

# 食品中真菌毒素检测研究进展

赵飞, 张京华, 李彦博

(辽宁省检验检测认证中心, 辽宁 沈阳 110000)

**摘要:** 本文重点介绍了食品中容易污染的真菌毒素种类, 以及这些真菌毒素的基本情况, 并对近年来食品中真菌毒素的主要前处理技术和检测技术进行论述, 对主要前处理技术和检测技术的研究情况以及各自的优缺点进行概述。最后对食品中真菌毒素未来的发展趋势进行了展望, 为食品中真菌毒素标准检测方法开发、食品中真菌毒素检测方法选择, 以及食品安全监管工作提供参考。

**关键词:** 食品; 真菌毒素; 前处理技术; 检测技术

## Research Advances on detection methods of main mycotoxins in foods

Zhao Fei, Zhang Jinghua, Li Yanbo

(Liaoning Inspection, Examination & Certification Centre, Shenyang 110000, China)

**Abstract:** This review focused on the situation of mycotoxins in foods, and introduced the main pretreatment technology and detection technology of mycotoxins in foods. Reviewed the research progress, advantages and disadvantages of these pretreatment technology and detection technology, and look forward to the future development trend of mycotoxins in foods, and provided reference and inspiration for standard method research, choose the detecting method, and safety supervision of mycotoxins detection in foods.

**Keywords:** Foods; Mycotoxins; Pretreatment technology; Detection technology

真菌毒素的存在是全世界范围关注的食品安全问题。据统计, 全世界每年有 25% 的粮食会受到真菌毒素的污染<sup>[1]</sup>。除粮食以外的多种食品, 如坚果、植物油、茶叶等食品, 也易受真菌毒素的污染。真菌毒素是真菌在食品或饲料等合适的生长环境中所产生的次级代谢产物。这些代谢产物对人体和动物体有一定的害处<sup>[2]</sup>。通过食物链传播, 被污染的植物源性食品进入人体和动物体内, 这些真菌毒素会被人体和动物体代谢成毒性更强的次级代谢物, 导致人体和动物体的健康风险增大<sup>[3]</sup>。食品中主要被污染的真菌毒素种类有黄曲霉毒素、赭曲霉毒素、玉米赤霉烯酮、脱氧雪腐镰刀菌烯醇、杂色曲霉毒素、伏马菌素、单端孢霉烯化合物

以及黄绿青霉素、展青霉素等<sup>[4]</sup>。这些真菌毒素可通过抑制体内相关酶和蛋白质的合成，进而损害人体和动物体内肝、神经等组织，具有致癌、致畸、致突变等作用<sup>[5]</sup>。随着人类对真菌毒素的认识与研究的不断深入，全世界多个国家已制定食品中真菌毒素的限量标准要求及相关检测方法<sup>[3]</sup>。

## 1 食品中真菌毒素概述

### 1.1 黄曲霉毒素

黄曲霉毒素是由黄曲霉和寄生曲霉所产生的一组代谢产物，特曲霉也能产生黄曲霉毒素<sup>[6]</sup>，该类毒素的结构均含有一个氧杂萘邻酮与一个二呋喃环<sup>[7]</sup>。1993年，世界卫生组织将黄曲霉毒素划定为1类致癌物，是目前已知真菌毒素中理化性质最稳定的一类毒素，对人体和动物体的肝、肾等体内器官具有严重毒害作用，还会引发出血性贫血、生殖器官能力减退等症状<sup>[8]</sup>。目前已发现20多种黄曲霉毒素，经分离鉴定的黄曲霉毒素有黄曲霉毒素B<sub>1</sub>、黄曲霉毒素B<sub>2</sub>、黄曲霉毒素G<sub>1</sub>、黄曲霉毒素G<sub>2</sub>、黄曲霉毒素M<sub>1</sub>、黄曲霉毒素M<sub>2</sub>等18种。该类毒素中毒性和致癌性最强的是黄曲霉毒素B<sub>1</sub><sup>[9]</sup>。该类毒素主要污染的食品有花生、玉米、大豆、豆类、坚果、乳及乳制品、肉类等。

### 1.2 赭曲霉毒素

赭曲霉毒素是继黄曲霉毒素后又一类得到世界范围广泛关注的真菌毒素。它是由疣孢青霉菌、赭曲霉和炭黑曲霉等产毒真菌在侵染粮食等农作物后产生的一类毒素，是异香豆素与β-苯氨基丙酸的次级代谢物<sup>[10]</sup>。赭曲霉毒素包括7中结构相似的化合物，其中以赭曲霉毒素A和赭曲霉毒素B为主，赭曲霉毒素A是赭曲霉毒素中毒性最大、分布最广、产毒最多的一种真菌毒素，可引起免疫抑制，国际癌症研究机构将其列为2B类致癌物<sup>[11-12]</sup>。赭曲霉毒素较易污染花生、棉籽、玉米、小麦等谷物及其制品，被赭曲霉毒素污染的食品，经食物链进入人体和动物体后，会对肝肾造成损害，当食用量较大时，会出现中毒、癌变情况。

### 1.3 玉米赤霉烯酮

玉米赤霉烯酮又称F-2毒素，是由禾谷镰刀菌、三线镰刀菌等真菌，在小麦、玉米等食品生长过程中产生的次级代谢产物<sup>[13]</sup>，是一种2,4-二羟基苯甲酸内酯类化合物，具有非类固醇雌激素作用，可引起雌性激素综合征<sup>[13-14]</sup>。玉米赤霉烯酮与人体或动物体肿瘤发生有一定关系，已被国际癌症研究中心归为3类致癌物<sup>[15]</sup>。玉米赤霉烯酮的毒性较强，污染广，易污染玉米、小麦等谷物，严重影响全世界农作物的产量和农产品的品质，世界卫生组织和联

合国家粮食及农业组织已将解决玉米赤霉烯酮污染问题做为当务之急,并且多个国家制定了食品中玉米赤霉烯酮的限量标准<sup>[16]</sup>。

#### 1.4 脱氧雪腐镰刀菌烯醇及其衍生物

脱氧雪腐镰刀菌烯醇,主要由禾谷镰刀菌 (*Fusarium graminearum*)和黄色镰刀菌 (*Fusarium culmorum*)在适宜的气温和湿度等条件下繁殖并产生的次级代谢产物,对动物和人体均有一定的毒性。世界卫生组织国际癌症研究机构和欧盟分类标准,均将其列为3类致癌物<sup>[17]</sup>。由于感染该毒素后常出现呕吐现象,因此又称为呕吐毒素<sup>[18]</sup>。脱氧雪腐镰刀菌烯醇主要污染大麦、小麦、黑麦、燕麦和玉米等谷类食品<sup>[19]</sup>。脱氧雪腐镰刀菌烯醇性质稳定,具有较强的耐酸性和热抵抗力<sup>[20]</sup>,因此在粮食生产加工过程中较难去除,存在安全隐患。且脱氧雪腐镰刀菌烯醇同其他毒素会产生协同作用,致使人或动物中毒症状更为复杂<sup>[21]</sup>。

#### 1.5 杂色曲霉素

杂色曲霉素是由杂色曲霉、黄曲霉、细皱曲霉和构巢曲霉等真菌产生的含有双呋喃环的氧杂蒽酮类化合物,被国际癌症研究机构列为2B类致癌物,具有肝肾毒性、免疫毒性,以及遗传毒性等,谷物及其制品易受污染<sup>[22]</sup>。杂色曲霉素是黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>、黄曲霉毒素 G<sub>1</sub>等生物合成的前体物质,其结构与黄曲霉毒素相似,两类毒素常协同污染谷物及粮油食品<sup>[23]</sup>。其性质稳定,在食品生产加工过程中很难去除,且研究表明,未经脱壳的谷物中杂色曲霉素含量高于脱壳谷物,脱壳能有效降低杂色曲霉素的含量<sup>[22]</sup>。

#### 1.6 伏马菌素

伏马菌素是由串珠镰刀菌产生的有毒水溶性二级双酯代谢产物<sup>[24]</sup>。目前已发现的伏马菌素有十几种,以伏马菌素 B<sub>1</sub>的危害和影响范围最广,具有很强的热稳定性,主要污染玉米及其制品。研究发现,伏马菌素 B<sub>1</sub>可引起猪肺水肿综合症、马脑白质软化、大鼠肝癌<sup>[25]</sup>等疾病,人类高发的食管癌也与其有关。伏马菌素对谷物制品污染严重,已对人体和动物体的健康构成严重威胁<sup>[26]</sup>。

#### 1.7 展青霉素

展青霉素又称棒曲霉素,属于杂环内酯类结构,其在酸性条件下非常稳定,在碱性条件下活性减弱<sup>[27]</sup>。展青霉素可由六十种真菌产生,主要有青霉属的壳青霉、棒形青霉、娄地青霉、扩展青霉、园弧青霉、产黄青霉、常现青霉、展青霉、新西兰青霉、石状青霉、梅林青霉、灰黄青霉、粒状青霉、产黄青霉等,以及曲霉属的土曲霉、棒曲霉、巨曲霉,丝衣霉属的雪白丝衣霉等菌株产生<sup>[28]</sup>。世界卫生组织认为展青霉素具有极强基因毒性的真菌次级代谢产物,国际癌症研究机构将其列为第3类致癌物<sup>[28]</sup>。展青霉素具有较强的急性毒性,

可影响鸡胚的正常发育<sup>[29]</sup>。展青霉素广泛存在于谷物、蔬菜及其制品、水果及其制品中<sup>[30]</sup>，近年来，国内外关于食品中展青霉素超标的情况时有报道，其安全问题也引起了社会的广泛关注<sup>[31-32]</sup>。

## 2 食品中真菌毒素的前处理技术

食品检测方法中前处理技术至关重要，前处理过程关系到检测方法的准确性和精密度。食品的基质成分较为复杂，且真菌毒素的含量水平较低。采用仪器检测时，如前处理不能有效去除基质成分，则会对真菌毒素产生一定的基质效应，限制检测灵敏度，且易污染仪器设备，因此要进行有效的前处理操作。

食品中真菌毒素的提取方法主要有固相萃取法、液相萃取法、辅助提取法和 QuEChERS 等。固相萃取法是向待测样品中加入提取液，以及合适的固体吸附材料，三者相互接触产生作用，将样品中的真菌毒素与样品基质中其他成分分离的方法。其重点是选择合适的固相吸附材料，为此需检测人员系统考虑待测样品的成分组成及其性质、固体吸附材料的适用范围等。固相萃取材料包括 C18 等，以及磁性纳米材料等。固相萃取法一般的操作步骤包括活化、上样、淋洗和洗脱。固相萃取过程就是固相萃取材料对真菌毒素以及其他基质组分选择的过程，其通过该过程可以对待测真菌毒素进行富集，有机溶剂的使用量较少。但所使用的固相萃取柱一般不可重复使用，因此检测成本较高。液相萃取法是目前食品安全国家标准中真菌毒素检测时使用最广泛的一种。该法中提取溶剂通常以甲醇、乙腈以及不同比例的有机溶剂水溶液为主。该法操作简单、无需特殊设备、成本低廉，该法已用于谷物等多种食品中黄曲霉毒素、赭曲霉毒素 A、呕吐毒素和玉米赤霉烯酮等多种真菌毒素的提取中，提取溶液配以免疫亲和柱净化，效果较好。但该法中有机溶剂用量较大，实验人员要注意防护以及废液的收集和处理<sup>[33]</sup>。辅助提取法是借助外力，如超声、微波、高压等，促进真菌毒素从样品中转移至提取溶剂中的方法。这种方法通过提取条件的有效设置，可以在一定程度上去除样品中的干扰物，且可以达到一定的浓缩效果。该方法通过外力的作用，提取时间更短，溶剂消耗量更少，可达更低检出限<sup>[33]</sup>。但辅助提取法需配备相应的辅助提取设备。

## 3 食品中真菌毒素的检测技术

食品中真菌毒素的检测主要有分子印迹技术、液相色谱-串联质谱法、高效液相色谱法、薄层色谱法等。

### 3.1 分子印迹技术

分子印迹技术指以某特定的目标分子为模板,利用交联聚合物制备对该分子具有特异选择性的分子印迹聚合物,该分子印迹聚合物对目标物进行专一识别的技术<sup>[34]</sup>。分子印迹聚合物具有生物受体的特异性和选择性,且具有耐久性和低成本等显著优势。该技术近年来发展快速,已用于识别蛋白质、病毒、核酸、真菌毒素等多种模板,且应用到食品安全、环境监测和生物医药等多领域<sup>[35]</sup>。该技术较其他真菌毒素检测技术,具有成本低、便捷高效、灵敏度高等优势<sup>[35]</sup>。Guo 等<sup>[36]</sup>采用假模板技术制作的电化学传感器用于展青霉素的检测,线性范围为  $1 \times 10^{-9} \sim 1 \times 10^{-2} \text{mol/L}$ ,检出限为  $7.57 \times 10^{-13} \text{mol/L}$ ,且该技术可以实现高速实时检测。

### 3.2 液相色谱-串联质谱技术

液相色谱-串联质谱技术是将液相色谱分离与质谱检测相结合,该技术具有强大的分离能力、较快的采集和计算速度,以及较好的抗干扰能力,在食品中真菌毒素检测中得到了广泛的关注和使用,如在食品安全国家标准中,食品中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 和黄曲霉毒素 M<sub>1</sub> 的检测中,均采用了液相色谱-串联四级杆质谱技术。在食品中多种真菌毒素同时检测研究中,也较多采用了液相色谱-串联四级杆质谱技术,如贾玮等人采用超高效液相色谱-四极杆串联静电场轨道离子阱质谱技术,对 38 种真菌毒素的色谱信息、分子离子和二级碎裂片段进行了收集和分析,构建了 38 种真菌毒素标准数据库,并对各种毒素在质谱中的裂解途径进行了解析,筛选出每种真菌毒素的特征片段,可以对乳制品中的真菌毒素开展非定向筛查<sup>[37]</sup>。该技术具有多方面优势,同时对操作人员、存放环境条件、前处理杂质去除程度等的要求较高,且运行成本较高。

### 3.3 液相色谱技术

液相色谱技术是以液体作为流动相的色谱技术。该技术已广泛用于食品安全国家标准中真菌毒素的检测,如食品中玉米赤霉烯酮、黄曲霉毒素等的检测。液相色谱技术的使用范围非常广,对待测溶液的要求较液相色谱-串联质谱技术相对宽松。目前采用的检测器主要有紫外检测器、荧光检测器、二极管阵列检测器等,在食品中真菌毒素的检测中较多使用荧光检测器,具有较高的检测灵敏度和专属性,但该技术用于食品中多种真菌毒素同时检测,与液相色谱-串联质谱技术相比在检测速度、灵敏度、抗干扰性等方面要差一些。

### 3.4 薄层色谱技术

薄层色谱技术是一种较早的经典分离色谱技术。该技术是将待测样品溶液通过点样器加载到薄层色谱板的固定相上,然后展开剂、经过载有待测样品溶液的固定相并与样品溶液中各种组分、固定相相互作用,各组分在薄层板上以不同的速度展开,标准物质溶液以相同条

件进行展开, 对比样品板和标准板上不同真菌毒素的比移值来进行定性分析, 再通过物理显色法、光学检测法等进行定量分析。该方法仪器设备较为简单, 仪器成本较低, 对样品前处理效果要求和操作人员的能力水平要求也相对较低, 检测成本低廉可控。

## 4 结论与展望

民以食为天, 食以安为先。食品中真菌毒素的污染频率和污染范围较高, 且部分真菌毒素的毒性不容小觑, 对人体和动物体的健康具有严重的安全隐患。因此准确、快速检测食品中真菌毒素的含量, 对实际生活具有重要意义。目前食品中真菌毒素的样品前处理技术和检测技术较多, 但每种前处理技术和检测技术均有一定的限制, 如目前的食品安全国家标准中均是针对某种或某几种食品中的某种或某类真菌毒素的检测方法。因此, 根据实际工作需要选择合适的样品前处理技术和检测技术较为重要, 开发高通量、低成本的食品中多种真菌毒素同时筛查与定量的分析方法也是重要的研究方向。

### 参考文献:

- [1] 陈瑞鹏, 高志贤, 梁俊. 农产品中真菌毒素检测方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(06): 2283-2291.
- [2] 王刚, 王玉龙, 张海永, 等. 真菌毒素形成的影响因素[J]. 菌物学报, 2020, 39(03): 477-491.
- [3] 王友法, 刘通, 母国栋, 等. 固相萃取材料在食品真菌毒素检测中的研究进展[J]. 分析测试学报, 2021, 40(04): 510-518.
- [4] 吴限鑫, 林秋君, 郭春景, 等. 国内外主要粮油产品中真菌毒素限量、检测标准及风险评估现状分析[J]. 中国粮油学报, 2019, 34(09): 130-138.
- [5] DUBRAVKA R, DANIELA J, ANDREA HT, *et al.* Sterigmatocystin moderately induces oxidative stress in male wistar rats after short-term oral treatment[J]. *Mycotoxin Res*, 2020, 36(2): 181-191.
- [6] 郝铖, 王思齐, 李腾飞, 等. 分子印迹技术在黄曲霉毒素检测中的最新研究进展[J]. 分析试验室, 2022, 41(03): 350-356.
- [7] 王亚楠, 王晓斐, 王自良. 食品黄曲霉毒素总量检测方法的研究与应用[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(1): 285-290.

- [8] KHAYOON WS, SAAD B, YAN CB, *et al.* Determination of aflatoxins in animal feeds by HPLC with multifunctional column clean-up[J]. *Food Chemistry*, 2010, 118: 882-886
- [9] 张萍, 彭西甜, 冯钰铤. 食品中黄曲霉毒素检测的样品前处理技术研究进展[J]. *分析科学学报*, 2018, 4(2): 131-137.
- [10] 孙嘉笛, 徐洪文, 徐一达, 等. 食用植物油中黄曲霉毒素和赭曲霉毒素的污染状况及特征分析[J/OL]. *中国油脂*: 1-15[2022-07-22].
- [11] 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]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2018, 37(1):31-38.
- [12] FERRACANE R, TAFURI A, LOGIECO A, *et al.* Simultaneous determination of aflatoxin B1 and ochratoxin A and their natural occurrence in Mediterranean virgin olive oil[J]. *Food Addit. Contam.*, 2007, 24(2):173-180.
- [13] 董梅, 武琴园, 薛海燕, 等. 高效液相色谱法测定食品中玉米赤霉烯酮的研究[J]. *粮食与食品工业*, 2022, 29(03): 65-68+72.
- [14] 赵飞. 高效液相色谱法测定小麦粉中玉米赤霉烯酮的不确定度评定[J]. *现代食品*, 2021(14): 137-141.
- [15] 刘冬梅. 霉菌毒素的危害及防治[J]. *吉林畜牧兽医*, 2018, 39(04): 8-11.
- [16] 史海涛, 曹志军, 李键, 等. 中国饲料霉菌毒素污染现状及研究进展[J]. *西南民族大学学报(自然科学版)*, 2019, 45(04): 354-366.
- [17] 冯荣虎, 劳翠瑜, 王珍妮, 等. 2019年深圳市面制品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇风险监测[J]. *食品工业*, 2021, 42(04): 501-504.
- [18] 蔡硕, 王周利, 岳田利, 等. 谷物及其制品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇控制的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(04): 1267-1275.
- [19] 周鸿媛. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)的多代毒性及其联合毒性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2018.
- [20] 盛林霞, 付豪, 吴艺影, 等. 粮食中DON检测方法的研究进展[J]. *粮食储藏*, 2018(1): 32-36.
- [21] BERTHILLER F, DALL'ASTA C, CORRADINI R, *et al.* Occurrence of eoxynivalenol and its-3- $\beta$ -D-glucoside in wheat and maize[J]. *Food additives and Contaminants*, 2009, 26(4): 507-511.

- [22] 赵亚荣, 刘香香, 赵洁, 等. 食品中杂色曲霉毒素污染状况研究进展[J]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28(05): 680-682.
- [23] 罗自生, 秦雨, 徐艳群, 等. 黄曲霉毒素的生物合成、代谢和毒性研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(03): 250-257.
- [24] 张凡, 姜琳, 李芳芳, 等. 伏马菌素毒性及其毒性机制研究进展[J]. 中国药物警戒, 2018, 15(10): 617-622.
- [25] 张熠, 蒋艳成, 许广人, 等. 伏马毒素对小鼠毒性的研究进展[J]. 湖南畜牧兽医, 2017, (02): 39-41.
- [26] 钱智勇, 周殿明. 伏马菌素B<sub>1</sub>的毒性研究进展[J]. 职业与健康, 2018, 34(15): 2155-2160.
- [27] SANTANA A S, ROSENTHAL A, MASSAGUER P R. The fate of patulin in apple juice processing: A review[J]. Food Research International, 2008, 41(5): 441-453.
- [28] 王利平, 王丽霞, 刘保友, 等. 苹果及其制品中展青霉素研究进展[J]. 落叶果树, 2022, 54(03): 39-43.
- [29] 郭彩霞, 张生万, 李美萍. 苹果及其制品中展青霉素生物防治研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(07): 283-288.
- [30] 赖文珊, 武爱波, 刘弘, 等. 果蔬中常见真菌毒素的检测研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(04): 1286-1293.
- [31] BONERBA E, CECI E, CONTE R, *et al.* Survey of the presence of patulin in fruit juices[J]. Food Addit Contam B, 2010, 3(2): 114-119.
- [32] AZAM MS, AHMED S, ISLAM MN, *et al.* Critical assessment of mycotoxins in beverages and their control measures[J]. Toxins, 2021, 13(5): 323.
- [33] 胡文尧, 龙美名, 胡玉斐, 等. 食品中真菌毒素样品前处理方法的研究进展[J]. 色谱, 2020, 38(03): 307-316.
- [34] 戴寅, 王潇辰, 郑雅妮, 等. 分子印迹技术在生命科学研究中的进展[J]. 生物化工, 2022, 8(03): 159-161.
- [35] 马珍珍, 何金兴, 赵涛, 等. 基于皮克林乳液聚合四环素磁性分子印迹—生物炭微球的研制[J]. 食品与机械, 2020, 36(05): 70-75+94.
- [36] GUO Wei, PI Fu-wei, ZHANG Hong-xia, *et al.* A novel molecularly imprinted electrochemical sensor modified with carbon dots, chitosan, gold nanoparticles for the determination of patulin[J]. Biosens Bioelectron, 2017, 98: 299-304.



- [37] 贾玮, 樊子便, 杜安, 等. 基于质谱特征碎裂片段的乳制品中真菌毒素非定向筛查方法研究[J]. 分析测试学报, 2020, 39(06): 705-714.

中国仪器仪表表学会