食质量安全的主要因素之一,世界各地的水稻、玉米、小麦、高粱等粮谷类作物都不同程度地受到真菌毒素的污染^[16-21]。闫兆凤等^[22]分析粮食作物中真菌毒素污染数据,发现我国稻谷、玉米、黄豆和面粉主要遭受 AFB₁、玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇(又名呕吐毒素,deoxynivalenol, DON)和 OTA 等多种真菌毒素污染。李俊玲等^[23]对河南省市售粮食食品原料中真菌毒素污染进行分析,发现 AFB₁、DON、ZEN 和烟曲霉毒素(又名伏马毒素, fumonisin, FUMs)是污染的主要真菌毒素。LAI 等^[24]发现我国广东、广西和海南等地的大米 63.5%含有黄曲霉毒素(aflatoxins, AFs)。朱佐银等^[25]通过检测上海地区大米样品,发现污染最为严重的真菌毒素是 OTA,污染率达 59.17%,平均含量为 1.32 μg/kg。FERRE^[26]发现来自不同

地区的大米中极易同时存在多种真菌毒素。

哈尔滨地区五常地区是我国著名粳稻产区,其主栽品种稻花香 2 号品质优良,享誉全国。关于该地区储藏稻谷真菌产毒力及市售大米真菌毒素膳食暴露风险情况鲜少有研究报道。本研究从哈尔滨地区主要水稻产地五常地区新收获水稻品种稻花香 2 号及在国储库中储藏 1 年、2 年、3 年的稻谷上分离培养黄曲霉和赈曲霉菌株,并测定其产毒力,进一步测定市售地产稻花香 2 号大米黄曲霉毒素和赈曲霉毒素含量,以期掌握哈尔滨地区地产大米真菌毒素污染情况并对其风险情况进行评估,从而为稻米质量安全监管提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

2020 年 10 月初从五常市安家镇国储库 10 个粮仓中随机抽取刚入仓的新鲜稻花香 2 号稻谷样品 30 份,每份 500 g 左右,装入无菌袋密封,运回实验室冷冻保存。国储库水稻入库要求水分含量低于 14.5%,储藏温度为 10~15 °C,相对湿度低于 75%。第 2 年、第 3 年、第 4 年同期到相同粮仓随机抽取 30 份稻谷样品,装入无菌袋密封,运回实验室冷冻保存。

DG-18 琼脂培养基、曲霉素琼脂培养基、马铃薯葡萄糖琼脂培养基(potato dextrose agar, PDA)培养基、液体沙氏培养基(青岛高科技工业园海博生物技术有限公司); AFB₁、AFB₂、AFG₁、AFG₂ 标准品(纯度≥97%,美国 Sigma 公司);甲醇、乙腈(色谱纯,美国 Fisher 公司);实验室用水为超纯水(默克密理博公司)。

Agilent G6495 质谱仪、Agilent 1290 高效液相色谱仪、Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100.0 mm, 2.7 μm)、Captiva EMR 真菌毒素小柱(美国 Agilent 公司); Vortex2 涡旋振荡器(德国 IKA 公司); 3-18KS 高速离心机(德国 Sigma 公司); Oasis PRiME HLB 小柱(美国 Waters 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 黄曲霉菌和赈曲霉菌的分离及纯化

参照张杏等^[1]方法,称取从粮仓抽取的稻谷样品 10.0 g 磨碎后加入 90 mL 灭菌水中,用涡旋振荡器充分混匀 5 min,制成 100 mL 样品基础液。取 50 μL 稀释液,加在倒有 DG-18 培养基的平板上,用涂布棒涂布均匀,每份样品设 2 个生物学重复。将接种好样品的平板置于恒温培养箱中,

(28±1) °C 黑暗培养 5 d。5 d 后, 从 DG-18 培养基上挑取长有黄绿色、米黄色孢子的菌落, 接种到已倒好曲霉素琼脂培养基的平板上, 于(28±1) °C 条件下纯化培养 3~5 d, 直至长出单个菌落。

将曲霉素琼脂培养基背面呈亮橘红色、淡黄色或红褐色的菌株初步鉴定为黄曲霉菌或赭曲霉菌; 然后从曲霉素琼脂培养基上挑取少许橘红色或淡黄色的菌丝块到 DG-18 培养基上, (28±1) °C 黑暗培养 5~7 d, 得到黄绿色、淡黄色或红褐色的孢子。

1.2.2 黄曲霉、赭曲霉菌的鉴定

基因组 DNA 的提取: 参照张杏等^[1]方法, 从 DG-18 培养基上刮取少量黄绿色、淡黄色或红褐色的孢子于离心管中, 加入 200 μL 缓冲液 GA, 充分混匀; 然后加入 20 μL Proteinase K 溶液, 混匀; 再加入 220 μL 缓冲液 GB, 振荡 15 s, 在 70 °C 条件下放置 10 min, 12000 r/min 离心 30 s; 然后加入 220 μL 无水乙醇, 充分混匀 15 s, 12000 r/min 离心 30 s; 将所得溶液全部转移到吸附柱中(吸附柱放入收集管中), 12000 r/min 离心 30 s, 倒掉废液, 将吸附柱放回收集管中; 向吸附柱中加入 500 μL 缓冲液 GD(使用前加入无水乙醇), 12000 r/min 离心 30 s, 倒掉废液, 将吸附柱放回收集管中; 向吸附柱中加入 600 μL 漂洗液 PW(使用前加入无水乙醇), 12000 r/min 离心 30 s, 倒掉废液, 将吸附柱放回收集管中; 重复上一步骤; 将吸附柱放回收集管, 12000 r/min 离心 2 min, 倒掉废液。将吸附柱至于室温放置 5 min, 以彻底晾干吸附材料中残留的漂洗液; 将吸附柱转入干净的离心管中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加 50~200 μL 的 TE 洗脱缓冲液, 室温放置 2~5 min, 12000 r/min 离心 2 min, 得到的溶液即为基因组 DNA 溶液。

聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增反应: 采用通用引物 ITS1/ITS4 扩增菌株 ITS 序列。

引物序列为: ITS1: 5'-TCCGTAGGTAGAACCTGCGG-3', ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTCGATATGC-3'。

PCR 的反应体系为 10×Buffer: 5.0 μL; ITS1/ITS4 引物: 各 1.5 μL; 基因组 DNA: 1.0 μL; Taq 聚合酶: 1.0 μL; dNTP: 1.0 μL; ddH₂O: 39.0 μL。PCR 反应程序为预变性 95 °C, 5 min; 变性 95 °C, 30 s; 退火 58 °C, 30 s; 延伸 72 °C, 1 min; 终延伸 72 °C, 7 min; 扩增循环次数为 35 次。反应结束后取 3 μL PCR 产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

DNA 回收、测序及比对: 用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒回收 PCR 产物, 取各个菌种纯化后的 PCR 产物, 用

测序仪进行 DNA 测序。用 NCBI Blast 程序将拼接后的序列文件在国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)数据库进行比对, 选择与待测菌株序列相似度最高的菌种, 即为菌株鉴定结果。

1.2.3 黄曲霉、赭曲霉菌产毒力的测定

黄曲霉、赭曲霉菌产毒培养: 参照张杏等^[1]方法, 将待测黄曲霉、赭曲霉菌株接种于 PDA 固体培养基上, (28±1) °C 黑暗培养 5~7 d, 用已灭菌的 0.1% 吐温 80 洗取平板上黄曲霉、赭曲霉菌分生孢子, 得到孢子悬浮液备用。用血球计数板计数后吸取一定量的孢子悬浮液于装有 30 mL 液体沙氏培养基的三角瓶中, 使其终浓度为 4×10⁵ 个/mL, 于 (28±1) °C, 200 r/min 条件下黑暗摇培 5 d。设 3 个生物学重复。

黄曲霉、赭曲霉毒素的提取及净化: 参照张杏等^[1]方法, 用灭菌纱布过滤菌丝球培养液, 收集产毒培养液于 50 mL 离心管中保存, 室温静置 1 h, 移取 500 μL 产毒培养液于离心管中(避免接触管底絮状菌丝等杂质); 加入 500 μL 甲醇, 涡旋混匀, 20000 r/min 离心 10 min; 用 1 mL 注射器将管中上清毒素提取液小心吸出(避免针头接触管底沉淀), 过 0.22 μm 有机系滤膜, 装入进样瓶中, 用高效液相色谱-质谱仪测定黄曲霉、赭曲霉菌的产毒力。

黄曲霉、赭曲霉毒素混合标准溶液的配制: 参照张杏等^[1]方法, 准确称取 AFB₁、B₂、G₁ 和 G₂ 和 OTA、B、C 的标准品, 用甲醇溶解、稀释制备成浓度分别为 5、10、25、50、100、500 和 1000 ng/mL 共 7 个梯度的混合标准溶液。若样品毒素浓度超过标准曲线的线性范围, 对其稀释重新测定。

液相色谱条件: 色谱柱为 Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ (2.1 mm×100.0 mm, 2.7 μm), 设定柱温为 40 °C, 设定流速为 0.4 mL/min, 设定进样量为 1.00 μL, 流动相 A 采用 0.1% 甲酸+2 mmol/L 甲酸铵溶液, 流动相 B 采用甲醇溶液; 流动相梯度洗脱时间为 10 min, 后运行时间为 2 min。

质谱参数: 电喷雾离子源, 多反应监测结合正、负离子扫描模式。离子温度设为 350 °C, 干燥气流速设为 14 L/min, 雾化气压力设定为 241 kPa (30 psi), 鞘流气温度设定为 350 °C, 鞘流气流速设定为 11 L/min。具体参数见表 1。

1.2.4 稻米中黄曲霉、赭曲霉毒素含量的测定

在 100 mL 具塞三角瓶内, 称取粉碎的大米样品 5 g, 加 25 mL 甲醇/水溶液(甲醇:水=60:40, V:V)。振荡 3 min, 再以 10000 r/min 转速离心 5 min, 吸取 2 mL 上清液, 过 EMR 小柱, 上高效液相色谱-质谱仪检测真菌毒素含量。

表 1 AFB₁ 和 OTA 残留测定的质谱条件参数
Table 1 Mass spectrometry conditions and parameters for the determination of AFB₁ and OTA residues

化合物	定性离子对	定量离子对	碎裂电压/V	碰撞能量/eV	保留时间/min	正/负模式
AFB ₁	313.0>213.0	313.0>241.0	380	48	6.2	正模式
	313.0>241.0			48		
OTA	402.0>357.9	402.0>357.9	380	18	9.2	负模式
	402.0>166.8			36		

1.2.5 数据处理与分析

黄曲霉、赭曲霉菌的检出率和菌落数计算见公式(1)、(2):

检出率/%=阳性样品数/总样品数×100% (1)

菌落数/(CFU/g)= $\frac{\text{平板菌落数}}{\text{加样体积} \times \text{样品量} \times \text{基础液体积}}$ (2)

式中: 加样体积为 0.05 mL、样品量为 10 g、基础液体积为 100 mL。

每克稻米中黄曲霉、赭曲霉菌潜在产 AFB₁(或 AFT)、OTA 能力的计算见公式(3):

每克稻米中黄曲霉、赭曲霉产 AFB₁(或 AFT_总)、OTA 的量[μg/(L·g)]= 每克稻米中黄曲霉、赭曲霉菌落数×黄曲霉、赭曲霉菌平均产 AFB₁(或 AFT_总)、OTA 的量 (3)

1.2.6 风险评估方法

(1)数据选择

大米摄入量及人群体重数据参考《2002 年中国居民营养健康状况调查报告》^[27-28], 分成 2~6 岁儿童、标准人、城市标准人和农村标准人 4 类人群, 见表 2。

表 2 不同人群的大米摄入量 and 体重^[27-28]
Table 2 Rice intake and body weight of different populations^[27-28]

人群	一般人群 摄入量/(g/人·d)	高消费人群 摄入量/(g/人·d)	体重/kg
儿童(2~6 岁)	143.11	363.30	15.18
标准人 ^a	236.71	600.30	62.57
标准人(城市)	199.09	533.50	66.57
标准人(农村)	254.44	616.70	61.13

注: ^a标准人是指从事轻体力劳动的成年男子。

(2)暴露评估模型构建方法

本研究参考唐笑等^[29]的方法, 使用@Risk 软件, 抽样方法为拉丁超立方体。对暴露评估结果变异度量化时选择 Monte Carlo 法, 采用 Bootsrap 方法, 可有效量化不确定度, 通过 1000 次迭代, 然后运行 10000 次非参数模拟的 Monte Carlo 运算, 最终可取得的数据为 90%置信区间(P₅~P₉₅)范围内。对于 AFB₁ 和 OTA 检测数据中低于检出限(limit of detection, LOD)和定量限的部分用 1/2 LOD (AFB₁ LOD 为 0.1 μg/kg, OTA 定量限为 1.0 μg/kg)替换处理。

(3)风险描述方法

本研究采用食品添加剂联合专家委员会(Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA)推荐的 AFB₁ 诱发肝癌描述公式^[30]如式(4):

危害程度=0.01(1-P)+0.3P (4)

式中: P 为乙肝病毒携带率, 根据乙肝血清流行病学调查结果, 我国人群乙肝病毒携带率为 7.18% (P=7.18%)。据此, 按 AFB₁ 暴露量为 1 ng/(kg bw·d)计算, 则我国居民肝癌发病率为 0.031 例/(10 万人·年)。

1.3 数据处理

每个样品平行测定 3 次, 采用 GraphPad InStat 3 软件处理数据, 结果以平均值±标准偏差形式表示。

2 结果与分析

2.1 哈尔滨地区水稻样本黄曲霉及赭曲霉菌株产毒能力

由表 3 可见, 从哈尔滨五常地区不同储藏阶段水稻样品中分离得到的黄曲霉菌株, 其产毒力是不同的, 总的趋势是随着储藏时间的延长, 黄曲霉菌株产毒力逐渐下降。另外, 黄曲霉菌株产 AFB₁ 最多, 其次为 AFB₂, 产 AFG₁ 量极少, 并不是所有黄曲霉菌株都会产生 AFG₂。黄曲霉菌株产生毒素总量 AFT 也是随着稻谷储藏时间的延长而逐渐下降。从哈尔滨五常地区不同储藏阶段水稻样品中分离得到的赭曲霉菌株, 其产毒力随储藏时间的延长也逐渐下降, 趋势与黄曲霉菌株产毒力类似。

2.2 哈尔滨地区市售大米样品黄曲霉毒素和赭曲霉毒素含量情况

在哈尔滨地区超市和农贸市场采集了大米样品共 100 份, 检测了黄曲霉毒素(以 AFB₁ 计)和赭曲霉毒素(以 OTA 计)阳性样品数量、阳性率和毒素含量, 结果见表 4。由表 4 可见, 哈尔滨地区大米全部样品 AFB₁ 阳性率平均值为 7%, 阳性样品 AFB₁ 平均含量为 1.74 μg/kg, 全部样品 AFB₁ 平均含量为 0.099 μg/kg。GB 2761—2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》规定大米中 AFB₁ 限量为 10 μg/kg, 由此可见, 哈尔滨地区大米黄曲霉毒素污染很轻,

表 3 五常地区水稻样品黄曲霉菌株产毒能力
Table 3 Toxin-producing capacity of *Aspergillus flavus* strains in rice samples from Wuchang Area

菌株来源	菌株数	黄曲霉毒素平均产量/(μg/kg)					OTA 平均产量/(mg/kg)
		AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	AFT _总	
入库前稻谷	10	3268.6	2638.5	10.6	4.7	5922.4	196±27
储藏一年稻谷	10	2947.2	2195.4	8.3	2.4	5153.3	165±41
储藏二年稻谷	10	2464.5	1837.8	4.4	0	4306.7	123±16
储藏三年稻谷	10	1672.1	844.2	1.5	0	2517.8	94±26

注: 数据为黄曲霉菌在 DG-18 培养基上的产毒力。

表 4 哈尔滨地区超市和农贸市场大米样品 AFB₁、AFB₂、AFG₁、AFG₂ 和 OTA 含量
Table 4 Content of AFB₁、AFB₂、AFG₁、AFG₂ and OTA in rice samples from supermarkets and farmers' markets in Harbin Area

样品来源	样品数量 /个	AFB ₁ 阳性率/%	AFB ₂ 阳性率/%	AFG ₁ 阳性率/%	AFG ₂ 阳性率/%	OTA 阳性率/%	阳性样品 AFB ₁ 平均含量/(μg/kg)	全部样品 AFB ₁ 平均含量/(μg/kg)
超市样品	50	6	4	0	0	4	1.66±0.31	0.076±0.040
农贸市场样品	50	8	6	0	0	6	1.82±0.29	0.120±0.070

样品来源	样品数量 /个	阳性样品 AFB ₂ 平均含量/(μg/kg)	全部样品 AFB ₂ 平均含量/(μg/kg)	阳性样品 AFG ₁ 平均含量/(μg/kg)	全部样品 AFG ₁ 平均含量/(μg/kg)	阳性样品 OTA 平均含量/(μg/kg)	全部样品 OTA 平均含量/(μg/kg)
超市样品	50	0.72±0.44	0.024±0.110	未检出	未检出	1.13±0.27	0.056±0.011
农贸市场样品	50	0.85±0.56	0.018±0.050	未检出	未检出	1.42±0.38	0.085±0.023

检出率很低, 平均含量均未超标, 非常安全。哈尔滨地区大米样品 OTA 阳性率平均值为 5%, 阳性样品 OTA 平均含量为 1.28 μg/kg, 全部样品 OTA 平均含量为 0.07 μg/kg。我国国家标准 GB 2761—2017 规定谷物中 OTA 限量为 5 μg/kg, 稻谷以糙米计, 因此, 以 5 μg/kg 作为大米 OTA 的限量值。以此判断, 哈尔滨地区市场销售的大米 OTA 检出率很低, 平均含量均未超标, 非常安全。

2.3 大米 AFB₁ 和 OTA 暴露模型构建及风险描述

暴露评估方法通常分为两种, 即点估计法和概率评估法。点评估方法一般按照公式(5)计算:

$$y = \sum_{i=1}^p \frac{X_{i,0.95} C_{i,\max}}{\bar{W}} \quad (5)$$

式中: y 为某种危害物的人群暴露量(摄入量); $X_{i,0.95}$ 为第 i 类食物消费量分布的 95%分位数; $C_{i,\max}$ 为第 k 类食物中某一危害物的最大残留量; p 为消费食物种类数目; $\bar{W}$ 为被评估人群的平均体重^[31]。

目前, 对黄曲霉毒素的暴露评估主要采用点评估方法, 点评估方法简单易行, 评估成本低, 但因其忽略了观察个体差异, 其结构较为保守, 无法量化个体水平消费量和食品中化学物水平的变异, 也无法对参数估计的不确定性作出说明^[32]。近年来, Monte Carlo 法已成为人体暴露评估中最常用的概率评估法。

AFB₁ 是一种遗传毒性致癌物, 通常被认定为无阈值化合物, 即任何剂量都会产生致癌效应。2005 年, 联合国粮农组织和世界卫生组织下设的 JECFA, 在第 64 次会议上首次提出了将暴露边界比(margin of exposure, MOE)法应用于遗传毒性致癌物风险描述上, 即用实验动物致癌剂量(或人群致癌剂量)和人群摄入量的比值来描述风险^[33]。

2.3.1 AFB₁ 暴露模型构建

AFB₁ 在食品中的含量通常为痕量级别。本研究所检测的大米样品中 AFB₁ 含量有非常大的比例(94%)在 LOD 以下, 无法找到合适的理论分布对大米中的 AFB₁ 污染数据进行拟合。因此本研究最终采用非参数概率评估方法, 利用@risk 软件的 Discrete Uniform Distribution 分布, 对不同人群通过摄入大米对 AFB₁ 膳食暴露情况进行模拟计算。

本研究采用非参数概率评估方法构建概率评估模型, 模拟评估不同人群通过摄入大米对 AFB₁ 的暴露水平, 描述分析其变异性和不确定性。

对于不同分组人群, 采用公式(6)进行暴露评估:

$$E = CT/m \quad (6)$$

式中: E 为该组人群通过大米对 AFB₁ 的摄入量, ng/(kg · d); C 为该组人群的大米摄入量, g/d; T 为大米中 AFB₁ 的含量, μg/kg; m 为该组人群的体质量, kg。

本研究采用了 Bootstrap 抽样技术, 并结合 Monte Carlo 模拟, 针对哈尔滨地区各组人群, 对摄食大米的 AFB₁ 膳食暴露状况开展检验测定, 以此为依据建立了概率评估的暴露模型。表 5 和表 6 展示了实验详细结果。通过计算, 本研究取得了包括儿童(2~6 岁)、标准人、城市标准人、农村标准人等不同人群的 AFB₁ 膳食暴露量数据, 分别为 10.56 (9.42~11.57)、4.38 (4.01~4.88)、3.38 (3.11~3.72)、4.91 (4.46~5.35) ng/(kg bw · d)。由表 5、6 可见, 无论是一般消费人群还是高消费人群, 食用大米引起的 AFB₁ 膳食暴露量, 城市标准人均比农村标准人低; 从表 5、6 中 P_{50} 、 P_{75} 、 P_{90} 、 P_{95} 以及 P_{99} 百分位值分布情况看, 可以发现儿童人群(2~6 岁)比其他年龄组的人群通过食用大米导致 AFB₁ 膳食暴露量产生了明显的增高, 尤以 P_{99} 百分位值, 更是达到了 32.68 (28.54~39.62) ng/(kg bw · d)。而在高消费水平下的数据显示, 对大米中 AFB₁ 膳食暴露量最高的为儿童组(2~6 岁), 平均值已上升到了 27.51 (25.78~30.69) ng/(kg bw · d), 这个数值约为农村标准人大米中 AFB₁ 膳食暴露量的 2.4 倍, 城市标准人的 3 倍。本研究结果与唐笑等^[29]的研究结果基本一致。

2.3.2 AFB₁ 风险描述

根据我国居民乙肝病毒携带水平, 并参考哈尔滨地区不同人群 AFB₁ 摄入数据, 本研究对哈尔滨地区乙肝病毒携带者食用大米的 AFB₁ 致癌风险进行计算, 结果见表 7。在一般消费水平下, 哈尔滨地区标准人因食用大米导致的 AFB₁ 膳食暴露引发肝癌的风险平均值分别为 0.139 (0.123~0.149)例/10 万人; 在高消费水平下, 该指标则达到 0.354 (0.323~0.366)例/10 万人。据统计, 目前我国肝癌发病率为 24.6 例/10 万人, 本项目所得数值大大低于上述数据, 表明哈尔滨地区成人通过食用大米导致 AFB₁ 暴露引起原发性肝癌风险较小。本研究证实, 哈尔滨地区城市标准人和农村标准人这两组人群, 其因食用大米引起肝癌的

表 5 哈尔滨地区大米中 AFB₁ 在一般消费人群中的暴露评估[ng/(kg bw • d)]

Table 5 Exposure assessment of AFB₁ in rice among the general consumption population in Harbin Area [ng/(kg bw • d)]

人群	平均值	膳食暴露量				
		P ₅₀	P ₇₅	P ₉₀	P ₉₅	P ₉₉
2~6 岁儿童	10.56 (9.42~11.57)	10.46 (10.46~10.46)	15.88 (15.01~16.79)	21.55 (20.58~22.96)	25.42 (23.74~27.69)	32.68 (28.54~39.62)
标准人	4.38 (4.01~4.88)	4.34 (4.34~4.34)	6.75 (6.35~7.11)	8.99 (8.65~9.31)	10.48 (9.76~11.20)	12.29 (11.75~15.99)
城市标准人	3.38 (3.11~3.72)	3.35 (3.35~3.35)	5.32 (5.02~5.59)	7.14 (6.82~7.43)	8.31 (7.74~8.91)	10.66 (9.25~12.81)
农村标准人	4.91 (4.46~5.35)	4.86 (4.86~4.86)	7.41 (7.01~7.89)	9.75 (9.17~10.35)	11.62 (10.79~12.37)	14.85 (12.80~17.56)

注: 括号中的数据是实验重复测量的极差(最小值-最大值), 下同。

表 6 哈尔滨地区大米中 AFB₁ 在高消费人群中的暴露评估[ng/(kg bw • d)]

Table 6 Exposure assessment of AFB₁ in rice among the high consumption population in Harbin Area [ng/(kg bw • d)]

人群	平均值	膳食暴露量				
		P ₅₀	P ₇₅	P ₉₀	P ₉₅	P ₉₉
2~6 岁儿童	27.51 (25.78~30.69)	27.96 (27.96~27.96)	42.11 (40.26~44.19)	56.28 (54.38~58.62)	66.57 (61.78~70.85)	85.57 (72.67~100.06)
标准人	11.48 (10.34~12.28)	11.33 (11.33~11.33)	16.58 (15.64~18.01)	22.89 (21.94~23.62)	25.19 (24.06~27.42)	33.73 (29.15~40.93)
城市标准人	9.56 (8.77~10.29)	9.57 (9.57~9.57)	14.18 (13.55~15.16)	18.52 (17.84~19.91)	21.38 (19.62~23.74)	27.81 (23.69~33.52)
农村标准人	11.88 (11.03~12.98)	11.94 (11.94~11.94)	17.85 (17.05~18.73)	23.55 (22.97~24.73)	27.29 (25.46~29.05)	35.81 (30.14~42.50)

表 7 大米中 AFB₁ 导致不同人群肝癌发病率暴露评估[ng/(kg bw • d)]

Table 7 Exposure assessment of the incidence of liver cancer induced by aflatoxin B₁ in rice among different populations [ng/(kg bw • d)]

人群	消费水平	平均值	膳食暴露量				
			P ₅₀	P ₇₅	P ₉₀	P ₉₅	P ₉₉
2~6 岁儿童	一般消费人群	0.327 (0.305~0.369)	0.349 (0.349~0.349)	0.518 (0.495~0.553)	0.699 (0.670~0.729)	0.812 (0.754~0.871)	1.044 (0.895~1.248)
	高消费人群	0.866 (0.798~0.947)	0.861 (0.861~0.861)	1.330 (1.259~1.401)	1.799 (1.701~1.852)	2.075 (1.926~2.225)	2.669 (2.294~3.188)
标准人	一般消费人群	0.139 (0.123~0.149)	0.137 (0.137~0.137)	0.209 (0.196~0.220)	0.280 (0.268~0.291)	0.323 (0.301~0.349)	0.419 (0.361~0.500)
	高消费人群	0.354 (0.323~0.366)	0.351 (0.351~0.351)	0.531 (0.501~0.562)	0.711 (0.680~0.741)	0.827 (0.771~0.890)	1.064 (0.918~1.273)
城市标准人	一般消费人群	0.109 (0.099~0.118)	0.107 (0.107~0.107)	0.164 (0.154~0.175)	0.220 (0.211~0.230)	0.258 (0.237~0.271)	0.331 (0.287~0.392)
	高消费人群	0.294 (0.268~0.319)	0.290 (0.290~0.290)	0.445 (0.420~0.471)	0.593 (0.567~0.619)	0.692 (0.641~0.742)	0.891 (0.768~1.065)
农村标准人	一般消费人群	0.154 (0.137~0.162)	0.152 (0.152~0.152)	0.230 (0.217~0.242)	0.308 (0.294~0.319)	0.360 (0.332~0.374)	0.460 (0.397~0.549)
	高消费人群	0.369 (0.335~0.401)	0.365 (0.365~0.365)	0.559 (0.528~0.589)	0.746 (0.715~0.779)	0.875 (0.810~0.934)	1.123 (0.962~1.339)

风险很小。另外, 两组人群间的风险差异亦较小。值得注意的是, 2~6 岁儿童在高消费水平下, 其 P₉₉ 百分位值的肝癌发病风险则高达 2.669 (2.294~3.188)例/10 万人, 显示儿童为通过膳食摄入 AFB₁ 高风险人群, 须给予足够重视。

2.3.3 OTA 暴露模型构建

与 AFB₁ 膳食暴露模型相同, OTA 的膳食暴露采用下述模型(7)进行暴露评估:

$$E'=C\cdot T\cdot M'$$
(7)

式中: E'为该组人群通过大米对 OTA 的摄入量, ng/(kg • d); C'为该组人群的大米摄入量, g/d; T'为大米中 OTA 的含量, μg/kg; M'为该组人群的体质量, kg。

2.3.4 OTA 风险描述

因对赭曲霉毒素研究相对较晚, 致癌机制尚不清楚, 国际上还未建立引发肝癌风险的危害程度评估公式, 因此, 本研究采用点评估方法对其风险进行描述。JECFA 在第 37 次年会上首次评价了 OTA, 确定了其暂定每周耐受摄入量 (provisional tolerable weekly intake, PTWI)为 112 ng/kg • bw^[34], 在第 44 届年会上, 将 OTA 每周耐受摄入量 PTWI 降低到了 100 ng/kg • bw^[35]。

哈尔滨地区 2~6 岁儿童中的高消费人群通过食用大米人均 OTA 周暴露水平为 92.76 ng/(kg bw • w), 见表 8, 已接近 JECFA 规定的 OTA 每周耐受摄入量 PTWI 的 100 ng/kg • bw

表 8 哈尔滨地区大米中 OTA 在不同消费人群中的暴露评估
Table 8 Exposure assessment of OTA in rice among different consumption populations in the Harbin Area

人群	消费水平	日膳食暴露量 /[ng/(kg bw · d)]	周膳食暴露量 /[ng/(kg bw · w)]	不同人群 大米日摄入量/(g/人 · d)	不同人群体重 /kg
2~6 岁儿童	一般消费人群	5.22	36.54	143.11	15.18
	高消费人群	13.25	92.76	363.30	15.18
标准人	一般消费人群	2.09	14.66	236.71	62.57
	高消费人群	5.31	37.19	600.30	62.57
城市标准人	一般消费人群	1.66	11.59	199.09	66.57
	高消费人群	4.44	31.06	533.50	66.57
农村标准人	一般消费人群	2.30	16.13	254.44	61.13
	高消费人群	5.59	39.10	616.70	61.13

阈值。因此, 根据目前的毒理学研究证据, 哈尔滨地区居民食用大米, 除儿童高消费人群有一定潜在健康风险外, 其他人群没有明显的健康风险。因此, 要特别关注 2~6 岁儿童摄食大米情况, 尤其是儿童中的高消费人群, 风险较大, 应给予高度重视。给儿童食用大米应尽量选择新鲜、品质好的大米, 避免陈米, 最大限度降低真菌毒素污染的潜在风险, 以保证儿童身体健康。

3 结 论

本研究建立了 AFB₁ 和 OTA 的膳食暴露模型并评估了哈尔滨地区不同人群通过食用大米对 AFB₁ 和 OTA 的膳食暴露风险。结果表明食用大米导致 AFB₁ 和 OTA 膳食暴露的健康风险总体较低, 但儿童高消费人群潜在健康风险较大, 需要引起高度注意, 其他人群无明显的健康风险。

参考文献

[1] 张杏, 岳晓凤, 丁小霞, 等. 中国西南花生产区黄曲霉菌分布、产毒力及花生黄曲霉毒素污染[J]. 中国油料作物学报, 2019, 41(5): 773–780.
ZHANG X, YUE XF, DING XX, *et al.* Distribution and aflatoxin contamination by *Aspergillus flavus* in peanut from the southwest China [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2019, 41(5): 773–780.

[2] GOURAMA HASSAN, BULLERMAN LB. *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*: Aflatoxigenic fungi of concern in foods and feeds: A review [J]. Journal of Food Protection, 1995, 58(12): 1395–1404.

[3] International Agency for Research on Cancer. Some naturally occurring substances: Items and constituents heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans [C]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 1993.

[4] WILSON DM, MUBATANHEMA W, JURJEVIC Z. Biology and ecology of mycotoxigenic *Aspergillus* species as related to economic and health concerns [J]. Advances in Experimental Medicine & Biology, 2002, 504(48): 3–17.

[5] TIINA R, JAMES L, BERNSTEIN DI, *et al.* Infant origins of childhood asthma associated with specific molds [J]. Journal of Allergy & Clinical Immunology, 2012, 130(3): 639–644.

[6] NONNENMANN MW, BEXTINE B, DOWD SE, *et al.* Culture-independent characterization of bacteria and fungi in a poultry bioaerosol using pyrosequencing: A new approach [J]. Journal of Occupational & Environmental Hygiene, 2010, 7(12): 693–699.

[7] 刘菲, 王龔, 王刘庆, 等. 不同培养基对赭曲霉生长及产毒能力的影响[J]. 核农学报, 2017, 31(4): 702–710.
LIU F, WANG Y, WANG LQ, *et al.* The Influence of different medium on growth and toxin production of *Aspergillus ochraceus* [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2017, 31(4): 702–710.

[8] BERTUZZI T, GUALLA A, MORLACCHINI M, *et al.* Direct and indirect contamination with ochratoxin A of ripened pork products [J]. Food Control, 2013, 34(1): 79–83.

[9] DUARTE SC, LINO CM, PENA A. Food safety implications of ochratoxin A in animal-derived food products [J]. Veterinary Journal, 2012, 192(3): 286–292.

[10] BREITHOLTZ-EMANUELSSON A, OLSEN M, OSKARSSON A, *et al.* Ochratoxin A in cow's milk and in human milk with corresponding human blood samples [J]. Journal of AOAC International, 1993, 76(4): 842–846.

[11] MALIR F, OSTRY V, NOVOT E. Toxicity of the mycotoxin ochratoxin A (OTA) in the light of recent data [J]. Toxin Reviews, 2013, 32(2): 19–33.

[12] PETZINGER E, ZIEGLER K. Ochratoxin A from a toxicological perspective [J]. Journal of Veterinary Pharmacology & Therapeutics, 2000, 23(2): 91–98.

[13] NIKOLOV IG, PETKOVA-BOCHAROVA D, CASTEGNARO M, *et al.* Chernozemsky IN. Molecular and epidemiological approaches to the etiology of urinary tract tumors in an area with Balkan endemic nephropathy [J]. Journal of Environmental Pathology Toxicology & Oncology, 1996, 15(2/3/4): 201–207.

[14] RADIC B, FUCHS R, PERAICA M, *et al.* Ochratoxin A in human sera in the area with endemic nephropathy in Croatia [J]. Toxicology Letters, 1997, 91(2): 105–109.

[15] CANCER IAO. Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins [M]. World Health Organization. Geneva, 1993.

[16] TANAKA K, SAGO Y, ZHENG YZ, *et al.* Mycotoxins in rice [J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 119: 59–66.

[17] PARK JW, CHOI SY, HWANG HJ, *et al.* Fungal mycoflora and mycotoxins in Korean polished rice destined for humans [J]. International Journal of Food Microbiology, 2005, 103(3): 305–314.

- [18] NGUYEN MT, TOZLOVANU M, TRAN TL, *et al.* Occurrence of aflatoxin B₁, citrinin and ochratoxin A in rice in five provinces of the central region of vietnam [J]. Food Chemistry, 2007(105): 42–47.
- [19] REDDY KR, REDDY CS, MURALIDHARAN K. Detection of *Aspergillus* spp. and aflatoxin B₁ in rice in India [J]. Food Microbiology, 2009, 26(1): 27–31.
- [20] MOHAMMADI M, MOHEBBI GH, AKBARZADEH S, *et al.* Detection of *Aspergillus* spp. and determination of the levels of aflatoxin B₁ in rice imported to Bushehr, Iran [J]. African Journal of Biotechnology, 2012, 11(38): 9230–9234.
- [21] FIRDOUS S, EJAZ N, AMAN T, *et al.* Occurrence of aflatoxins in export-quality Pakistani rice [J]. Food Additives and Contaminants, Part B, 2012, 5(2): 121–125.
- [22] 闫兆凤, 黄常刚, 杨欣. 中国主粮中真菌毒素污染现状[J]. 卫生研究, 2022, 51(4): 685–691.
YAN ZF, HUANG CG, YANG X. Current status of fungal toxin contamination in China's staple grains [J]. Journal of Hygiene Research, 2022, 51(4): 685–691.
- [23] 李俊玲, 王书舟, 吴俊威, 等. 河南省粮食及其制品中真菌毒素污染情况调查[J]. 中国食品卫生杂志, 2020, 32(4): 418–421.
LI JL, WANG SZ, WU JW, *et al.* Investigation of mycotoxins in grain and its products in Henan Province [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2020, 32(4): 418–421.
- [24] LAI XW, LIU RC, RUAN CQ, *et al.* Occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in rice samples from six provinces in China [J]. Food Control, 2015, 50: 401–404.
- [25] 朱佐银, 赵含珂, 程海生, 等. 2021-2022 年上海地区大米、玉米、大豆和面粉中多种真菌毒素混合污染特征和交互作用分析[J]. 中国农业科学, 2024, 57(12): 2454–2466.
ZHU ZY, ZHAO HK, CHENG HS, *et al.* Study on characterization and interaction analysis of co-contamination of multi-mycotoxins in the flours of rice, maize, soybean and wheat flour in Shanghai from 2021 to 2022 [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2024, 57(12): 2454–2466.
- [26] FERRE FS. Worldwide occurrence of mycotoxins in rice [J]. Food Control, 2016, 62: 291–298.
- [27] 王陇德. 中国居民营养与健康状况调查报告之一——综合报告[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- WANG LD. Report on the nutrition and health status of chinese residents-part one: Comprehensive report [M]. Beijing: People's Health Publishing House, 2002.
- [28] 杨晓光, 翟凤英. 中国居民营养与健康状况调查报告之三: 2002 居民体质与营养状况[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006.
YANG XG, ZHAI FY. Report on the nutrition and health status of Chinese residents-part three: Physical fitness and nutritional status of residents in 2002 [M]. Beijing: People's Health Publishing House, 2006.
- [29] 唐笑, 任文洁, 陈波, 等. 江西省大米中黄曲霉毒素 B₁ 分析及膳食暴露评估[J]. 食品科技, 2015, 40(3): 315–319.
TANG X, REN WJ, CHEN B, *et al.* Analysis and dietary exposure assessment of aflatoxin B₁ in rice in Jiangxi Province [J]. Food Science and Technology, 2015, 40(3): 315–319.
- [30] Evaluation of Certain Food Additives and Contaminates. Forty-ninth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives [M]. Geneva: WHO, 1999.
- [31] 耿梦梦, 徐明芳, 王阳, 等. 基于 Monte Carlo 模拟法对液态乳中黄曲霉毒素 M₁ 的风险评估[J]. 食品科学, 2018, 39(5): 226–233.
GENG MM, XU MF, WANG Y, *et al.* Risk assessment of aflatoxin M₁ in milk by monte carlo simulation [J]. Food Science, 2018, 39(5): 226–233.
- [32] 叶孟亮, 聂继云, 徐国锋, 等. 苹果中 4 种常用农药污染水平及其膳食暴露评估[J]. 中国农业科学, 2016, 49(7): 1289–1302.
YE ML, NIE JY, XU GF, *et al.* Residue and dietary exposure risk assessment of four pesticides in apple [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2016, 49(7): 1289–1302.
- [33] World Health Organization. Evaluation of certain food contaminants: Sixty-fourth report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives [J]. WHO Technical Report Series, 2006, 930: 8–25.
- [34] World Health Organization. Evaluations of the JOint FAO/WHO expert committee on food additives (JECFA) [J]. 2022. <https://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/Home/Chemical/5640>
- [35] WALKER R, LARSEN JC. Ochratoxin A: Previous risk assessments and issues arising [J]. Food Additives and Contaminants, 2005, 22: 6–9.

(责任编辑: 蔡世佳 于梦娇)