

调查研究

北京地区啤酒中赭曲霉毒素 A 污染调查及暴露评估

李楠^{1,2} 江涛² 张宏元² 李燕俊² 计融²

(1. 北京协和医学院公共卫生学院,北京 100730;

2. 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100021)

摘要:目的 了解北京地区出售的啤酒中赭曲霉毒素 A(ochratoxin A, OTA) 的污染水平,评估本地居民对啤酒中 OTA 的暴露水平。方法 采用免疫亲和柱-高效液相色谱-荧光检测器检测法(IAC-HPLC-FD)对啤酒样品中 OTA 污染水平进行测定,并参照欧盟膳食暴露评估方法进行评价。结果 在检测的 87 份啤酒样品中,阳性样品 39 份,阳性率是 44.83%。OTA 的污染水平范围 0.010~0.093 ng/ml,平均污染水平为 0.015 ng/ml,阳性样品的平均污染水平为 0.026 ng/ml。居民每周从啤酒中摄入的 OTA 范围为 0.01~0.50 ng/kg BW。结论 与其他国家啤酒中 OTA 污染水平相比,北京地区的污染水平较低。居民啤酒 OTA 暴露量远低于 JECFA 提出的 100 ng/kg BW 的 PTWI 和欧盟提出的 5 ng/kg BW 的 TDI。

关键词:赭曲霉毒素 A;污染调查;暴露评估

中图分类号:S852.44 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2010)03-0271-04

Surveys on the Contamination of Ochratoxin A in Beer and the Exposure Assessment

LI Nan, JIANG Tao, ZHANG Hong-yuan, LI Yan-jun, JI Rong

(Peking Union Medical College, Beijing 100730, China)

Abstract: Objective To understand the contamination of ochratoxin A (OTA) in beer in Beijing and estimate the exposure of OTA in local residents. **Method** OTA in beer samples were detected by IAC-HPLC-FD and were evaluated by referencing to the EU dietary exposure assessment methods. **Results** OTA was found in 39 of 87 beer samples, with a positive rate of 44.83%. The average concentration of OTA was 0.015 ng/ml in the range of 0.010–0.093 ng/ml; The average concentration of positive samples was 0.026 ng/ml. The intake of OTA per week from beer in Beijing residents was 0.01–0.50 ng/kgBW. **Conclusion** The contamination of OTA from beer in Beijing was low in comparing with other countries. The exposure to OTA from beer in local residents was lower than 100 ng/kg BW of PTWI proposed by JECFA and lower than 5 ng/kg BW of TDI proposed by EU.

Key words: Ochratoxin A; Contamination Survey; Exposure Assessment

赭曲霉毒素 A(ochratoxin A, OTA)是一种由曲霉属和青霉属的某些菌株产生的真菌毒素,对动物具有肾毒性、肝毒性、致畸性和致癌性^[1]。OTA 主要污染粮谷类农作物,在多种粮谷类作物及其制品中都检出过 OTA。啤酒的主要原料是大麦以及玉米、大米等谷类辅料,因此啤酒有可能被 OTA 污染,对消费者的身体健康造成潜在危害。根据欧盟 2002 年的调查,啤酒是欧洲人继谷类、葡萄酒和咖啡之后摄入 OTA 的又一重要来源^[2]。

我国是世界上最大的啤酒生产及消费国,啤酒消费量占全球消费总量的 1/5,人均消费量在 2007

年已接近世界平均水平^[3]。我国目前关于啤酒中 OTA 污染调查及暴露评估方面的研究工作进行的较少。为了解北京地区啤酒中 OTA 的污染水平及本地居民对 OTA 的暴露水平,进行了该项研究。

1 材料与方法

1.1 样品来源

2009 年 10–11 月,从北京市朝阳区、海淀区、丰台区的 8 个超市中采集了当年生产的 87 份啤酒样品。其中包括 11 个国产品牌,共 79 份样品;6 个进口品牌,共 8 份样品。国产品牌基本上覆盖了北京地区超市中出售的所有国产品牌,进口品牌分别来自德国、墨西哥和韩国。

1.2 仪器

Waters 2695 高效液相色谱系统,美国 Waters 公司。荧光检测器 Waters 2475,美国 Waters 公司。

收稿日期:2010-02-28

基金项目:国家“十五”重大科技专项(2001BA804A3205)

作者简介:李楠 女 助理研究员 研究方向为食品卫生

E-mail: linan100041@163.com

通信作者:计融 男 研究员 E-mail: jirong36@163.com

高效液相色谱柱 Hypesil ODS2 C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm, 大连依利特)。OTA 免疫亲和柱: 含有抗 OTA 的抗体, 美国 VICAM 公司。多头抽真空装置用于免疫亲和柱, 美国 VICAM 公司。纯水仪 PL5243 型, 美国 PALL 公司。KQ-250DB 型数控超声波清洗器, 昆山市超生仪器有限公司。样品浓缩仪 DB-3D 型, 美国 TECHNE 公司。Biohit 微量可调移液器。

1.3 试剂

OTA(纯度 ≥ 98%, Sigma 公司, Lot 063K4061); 乙腈(色谱纯, 美国 Fisher 公司, Lot 093224); 乙酸(色谱纯, 美国 Fisher 公司, Lot G45A19); 甲醇(色谱纯, 美国 Fisher 公司, Lot 086535); 氯化钠(分析纯, 广东汕头西陇化工, Lot 050719); 碳酸氢钠(分析纯, 广东汕头西陇化工, Lot 050815); 水: MILLI-Q。

1.4 方法

采用免疫亲和柱-高效液相色谱-荧光检测法(IAC-HPLC-FD)对所采样品进行检测。

1.4.1 样品准备、提取和净化 将啤酒样品放置于 4 °C 冰箱冷藏 30 min, 超声脱气 1 h。

取 5 ml 脱气啤酒置于 10 ml 玻璃试管中, 加入 1 ml 稀释液(15% NaCl + 2% NaHCO₃) 混匀。

将免疫亲和柱与多头真空装置连接好, 放上废液收集器。将上步中 6ml 稀释液(相当于 5 ml 啤酒)加入到存液器, 以 1 滴/s 的流速全部通过免疫亲和柱, 避免空气进入柱中。

用 2 ml 淋洗液(2.5% NaCl + 0.5% NaHCO₃) 清洗玻璃试管后, 以 1 滴/s 的流速全部通过免疫亲和柱, 直至空气进入柱中。

吸取 10 ml 淋洗液加入到存液器, 以 1 ~ 2 滴/s 的流速使之全部通过免疫亲和柱, 直至空气进入柱中。

吸取 10 ml 纯水加入到存液器, 以 1 ~ 2 滴/s 的流速使之全部通过免疫亲和柱, 直至空气进入亲和柱。

用 2 ml 甲醇洗脱 OTA, 流速 1 滴/s, 直至空气进入亲和柱。将所有洗脱液(2 ml) 收集于玻璃试管中。

洗脱液在 40 °C 加热下用氮气吹干。吹干的提取物在 4 °C 保存, 检测前用 1 ml 流动相重溶。

1.4.2 检测条件 以乙腈 + 水 + 乙酸(99 + 99 + 2) 为流动相, 流速 0.8 ml/min, 进样量 80 μl(相当于 400 μl 啤酒)。荧光检测器激发波长 333 nm, 发射波长 477 nm, 柱温 35 °C。采用外标法峰面积定量。

1.4.3 检出限 方法的检出限以 3 倍噪音计(信噪

比 S/N = 3) 是 0.01 ng/ml。未检出样品浓度按检出限的一半赋值, 即 0.005 ng/ml。

1.5 人均啤酒消费量

采用 2002 年中国居民营养与健康状况调查中北京地区全人群的人均啤酒消费数据以及饮啤酒人群的人均啤酒消费数据^[4]。此数据由中国疾病预防控制中心营养与食品安全所提供。

1.6 啤酒 OTA 摄入量

平均摄入量: 用啤酒中 OTA 的平均浓度和人均啤酒消费量的乘积表示, 摄入量单位为 ng/(kg BW · week)。

第 95 百分位数(P95)摄入量: 用啤酒中 OTA 的第 95 百分位数浓度和人均啤酒消费量的乘积表示, 摄入量单位为 ng/(kg BW · week)。

2 结果

2.1 检测方法的可靠性及样品的代表性

本研究参考了官方分析化学家协会(Association of Official Analytical Chemists, AOAC 2001)^[5] 和我国国标 GB/T 23502—2009《食品中赭曲霉毒素 A 的测定 免疫亲和层析净化高效液相色谱法》^[6] 所提供的检测方法。该方法是目前最常用的检测啤酒中 OTA 的方法, 具有操作简便、快速、准确、灵敏度高等优点, 多个国家的啤酒中 OTA 污染调查均采用此方法, 其有效性已被广泛证实。

在采样设计过程中, 着重考虑样品的代表性和全面性, 尽量使所采的样品能够代表北京地区居民啤酒消费的主要来源。由于啤酒是一种来源清晰的商品, 因此认为不同地点出售的啤酒来源一致, 所以采样地点全部选择在超市。另外, 由于我国目前消费的啤酒 99% 为国产^[3], 因此所采样品基本上覆盖所有国产品牌, 进口品牌可能未采集全面。

2.2 样品的污染水平

87 份啤酒样品的检测结果见表 1。图 1 为本次调查与其他国家调查结果的比较^[1,2,7,8]。

表 1 87 份啤酒样品中 OTA 污染浓度

啤酒样品	样品数	阳性率 (%)	平均浓度 (ng/ml)	最大浓度 (ng/ml)	P95 浓度 (ng/ml)
进口	8	12.50	0.006	0.012	0.012
国产	79	48.10	0.016	0.093	0.057
合计	87	44.83	0.015	0.093	0.055

2.3 人均啤酒消费量

北京不同地区、不同性别人群人均啤酒消费量见表 2。北京地区不同年龄别饮啤酒人群的人均啤酒消费量见表 3。

2.4 啤酒 OTA 摄入量

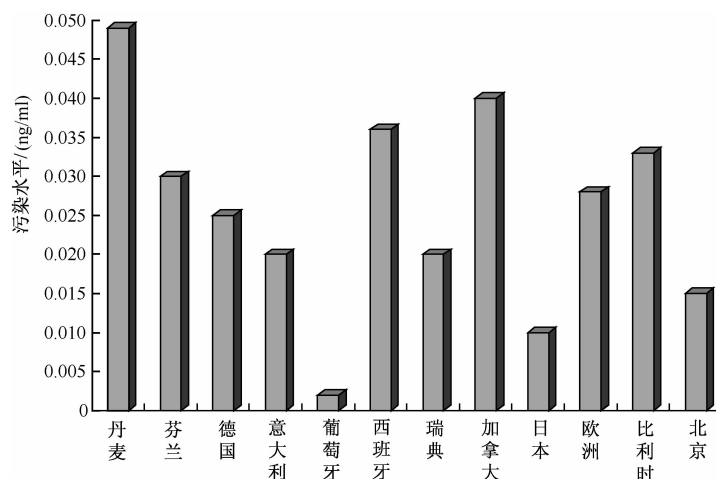


图 1 部分国家或地区啤酒中 OTA 平均污染水平

表 2 北京不同地区、不同性别人群
人均啤酒消费量 (ml/d)

性别	城区	农村	合计
男性	78.5	73.5	76.2
女性	11.0	7.0	9.3
合计	42.1	39.7	41.1

注:城区、农村的界定参照 2002 年中国居民营养与健康状况调查中北京地区城区和农村的界定方法。

表 3 北京地区不同年龄别饮啤酒人群的
人均啤酒消费量 (ml/d)

年龄别	男性	女性	合计
15 ~	99.7	32.7	90.1
20 ~	198.4	18.7	164.6
30 ~	240.7	63.7	184.6
40 ~	231.6	103.9	195.5
50 ~	172.2	69.2	141.6
60 ~	162.5	45.4	130.3
70 ~	162.2	99.3	146.5

表 4 为北京不同地区、不同性别人群的啤酒 OTA 摄入量。表 5 为北京地区不同年龄别饮啤酒人群的啤酒 OTA 摄入量。图 2 为北京地区人群啤酒 OTA 平均摄入量与其他国家的比较^[1,2,7,8]。

表 4 北京不同地区、不同性别人群啤酒 OTA 摄入量 [ng/(kg BW·week)^a]

	城区			农村			北京地区		
	男性	女性	合计	男性	女性	合计	男性	女性	合计
平均摄入量	0.14	0.02	0.07	0.13	0.01	0.07	0.13	0.02	0.07
P95 摄入量	0.50	0.07	0.27	0.47	0.04	0.25	0.49	0.06	0.26

表 5 北京地区不同年龄别饮啤酒人群的啤酒 OTA 摄入量 [ng/(kg BW·week)^a]

年龄别	男性		女性		合计 ^b	
	平均摄入量	P95 摄入量	平均摄入量	P95 摄入量	平均摄入量	P95 摄入量
15 ~	0.17	0.64	0.06	0.21	0.16	0.58
20 ~	0.35	1.27	0.03	0.12	0.29	1.06
30 ~	0.42	1.54	0.11	0.41	0.32	1.18
40 ~	0.41	1.49	0.18	0.67	0.34	1.25
50 ~	0.30	1.10	0.12	0.44	0.25	0.91
60 ~	0.28	1.04	0.08	0.29	0.23	0.84
70 ~	0.28	1.04	0.17	0.64	0.26	0.94

注:^a 为人群平均体重按 60 kg 计算。

3 讨论

欧盟各国及世界上很多国家或地区都对啤酒中 OTA 进行过污染调查及暴露评估,见图 1、图 2。FAO/WHO 联合食品添加剂专家委员会 (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA) 在 2001 年第 56 次会议中收集了一些国家的调查资料,估算出了 OTA 在啤酒中污染浓度的加权平均数

为 0.023 $\mu\text{g}/\text{kg}$,用以反映各国啤酒中 OTA 污染的平均水平;结合各国人均啤酒消费量估算出啤酒 OTA 平均摄入量为 0.70 $\text{ng}/(\text{kg BW}\cdot\text{week})$ (按人均体重 60 kg 计算)^[1]。本次调查结果表明,北京地区啤酒中 OTA 的污染水平 (0.015 ng/ml) 与其他国家或地区相比较低,也低于 JECFA 的估算值。北京不同地区、不同性别人群的啤酒 OTA 平均摄入量

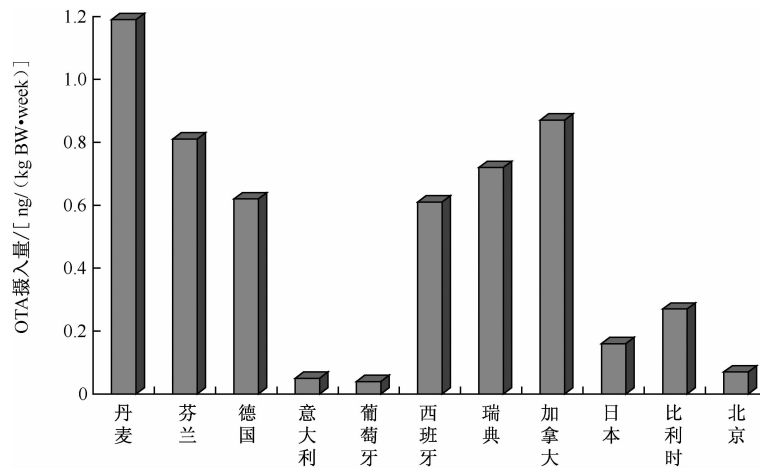


图2 部分国家或地区人群啤酒 OTA 平均摄入量

[0.07 ng/(kg BW·week)] 与其他国家或地区相比也较低,两种方法估算出的摄入量也均低于 JECFA 的估算值。啤酒中的 OTA 来自谷类原料。啤酒生产的主要原料是大麦,各国允许添加一定量的谷类辅料如玉米、大米、小麦等。大米是我国酿造啤酒使用最多的辅料,国外许多国家主要采用玉米。根据以往的污染调查,玉米中 OTA 的含量远高于其他粮谷类作物^[1];另外,原料产地的不同年份气候差异或波动可能对原料中 OTA 的污染产生影响,以及所采样品的代表性等,这些因素都可能造成啤酒中 OTA 污染水平的差异。而较低的污染水平和较低的人均啤酒消费量,则导致了北京地区居民较低的啤酒 OTA 摄入量。

欧盟 2002 年调查结果显示,欧洲人的啤酒 OTA 摄入量占总膳食摄入量的 7%^[2]。若以 JECFA 提出的 100 ng/kg BW 的每周耐受摄入量为 OTA 膳食摄入量限值,对每种食物估算一个摄入量限值,则人群从啤酒中摄入 OTA 的量应在 7 ng/(kg BW·week) 以下;若以欧盟提出的 5 ng/kg BW 的每日耐受摄入量(相当于每周 35 ng/kg BW)为限值,则从啤酒中摄入 OTA 的量应在 2.45 ng/(kg BW·week) 以下。根据本次研究的结果,无论是在北京的城区、农村还是在整个北京地区,无论男性还是女性,无论是平均摄入量还是 P95 摄入量,均低于上述估算的限值;即使是消费量较大的饮啤酒人群的摄入量也均低于上述限值。但是我国居民的膳食结构和欧洲人群存在一定差异,因此在评估每种可疑食物的 OTA 摄入量前,应先对人群进行更为详尽的膳食消费调查。单就啤酒而言,由于啤酒消费具有季节性,夏秋季节的消费明显高于冬春季,且啤酒消费往往集中于某些特定人群(如社交活动频繁的人,经常泡吧的人等),因此这部分人群的啤酒 OTA 摄入量可能会更高。本研究由于缺乏这些高消费人群的消

费数据,因而无法进行更为详尽的暴露评估。在以后的膳食调查中,应针对这些特定人群进行消费量调查,以获得更接近真实情况的暴露评估数据。另外,目前关于啤酒中 OTA 污染水平的数据十分缺乏。北京地区的污染水平不能代表全国的情况,很多地方性的小企业其原料来源与生产水平参差不齐,啤酒中 OTA 的污染水平可能相差很大。因此有必要继续在全国范围内开展啤酒中 OTA 污染调查及人群膳食暴露评估工作,为以后更为全面深入的研究提供基础资料。

参考文献

- [1] JECFA. Safety evaluation of certain mycotoxins in food. WHO food additives series;47, 2001 [EB/OL]. [2010-01-02]. <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je01.htm>.
- [2] European Commission. Assessment of dietary intake of ochratoxin A by the population of EU Member States. Reports of experts participating in Task 3. 2. 7. Reports on tasks for scientific cooperation[R]. 2002.
- [3] 中国啤酒工业发展研究报告:第三册[M]. 北京:中国轻工业出版社,2008:63-64.
- [4] 葛可佑,翟凤英,杨晓光. 中国居民营养与健康状况调查报告之二:膳食与营养素摄入状况[M]. 北京:人民卫生出版社,2006.
- [5] AOAC Official Method 2001.01. Determination of ochratoxin A in wine and beer[Z].
- [6] 全国食品工业标准化技术委员会(SAC/TC 64). GB/T 23502—2009 食品中赭曲霉毒素 A 的测定 免疫亲和层析净化高效液相色谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2009.
- [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]. J AOAC Int, 1999, 82(4):897-902.
- [8] TANGNI E K, PONCHAUT S, MAUDOUX M, et al. Ochratoxin A in domestic and imported beers in Belgium: occurrence and exposure assessment[J]. Food Addit Contam, 2002, 19(12): 1169-1179.