

邓秀娟, 涂青, 伍贤学, 等. 茶叶中赭曲霉毒素 A 安全性风险研究进展 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(12): 405-412. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020070080

DENG Xiujuan, TU Qing, WU Xianxue, et al. Research Progress on the Safety Risk of Ochratoxin A in Tea [J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(12): 405-412. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020070080

· 专题综述 ·

茶叶中赭曲霉毒素 A 安全性风险研究进展

邓秀娟¹, 涂青², 伍贤学³, 黄刚骅², 施宏媛², 李亚莉², 周红杰^{2,*}

(1. 云南农业大学食品科学技术学院, 云南昆明 650201;

2. 云南农业大学龙润普洱茶学院, 云南昆明 650201;

3. 玉溪师范学院化学生物与环境学院, 云南玉溪 653100)

摘要: 茶叶是世界上消费量最大的饮品之一, 其品饮安全性对消费者健康及茶产业发展尤为重要。近年来关于茶叶是否存在真菌毒素污染的问题引起了社会的广泛关注和消费者的诸多疑虑, 如何科学客观地对待这个问题十分关键。赭曲霉毒素 A(OTA) 是一种危害性较大的真菌毒素, 其产生菌种类繁多, 污染广泛, 能溶于水且不易降解, 具有较强的肝肾毒性和致畸、致突变、致癌和免疫抑制作用。本文在检索研读国内外相关文献的基础上, 综述了 OTA 的理化特性、危害与致毒机理、主要产毒菌及产毒条件、茶叶中可能产 OTA 的微生物、OTA 的检测方法和检测结果等, 分析探讨了茶叶中的 OTA 潜在风险, 并提出建议, 为茶叶中的 OTA 污染风险评估和防控提供参考依据。

关键词: 茶叶, 赭曲霉毒素 A, 真菌毒素, 微生物安全

中图分类号: TS201.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2021)12-0405-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020070080

Research Progress on the Safety Risk of Ochratoxin A in Tea

DENG Xiujuan¹, TU Qing², WU Xianxue³, HUANG Ganghua², SHI Hongyuan², LI Yali², ZHOU Hongjie^{2,*}

(1. College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. College of Longrun Pu-erh Tea, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

3. College of Chemical, Biological and Environmental, Yuxi Normal University, Yuxi 653100, China)

Abstract: Tea is one of the most consumed drinks in the world. Its drinking safety is particularly important for consumer's health and the development of tea industry. In recent years, the contamination of tea with mycotoxin has aroused widespread concern in the society, how to deal with this problem scientifically and objectively is crucial. Ochratoxin A(OTA) is a highly harmful fungal toxin. It's produced by a wide variety of fungus, soluble in water and not easy to degrade, and has strong hepatorenal toxicity, teratogenic, mutagenic, carcinogenic and immunosuppressive effects. In this paper, the physicochemical characteristics, harm and toxicological mechanism, main toxigenic fungus and toxigenic conditions of OTA, possible OTA-producing microorganisms in tea as well as OTA detection methods and results are summarized. The potential risks of OTA in tea are analyzed and discussed, and suggestions are put forward to provide reference for the risk assessment, prevention and control of OTA contamination in tea.

Key words: tea; ochratoxin A; mycotoxin; microbial safety

真菌毒素是某些真菌在一定环境条件下产生的, 具有细胞、器官或机体毒性的次生代谢产物。真菌毒素污染现象广泛存在于各类食品中, 严重威胁人类健康安全, 已经成为食品安全领域最重要的问题之

一。目前已发现的真菌毒素主要包括黄曲霉毒素、赭曲霉毒素、展青霉素、脱氧雪腐镰刀菌烯醇、T-2 毒素、玉米赤霉烯酮、伏马毒素、杂色曲霉素、桔青霉素等^[1-2]。

收稿日期: 2020-07-09

基金项目: 云岭产业技术领军人才(发改委[2014]1782)。

作者简介: 邓秀娟(1990-), 女, 博士研究生, 研究方向: 茶叶加工与生化功效, E-mail: 461043605@qq.com。

* 通信作者: 周红杰(1961-), 男, 硕士, 教授, 研究方向: 茶叶加工与质量安全, E-mail: 1051195348@qq.com。

茶叶是采用茶树芽叶嫩茎经过不同工艺加工而成的产品,是世界公认的三大健康饮料之一,也是仅次于饮用水的第二大消耗饮品。全球现有 50 多个国家和地区种植茶树,约有 160 多个国家和地区人民有饮茶习惯,茶叶的品饮安全性对消费者健康以及茶产业的发展尤为重要。由于产毒真菌分布广泛,茶园土壤和加工仓储环境等环节都有可能存在真菌毒素污染风险。近年来,关于茶叶真菌毒素污染和品饮安全性的文章报道和话题讨论屡见不鲜,引起了消费者的广泛关注与诸多疑虑,如何客观认识和科学对待这个问题十分关键。

赭曲霉毒素是一类由曲霉属(*Aspergillus*)和青霉属(*Penicillium*)等真菌产生的次生代谢产物,最初发现由赭曲霉(*A. ochraceus*)代谢产生^[3]。其中赭曲霉毒素 A(Ochratoxin A, OTA)产毒量最高,毒性最强,对农作物污染最严重,健康危害最大,1993 年被国际癌症机构(IARC)认定为 2B 类致癌物^[4-5]。目前茶叶中黄曲霉毒素的研究相对较多,而赭曲霉毒素虽然在茶叶中也时有报道检出^[6],但并未引起相关部门的足够重视,这可能与其毒性级别比黄曲霉毒素低有关。然而,不同于黄曲霉毒素,赭曲霉毒素是可溶于水的,茶汤转移率比黄曲霉毒素高,且其产毒菌曲霉属和青霉属均为茶叶加工和仓储过程中的常见微生物,其潜在的安全性风险值得我们进一步关注和重视。

1 OTA 的特性与危害

1.1 OTA 的理化特性

赭曲霉毒素是一类具有香豆素和苯丙氨酸结构的类似物的总称,结构通式见图 1A。依据结构不同,赭曲霉毒素又分为 A、B、 α 、 β 等类型,其中赭曲霉毒素 A(OTA)的毒性最强^[7-8]。OTA 是由 OT α 通过酰胺键与 L- β -苯基丙氨酸相连络合而成,其化学名称为 7-(L- β -苯基丙氨基-羰基)-羧基-5-氯代-8-羟基-3,4-二氢化-3R-甲基异氧杂奈邻酮,分子式为 C₂₀H₁₈ClNO₆,分子量为 403.8,化学结构式见图 1B^[9]。OTA 是一种无色结晶粉末状化合物,呈弱酸性,微溶于水,易溶于极性有机溶剂和碳酸氢钠溶液^[10]。OTA 结构中羟基基团以电离形式存在,是其发挥毒性所必需的条件,氯原子则在其遗传毒性上发挥十分重要的作用,当 OTA 的苯丙氨酸基团被其他氨基酸

取代时其毒性将会被降低^[11]。然而,OTA 性质稳定,耐高温,不易降解,食品一旦受到 OTA 污染,要想完全去除十分困难。

1.2 OTA 的危害与致毒机理

OTA 在自然界广泛存在,食物中即使没有肉眼可见的霉菌,也可能已有 OTA 的存在^[12]。20 世纪 70 年代至今,OTA 已陆续在谷物、茶叶、面粉、咖啡、巧克力、蔬菜、果汁、葡萄酒等中被广泛检测出来,甚至婴幼儿辅食、人类母乳也发现了 OTA^[13-17]。OTA 经由胃肠道吸收后,经由血液主要流到肾脏,由于其在人或动物体内不易代谢消除,易在血液及消化组织器官中累积,并可引发亚急性或慢性毒性影响^[18]。流行病学研究普遍认为 OTA 的体内积累和对肾脏的损伤是巴尔干地方性肾病的主要原因,还会对胎儿的中枢神经系统造成伤害^[19-20]。大量科学研究也表明 OTA 具有肾毒性、肝毒性、神经毒性、免疫毒性、植物毒性、基因毒性和潜在的致畸性和致癌性等^[21-22]。

OTA 能促进生物膜的过氧化反应,诱导活性氧的产生,引起线粒体的结构损伤及功能的紊乱,抑制其呼吸作用,诱导细胞凋亡;能够影响细胞信号传导通路中蛋白及关键因子的转录表达,在很大程度上抑制蛋白质合成关键酶的活性,抑制蛋白质的合成,从而影响 RNA 和 DNA 的合成^[23]。研究者推测这些改变及其产生的一系列后续反应都有可能是 OTA 致毒的原因。世界粮农组织和世界卫生组织食品添加剂专家委员会(JECFA)经过对 OTA 肾脏毒性的评价后,建议每周 OTA 最大耐受摄入量为 0.1 μ g(每千克体重)^[24]。目前,欧盟、中国、丹麦、罗马尼亚、意大利等相关机构分别针对成人食用生谷物及其制品、干鲜果品、谷物豆类及其制品、坚果、研磨咖啡、酒类、猪肉及熟肉制品等进行了 OTA 限量标准^[25-28],但茶叶中的 OTA 暴露风险及限量标准仍然尚未被提及。

2 茶叶中的 OTA 来源微生物

2.1 OTA 的产毒菌与产毒条件

自然界中能产 OTA 的真菌种类繁多,主要有曲霉属的赭曲霉(*A. ochraceus*)、炭黑曲霉(*A. carbonarius*)、黑曲霉(*A. niger*)和青霉属的疣孢青霉(*P. verrucosum*)、日耳曼青霉(*P. nordicum*)、鲜绿青

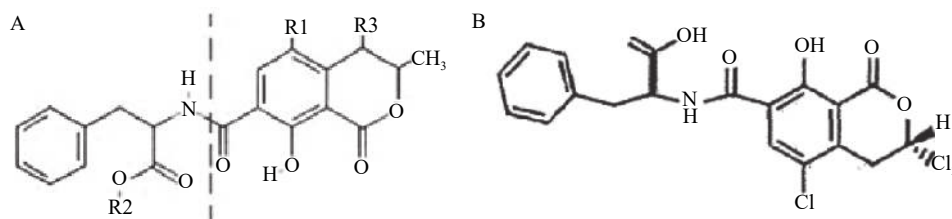


图 1 赭曲霉毒素的结构

Fig.1 Structure of ochratoxin

注:(A)赭曲霉毒素主体结构;(B)赭曲霉毒素 A。

霉(*P.viridicatum*)等。其中 *A.niger* 只有一部分菌株可产 OTA^[29-30]。此外, 曲霉属中韦斯特迪克氏曲霉(*A.westerdijkiae*)、洋葱曲霉(*A.alliaceus*)、硫色曲霉(*A.sulphureus*)、蜂蜜曲霉(*A.melleu*)、佩特曲霉(*A.petrakii*)、寄生曲霉(*A.parasiticus*)、土曲霉(*A.terreus*)、烟曲霉(*A.fumigatus*)、杂色曲霉(*A.versicolor*)、塔宾曲霉(*A.tubingensis*)等在特定情况下会产较高量的 OTA^[31-33], 青霉属其他一些菌株如变幻青霉(*P.variabile*)、园弧青霉(*P.cyclopium*)、产黄青霉(*P.chrysogenum*)、波兰青霉(*P.polonicum*)等也可以产生少量 OTA^[34]。OTA 主要产毒菌见表 1。值得注意的是, 产毒菌中并非所有菌株都能产 OTA, 不同地域和生态环境条件下, OTA 毒素爆发率及产毒菌的种类也不同。研究发现在温和凉爽的环境条件下, 青霉属菌株是主要的 OTA 产毒菌, 贮藏环境中污染风险较高; 而在温度高、湿度大的环境条件下, 产 OTA 的菌株则主要为曲霉属中的赭曲霉和炭黑曲霉^[35]。

影响农产品中 OTA 污染程度的主要因素包括生产环境、干燥条件及贮藏方式, 温度、水活度和基质成分等会影响产毒菌的生理机能及产毒效率。目前关于 OAT 主要产毒菌的适宜生长和产毒条件研究情况见表 2。赭曲霉在 pH 低于 2 时生长较缓慢^[28], 高于 30 °C 时赭曲霉菌的生长和 OTA 的产生停滞, 低温保藏(2~10 °C)可减缓但不能停止 OTA 的产生, 而干燥保藏(湿度<14%)是防止 OTA 产生积累的有效方法^[24,29,36]。炭黑曲霉是近几年新发现的一种能够产生 OTA 的真菌, 由于其形态与黑曲霉相似, 食品真菌菌相污染水平调查和分离鉴定时常误将其归为黑曲霉。该菌繁殖所需的温度范围较宽, 低 pH、高糖、高温环境促进炭黑曲霉的生长繁殖。低温抑制黑曲霉的繁殖但炭黑曲霉生长良好, 且 40 °C 时仍可繁殖, 同时该菌对紫外线有较强的抵抗力^[37]。

2.2 茶叶中可能产 OTA 的微生物

OTA 产毒真菌分布广泛, 从茶园、生产车间到

仓储流通环节, 茶叶都存在受到产毒真菌污染的可能。尤其是黑茶, 由于追求后期仓储过程中的转化, 通常选取的是非密闭型包装材质和自然存放空间, 使得茶叶可与空气接触进行后发酵陈化。因此茶叶所处的温湿度条件差异较大, 大部分取决于存放地的自然气候生态, 这种情况导致茶叶中经常会有青霉或曲霉的存在, 甚至在梅雨季节和回潮天气发生霉变, 加大真菌污染风险。而在黑茶加工过程中, 渥堆发酵是其风味品质形成的关键。发酵过程中, 各种微生物以茶叶基质为营养源, 呼吸产热, 并大量繁殖和代谢, 分泌各种胞内酶和胞外酶, 催化茶叶发生氧化、分解、裂解、聚合、缩合等一些列复杂的生化反应, 从而形成黑茶特有的色香味。现代大量科学研究结果表明, 曲霉属、青霉属、酵母属等是黑茶发酵过程中微生物群落主要的组成部分, 其中曲霉属中的炭黑曲霉、黑曲霉、烟曲霉、土曲霉、塔宾曲霉等经常在加工过程中被检出, 而青霉属中的产黄青霉和曲霉属中的赭曲霉则在仓储过程中被检出。茶叶生产仓储环节中可能产 OTA 的微生物检测情况见表 3。

结合 OTA 的产毒菌和产毒条件可以发现, 其与茶叶发酵和仓储过程中的温湿度条件等存在一定程度上的重合。OTA 的两大类产毒菌中, 青霉属真菌恰恰是茶叶尤其是黑茶在仓储存放过程中经常会出现的真菌, 而曲霉属真菌则又是黑茶发酵过程中的主要优势菌属, 和黑茶的关键品质形成关系密切, 其对品质形成的贡献度与可能带来的安全风险值需要我们开展进一步的研究评估。如何通过有效措施规避风险, 安全生产和仓储, 保障茶叶品饮安全, 也是我们需要重点关注的问题。

3 茶叶中的 OTA 检测

目前已有不少研究学者采用各种技术手段对茶叶中的 OTA 进行了检测^[6,65-66]。1995~1998 年欧盟国家检测了 139 份红茶样品, 其中 8 份样品 OTA 阳性, 含量为 0.03~10.3 μg·kg⁻¹^[67]。Santos 等^[68]应用

表 1 OTA 主要产毒菌
Table 1 Major fungi producing OTA

属	种
曲霉属	赭曲霉、炭黑曲霉、黑曲霉、韦斯特迪克氏曲霉、韦斯特迪克氏曲霉、洋葱曲霉、硫色曲霉、蜂蜜曲霉、佩特曲霉、寄生曲霉、土曲霉、烟曲霉、杂色曲霉、塔宾曲霉等。
青霉属	疣孢青霉、日耳曼青霉、鲜绿青霉、变幻青霉、园弧青霉、产黄青霉、波兰青霉等。

表 2 OTA 主要产毒菌的适宜生长及产毒条件^[28,35-39]
Table 2 Suitable growth and toxigenic conditions of main toxigenic fungi of OTA^[29,36-40]

属	种	适宜生长条件	适宜产毒条件	常见来源
曲霉属	赭曲霉	T=24~31 °C A _w =0.95~0.99 pH=3~10	T=25~30 °C A _w =0.99 RH=22%~26%	茶、小麦、坚果、咖啡、肉类和熏/腌鱼等
	炭黑曲霉	T=20~35 °C	T=15~25 °C	茶、可可豆、咖啡、苹果、葡萄及其果酒类等
	黑曲霉	T=25~40 °C RH>88%	T=25 °C A _w =0.973	茶、热带亚热带食物; 葡萄和干果、可可豆等
	韦斯特迪克氏曲霉	T=24~31 °C A _w =0.95~0.99 pH=3~10	-	-
青霉属	疣孢青霉	T=0~30 °C A _w =0.80	T=20~30 °C RH=23%~40%	谷物等农作物, 常见仓储真菌

注: T: 温度; A_w: 水分活度; RH: 相对湿度。

表3 茶叶生产仓储环节中可能产 OTA 的微生物检测情况

Table 3 Microorganisms that are likely to produce OTA in tea processing and storage

地区	对象	微生物	参考文献
阿萨姆	茶厂	黑曲霉、烟曲霉等	[41]
-	茶厂空气和土壤样品	黑曲霉、烟曲霉等	[42]
捷克	40个绿茶和黑茶	黑曲霉等	[43]
意大利	32个绿茶和红茶	黑曲霉、塔宾曲霉等	[44]
阿曼	红茶	黑曲霉	[45]
瑞典	花草茶	黑曲霉、炭黑曲霉、塔宾曲霉等	[46]
云南	60个普洱生茶和普洱熟茶	黑曲霉(85%/60%)*, 青霉	[47]
中国	36个普洱茶样	烟曲霉、青霉	[48]
云南	普洱茶发酵阶段样	黑曲霉*、塔宾曲霉、青霉*等	[49-56]
四川	康砖茶	黑曲霉*、炭黑曲霉、塔宾曲霉等	[57]
湖南	冬夏季节加工的茯砖茶	曲霉、青霉	[58]
湖南	茯砖茶	曲霉*	[59]
广西	六堡茶精制陈化阶段	曲霉*, 青霉*	[60]
四川	藏茶贮藏过程样	黑曲霉*, 青霉	[61]
云南	陈年普洱茶	黑曲霉*、赭曲霉*、产黄青霉	[62-63]
广西	六堡茶	黑曲霉*、赭曲霉、产黄青霉	[64]

注: *标记为该菌占优势地位。

ELISA 法检测了西班牙包括市售红茶、绿茶和白茶等在内的 84 个样品中的 OTA, 发现 63% 受到 OTA 污染($0.025\sim 17.5\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。柳其芳^[69]应用 ELISA 法检测普洱茶样品也检出了赭曲霉毒素。但由于茶叶基质的复杂性等, 酶联免疫法存在假阳性干扰, 导致很多人认为其更适用于初步快速筛查。

随着食品中 OTA 检测技术的发展, HPLC 和 LC-MS 等开始被广泛应用。Haas 等^[48]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 $0.65\sim 94.7\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。刘妍等^[70]采用高效液相色谱串联质谱技术从 61 份黑茶样品中检出 5 份含有赭曲霉毒素, 其中普洱茶 2 份(6.7 、 $2.5\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、湖南黑茶 1 份($4.0\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、广西六堡茶 2 份(0.9 、 $1.3\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。与之不同的是, 陈秋娥^[71]分析了 44 件台湾市售普洱茶样品, 未检测到 OTA。Monbaliu 等^[72]建立了一个可同时测定含 OTA 在内 27 种真菌毒素的超高效液相色谱串联质谱法, 检测了 91 份茶叶样品, 结果都没有检测到有 OTA。莫瑾等^[73]采用高效液相色谱串联质谱技术检测了 19 份普洱茶样品, 结果也均未检出 OTA。Mogensen 等^[74]采用 HPLC 法检测的市售的普洱茶和红茶样本, 结果亦未检出 OTA。

为了进一步探究普洱茶发酵过程中的微生物安全性, 周才碧^[62-63]利用普洱茶中分离、鉴定得到的黑曲霉和赭曲霉, 接种于云南大叶种中模拟发酵, 采用 HPLC 法检测出发酵样中的 OTA 含量分别为 3.80 和 $1.80\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。然而, Abe 等^[50]应用 HPLC 检测结果显示, 从普洱茶中分离的黑曲霉不产生 OTA。Hou 等^[75]研究发现, 应用黑曲霉和炭黑曲霉发酵的茶叶样品中也不含 OTA。Wang 等^[76]采用 LC-MS/MS 法检测发现, 采用塔宾曲霉接种发酵的

普洱茶和传统自然发酵的普洱茶样品中 OTA 也均低于检测限。

此外, 由于 OTA 的水溶性特征, 部分研究者在检测茶叶中 OTA 含量的同时, 还进行了茶汤转移率的实验。Sofie Monbaliu 等研究显示其检测茶叶样品中的赭曲霉毒素含量范围为 $2\sim 10\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 冲泡后的茶汤中的含量范围为 $0.5\sim 2\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。Frantisek^[77]采用 HPLC-FLD 方法对共计 12 份红茶样品进行了 OTA 含量的分析, 其中有 4 个样本检出 OTA, 含量分别为 1.85 、 56.7 、 86.6 和 $250\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 将受污染的茶样在 250mL 水中煮 3min 后茶汤中 OTA 的转移率达到 $34.8\%\pm 1.3\%$ 。

从以上研究中可以发现, 茶叶中的 OTA 检测研究目前多集中在黑茶类, 白茶、绿茶和红茶也有少量的涉及。由于样品及测定方法不同, 茶叶中的 OTA 检测结果并不一致。相对而言, ELISA 法检测结果中呈 OTA 阳性的情况居多, LC-MS/MS 法检测结果中呈阴性的情况居多, 但仍有阳性情况存在。此外, 这些研究资料中大多没有表明其检测样品的具体来源和仓储状态等情况, 茶叶样品前处理方法也并不清楚, 这为科学评估茶叶中的 OTA 安全性风险带来了一定困难。茶叶中 OTA 的检测情况见表 4。

4 茶叶中的 OTA 潜在风险分析与建议

4.1 样品前处理方法和分析手段干扰茶叶中 OTA 检测的准确性

由于 OTA 产毒菌的多样性和分布广泛性, 科研工作者们围绕食品中 OTA 的检测方法、样品前处理方法、产毒条件、致毒机理和抗毒脱毒方法等开展了大量研究。目前, OTA 的检测方法主要有薄层层析法、高效液相色谱法(HPLC)、毛细管电泳-二极管阵列检测法、酶联免疫吸附法(ELISA)、液相-质谱联

表 4 茶叶中的 OTA 检测情况
Table 4 Detection of OTA in tea

地区	茶样	检测方法	OTA阳性占比	OTA含量($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	参考文献
奥地利	普洱茶散茶、砖茶	HPLC	4/36	0.65~94.70(3.08*)	[49]
欧盟	红茶	-	8/139	0.03~10.3	[67]
西班牙	红茶、绿茶和白茶等	ELISA	53/84	0.025~17.5	[68]
中国	本地售云南普洱茶	HPLC-MS/MS	2/30	6.7, 2.5	
中国	本地售湖南黑茶	HPLC-MS/MS	1/15	4.0	[70]
中国	本地售广西六堡茶	HPLC-MS/MS	2/10	0.9, 1.3	
中国	本地售湖北老青茶	HPLC-MS/MS	0/6	nd	
捷克	红茶茶包	-	4/12	1.85~250(33.1*)	[77]
中国	云南大叶种接种黑曲霉发酵	HPLC	-	3.80±0.13	[62]
中国	云南大叶种接种赭曲霉发酵	HPLC	-	1.80	[63]
台湾	市售普洱茶	-	0/44	nd	[71]
-	茶叶	UPLC-MS/MS	0/91	nd	[72]
中国	普洱茶	HPLC-MS/MS	0/19	nd	[73]
-	市售普洱茶和红茶	HPLC	-	nd	[74]
德国	绿茶散茶、砖茶	-	1/32	1.3	
意大利	绿茶茶包	-	4/16	0.1~20.0(7.2*)	
云南	<i>Aspergillus tubingensis</i> 接种发酵普洱茶和自然发酵普洱茶	LC-MS/MS	-	nd	[76]

注: nd表示未检测到OTA, *表示平均值。

用法(LC-MS)、时间分辨荧光免疫分析法、胶体金免疫层析法、化学发光酶免疫分析法、免疫传感器检测法、免疫亲和柱层析净化-荧光光度法以及基于适配体的快速检测方法等^[78-83]。其中酶联免疫法虽然早期应用较多,但由于存在假阳性干扰等问题,更适于初步快速筛查,通常不作为污染评估依据。而液相色谱和液相色谱串联质谱法结果可靠度相对较高,是目前比较主流的检测手段。由于茶叶基质的复杂性,样品前处理的方法选择会直接影响到茶叶 OTA 检测结果的准确性和可重现性。而目前茶叶中的 OTA 研究仍主要集中于茶叶成品的 OTA 检测和安全性评估,尚未见单独针对茶叶中 OTA 分离纯化和检测分析方法的研究,这给茶叶中 OTA 的暴风险评估带来了极大的不确定性。此外,由于已有研究中,被测样品的来源和加工条件仓储状态等信息不明,正常生产仓储的茶叶到底有没有可能存在 OTA,哪些情况会加大 OTA 在茶叶中的污染风险,也还有待进一步研究评估。因此,后续研究中,应加大关于样品来源的监管和设计,重视茶叶中 OTA 的前处理方法和分析手段研究,提高相关实验设计和技术手段的水平,增强研究结果的准确性和可靠性,为茶叶中的 OTA 风险评估提供科学依据和有力支撑。

4.2 应客观认识微生物这把双刃剑, 加强茶叶生产仓储中的真菌毒素风险控制

随着茶业的发展,茶叶的各种养生保健功效逐渐被人们所熟知,但其潜在的微生物安全风险尚未引起足够重视。哪怕是微生物参与度很高的黑茶,人们大都关注其有益微生物对品质形成的有利面,往往忽视了其可能潜在的毒害风险。现有研究结果显示茶叶中存在较多可能产 OTA 的真菌,且生产加工和贮

藏过程中的温湿度与 OTA 产毒菌的适宜生长和产毒条件存在一定程度的重合,有可能会诱发真菌产毒。而 OTA 检测结果也显示茶叶中存在一定的 OTA 污染风险。

另一方面,已有大量文献研究表明^[84-86],绿茶、红茶、黑茶、普洱茶等都具有解毒作用,可能抑制产毒真菌的生长或产毒并降低真菌毒素的毒性;且酵母、曲霉、根霉、乳杆菌、芽孢杆菌、短杆菌等对 OTA 具有脱毒作用(包括吸附、转化和降解等可能途径)。这也预示着,在茶叶加工过程中的有益微生物和某些活性成分有可能对 OTA 有一定的抑制作用,这也值得我们后期进一步开展相关研究。

因此,应加强茶叶加工和仓储过程中的微生物污染风险控制,开展茶叶特别是黑茶中 OTA 污染情况及检测方法研究,科学评估茶叶中 OTA 对人体健康的潜在风险,制定相应毒素限量标准;发展快速、灵敏、简便的检测筛选 OTA 产生菌的方法进而建立生物防治体系,并对 OTA 的生物学作用及其作用机制做更深入的研究,精确解析有害微生物的产生条件和有毒菌株的产毒可能性,进一步确立在茶叶加工、仓储环节中抑制 OTA 产生菌株的生长繁殖的方法,从源头上解决 OTA 的污染问题。

5 总结与展望

茶叶存储过程中,因干燥包装或存放条件不当引起茶叶吸湿受潮都可能造成真菌污染;而黑茶等微生物发酵茶叶在渥堆发酵过程中,由于多种类型真菌的参与,更是容易增加真菌毒素污染的风险。基于 OTA 产毒菌种类繁多,适宜和产毒条件与黑茶仓储和发酵过程中的条件有较大程度的重合,且 OTA 可水溶转移到茶汤,不易降解,因此其在茶叶中的安全

性风险值得引起我们的关注和重视。然而值得注意的是,由于目前对茶叶中 OTA 的检测方法和样品前处理方法的研究不够,且现有文献中有一大部分没有写明其样品来源和具体的样品前处理方法,不排除存在假阳性情况的可能,不足以作为茶叶中 OTA 的安全性风险评估提供坚实可靠的依据,因此还有待进一步的研究确证。另外,由于茶叶基质和微生物互作等复杂性,茶叶加工过程中的有益微生物和某些活性成分可能对 OTA 有一定的抑制作用,这也值得我们后期进一步开展相关研究。因此,茶叶中潜在的 OTA 污染风险,值得引起重视,但也不宜过分夸大,关键在于监测方法和防控措施的跟进,从而有效保障茶叶的规范化生产和安全化品饮。

参考文献

- [1] Marin S, Ramos A J, Cano-Sancho G, et al. Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment[J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 60: 218–237.
- [2] Bhat R, Rai R V, Karim A A. Mycotoxins in food and feed: Present status and future concerns[J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2010, 9(1): 57–81.
- [3] Van der Merwe K J, Steyn P S, Fourie L. Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus* Wilh[J]. *Nature*, 1965, 205(976): 1112–1113.
- [4] Annie P L, Richard A, Manderville. Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2007, 51: 61–99.
- [5] IARC. Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins[M]. World Health Organization, 1997.
- [6] 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.
- [7] Jonathan P H, Peter G M. Biosynthesis of ochratoxins by *Aspergillus ochraceus*[J]. *Phytochemistry*, 2001, 58: 709–716.
- [8] Kong W J, Wei R W, Antonio F L, et al. Occurrence of toxigenic fungi and determination of mycotoxins by HPLC-FLD in functional foods and spices in China markets[J]. *Food Chemistry*, 2014, 146: 320–326.
- [9] Antonia G, Kenneth S B, Michele S, et al. New insight in the ochratoxin A biosynthetic pathway by deletion of an nrps gene in *Aspergillus carbonarius*[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2012, 78: 1–37.
- [10] 郝俊冉, 许文涛, 黄昆仑. 赭曲霉毒素 A 生成转化及致毒机制的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(12): 427–433.
- [11] 彭娅萍, 杨其亚, 张晓云, 等. 葡萄上赭曲霉毒素 A 产生机制及生物检测方法研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2016, 42(6): 236–242.
- [12] 王健, 成桂红, 阮若云, 等. 动物源性食品中赭曲霉毒素 A 污染概况及检测方法研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(16): 4212–4217.
- [13] Alborch L, Bragulat M, Abarca M, et al. Effect of water activity, temperature and incubation time on growth and ochratoxin A production by *Aspergillus niger* and *Aspergillus carbonarius* on maize kernels[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2011, 147: 53–57.
- [14] Ostry V, Malir F, Dofkova M, et al. Ochratoxin A dietary exposure of ten population groups in the Czech Republic: Comparison with data over the world[J]. *Toxins*, 2015, 7(9): 3608–3635.
- [15] Mitchell N J, Chen C, Palumbo J D, et al. A risk assessment of dietary ochratoxin A in the United States[J]. *Food Chem Toxicol*, 2017(100): 265–273.
- [16] Cappozzo J, Jackson L, Lee H J, et al. Occurrence of ochratoxin A in infant foods in the United States[J]. *J Food Protect*, 2017, 80(2): 251.
- [17] Kamali A, Mehni S, Kamali M, et al. Detection of ochratoxin A in human breast milk in Jiroft city, south of Iran[J]. *Curr Med Mycol*, 2017, 3(3): 1–4.
- [18] Pattono D, Gallo P F, Civera T. Detection and quantification of ochratoxin A in milk produced in organic farms[J]. *Food Chemistry*, 2011, 127(1): 374–377.
- [19] Malir F, Ostry V, Pfohl-Leszkowicz A. Ochratoxin A: 50 years of research[J]. *Toxins*, 2016, 8(7): 191.
- [20] Annie P L, Petkova-Bocharova T, Chernozemsky IN, et al. Balkan endemic nephropathy and associated urinary tract tumours: A review on aetiological causes and the potential role of mycotoxins[J]. *Food Addit Contam*, 2002, 19(3): 282–302.
- [21] Annie P L, Manderville R A. Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2007, 51: 61–99.
- [22] 佟翠, 张诗萌, 李鹏, 等. 赭曲霉毒素 A 免疫毒性研究进展[J]. *动物医学进展*, 2019, 40(3): 106–109.
- [23] 陈光明, 刘建军, 刘桂兰, 等. 霉菌毒素的研究进展[J]. *畜牧与饲料科学*, 2014, 35(12): 122–124.
- [24] 刘彬. 不同温度和湿度下赭曲霉在葡萄干表面的生长和赭曲霉毒素 A 的积累[J]. *食品研究与开发*, 2010, 31(10): 174–177.
- [25] European Commission. Commission Regulation (EC). No1881/2006 amending Regulation(EC) as regards ochratoxin A[S]. Official Journal of the European Union, 2006.
- [26] 中华人民共和国卫生部. GB 2761-2017 食品安全国家标准食品中真菌毒素限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [27] Duarte S C, Lino C M, Pena A. Food safety implications of ochratoxin A in animal-derived food products[J]. *Vete J*, 2012, 192(3): 286–292.
- [28] Varga J, Kozakiewicz. Ochratoxin A in grapes and grape-derived products[J]. *Trends in Food Science and Technology*, 2006, 17: 72–81.
- [29] 王希春. 农产品中两种真菌毒素蛋白质芯片检测技术的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2010.
- [30] Duarte S, Pena A, Lino C. A review on ochratoxin A occurrence and effects of processing of cereal and cereal derived food products[J]. *Food Microbiology*, 2010, 27: 187–198.
- [31] Iqbal S Z, Nisar S, Asi M R, et al. Natural incidence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in chicken meat and eggs[J]. *Food Control*, 2014, 43(8): 98–103.
- [32] Ferrara M, Magistà D, Epifani F, et al. Study of gene

- expression and OTA production by *Penicillium nordicum*, during a small-scale seasoning process of salami[J]. *Int J Food Microbiol*, 2016(227): 51–55.
- [33] Ferrara M, Magistà D, Lippolis V, et al. Effect of *Penicillium nordicum*, contamination rates on ochratoxin A accumulation in dry-cured salami[J]. *Food Control*, 2016(67): 235–239.
- [34] Sanchez-Hervas M, Gil J, Bisbal F, et al. Mycobiota and mycotoxin producing fungi cocoa beans[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2008, 125: 336–340.
- [35] 王海英, 张红印, 杨其亚, 等. 葡萄赭曲霉毒素污染及其产毒素菌株的筛选方法研究进展[J]. *食品工业科技*, 2015, 36(10): 369–372.
- [36] Swamy H V, Smith T K, Cotter P F, et al. Effects of feeding blends of grains naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on production and metabolism in broilers[J]. *Poult Sci*, 2002, 81(7): 966–975.
- [37] Horie Y. Productivity of ochratoxin A of *Aspergillus carbonarius* in *Aspergillus* cection Nigri[J]. *Nippon Kingakukai Kaiho*, 1995, 36: 73–76.
- [38] 郝俊冉. 谷胱甘肽和锌离子缓解赭曲霉毒素毒性的组学研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2015.
- [39] Arroyo M, Aldred D, Magan N. Environmental factors and weak organic acid interactions have differential effects on contro of growth and ochratoxin A production by *Penicillium verrucosum* isolates in bread[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2005, 98: 223–231.
- [40] Esteban A, A barca M, Bragulat M, et al. Study of the effect of water activity and temperature on ocharatxin A production by *Aspergillus cabonarius*[J]. *Food Microbiology*, 2006, 23: 634–640.
- [41] Dutta S, Dutta B K, Nath P K. Some observations on the aeromycoflora of tea factory in Cachar, District, Assam[J]. *Assam Univ J Sci Tech*, 2010, 4(1): 13–19.
- [42] Dutta B K, Dutta S, Nath P K. Mycotoxin production potential of mycoflora in tea[J]. In *Economic Crisis in Tea Industry*, 2008: 221–232.
- [43] R ezacova V, Kubatova A. Saprobic microfungi in tea based on *Camellia sinensis* and on other dried herbs[J]. *Czech Mycol*, 2005, 57: 79–89.
- [44] Carraturo F, De C O, Troisi J, et al. Comparative assessment of the quality of commercial black and green tea using microbiology analyses[J]. *BMC Microbiol*, 2018, 18: 4.
- [45] Elshafie A E, Al-Lawatia T, Al-Bahry S. Fungi associated with black tea and tea quality in the Sultanate of Oman[J]. *Mycopathologia*, 1999, 145: 89–93.
- [46] Storari M, Dennert F G, Bigler L, et al. Isolation of mycotoxins producing black *Aspergilli* in herbal teas available on the Swiss market[J]. *Food Control*, 2012, 26: 157–161.
- [47] Zhao Z J, Tong H R, Zhou L, et al. Fungal colonisation of Pu-erh tea in Yunnan[J]. *Food Safety*, 2010, 30(4): 769–784.
- [48] 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: 316–322.
- [49] Zhao Z J, Hu X C, Liu Q J. Recent advances on the fungi of Pu-erh ripe tea[J]. *Intern Food Res J*, 2015, 22: 1240–1246.
- [50] Abe M, Takaoka N, Idemoto Y, et al. Characteristic fungi observed in the fermentation process for puer tea[J]. *Int J Food Microbiol*, 2008, 124(2): 199–203.
- [51] 杨瑞娟, 吕杰, 严亮, 等. 普洱茶渥堆发酵中嗜热真菌的分离和鉴定[J]. *茶叶科学*, 2011, 31(4): 371–378.
- [52] Zhao M, Zhang D, Su X, et al. An integrated metagenomics/metaproteomics investigation of the microbial communities and enzymes in solid-state fermentation of Pu-erh tea[J]. *Scientific Reports*, 2015(5): 1–10.
- [53] 邓秀娟. 应用红曲菌发酵普洱茶的微生物群落结构及理化品质动态变化[D]. 昆明: 云南农业大学, 2016.
- [54] 骆爱国. 普洱茶固态发酵高温阶段微生物的动态变化规律研究[D]. 昆明: 云南农业大学, 2017.
- [55] Zhao M, Xiao W, Ma Y, et al. Structure and dynamics of the bacterial communities in fermentation of the traditional Chinese post-fermented pu-erh tea revealed by 16S rRNA gene clone library[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2013, 29(10): 1877–1884.
- [56] Lyu C, Chen C, Ge F, et al. A preliminary metagenomic study of puer tea during pile fermentation[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2013, 93(13): 3165–3174.
- [57] 胥伟. 四川康砖茶渥堆过程中真菌种群的鉴定[D]. 雅安: 四川农业大学, 2010.
- [58] 赵仁亮. 茯砖茶加工中微生物演变及对品质形成影响的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2012.
- [59] Xu A, Wang Y, Wen J, et al. Fungal community associated with fermentation and storage of Fuzhuan brick-tea[J]. *Int J Food Microbio*, 2011, 146(1): 14–22.
- [60] 陈庆金, 黄丽, 滕建文, 等. 基于 Miseq 测序分析六堡茶陈化初期真菌多样性[J]. *食品科技*, 2015, 40(8): 67–71.
- [61] 钟涛, 齐桂年, 胥伟, 等. 藏茶贮存过程中真菌种群的鉴定[J]. *贵州农业科学*, 2010, 38(10): 101–103.
- [62] 周才碧, 陈文品, 吴钟玲, 等. 普洱茶优势菌株黑曲霉的分离及其功能和安全性研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(3): 1006–1010.
- [63] 周才碧, 陈文品, 赵振军, 等. 普洱茶优势菌株赭曲霉的功能和安全性研究[J]. *食品研究与开发*, 2015, 36(24): 160–163.
- [64] 徐书泽. 六堡茶真菌的多样性分析[D]. 南宁: 广西大学, 2014.
- [65] Irina S, Mariya K, Victor T, ea al. Mycotoxins in Tea: Occurrence, methods of determination and risk evaluation[J]. *Toxins*, 2018, 10: 444.
- [66] Mogensen J M, Varga J, Thrane U, Frisvad J C. *Aspergillus acidus* from Pu-erh tea and black tea does not produce ochratoxin A and fumonisin B-2[J]. *Int. J. Food Microbiol*, 2009, 132: 141–144.
- [67] Ahmet E, Selahatti S. Mycotoxin-forming ability of two *penicillium roqueforti* strains in blue moldy tulum cheese ripened at various temperatures[J]. *Journal of Food Protection*, 2004, 67(3): 533–535.
- [68] 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.

- [69] 柳其芳. ELISA法测定发酵茶和植物香料真菌毒素的污染[J]. 中国热带医学, 2011, 11(11): 1381-1409.
- [70] 刘妍, 谭贵良, 刘子雄, 等. 发酵茶中多种真菌毒素超高效液相色谱-串联质谱法的测定[J]. 现代食品科技, 2016, 32(8): 322-327.
- [71] 陈秋娥. 普洱茶中霉菌毒素之研究论文[D]. 台北: 国立台湾大学, 2003.
- [72] Monbaliu S, Wu A, Zhang D, et al. Multimycotoxin UPLCMS/MS for tea, herbal infusions and the derived drinkable products[J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(24): 12664-12671.
- [73] 莫瑾, 龚强, 周慧平, 等. 高效液相色谱-串联质谱法检测茶叶中的赭曲霉毒素 A[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(1): 182-187.
- [74] Mogensen J M, Varga J, Thrane U, et al. *Aspergillus acidus* from puerh tea and black tea does not produce ochratoxin A and fumonisin B2[J]. *Int J Food Microbiol*, 2009, 132(2/3): 141-144.
- [75] Hou C W, Jeng K C, Chen Y S. Enhancement of fermentation process in pu-erh tea by tea-leaf extract[J]. *J Food Sci*, 2010, 75(1): 44-48.
- [76] Wang Q P, Bojan S, Jasna J, et al. Evaluation of microbial toxins, trace elements and sensory properties of a high-theabrownins instant Pu-erh tea produced using *Aspergillus tubingensis* via submerged fermentation[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2019, 54(5): 1541-1549.
- [77] Frantisek M, Vladimir O, Annie P L, et al. Transfer of ochratoxin A into tea and coffee beverages[J]. *Toxins*, 2014, 6: 3438-3453.
- [78] Wang Y, Zhang N N, Luo L N, et al. Research progress on detection methods of ochratoxin A[J]. *Chin J Hyg Lab*, 2014(5): 757-760.
- [79] Cladière M, Delaporte G, Le R E, et al. Multi-class analysis for simultaneous determination of pesticides, mycotoxins, process-induced toxicants and packaging contaminants in tea[J]. *Food Chemistry*, 2018, 242: 113-121.
- [80] Al-Hazmi N. Determination of patulin and ochratoxin A using HPLC in apple juice samples in Audi Arabia[J]. *Audi Journal of Biological Sciences*, 2010, 17: 353-359.
- [81] 吴凤琪, 岳振峰, 张毅, 等. 食品中主要霉菌毒素分析方法的研究进展[J]. 色谱, 2020, 38(7): 759-767.
- [82] 桑晓霞, 马江媛, 黄登宇. 赭曲霉毒素 A 检测方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(21): 7271-7277.
- [83] 徐超莲, 赖卫华, 刘道峰. 胶体金免疫层析法检测食品中天然存在的危害物质的研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(5): 257-261.
- [84] 龙森, 李颜鹏, 任艳苗, 等. 微生物对赭曲霉毒素 A 脱毒作用研究进展[J]. *动物医学进展*, 2014, 35(6): 132-135.
- [85] 贾欣, 徐诗涵, 梁志宏, 等. 赭曲霉毒素 A 的微生物脱毒研究进展[J]. 生物技术通报, 2014, 12: 18-22.
- [86] Najim T, Katharina B, Markus S H, et al. Arginine acts as an inhibitor of the biosynthesis of several mycotoxins[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2016, 235: 46-52.