

## 赭曲霉毒素 A 的研究进展 (综述)

魏润蕊 卫生部食品卫生监督检验所 (100021)

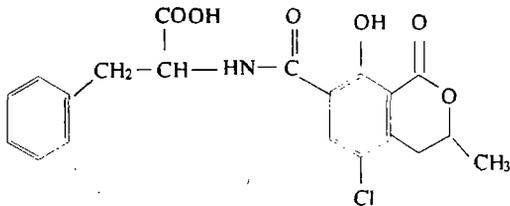
赭曲霉毒素 A(Ochratoxin A, 缩写 OA) 主要污染谷物和豆类, 该毒素的毒性为肾脏毒, 曾引起丹麦和瑞典猪的霉菌毒素肾病, OA 也可能是人的巴尔干地方性肾病的病因。OA 对实验动物还具致畸和致癌作用, 是对人体健康有重要影响的霉菌毒素。现将文献报导的有关 OA 的研究综述如下。

### 1 赭曲霉毒素 A 的产生 [1, 2, 3]

OA 是由曲霉和青霉属的几个种产生的有毒代谢产物, 这些霉菌是赭曲霉、硫色曲霉、蜂蜜曲霉、洋葱曲霉、孔曲霉及圆弧青霉、纯绿青霉。决定霉菌产毒和产毒量的因素包括基质的温度和水份。OA 对谷物的天然污染主要是由贮藏条件差而引起的。在谷物收割前雨量过多或在贮藏中遭雨淋均易引起 OA 污染。在英国, 1979 年元旦, 发现零售面粉在运输过程中被雨水淋湿, 发生霉变、粘结、变色、粘结部分含 OA 6.25mg/Kg, 分离出的产毒菌为圆弧青霉。在瑞典农场, 由于用贮藏期间被雨水淋湿的饲料喂猪, 发生猪的霉菌毒素肾病。在冷的气候条件下, 如加拿大、丹麦和瑞典是以纯绿青霉为主要产毒菌株, 而赭曲霉的一些菌株是热带和亚热带地区的主要产毒菌株。大约 50% 纯绿青霉菌株产毒。纯绿青霉产生 OA 的菌株多于赭曲霉。OA 产生的最小 aw(水活性) 条件是 0.83-0.87, 最低温度: 青霉是 4℃, 赭曲霉是 12℃。

### 2 赭曲霉毒素 A 的化学结构和性质 [4, 5]

赭曲霉毒素是 L-β-苯基丙氨酸与异香豆素的联合, 有 A、B、C、D 四种化合物。



赭曲霉毒素 A 化学结构式样

赭曲霉毒素 B 的分子结构中没有氯原子, 赭曲霉毒素 C 是赭曲霉毒素 A 的乙酯, 赭曲霉毒素 D 是 4-羟基赭曲霉毒素 A。其中 OA 在谷物中的污染率和污染水平最

高, 毒性最大, 是主要的对人体健康有影响的化合物。OA 是无色结晶化合物, 稳定, 它的乙醇溶液可置冰箱中贮存一年以上没有损失, 但在谷物产品中 OA 会随时间发生降解。OA 溶于极性溶剂、微溶于水, OA 溶于苯-冰乙酸 (99+1) 混合溶剂中最大吸收峰波长为 333nm, 分子量为 403, 克分子消光系数值为 5550。

### 3 天然发生的霉菌毒素病 [6, 7, 8]

由 OA 引起的天然发生的霉菌毒素肾病主要有丹麦和瑞典猪的霉菌毒素肾病, 该病的特征是肾小管萎缩、间质纤维化进而肾小球玻璃样变, 屠宰时可见到肾脏肿大、灰白、皮质表面不平, 病肾断面可见到皮质纤维化。在病猪肾中能检出 OA, 肾中的浓度高于肝, 病肾中 OA 的量能达到很高的水平。在一些国家如挪威、芬兰、德国、匈牙利、英国都发生过猪肾病。分析流行区的谷物样品, 发现 50~60% 样品含 OA, 0~11% 样品含桔青霉素。OA 对人的影响是因为它与巴尔干地方性肾病有关。该病引起的肾功能和肾结构的变化与 OA 引起的猪的霉菌毒素肾病相似, 是一种致命的慢性肾病, 病症为肾萎缩、伴有皮质曲管的退行性变、间质纤维化和肾小球玻璃样变。肾功能试验表明, 主要靶器官是近曲小管。大约 1/3 巴尔干肾病垂死病人有肾、骨盆、输尿管或膀胱乳头瘤或癌。在巴尔干肾病流行区, 患尿路系统肿瘤和肾病病人血中 OA 的检出率明显高于非流行区人群中 OA 的检出率。肾病流行区谷物中 OA 的污染率和含量也明显高于非流行区, 污染率为 0~42%, 随年份而变化, 33% 的小麦样品含 OA 约 100 μg/Kg, 最高达 140 μg/Kg。

### 4 FAO/WHO 食品添加剂专家委员会对赭曲霉毒素 A 毒性的评价 [8]

代谢研究表明 OA 主要是从近侧空肠和胃被吸收, 吸收率 40~60%, 血清半衰期因动物种类而异, 范围为 4~>500 小时。在血里 OA 主要是联结到血清白蛋白和其他未经鉴定的大分子化合物上。OA 在组织中的残留为肾大于肝大于肌肉大于脂肪。通过尿和粪便排泄, 在家畜和羊体内, OA 大部分水解为相对无毒的 Oα(Ochratoxin α)。OA 毒性作用的机制被认为是苯基丙氨酸合成酶特有的竞争性抑制。

急性毒性研究表明猪和狗是最敏感的动物。试验动物

死于广泛的多病灶出血、血凝固和肝、肾、淋巴器官坏死。用大鼠、狗和猪作短期研究表明明显的病理学作用发生在肾，在每一个种属的动物中都发现进行性肾病，该病的特征是肾功能退变、肾小管细胞核变大、坏死、小管底层膜变厚，作用的严重程度取决于剂量和所用动物的敏感性。用小鼠和大鼠作长期研究，表明 OA 除引起肾病，还

有与剂量相关的良性和恶性肿瘤发生率的增加。大鼠比小鼠敏感。有关 OA 生殖毒性的研究，结果大多数是阴性。

OA 还显示对大鼠和小鼠的致畸活性，中枢神经系统是主要的靶组织。用 OA 处理实验动物，使实验动物体液和细胞媒介的免疫性以及免疫系统的结构成分受到了不利影响。委员会将 OA 最重要的毒性列表如下。

在实验室动物试验中，用经口给药，观察到的 OA 的作用

作用	动物种类	试验期	最低有作用量 (mg/kg 体重 / 日)	无作用量 (mg/kg 体重 / 日)
肾功能衰退	猪	90 天	0.008	— <sup>a</sup>
近侧管状细胞核大	大鼠	90 天	0.015	— <sup>a</sup>
进行性肾病	猪	2 年	0.04	0.008
明显的胎鼠颅面异常	小鼠	— <sup>b</sup>	1	— <sup>a</sup>
肾肿瘤	小鼠	2 年	4.4	0.13
	大鼠	2 年	0.07	0.02
扁桃体和胸腺淋巴组织坏死	狗	14 天	0.1	— <sup>a</sup>
抗体反应降低	小鼠	50 天	— <sup>c</sup>	0.5

a 研究中没有表明“无作用量”。b 于妊娠第九天时给以 OA。c 采用一个剂量水平。

肾是 OA 作用的主要靶器官，猪是最敏感的动物。由于在用猪进行的 90 天试验中没有报导无作用水平和因为观察 OA 对猪的作用的时间只占猪生命期中很小比例，委员会的结论是：在评价 OA 的允许摄入量时，应用最低有作用水平 0.008mg/kg 体重 / 日和 500 倍的安全系数。在这基础上建立了每星期 112ng/kg 体重的暂时允许摄入量。虽然总体上 OA 的阳性样品率是低的，但资料表明许多食品都有相当水平的 OA 污染。估计在不发生肾病地区的人群中，最严重时人每日摄入 OA 的量可为 1~5ng/kg 体重。

#### 5 精曲霉毒素 A 与其他霉菌毒素的协同作用 (9、10、11、12)

同时给大鼠 OA 和 CT(Citrinin, 桔青霉素)，可以增强对胎鼠的毒性和致畸性。另有报导同时给鸡 300mg/g CT 和 3mg/g OA，没有附加的和协同的毒性作用发生。

用 OA 和 AFT(Aflatoxins, 黄曲霉毒素) 污染的饲料喂猪。OA—AFT 增强血清碱性磷酸酶的活性和增加三酸甘油酯。OA 和 AFT 单独或合并能影响猪的临床表现、血清生化、血液学评价和器官重量，合并使用时测得的影响强于单个毒素的影响。

OA 和 T—2 毒素合并使用对鸡的一些毒性(如增加血清三酸甘油酯水平、减少  $\gamma$ -谷氨酰转氨酶的活性和钙水平、肾小管退变等) 强于单个毒素。

#### 6 精曲霉毒素 A 对食品的污染 (7、8、13)

OA 主要污染谷物，大豆和花生也会被污染，但污染率很低。在肾病流行区，从发霉的面包中也能检出 OA，污染率为 18.8%。烹调过程只能减少小部分毒素，切除面包表面霉变部分仍不能避免毒素进入人体，因毒素能渗入面包深层。一般来说饲料的污染率和污染水平均高于供人食用的粮食。动物食用 OA 污染的饲料，OA 残留于动物组织中，在动物组织和血中都能检出 OA，有时能达到很高的水平，因此人也可由食用动物组织而摄入 OA，见表。

肉和肉制品中的 OA 检出情况

肉和肉制品	国家	年份	样品数		毒素测定	
			样品	%	范围 $\mu$ g/kg	
猪肾	匈牙利	1982	122	39	2—100	
猪肾	波兰	1984	113	24	痕量—23	
肉	南斯拉夫	1982	203			
火腿				29	40—70	
熏肉				16	37—200	
Kulec				13	10—460	
腊肠				12	10—920	

一些国家提出了食品中 OA 的限量标准，见表 1。

#### 7 食品中精曲霉毒素 A 的分析方法

食品中 OA 的测定方法有薄层色谱法 (TLC)、液相色谱法 (LC)、酶联免疫吸附法 (ELISA)、放射免疫法

(RIA)。现将各类方法摘录于下表。

食品中 OA 的测定方法

样品	提取溶剂	净化	测定	方法回收率	检出限度 $\mu\text{g/kg}$	参考文献
谷物、大豆	甲醇—水 (55+45)	用三氯甲烷提取毒素	双向展开	80—100%	10	[14]
	石油醚去脂		TLC			
谷物、大豆	三氯甲烷—0.1mol/l 磷酸	加入碳酸氢钠溶液、 用三氯甲烷回提 OA	双向展开 TLC	80—114%	10	[14]
大麦	三氯甲烷—0.1mol/l 磷酸	含碳酸氢钠的硅藻土柱	TLC	112%	12	[15]
食品	乙腈—4% 氯化钾 和盐酸	己烷去脂, 用 三氯甲烷回提 QA	双向展开 TLC	>80%	5	[16]
玉米、花生、 大豆、大米等	甲醇—氯化钾溶液	净化剂	TLC		10	[17]
		用三氯甲烷回提 OA	微柱		80	
食品	甲醇—1% 碳酸氢钠	加磷酸后用乙酸提取、 经硅胶柱层析、 用苯—冰乙酸洗脱	LC	87—101%	2.5	[18]
动物饲料、 谷物产品	三氯甲烷—乙醇 (8+2) 5% 乙酸	硅胶筒柱 氨基柱	LC	90%	5	[19]
谷物、油料、 动物饲料	乙腈—4% 氯化钾 —20% 磷酸 (178+20+2V/V/V)	过滤、离心、 滤液加水稀释	LC 柱后衍生化	84—110%	5	[20]
谷物	三氯甲烷—磷酸	反相 TLC	LC	94%	100	[21]
谷物、 混合饲料	三氯甲烷—0.1mol/l 磷酸	SPE column	LC	谷物 81—96% 饲料 77%	0.1—0.3	[22]
大麦、玉米、 猪肾	三氯甲烷—0.1mol/l 磷酸	C <sub>18</sub> 柱	LC	53—97%	> 或 = 10	[23]
小麦	甲醇	Sep-Pak 筒柱 用 85% 甲醇洗提	ELISA	85—90%	1—2	[24]
猪肾	三氯甲烷—4mol/l 磷酸	碳酸氢钠的甲醇— 水 (40:100) 溶液	ELISA		0.5	[25]
小麦、肉、 血浆	0.5% 偏磷酸— 三氯甲烷 (1:1)		ELISA	71—118%	1	[26]
猪肾		硅胶 Sep-pak 柱	RIA		0.2	[27]
大麦	乙腈—0.5% 氯化钾 —6% 硫酸 (89+10+1)	提取液加水稀释 (1:10) 或液—液分配	ELISA	95.8%	5	[28]

注: 参考文献 [23] 的方法为经过协作研究的方法。该方法的协作研究由 AOAC、IUPAC 和 Nordic Committee on Food Analysis 组织进行。

回收率范围为各协作研究单位的平均回收率范围。

## 8 小结<sup>[3]</sup>

由于 OA 与人和猪的肾病有关, 也由于 OA 的致癌性, 目前 OA 对食品的污染已引起人们越来越多的重视, 也加强了对 OA 分析方法的研究。FAO/WHO 食品添加剂专家委员会认为, 今后应检测食品中 OA 的残留, 以便较

好地估计人从膳食中摄入 OA 的量, 确定最危险人群并采取预防措施。委员会鼓励人们研究 OA 和其他霉菌毒素在人和猪的肾病中所起的作用、OA 诱发肿瘤的机制和苯基丙氨酸在对抗 OA 毒性中所起的作用。

表 1 OA 的限量标准

国家	商品	限量 $\mu\text{g}/\text{Kg}$	备注
巴西	大米、大麦、大豆、玉米	50	建议
原捷克斯洛伐克	婴儿食品	1	
	儿童食品	5	
	所存其他食品	20	
丹麦	猪肾	25	如果猪肾 OA 含量大于 $25 \mu\text{g}/\text{Kg}$ , 整个猪不能食用
	猪肾	10	如果猪肾 OA 含量在 $10 \sim 25 \mu\text{g}/\text{Kg}$ 之间, 肾、肝和其他内脏器官不能食用
	猪肾	10 (可检出水平)	仅猪肾不能食用
罗马尼亚	所有食品、饲料	5	

## 参 考 文 献

- 1 Willian W, Carlton • Conference on Mycotoxins in Animal Feed and Grains Related to animal Health • 1979, Ochratoxins 1979:165 ~ 278
- 2 Richardson EA • Lancel II (8104):1978;1366
- 3 Dominique M, Rousseau • Apple, Enviro, Micro-bio • 1978;36(6):920
- 4 Willian W, Carlton • Confereme on Mycotoxins in animal Feed and Grains Related to Animal Health • Ochratoxins 1979:177 ~ 181
- 5 Official Methoas of Analysis AOAC • 1984;14(26):113
- 6 Willian W, Carlton • Conference on Mycotoxins in Animal Feeds and Grains Related to Animal Health, Ochratoxins 1979:201 - 203
- 7 Pavlovic M, et al • Acta Path Microbial scand Sect B 1979;87(4):243
- 8 WHO • Technical Report series 806 • Evaluation of Certain Food Additives andContaminants. thrity-Seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee onFood Additives • 1991
- 9 Mayura K, et al • J. Toxicol Environ Health. 1984; 13(4-6): 553-61.
- 10 Glahn-RP, et al • Pault-Sci. 1989;68(9): 1205-12
- 11 Harrey-RB, et al • Am-J-Vet-Res. 1989 50 (8): 1400-5
- 12 Kubena LF, et-al • Pault-Sci. 1989: 68(7): 867-72
- 13 Charles F, et al • J. Assoc. Off, Anal, Chem. 1989;72(2)
- 14 GB 13111-91, 谷物和大豆中赭曲霉毒素 A 的测定 • 单行本, 第一版 • 北京: 中国标准出版社, 1992.
- 15 Official Methods of Analysis AOAC Sec 26. 1984;-14:111 ~ 26 • 125
- 16 Tapia MO • Rev-Argent-Microrabial. 1985; 17-(4): 183-6
- 17 Soares LM et al • J. Assoc. Off, Anal, Chem. 1985 68(6): 1128-30
- 18 Motohiro Nishijima et al • 食品卫生学杂志 (日文) 1984 25(4)
- 19 Huguette Cohen, et al • J. Assoc. Off, Anal, Chen. 1986 69(2)
- 20 Narong Chamkasem, et al • J. Assoc. Off, Anal, Chen. 1989 72(2): 336-341
- 21 Andrzej A, et al • J. Assoc. Off, Anal, Chem. 1988 71(5)949-953
- 22 Langseth, W.; et al • J. Chromatogr • 1989; 478,269-274
- 23 Nesheim, S., et al • Journal of AOAC international 1992; 75(3): 481-487

〔下接第 59 页〕

## 一起因食猪生血引起的 12人致病性葡萄球菌食物中毒

章仁珠 邓美清 广西河池地区食品卫生监督检验所 (546300)

韦家开 黄义 广西东兰县食品卫生监督检验所 (547400)

### 1 流行病学调查

1991年5月25日上午6时许,东兰县三弄乡牙满村×××家将自己家养的一头猪屠宰,并将猪生血用洗净的陶瓷碗分别盛装存放(每碗约400克),当天下午6时许×××家又将猪肺、气管、小肠、脾脏切碎并炒熟,同时分别加(每碗约100克)到已盛好的猪生血上面作配料,然后供亲戚朋友进餐。前后参加进食猪生血13人,12人发病,发病人数占进食人数的95.5%,重者7人住院治疗,经抢救治疗,全部中毒患者均在1至2天恢复健康,无死亡病例。

### 2 临床表现

患者潜伏期最短5分钟,最长4小时,多数在40分钟至1小时之间。主要症状为呕吐(100%),恶心(100%)、腹痛(100%)、腹泻(100%)、头晕(88%)、头痛(75%)、寒战(66%)、发热(33%)昏迷(8%),其中呕吐1日达9次至10次者有4人,腹泻1日达10至15次的有3人。

### 3 实验室检验

采集剩余食物、病人呕吐物、大便及加工人员鼻腔分泌物共9份样品,其中6份检出致病性葡萄球菌。即:剩余食物2份,阳性2份;呕吐物1份,阳性1份;大便2份,阳性2份;鼻腔分泌物4份,阳性1份。未分离出沙

门氏菌、痢疾杆菌。血清凝集试验:取中毒病人急性期(发病第2天)及恢复期(第17天)7份血清,用分离出致病性葡萄球菌菌株接种于杜尔曼培养基,在10%CO<sub>2</sub>的环境中37℃培养72小时,经处理后取4.5毫升培养物按1毫升100/克体重注射于幼猫(8周龄,体重425克)的腹腔中,半小时后幼猫开始出现呆卧少动,呼吸急骤、寒战、抽搐、腹泻。对照组注射无菌生理盐水,幼猫未见异常反应。

根据流行病学调查、临床症状和实验室检查,确定该起食物中毒为食猪生血污染致病性葡萄球菌引起:(1)所有中毒者发病前均吃过猪生血,不吃者不发病。(2)根据资料报导,致病性葡萄球菌温度在31—37℃最适宜的条件下4—6小时即可产生毒素,该起中毒从猪屠宰后猪血的存放至最后一餐进食已有15个小时之久,使致病性葡萄球菌大量繁殖并产生大量毒素,导致中毒。但本次中毒有1例患者潜伏期仅为5分钟,这是否与本人体质及吃猪生血的兴趣程度有关,有待进一步探讨。至于吃猪生血引起的食物中毒在我国文化比较发达的地方比较少见,主要发生在生活贫困,少数民族,文化比较落后的边远山区,应引起充分重视,同时应加强对群众卫生常识教育,改变这种不良风俗习惯,不吃猪生血。

(上接第58页)

24. Lee-SC, et al • J. Assoc. Off. Chem. 1984; 67 (1):45-49

25. Michael R. A, et al • J. Sci. Food, Agric. 1986, 37, 475-480

26. S. sato, et al • Proc. Jpn. Assoc. Mycotoxicol.

1987;26

27. D. M. Ro, et al • Appl. Environ. Microbial. 1987 53(3):514-518

28. Ramakrishna N, et al • J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1990 73(1): 71-76