

Organohalogen compounds, 2003, 60:420—423.

- [33] Chia-Swee Hong, Brian Bush. Isolation and determination of mono-ortho and non-ortho substituted PCBs (coplanar PCBs) in human milk by HPLC porous graphitic carbon and GC/ECD[J]. Chemosphere, 1992, 24:465—473.
- [34] L Aspönd, A-K Grafström, P Haglund, et al. Analysis of

non-ortho polychlorinated biphenyls and polychlorinated naphthalenes in Swedish dioxin survey samples[J]. Chemosphere, 1990, 20:1481—1488.

[收稿日期:2004-09-10]

中图分类号:R15;O652.4 文献标识码:E 文章编号:1004-8456(2004)06-0540-06

## 赭曲霉毒素 A 分析方法进展

李凤琴

(中国疾控中心营养与食品安全所,北京 100021)

**摘要:**赭曲霉毒素 A(Ochratoxin A, OTA)是曲霉属和青霉属的某些菌种产生的一种具有致癌、致畸、免疫抑制和肝肾毒性的有毒代谢产物,世界上许多国家已制定了食品中 OTA 的相关法规和标准,而准确、可靠、灵敏的分析 OTA 方法是法规标准实施的重要依据。有机溶剂与酸(或碳酸氢钠)的混合溶液是提取食品中 OTA 的常用溶剂系统;含有 OTA 提取液的净化手段包括液液分配、固相柱萃取和免疫亲和层析等;反相液相色谱配荧光检测器、酶联免疫吸附法和液相色谱/质谱联用是分析 OTA 的常用方法,本文就 OTA 的检测方法进行综述。

**关键词:**食品;曲霉;赭;研究技术

### Methods for ochratoxin A analysis

Li Fengqin

(National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese CDC, Beijing 100021, China)

**Abstract:** The mycotoxin ochratoxin A (OTA) is produced by some strains of fungi *Aspergillus alutaceus* and *Penicillium verrucosum* and has carcinogenic, nephrotoxic, teratogenic and immunosuppressive properties. The levels of OTA in foodstuffs are regulated in several countries, so reliable and sensitive methods are necessary for its determination. Procedures for extraction of OTA from foods generally use an organic solvent in the presence of acid or an extraction solvent containing aqueous sodium bicarbonate. Cleanup procedures include partition into aqueous sodium bicarbonate, solid phase extraction (SPE) columns and immunoaffinity chromatography. Widely used determinative procedures include reversed phase liquid chromatography (LC) with detection by fluorescence, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and HPLC/tandem mass spectrometry. Methods for OTA analysis are reviewed.

**Key Words:** Food; *Aspergillus ochraceus*; Investigative Techniques

赭曲霉毒素(ochratoxin)是曲霉属和青霉属的某些菌种产生的一组结构类似,主要危及人和动物肾脏的有毒代谢产物,包括赭曲霉毒素 A(ochratoxin A, OTA)、赭曲霉毒素 B(ochratoxin B, OTB)、赭曲霉毒素 C(ochratoxin C, OTC)、赭曲霉毒素 D(ochratoxin D, OTD)、OTA 的甲酯以及 OTB 的甲酯和乙酯等化

合物,均是异香豆素联结 L-苯丙氨酸的衍生物,其中毒性最大、与人类健康关系最密切、在农作物中污染水平最高、分布最广的是 OTA。OTA 主要由纯绿青霉(*Penicillium verrucosum*)、赭曲霉(*Aspergillus ochraceus*)和碳黑曲霉(*A. carbonarius*)产生,以污染

基金项目:国家“十五”科技攻关项目(2001BA804A20)

作者简介:李凤琴 女 副研究员

This work was supported by the Grant from National Science and Technology Program Funds of Ministry of Science and Technology, China. (2001BA804A20)

粮谷类、树果、葡萄及葡萄酒、咖啡、可可和巧克力、中草药、调味料、啤酒等多种农作物和食品为主,动物饲料中 OTA 的污染也非常严重。在世界某些地区,该毒素被怀疑与猪和人真菌毒素肾病有关,并在流行区人血液中检出该毒素。由于 OTA 在动物体内非常稳定,不易被代谢解毒,因此动物性食品,尤其是猪的肾脏、肝脏、肌肉、血液、奶和奶制品等中常有 OTA 检出,人通过进食被 OTA 污染的农作物和动物组织暴露于 OTA。

OTA 为无色结晶,易溶于水和碳酸氢钠溶液中,在极性有机溶剂中稳定,冷藏条件下其乙醇溶液可稳定 1 年以上,但在谷物中随时间延长而降解。在苯-冰乙酸(99:1,体积分数)溶液中的最大吸收峰波长为 333 nm,分子量为 403,摩尔消光系数为 5 550,OTA 的上述理化性质是建立其分析方法的基础。本文就食品及饲料中 OTA 的检测方法进行综述。

## 1 食品及饲料中 OTA 的提取

从食品和饲料中提取 OTA,一般选用毒性小、极性大、价格低廉的溶剂。近几年,世界各国相继创建了一系列从食品和农产品中提取 OTA 的方法,并针对食品基质的特性和 OTA 的性质发展了许多优化的复合提取溶剂系统,分述如下。

### 1.1 固体食品基质中 OTA 的提取

从固体食品和饲料中提取 OTA 通常选用有机溶剂与酸性溶液(磷酸、乙酸或柠檬酸等)或碳酸氢钠溶液的混合提取系统,经典的提取溶剂系统是三氯甲烷-0.1 mol/L 磷酸(10:1,体积分数)、二氯甲烷-乙醇-0.1 mol/L 磷酸(8:2:1,体积分数),并根据食品基质成分的不同加以调整,如甲醇-水、甲醇-氯化钾溶液、甲醇-磷酸盐缓冲液(pH 7.4)、甲醇-磷酸溶液、甲醇-抗坏血酸溶液等是从粮食中提取 OTA 的常用溶剂,其中甲苯-乙酸(99:1,体积分数)或甲苯-2 mol/L 盐酸-0.42 mol/L 氯化镁(8:8:4,体积分数)则是提取小麦中 OTA 的首选溶剂;新鲜或烤咖啡豆中 OTA 的提取则常用甲醇-1%碳酸氢钠溶液。<sup>[1~3]</sup>为减少氯元素对环境的污染,在定量检测猪肾脏中 OTA 时多选用乙酸乙酯取代三氯甲烷或二氯甲烷。由于乙腈具有提取毒素效果好、干扰杂质少的优点,因此无论食品基质呈酸性、中性还是碱性,乙腈均是提取 OTA 的首选有机溶剂。用乙腈-1%磷酸溶液提取咖啡豆和粮食中的 OTA,其回收率最高。<sup>[3]</sup>Biancardi (1996) 的实验结果显示,由于乙酸可与有机溶剂有效混合,并在试样净化前完全蒸发掉,因此用乙腈-3%乙酸溶液提取粮食中的

OTA 效果最佳。<sup>[4]</sup>但由于乙腈的毒性较甲醇大、价格高,因此实际工作中多选用甲醇。此外也可用不含任何有机溶剂的无机溶液(1%碳酸氢钠或纯水)结合超声波处理提取咖啡中的 OTA,其平均回收率均达 70%以上。大量的实验结果显示,试样净化步骤中若采用免疫亲和层析柱(immuno-affinity chromatography, IAC)或固相萃取柱(solid phase extraction, SPE),不同的提取溶剂对分析结果无影响。

### 1.2 液体食品基质中 OTA 的提取

提取液体食品如啤酒、葡萄酒、奶、咖啡饮料中 OTA 的溶剂选择见表 1。<sup>[5~8]</sup>

表 1 液体食品中 OTA 提取的常用溶剂系统

食品基质	提取溶剂和方法
葡萄酒和葡萄汁	先用三氯甲烷提取,继而用磷酸酸化
啤酒、葡萄酒和葡萄汁	甲苯-2 mol/L 盐酸-0.4 mol/L 氯化镁(8:8:4,体积分数)
奶	先加入乙醇和 1 mol/L 盐酸,然后用三氯甲烷提取
咖啡饮料	先用甲醇处理,继而用三氯甲烷和 2% 的盐酸提取
葡萄酒	先用等体积 1% 的聚乙二醇和 5% 碳酸氢钠混合溶液稀释,过滤后直接上 IAC 柱
啤酒	过滤脱气后直接上 IAC 柱
啤酒	5 ml 脱气啤酒中加入 1 ml 2% 碳酸氢钠和 15% 氯化钠溶液混合后,直接上 IAC 或 C <sub>18</sub> SPE 柱

1.3 动物血液和组织中 OTA 的提取 强酸环境是从富含蛋白质食品基质中提取 OTA 所必需的。分析动物血液和组织中 OTA 常用的提取溶剂是三氯甲烷与磷酸/盐酸、氯化镁/氯化钠(提高离子强度)的混合溶液或甲醇-水溶液(1:1,体积分数),在 pH 2.5 或更低的条件下进行,为分层充分,常需对提取后的溶液离心。为了降低血液和动物组织蛋白对实验结果的干扰,同时使与某些蛋白质结合的 OTA 有效释放出来以提高方法的回收率,常在提取溶剂系统中适当加入一些蛋白水解酶。如在 50℃ 条件下将枯草杆菌蛋白酶 A 或木瓜蛋白酶加到 pH 9~10 的甲醇-水(1:1,体积分数)溶液中,通过透析方法提取猪肾脏中的 OTA,其回收率是未加酶提取方法的 2 倍。Dietrich 等的研究结果表明,牛奶经酶处理后上 IAC 柱,OTA 的回收率高于未经酶处理的牛奶。<sup>[9,10]</sup>

## 2 净化

对 OTA 提取液进行净化的方法包括加入澄清剂(如硫酸铜、硫酸铵、氰亚铁酸钾、醋酸锌和醋酸溶液)、液液分配、柱色谱净化(硅胶柱、商品化 SPE 和 IAC 柱等)。其中硅胶 SPE 柱色谱法是欧洲各实验室进行小麦中 OTA 分析比对研究时最常用的净化方法。C<sub>18</sub> SPE 柱色谱法虽然是净化猪肾脏提取液的首选,但欧洲许多实验室采用的硅胶柱、IAC 柱色

谱法和碳酸氢钠液分配等方法的净化效果与 C<sub>18</sub> SPE 柱色谱法相当。

2.1 液液分配 净化 OTA 常用的液液分配方法是先将 OTA 经液液分配转移到 NaHCO<sub>3</sub> 或 NaOH 溶液中,酸化后用二氯甲烷或三氯甲烷提取。

2.2 柱色谱法 最早由 AOAC 颁布分析 OTA 的两种官方方法中均采用硅藻土柱对试样进行净化,装硅藻土前柱内注入 5% 或 1.25% 的 NaHCO<sub>3</sub> 溶液。试样提取液先用正己烷和三氯甲烷去除杂质,然后用苯-乙酸(98:2,体积分数)或三氯甲烷-蚁酸(99:1,体积分数)洗脱 OTA。也可以采用内部充盈 1%NaHCO<sub>3</sub> 溶液的商品化 Extrelut 柱对 OTA 进行净化。此后 AOAC 又颁布了用液液分配方法先将 OTA 转入 3% 碳酸氢钠溶液中,继而将此溶液上 C<sub>18</sub> SPE 柱净化,用乙酸乙酯-甲醇-乙酸(90:5:0.5,体积分数)洗脱的方法。<sup>[11]</sup>

近年来,净化效果优良、一次性使用的商品化 SPE 净化柱逐渐取代了两有机相间液液分配后再进行硅胶柱层析的方法,这些商品化的 SPE 柱包括 IAC 柱、分配色谱柱(硅藻土柱)、吸附色谱柱(C<sub>18</sub> 柱、弗罗里砂土柱)、弱离子交换柱(如苯基、氰基和二乙氨基弱离子交换柱)和三甲氨基强离子交换柱(strong anion exchange, SAX)等。相比之下,离子交换柱比硅藻土柱和 C<sub>18</sub> 柱的特异性更强,且由于离子交换柱价格低廉,因此成为尚无使用 IAC 柱的实验室进行 OTA 柱色谱净化的首选。

IAC 柱是近几年新发展起来的用于净化食品提取液中真菌毒素的一门技术,其优点是特异性强、可有效去除干扰杂质,但缺点是价格昂贵、保质期短、须冷藏保存、上柱的毒素量和样品量受限等。经 IAC 柱处理的试样提取液常常配高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)、荧光比色计、毛细管电泳检测,可用 IAC 柱分析 OTA 的食品种类和检测限,见表 2。目前世界上已有 3 家公司研制开发出了广泛用于食品(粮食及其制品、咖啡、啤酒、葡萄酒、牛奶、肉、人体组织液)及饲料中 OTA 检测的商品化 IAC 柱,分别是 Rhône - 诊断技术公司的 Ochraprep 柱和 Ochrascan 柱、美国维康(Vicam)公司的 Ochra Test<sup>TM</sup> 柱和德国拜发公司(R-Biopharm)的 RIDA OA 柱。由于不同食品基质所用的提取溶剂不同,提取液中所含的非测定成分和含量各异,对净化所用 IAC 柱的影响也不尽相同,因此在上 IAC 柱前对试样提取液的处理方法也不一样。如咖啡中的咖啡因由于影响 IAC 柱的净化效果,因此咖啡提取液上 IAC 柱前需先经 SPE 柱预处理。净化处理后的试样提取液进行 HPLC 检测,检测限液体

表 2 IAC 柱在食品、饲料和生物体液 OTA 分析中的应用<sup>[1,8,10,12~18]</sup>

食品基质	方法检出限(HPLC, μg/kg)
新鲜或烤咖啡豆	0.03 ~ 0.50
速溶咖啡	0.1 ~ 0.5
含咖啡饮料	0.025
粮食及其制品	0.02 ~ 0.25
啤酒	0.001 ~ 0.100
辣椒粉	0.2
豆类	0.1
葡萄酒和葡萄汁	0.003 ~ 0.010
肉、香肠	0.02 ~ 0.20
葡萄干	0.2
人血浆/奶	0.005 ~ 0.010
牛奶	0.005
宠物饲料	0.3

食品或体液为 0.001 μg/kg,固体食品为 0.02 μg/kg,回收率高达 91% ~ 99% (见表 2)。

由于净化 OTA 的 IAC 柱特异性不强,易受 OTA 同系物如 OTC(存在于柚子汁中,HPLC 分析时其保留时间与 OTA 非常接近)和食品中污染的其他真菌毒素如黄曲霉毒素的干扰,因此美国 Vicam 公司近来研发出用于同时分离净化食品和宠物饲料中 OTA 和黄曲霉毒素的 AflaOchra HPLC<sup>TM</sup> IAC 柱,其优点是两类真菌毒素的净化可同步完成。如前所述,IAC 柱的缺点之一是成本高,能否将柱子再利用一直是各国科学家研究的重点。大量实验结果表明,使用后的 IAC 柱用含叠氮钠的 PBS 缓冲液反复冲洗后可重复使用。<sup>[19,20]</sup>此外,动物和人体组织液中 OTA 的净化也采用凝胶渗透和反相 TLC 等方法。

### 3 检测

OTA 为有机酸,可溶于碳酸氢钠和多种有机溶剂中,这是建立检测 OTA 方法的基础。目前报道用于检测 OTA 的定性方法有微柱法,定量分析方法有薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)、高效薄层色谱法(high performance thin layer chromatography, HPTLC)、HPLC、酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)和荧光比色法等。

3.1 微柱法 目前微柱法在食品和农产品中 OTA 检测方面的应用极少,柱内填充剂多采用硅胶或硅胶/氧化铝,灵敏度较低(12 ~ 80 μg/kg),根据 OTA 在柱下端形成的绿色荧光带判断被分析基质是否被 OTA 污染。

3.1 TLC TLC 法检测大麦和咖啡豆中 OTA 的方法分别于 1973 年和 1975 年第一次通过成为 AOAC 的官方方法,1988 年最后通过成为 AOAC 法定方法。样品经提取、液液分配净化后点硅胶 G 薄层板,经酸性展开剂展开后,根据 OTA 在长波紫外灯下产生绿色荧光,喷以甲醇碳酸氢钠溶液或用氨气

熏蒸后荧光变为蓝色的特性对结果予以判断,同时进行薄层色谱扫描进行定量。TLC方法的检测限因检测系统和待测食品基质不同而异,粮食可达10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,动物产品低于1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,大米和椰子为2.4~4  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。双向HPILC配荧光光密度法分析大米中的OTA,检测限可达12  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,而HPILC检测小麦中的OTA,检测限可提高到0.7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。<sup>[19,21]</sup>我国于1991年颁布了检测小麦、玉米和大豆中OTA的TLC国家标准检测方法,检测限为10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。<sup>[22]</sup>

**3.3 HPLC** HPLC方法是用于分析谷物、宠物食品、咖啡、啤酒、葡萄酒、葡萄汁、葡萄干、牛奶、肾脏及其它肉类食品、人和动物组织液中OTA的灵敏方法。最常用的是反相液相色谱法,色谱柱为 $\text{C}_{18}$ 反相色谱柱,采用荧光检测器(检测器光源氙气灯优于氩气灯),激发光波长范围330~340 nm,发射光波长范围420~470 nm,流动相通常选用乙腈或甲醇与磷酸或醋酸不同配比的混合液(pH 2.3~3.6)。

由于HPLC分析OTA时信号较弱,因此常用改变流动相条件来增强荧光信号、提高检测灵敏度,具体视所分析的食品基质不同而异。常用的方法包括使用离子对试剂、柱后衍生或碱处理、使用碱性流动相等。分析咖啡制品、人血浆和干酪中的OTA时常用离子对试剂,通常先制备碱性(pH 7.5~9)或酸性(pH 5.5)的流动相,然后加入毫克分子浓度的十六烷基三甲基铵溴化物/溴化四丁铵/氢氧化四丁铵;分析干酪中的OTA时常用柱后衍生的方法,衍生剂为氯化铯;检测豆类中的OTA时若流动相中加入0.1~0.2 mmol/L的 $\alpha$ -环状糊精,OTA的荧光信号强度可提高15%,且杂质的干扰减少。<sup>[23]</sup>实验证明,碱性流动相可明显提高荧光信号强度,在使用碱性流动相时,若将激发光波长调至375~390 nm,用1.9%~25%的氨水进行柱后处理,则荧光信号强度可提高10倍,信噪比为3时,对OTA标准品的检测限为3 pg。<sup>[24]</sup>

**3.4 免疫学方法** 用于检测OTA的免疫学方法有ELISA和放射免疫法(radioimmunoassay, RIA), ELISA广泛用于谷物、动物组织和血清中OTA的检测, RIA则用于检测谷物及其制品、饲料、猪血清和组织中的OTA。目前用于检测OTA的ELISA方法和商品化试剂盒的相关情况见表3。<sup>[25,26]</sup>由表3可见, ELISA方法中极少采取净化步骤或仅采用简单的净化手段。De Saeger等(1999)创建了适用于小麦中OTA现场快速检测的ELISA方法,由于杂质的干扰,所建方法不适用于大麦和玉米中OTA的分析。<sup>[26]</sup>

抗体与待测毒素反应的专一性是影响ELISA检测结果准确与否的重要因素。不同作者所获得的抗

表3 检测OTA部分ELISA方法和试剂盒相关情况

食品基质	检测限 $\mu\text{g}/\text{kg}$	净化与否
谷物	0.4	+
啤酒	0.1	+
谷物, 饲料	0.4	+
谷物	10	
谷物	10	
食品	0.5	
鸡肉, 小麦粉	1	
大麦	1	+
大麦	0.06	
大麦	5	+
小麦	1	+
肾脏	0.5	+
肾脏	7.8	
牛奶	0.01	+
小麦	<4	
谷物, 饲料	0.5	+
血浆	0.1~0.2	

OTA抗体与其相关结构类似物的交叉反应差异较大。研究结果显示,抗OTA单克隆抗体与其同系物OTC的交叉反应率为15%~20%,与OTB仅有0.08%~0.2%的交叉;Jarkczyk报道,<sup>[25]</sup>商品化检测OTA的RIDASCREEN ELISA试剂盒所用抗体与OTC和OTB的交叉反应率分别为44%和14%;Ruprich等建立的检测OTA的ELISA方法中所用抗OTA多克隆抗体与OTB和OTC的交叉反应率分别为0.01%和1.4%,<sup>[27]</sup>因此获得高特异性抗OTA抗体是创建免疫学方法检测OTA的基础。

**3.5 其他** 检测OTA的方法中尚有荧光比色法,即用羧肽酶A将OTA水解,通过测量其荧光强度的衰减进行定量,该法同时适用于OTB的测定,即在OTA和OTB共存的情况下通过改变反应时间和时间而达到同时检测OTA和OTB的目的。相对而言,OTB较OTA更易被酶水解。该法已被用于猪血中OTA的检测,检测限可达2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。此外,美国Vicam公司尚建立了分析食品和饲料中OTA的免疫亲和柱-荧光法,检测限为1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,测定范围为0~100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

#### 4 确证

OTA确证实验的基础是化学和酶解反应。其中最简单的方法是其分子中的羧基在 $\text{H}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{BF}_3$ 或HCl催化下与甲醇、乙醇和异丙醇发生酯化反应,所形成的酯类化合物用与检测OTA相同的色谱条件进行分析,通过OTA和其酯类化合物色谱峰高比值变化进行确证,最常用的是重氮甲烷与OTA反应生成OTA甲酯,若样品中OTA阳性,则HPLC色谱图上不出现OTA峰而出现OTA甲酯峰。另一种确证

方法是用羧肽酶 A 将 OTA 水解成赭曲霉毒素,该物质先于 OTA 被洗脱出来。对 OTA 阳性样品进行确证的方法还有 GC/MS 和反相 HPLC/MS, HPLC/MS 确证 OTA 实验的相关指标见表 4。<sup>[12,28,29]</sup>

表 4 反相 HPLC/MS 系统对 OTA 确证的相关参数

分析基质	离子化条件	需监测的子离子峰	定量方法
血浆、咖啡	ESI	[M+H-HCOOH] <sup>+</sup> , [M+H-Phe] <sup>+</sup> , [M+Na-Phe]	加入标准 内标法 外标法
小麦、啤酒、 咖啡	ESI	[M+H-H <sub>2</sub> O-CO] <sup>+</sup> , [M+H-Phe] <sup>+</sup>	外标法
猪肾脏	甲酯 ESI	[M+H-MePhe] <sup>+</sup>	内标 Me(d3)

## 5 展望

鉴于 OTA 的毒性及在食品中的广泛污染,世界各国相继创建或正在改进检测该毒素的方法,而方法的检测限和回收率是评价一种分析方法优劣的重要指标。理想的分析方法应该是简单、快速、准确、有效、灵敏、特异、经济、节省人力物力等。毋庸置疑,随着待测食品种类的扩大和食品基质成分的复杂化,来自食品中非测定成分的干扰越来越多,因此对试样净化、检测手段的要求越高。发展廉价、灵敏、特异、快速的净化手段和检测方法,以此为技术支撑制定限量标准以降低人群暴露,是今后的研究方向。

## 参考文献:

[1] MacDonald S, Wilson P, Barnes K, et al. Ochratoxin in dried vine fruit: method development and survey[J]. Food Addit Contam, 1999, 16:253.

[2] Hurst WJ, Martin A M. High-performance liquid chromatographic determination of ochratoxin A in artificially contaminated cocoa beans using automated sample clean-up[J]. Chromatogr A, 1998, 810:89.

[3] Akiyama H, Chen D, Miyahara M, et al. A rapid analysis of ochratoxin A in coffee beans and cereals[J]. Food Hyg Soc, 1997, 38:406.

[4] Biancardi A, Riberzani A. Determination of ochratoxin A in cereals and feed by SAX-SPE clean up and LC fluorimetric detection[J]. Liq Chromatogr Rel Technol, 1996, 19:2395.

[5] Degelmann P, Becker M, Herderich M, et al. Determination of ochratoxin A in beer by high-performance liquid chromatography[J]. Chromatographia, 1999, 49:543.

[6] Ospital M, Cazabeil J M, Betbeder A M, et al. L'ochratoxine A dans les vins[J]. Rev Fr Oenol, 1998, 169:16.

[7] Nakajima M, Tsubouchi H, Miyabe M. A survey of ochratoxin A and aflatoxins in domestic and imported beers in Japan by immunoaffinity and liquid chromatography [J]. AOAC Int, 1999, 82:897.

[8] Visconti A, Pascale M, Centonze G. Determination of ochratoxin A in wine by means of immunoaffinity column clean up and high-performance liquid chromatography[J]. Chromatogr A, 1999, 864:89.

[9] Valenta H. Chromatographic methods for the determination of ochratoxin A in animal and human tissues and fluids[J]. Chromatogr A, 1998, 815:75.

[10] Dietrich R, Schneider E, Usleber E, et al. Use of monoclonal antibodies for the analysis of mycotoxins [J]. Nat Toxins, 1995, 3:288.

[11] Trucksess M W. Natural toxins[A]. In: Official methods of analysis, chapter 49 [C]. 17th Edition. W Horwitz, ed, AOAC International: Gaithersburg, MD, 2000, 1-53.

[12] Jørgensen K. Survey of pork, poultry, coffee, beer and pulses for ochratoxin A[J]. Food Addit Contam, 1998, 15:550.

[13] Trucksess M W, Gler J, Young K, et al. Determination and survey of ochratoxin A in wheat, barley, and coffee - 1997[J]. AOAC Int, 1999, 82:85.

[14] Patel S, Hazel C M, Winterton A G M, et al. Survey of ochratoxin A in UK retail coffees[J]. Food Addit Contam, 1997, 14:217.

[15] Nakajima M, Tsubouchi H, Miyabe M. A survey of ochratoxin A and aflatoxins in domestic and imported beers in Japan by immunoaffinity and liquid chromatography [J]. AOAC Int, 1999, 82:897.

[16] Bassen B, Brunn W. Ochratoxin A in paprikapulver[J]. Dtsche Lebensm Rundsch, 1999, 95:142.

[17] Zimmerli B, Dick R. Determination of ochratoxin A at the ppt level in human blood, serum, milk and some foodstuffs by high-performance liquid chromatography with enhanced fluorescence detection and immunoaffinity column clean up: methodology and Swiss data[J]. Chromatogr B, 1995, 666:85.

[18] Scudamore KA, Hetmanski M T, Nawaz S, et al. Determination of mycotoxins in pet foods sold for domestic pets and wild birds using linked-column immunoassay clean up and HPLC[J]. Food Addit Contam, 1997, 14:175.

[19] Zimmerli B, Dick R. Study to the repeated use of commercial immunoaffinity columns[J]. Mitt Gebiete Lebensm Hyg, 1996, 87:732.

[20] Nakajima M. Immunoaffinity column for mycotoxins, its problems and solution[A]. In: New horizon of mycotoxicology for assuring food safety, proceedings of the international symposium of mycotoxicology in Kagawa 2003 [C]. Takumi Y Ed, Japanese Association of Mycotoxicology: Tokyo, Japan, 2004, 249-254.

[21] Dawlatana M, Coker R D, Nagler M J, et al. A normal phase HPLC method for the quantitative determination of ochratoxin A in rice[J]. Chromatographia, 1996, 42:25.

[22] GB/T 13111-2003. 谷物和大豆中赭曲霉毒素 A 的测

- 定方法[S].
- [23] Seidel V, Foglits E, Schiller K, et al. Simultaneous determination of ochratoxin A and zearalenone in maize by reversed-phase high performance liquid chromatography with fluorescence detection and  $\beta$ -cyclodextrin as mobile phase additive[J]. *Chromatogr*, 1993, 635:227.
- [24] Zimmerli B, Dick R. Ochratoxin A in table wine and grape-juice: occurrence and risk assessment[J]. *Food Addit Contam*, 1996, 13:655.
- [25] Jarczyk A, J-drychowski L, Wróblewska B, et al. Relationship between ochratoxin A content in cereal grain and mixed meals determined by the ELISA and HPLC methods and an attempt to evaluate their usability for monitoring studies[J]. *Pol J Food Nutr Sci*, 1999, 8/49:53.
- [26] De Saeger S, Van Peteghem C. Flow-through membrane-based enzyme immunoassay for rapid detection of ochratoxin A in wheat[J]. *Food Prot*, 1999, 62:65.
- [27] Ruprich J, Ostry V. Enzyme-immunological assays of the mycotoxin ochratoxin A (in Czech) [J]. *Vet Med*, 1991, 36:245.
- [28] Lau B P Y, Scott P M, Lewis D A, et al. Quantitative determination of ochratoxin A by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry [J]. *Mass Spectrom*, 2000, 35:23.
- [29] Degelmann P, Becker M, Herderich M, et al. Determination of ochratoxin A in beer by high-performance liquid chromatography[J]. *Chromatographia*, 1999, 49:543.
- [收稿日期:2004-09-12]

中图分类号:R15;R117 文献标识码:E 文章编号:1004-8456(2004)06-0545-06

## 阪崎肠杆菌的生物学性状与健康危害

裴晓燕 刘秀梅

(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100050)

**摘要:**阪崎肠杆菌是肠杆菌科的一种,1980年由黄色阴沟肠杆菌更名为阪崎肠杆菌。阪崎肠杆菌能引起严重的新生儿脑膜炎、小肠结肠炎和菌血症,死亡率高达50%以上。目前,微生物学家尚不清楚阪崎肠杆菌的污染来源,但许多病例报告表明婴儿配方粉是目前发现的主要感染渠道。阪崎肠杆菌的生物学性状及其对人群的健康危害受到人们的关注并被报告。

**关键词:**肠杆菌,阪崎;婴儿食品;食品微生物学;婴儿,新生;脑膜炎;结肠炎

### Biological characteristics and health hazards of *Enterobacter sakazakii*: a review

Pei Xiaoyan, Liu Xiumei

(National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese CDC, Beijing 100050, China)

**Abstract:** As a member of the family *enterobacteriaceae*, *Enterobacter sakazakii* was previously referred to as a 'yellow-pigmented *Enterobacter cloacae*' until 1980. *E. sakazakii* can cause severe neonatal meningitis, enterocolitis and bacteremia. Mortality rates from *E. sakazakii* infection have been reported to be higher than 50%. Although studies have failed to identify the environmental source for this organism, a growing number of reports have established that powdered infant formula is the main vehicle of infection. Very little known about the virulence factors and pathogenicity of *E. sakazakii*. This article reviewed the biological characteristics and health hazards of this putative foodborne pathogen.

**Key Words:** *Enterobacter sakazakii*; Infant Food; Food Microbiology; Infant, Newborn; Meningitis; Colitis

阪崎肠杆菌(*E. sakazakii*)是人和动物肠道内寄生的一种革兰阴性无芽孢杆菌,作为肠杆菌科的一种,一直被称为黄色阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*),直到1980年才更名为阪崎肠杆菌,<sup>[1]</sup>该菌是肠道正常菌丛中的一种,在一定条件下可引起人和动物致病。1961年,Franklin等首次报道了2例由阪崎肠杆菌引起的脑膜炎病例。以后相继在世界范围内(美国、冰岛、荷兰等国家)报道了一系列新生儿阪崎

肠杆菌引起的脑膜炎病例。以后相继在世界范围内(美国、冰岛、荷兰等国家)报道了一系列新生儿阪崎

作者简介:裴晓燕 女 硕士

通讯作者:刘秀梅 女 研究员 课题负责人

中国食品卫生杂志

CHINESE JOURNAL OF FOOD HYGIENE

2004年第16卷第6期

— 550 —