

风险评估

安徽省市售小麦制品中交链孢霉毒素污染和膳食暴露评估

钱磊^{1,2}, 张林炜², 钟铭金², 郑康², 唐秀军^{1,2}, 廖敏^{1,2}, 方庆奎^{1,2,3}

(1. 安徽农业大学, 农产品质量与生物安全教育部重点实验室, 安徽 合肥 230036; 2. 安徽农业大学植物保护学院, 作物有害生物综合治理安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230036; 3. 安徽农业大学, 大健康研究院食品营养健康联合研究中心, 安徽 合肥 230036)

摘要:目的 探明市售面粉、挂面、面包和馒头中的细交链孢菌酮酸(TeA)、腾毒素(TEN)、交链孢酚单甲醚(AME)、交链孢烯(ALT)、交链孢酚(AOH)5种交链孢霉毒素的污染情况,明确膳食暴露风险。方法 本研究采集了2021年和2022年共计245份安徽省中部、北部、西北部面制品,采用优化的QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法检测TeA、TEN、AME、ALT、AOH的污染情况。结果 TEN和TeA在样品中的检出率分别为80.4%和98.0%,浓度范围分别为0.34~1.74 μg/kg和1.17~85.68 μg/kg,AME、AOH和ALT均未检出(<检出限)。不同样品(面粉、挂面、面包、馒头)和不同地区(皖北、皖中、皖西北)面粉制品中交链孢霉毒素含量比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),且TEN与TeA在面粉、挂面和面包中存在显著正相关性($P<0.05$)。结论 面粉制品中的TeA在成年男性、成年女性、男童和女童日均暴露剂量分别为20.6、23.9、27.9、29.2 ng/(kg·BW/d),TEN在成年男性、成年女性、男童和女童日均暴露剂量分别为3.1、3.5、4.1、4.3 ng/(kg·BW/d),5种交链孢霉毒素含量均低于毒理学关注阈值,膳食风险较小。

关键词:交链孢霉毒素;面粉及其制品;毒素污染;相关性;膳食暴露评估

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2025)01-0085-08

DOI:10.13590/j.cjfh.2025.01.012

Contamination and dietary exposure assessment of *Alternaria* toxins in commercially available wheat products sold in Anhui Province

QIAN Lei^{1,2}, ZHANG Linwei², ZHONG Mingjin², ZHENG Kang², TANG Xiujun^{1,2},
LIAO Min^{1,2}, FANG Qingkui^{1,2,3}

(1. Anhui Agricultural University, Joint Research Center for Food Nutrition and Health of IHM, Anhui Hefei 230036, China; 2. School of Plant Protection, Anhui Agricultural University, Anhui Province Key Laboratory of Integrated Pest Management on Crops, Anhui Hefei 230036, China; 3. Anhui Agricultural University, Key Laboratory of Agri-products Quality and Biosafety, Ministry of Education, Anhui Hefei 230036, China)

Abstract: Objective To investigate the contamination of five mycotoxins produced by *Alternaria*, including tenuazonic acid (TeA), tentoxin (TEN), alternariol monomethyl ether (AME), altenuene (ALT) and alternariol (AOH), in commercially available flour, noodles, bread and steamed buns sold to determine the dietary exposure risk. **Methods** This study collected a total of 245 Anhui Province central, north and northwest region flour-based products samples in 2021 and 2022, and a QuEChERS-UPLC-MS/MS method was used to detect the concentration of TeA, TEN, AME, ALT and AOH. **Results** The detection rates of TEN and TeA in the samples were 80.4% and 98.0%, while AME, AOH, and their concentration ranges were 0.34-1.74 μg/kg and 1.17-85.68 μg/kg, ALT were not detected (<LOD). There were significant differences in the levels of five alternaria toxins (ATs) in flour-based products from different samples (flour, noodles, bread, and steamed buns sold) and regions (northern Anhui, central Anhui, northwestern Anhui). Moreover, there was a significant correlation between TEN and TeA in flour, noodles, and bread. **Conclusion** The daily exposure doses

收稿日期:2024-01-14

基金项目:大健康研究院食品营养健康联合研究中心专项资金资助(2023SJY01)

作者简介:钱磊 男 硕士研究生 研究方向为真菌毒素污染控制 E-mail:zgqianlei@163.com

通信作者:方庆奎 男 副教授 研究方向为真菌毒素污染控制、农产品质量安全 E-mail:qkfang@163.com

of TeA in flour products for adult males, adult females, boys and girls were 20.6、23.9、27.9 and 29.2 ng/(kg·BW/d), respectively, while the daily exposure doses of TEN were 3.1、3.5、4.1 and 4.3 ng/(kg·BW/d), the levels of all five ATs were below the threshold of toxicological concern values, the risk of dietary exposure is relatively low.

Key words: *Alternaria* toxins; wheat flour and its products; toxin contamination; relevance; dietary exposure assessment

交链孢霉(*Alternaria* sp.)可通过田间侵染、储存接触等途径污染农产品,极易引起谷物等农产品霉变,导致农产品和冷藏食品腐败变质,影响农产品质量安全^[1]。小麦黑胚病(Black point disease)主要是由交链孢霉属的互隔链格孢(*A. alternata*)和细极链格孢(*A. tenuissima*)侵染引起,是一种世界范围内普遍发生的小麦籽粒病害,各国报道的发病率一般为0.3%~66.7%,对小麦的发芽率及品质造成严重影响^[2]。交链孢霉可代谢产生一类新兴的真菌毒素——交链孢霉毒素,如细交链孢菌酮酸(Tenuazonic acid, TeA)、腾毒素(Tentoxin, TEN)、交链孢酚单甲醚(Alternariol monomethyl ether, AME)、交链孢烯(Altenuene, ALT)、交链孢酚(Alternariol, AOH)。这些毒素对人和动物具有致畸、致突变作用^[3-8],因此,食品中交链孢霉毒素污染问题已经在全球范围内受到越来越多的关注。欧洲食品安全局于2011年采用了毒理学关注阈值(Threshold of toxicological concern, TTC)法评估人类饮食中接触交链孢霉毒素的相对关注程度,主要是通过化学物质的现存数据来推测潜在毒性。结果发现交链孢霉毒素的平均慢性膳食暴露可能已超过相应的TTC值,并指出AOH、AME、TeA、TEN、ALT应作为食品中需高度关注的交链孢霉毒素^[9]。国内目前仅见ZHAO等^[10]于2015年报道利用TTC方法评估了交链孢霉毒素(TeA、AOH、AME、TEN)在5个省(市)的小麦粉、番茄、橘及其制品中的污染水平,结果显示小麦及其制品中的AOH和AME暴露量及高食物量消费者的AOH内暴露上限超过TTC值。

本研究以AOH、AME、TeA、TEN、ALT 5种交链孢霉毒素为分析对象,通过优化QuEChERS前处理方法,利用超高效液相色谱串联质谱法(Ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)建立起5种毒素的残留分析方法,以安徽省中北部地区市售面制品(面粉、面包、馒头、挂面)为研究对象,分析4种面制品中毒素的污染情况、不同地区的毒素污染情况,探究各毒素之间的相关性,最终对交链孢霉毒素进行膳食暴露评估。研究结果将为面制品中交链孢霉毒素残留的风险管控提供数据支撑和技术指导,从而保障食品安全和人畜健康。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

TEN标准品(纯度>99.9%)和AME标准品(纯度>99.9%)购自天津阿尔塔科技有限公司;AOH标准品(纯度>94.0%),Toronto Research Chemicals;ALT标准品(纯度>99.0%)购自武汉天植生物技术有限公司;TeA标准品(纯度>99.0%),Pribolab;无水硫酸镁(分析纯)和甲酸(色谱纯)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;十八烷基硅烷键合硅胶(C18 50 μm , 60Å)、乙腈(色谱纯)购自安徽天地高纯溶剂有限公司。

1.2 仪器与设备

超高效液相色谱-串联质谱仪 Waters ACQUITY UPLC, Waters, Xevo TQD MS(ESI离子源)购自沃特世科技(上海)有限公司;多管涡旋振荡器 VXMTAL 购自奥豪斯国际贸易(上海)有限公司;高速离心机 HC-2062 购自安徽中科中佳科学仪器有限公司。

1.3 分析方法

1.3.1 标准溶液配置

分别取TEN、AME、TeA标准品各1 mg溶于5 mL乙腈中,配置成200 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液,分别取AOH、ALT标准品各5 mg溶于5 mL乙腈中,配置成1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液。用乙腈将5种交链孢霉毒素标准液配置成10 $\mu\text{g/mL}$ 的混合溶液后再稀释成0.5、1、2、5、10、20、50、100、200 $\mu\text{g/kg}$ 的混合溶液。

1.3.2 样品采集

在安徽省中部、北部及西北部31个市县对2021年及2022年市售面制品(面粉、馒头、面包和挂面)进行采集,共245份,每份不低于500 g。样品按照采集地区分类,可分为皖北地区(宿州市、泗县、萧县、灵璧县、淮北市、濉溪县、五河镇、固镇、怀远县、蚌埠市)、皖西北地区(阜阳市、颍上县、太和县、界首市、阜南县、临泉县、亳州市、涡阳县)及皖中地区(淮南市、寿县、凤台县、滁州市、来安县、定远县、全椒县、合肥市、庐江县、长丰县、肥西县、肥东县、六安市)3个区域。

1.3.3 样品前处理

面包、馒头和挂面样品经破碎机破碎后过60目筛(面粉不做此处理),4种样品分别称取2.00 g(精

确值 0.01 g)于 50 mL 离心管中,加入 5 mL 0.5% 甲酸乙腈,涡旋 30 s,再经多管涡旋振荡器震荡 15 min 后 8 789×g 离心 10 min;然后取 2 mL 上清液加入装有 20 mg 无水 MgSO₄ 的 2 mL 离心管中,涡旋 30 s,再经多管涡旋振荡器中震荡 3 min 后 13 201×g 离心 2 min。取上清液过 0.22 μm 疏水性 PTFE 滤膜,然后取 1 mL 滤液加入进样瓶中待 UPLC-MS/MS 检测。

1.3.4 UPLC-MS/MS检测条件

超高效液相色谱条件:色谱柱:Waters ACQUITY UPLC BEH C18(1.7 μm, 2.1 mm×50 mm);色谱柱温:40 °C;进样量:5 μL;流动相:流动相 A[0.1% 甲酸水溶液(V/V)],流动相 B(乙腈),梯度洗脱程序:0~5.0 min, 90%~5%A、10%~95%B;5.0~7.0 min, 5%A、95%B;7.0~7.5 min, 5%~90%A、95%~10%B;7.5~10.0 min, 90%A、10%B。流速为 0.2 mL/min。

离子源类型:ESI+;扫描方式:正离子扫描;监测方式:多反应监测;离子源温度:150 °C;脱溶剂管温度:500 °C;锥孔反吹气流量:50 L/h;脱溶剂气流量:1 000 L/h;毛细管电压:1.0 kV。5 种毒素保留时间和质谱测定参数见附表 1。

1.3.5 数据统计及分析方法

1.3.5.1 基质效应评价

为了准确评价各基质对测定结果准确性的影响,分别配制浓度梯度的溶剂标准溶液和基质标准溶液,绘制标准曲线,并计算基质效应(Matrix effect, ME)。ME 计算公式为:

$$ME(\%) = \left(\frac{S_0}{S_1} - 1 \right) \times 100\%$$

式中: S_0 为溶剂标准溶液的线性方程斜率; S_1 为基质标准工作溶液的线性方程斜率。当 $|ME| < 20\%$ 时,ME 可以忽略; $20\% < |ME| < 50\%$ 时表明存在中等 ME; $|ME| > 50\%$ 时,表明存在强 ME。

1.3.5.2 膳食暴露量的计算

本研究采用 TTC 法对不同人群膳食暴露交链孢霉毒素的风险进行评估,通过分析安徽省中北部地区小麦制品的交链孢霉毒素污染情况,评估不同人群通过饮食摄入交链孢霉毒素的膳食暴露量(Exp),计算公式如下:

$$Exp = C \times \frac{F}{BW}$$

其中,Exp 为交链孢霉毒素的膳食暴露量[ng/(kg·BW/d)];C 为食品中交链孢霉毒素的含量(μg/kg);BW(Body weight)为个体的体质量,BW 数据参考《中国人群暴露参数手册(成人卷)》^[11]和 SHI 等^[12]文献,不同人群参考体质量分别为成年男性(18~44 岁)65 kg、成年

女性(18~44 岁)56 kg、男童(0~14 岁)24 kg、女童(0~14 岁)23 kg。F 为食品的消费量(g/d),目前尚未发布安徽省不同人群小麦制品消费量的有关数据,参考 2022 年中国居民膳食指南数据^[13],小麦在我国成年居民的日消费量为 300 g/d,孩童消费量为 150 g/d。AOH 和 AME 具有潜在的基因毒性,其 TTC 值为 2.5 ng/(kg·BW/d),ALT 与 AOH 和 AME 具有相似的结构,参考 TTC 值为 2.5 ng/(kg·BW/d),TEN 和 TeA 属于第三级化合物,TTC 值为 1 500 ng/(kg·BW/d)^[9]。

1.3.5.3 统计学分析

采用 SPSS 18.0 软件进行数据的统计分析。在实际样品检测数据中,由于 AME、AOH 和 ALT 在所有样品中均低于检出限,参考世界卫生组织(World Health Organization, WHO)推荐的对污染物数据的处理原则^[14],研究中未检出值按 0 计算。

2 结果

2.1 小麦制品中交链孢霉毒素检测方法的建立

2.1.1 QuEChERS前处理方法的优化

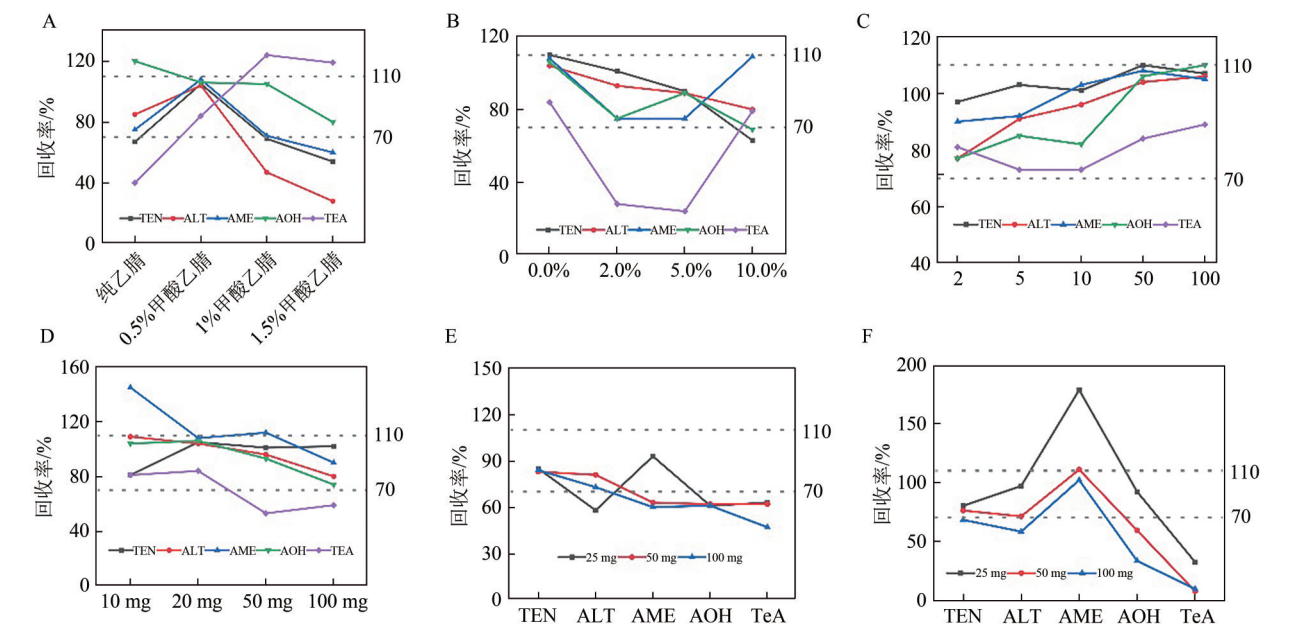
QuEChERS 前处理方法适用性广,操作方便快捷。本试验基于 PUVAČA 等^[15]检测小麦籽粒中交链孢霉毒素的 QuEChERS 前处理方法,分别从甲酸含量、水分含量、不同添加浓度、添加无水 MgSO₄、C18 和 PSA 质量等方面进行优化,结果如图 1 所示,最终提取剂选用 0.5% 甲酸乙腈、不加水提取,净化填料只添加 20 mg 无水 MgSO₄。

2.1.2 标准曲线及灵敏度

基于以上优化条件,将不同浓度梯度的混合标准溶液,在 UPLC-MS/MS 条件下进行测定,绘制各毒素在不同基质中的标准曲线。结果如表 1 所示,5 种毒素在乙腈及不同基质液配置下在 0.1~100 μg/kg 浓度范围内线性良好,决定系数 R^2 为 0.993 5~0.999 9。5 种毒素检测方法的 LOD 和 LOQ 分别为 0.03 和 0.1 μg/kg(TEN、ALT);0.06 和 0.2 μg/kg(AME);0.3 和 1 μg/kg(AOH、TeA)。5 种毒素在 4 种基质中的 ME 范围为-11.8%~15.0%,5 种毒素在 4 种基质中的 ME 均≤15.0%,证明该方法能够较好地去除基质影响,可为面制品中交链孢霉毒素的检测提供技术参考。

2.1.3 添加回收实验结果

面粉、挂面、馒头和面包 4 种基质中 TeA、TEN、AOH、AME 和 ALT 5 种交链孢霉毒素的添加回收结果如图 2 所示。在 2、10 和 100 μg/L 添加浓度下,5 种毒素在 4 种基质中加标回收率范围为 70.0%~110.0%,相对标准偏差≤15.0%,结果表明,本文建立的方法满足多残留检测的要求,可用于面粉及其



注:A 为甲酸含量优化;B 为水分含量优化;C 为不同添加浓度优化;D 为无水 MgSO₄添加量优化;E 为 C18 添加量优化;F 为 PSA 添加量优化;
TeA 为细交链孢菌酮酸;TEN 为毒素素;AME 为交链孢酮单甲醚;ALT 为交链孢烯;AOH 为交链孢酮

图 1 QuEChERS 前处理方法的优化

Figure 1 Optimization of the QuEChERS sample preparation method

表 1 5 种交链孢霉毒素在不同基质中的标准曲线及灵敏度

Table 1 Linear regression parameters of calibration curves of five *Alternaria* toxins with different matrix

毒素名称	基质	回归方程	决定系数 R^2	检出限/定量限/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	基质效应/%
TEN	乙腈	$y=1\ 535.6x-451.83$	0.999 8	0.03/0.1	—
	面粉	$y=1\ 508.48x-254.04$	0.999 9		1.8
	挂面	$y=1\ 613.4x-433.06$	0.999 7		-4.8
	面包	$y=1\ 335.4x-607.8$	0.999 8		15.0
	馒头	$y=1\ 341.3x-465.8$	0.999 5		14.5
ALT	乙腈	$y=201.68x-313.33$	0.999 8	0.03/0.1	—
	面粉	$y=220.98x-369.63$	0.998 6		-8.7
	挂面	$y=182.71x-441.79$	0.999 4		10.4
	面包	$y=188.34x-93.049$	0.999 9		7.1
	馒头	$y=208.19x-198.87$	0.998 8		-3.1
AME	乙腈	$y=87.575x+107.9$	0.999 9	0.06/0.2	—
	面粉	$y=93.701x-53.844$	0.999 6		-6.5
	挂面	$y=98.199x+173.33$	0.999 3		-10.8
	面包	$y=85.659x+69.976$	0.998 7		2.3
	馒头	$y=82.781x+59.767$	0.999 7		5.8
AOH	乙腈	$y=17.788x-64.973$	0.993 5	0.3/1	—
	面粉	$y=17.543x+43.386$	0.997 9		1.4
	挂面	$y=15.894x+37.705$	0.999 1		11.9
	面包	$y=16.904x+18.363$	0.998 7		5.2
	馒头	$y=16.994x-4.102\ 1$	0.998 9		4.7
TeA	乙腈	$y=161.52x-60.11$	0.999 3	0.3/1	—
	面粉	$y=163.74x-40.19$	0.996 2		-1.4
	挂面	$y=146.25x-73.449$	0.997 9		10.4
	面包	$y=183.08x-63.87$	0.999 6		-11.8
	馒头	$y=165.39x-58.59$	0.999 3		-2.3

注:TeA 为细交链孢菌酮酸;TEN 为毒素素;AME 为交链孢酮单甲醚;ALT 为交链孢烯;AOH 为交链孢酮

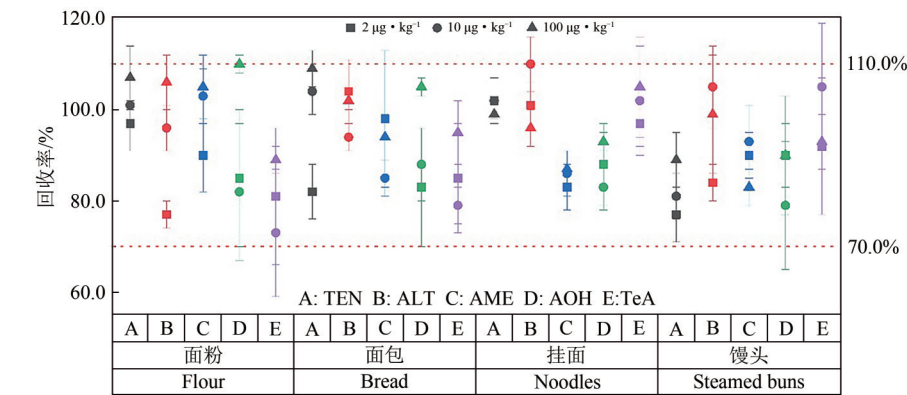
制品中交链孢霉毒素的分析。

2.2 小麦制品中交链孢霉毒素污染特征分析

2.2.1 样品中交链孢霉毒素污染情况

245 份面粉及其制品中 5 种毒素检测结果如表 2 所示。197 份样品中检测到 TEN,检出率为 80.4%,平均浓度为 0.66 $\mu\text{g}/\text{kg}$,最高检出浓度为

1.74 $\mu\text{g}/\text{kg}$,最低检出浓度为 0.34 $\mu\text{g}/\text{kg}$,中位值为 0.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$;240 份样品中检测到 TeA,检出率为 98.0%,平均浓度为 4.47 $\mu\text{g}/\text{kg}$,最高检出浓度为 85.68 $\mu\text{g}/\text{kg}$,最低检出浓度为 1.17 $\mu\text{g}/\text{kg}$,中位值为 3.43 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。其中,245 份样品中 AME、AOH 和 ALT 3 种毒素的检测结果均小于检出限。



注:TeA为细交链孢菌酮酸;TEN为腾毒素;AME为交链孢酚单甲醚;ALT为交链孢烯;AOH为交链孢酚

图2 5种交链孢霉毒素在面粉及其制品基质中的添加回收结果

Figure 2 The recovery results of five *Alternaria* toxins spiked to flour and its products

表2 245份样品中5种毒素的检测结果

Table 2 Detection results of five *Alternaria* toxins in 245 samples

毒素名称	检出率/%	平均值±标准差/(µg/kg)	中位值/(µg/kg)	最大值/(µg/kg)	最小值/(µg/kg)
TEN	80.4	0.66±0.29	0.50	1.74	0.34
TeA	98.0	4.47±5.75	3.43	85.68	1.17
AME	0	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
AOH	0	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
ALT	0	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

注:TeA为细交链孢菌酮酸;TEN为腾毒素;AME为交链孢酚单甲醚;ALT为交链孢烯;AOH为交链孢酚;LOD为检出限

2.2.2 不同面粉制品中毒素污染情况

按类别将样品分为面粉($n=63$)、挂面($n=61$)、馒头($n=63$)和面包($n=58$)4种,根据检测结果,主要对4种样品中TEN和TeA的含量进行统计分析,结果如表3所示。TeA和TEN在面粉中的检出率分别为100.0%和96.8%,平均浓度分别为5.02和0.88 µg/kg,中位值分别为3.55和0.78 µg/kg;在挂面中的检出率分别为100.0%和96.7%,平均浓度分别为4.53和0.61 µg/kg,中位值分别为4.05和0.52 µg/kg;在馒头中的检出率分别为96.8%和41.3%,平均浓度分别为4.53和0.44 µg/kg,中位值分别为3.22和0.43 µg/kg;在面包中的检出率分别为98.3%和93.1%,平均浓度分别为3.74和0.57 µg/kg,中位值分别为3.58和0.53 µg/kg。

4种样品中TEN的检出率从高到低的顺序依

表3 不同面制品中交链孢霉毒素污染情况

Table 3 Contamination of *Alternaria* toxins in different wheat-based products

基质	毒素名称	检出率/%	分布范围/(µg/kg)	均值/(µg/kg)	中位值/(µg/kg)
面粉	TEN	96.8	0.39~1.74	0.88	0.78
	TeA	100.0	1.17~17.6	5.02	3.55
挂面	TEN	96.7	0.35~1.34	0.61	0.52
	TeA	100.0	2.08~10.45	4.53	4.05
馒头	TEN	41.3	0.34~0.77	0.44	0.43
	TeA	96.8	1.74~85.68	4.53	3.22
面包	TEN	93.1	0.42~0.98	0.57	0.53
	TeA	98.3	1.97~6.94	3.74	3.58

注:TeA为细交链孢菌酮酸;TEN为腾毒素

次为面粉>挂面>面包>馒头,平均浓度从高到低的顺序依次为面粉>挂面>面包>馒头;TeA的检出率从高到低的顺序依次为面粉=挂面>面包>馒头,平均浓度从大到小的顺序依次为面粉>挂面>馒头>面包。其中,面粉及挂面样品中TEN和TeA的检出率及含量均高于馒头和面包。

对4种样品中毒素污染情况进行分析,结果如表4所示,4种样品中TeA含量差异无统计学意义,而4种样品中面粉和馒头样品之间TEN含量差异有统计学意义($P<0.05$),数据表明TEN在不同基质中含量差异较大。何玲等^[16]在四川省市售小麦及其制品中交链孢霉毒素污染状况调查时发现,挂面、饼干、面包和馒头类样品中TEN含量差异有统计学意义,这与本文的结果一致。

表4 4种样品中TEN的平均浓度及相关性

Table 4 Average concentration and correlation of TEN of four samples

毒素名称	基质	均值±标准差/(µg/kg)
TEN	面粉	0.88±0.37 ^a
	挂面	0.61±0.20 ^b
	馒头	0.44±0.90 ^c
	面包	0.57±0.13 ^b

注: TEN为腾毒素;abc表示不同的显著性差异($P<0.05$)

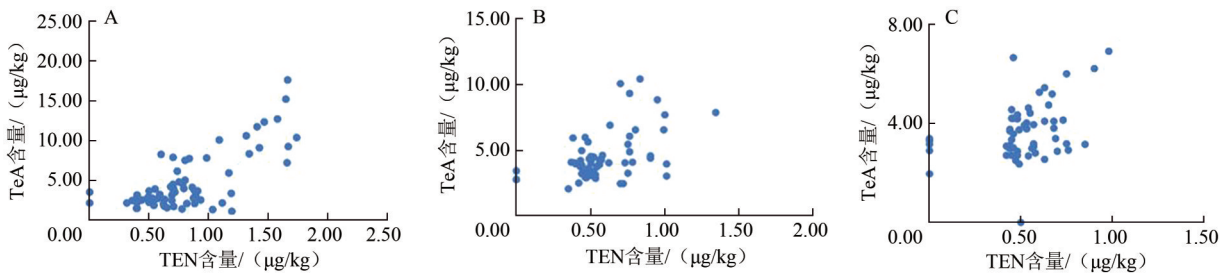
2.2.3 不同地区间毒素污染情况

皖北($n=75$)、皖西北($n=66$)和皖中($n=104$)市售面制品的检测结果显示,皖北地区样品中TeA和TEN的检出率分别为97.3%和82.7%,皖

西北地区样品中 TeA 和 TEN 的检出率分别为 98.4% 和 75.0%, 皖中地区样品中 TeA 和 TEN 的检出率分别为 100.0% 和 83.7%, 3 个地区的样品中 TeA 的检出率均高于 TEN。TEN 检出率从高到低依次为皖中地区>皖北地区>皖西北地区, TeA 检出率从高到低依次为皖中地区>皖西北地区>皖北地区。TEN 和 TeA 的平均浓度从高到低顺序依次为皖中地区>皖北地区>皖西北地区。结果表明皖中地区样品中 TEN 和 TeA 的含量均略大于皖北和皖西北地区。

2.2.4 不同交链孢霉毒素间的相关性

样品中两种毒素的相关性分析可知, TEN 与 TeA 在面粉、挂面和面包中呈显著线性相关, 结果如图 3 所示。62 份面粉样品(图 3A)中有 60 份样品同时检出到 TeA 和 TEN, 共同检出率为 96.8%, 且 TeA 和 TEN 浓度分布呈显著线性相关(Spearman, $r=0.559, P<0.05$); 61 份挂面样品(图 3B)中有 59 份样品同时检出到 TeA 和 TEN, 共同检出率为 96.7%,



注: A 为面粉中 TeA 和 TEN 中的相关性图; B 为挂面中 TeA 和 TEN 中的相关性图; C 为面包中 TeA 和 TEN 中的相关性图

图3 不同基质中TEN与TeA的相关性

Figure 3 Correlation between TEN and TeA in different matrix

2.3 膳食暴露评估

不同人群的交链孢霉毒素暴露评估结果见表 6, TeA 日均暴露剂量在成年男性、成年女性、男童和女童中分别为 20.6、23.9、27.9、29.2 ng/(kg·BW/d)

(4 组人群均值), TEN 日均暴露剂量在成年男性、成年女性、男童和女童中分别为 3.1、3.5、4.1、4.3 ng/(kg·BW/d) (4 组人群均值), 均低于 TTC 值, 因此膳食暴露量未超过安全阈值, 风险较小。

表6 不同人群小麦及制品来源毒素日均暴露量

Table 6 Daily average exposure to ATs from wheat and its products in different populations

人群	平均体重/kg	小麦日消费量/(g/d)	毒素	浓度/(μg/kg)	暴露量/[ng/(kg·BW/d)]
成年男性	65	300	TEN	0.66	3.1
			TeA	4.47	20.6
成年女性	56		TEN	0.66	3.5
			TeA	4.47	23.9
男童	24	150	TEN	0.66	4.1
			TeA	4.47	27.9
女童	23		TEN	0.66	4.3
			TeA	4.47	29.2

3 讨论

真菌毒素是影响食品安全和人畜健康的重要因素之一。农产品中交链孢霉毒素在国内外均呈现出检出率较高的趋势, SIEGEL 等^[17]在对 27 份谷物样品检测时, 发现样品中有 13 份检测到 TeA, 检出率

高。ASAM 等^[18]在对果汁、谷物和香料中 TeA 检测时发现, 谷物中 TeA 的检出率为 92.0%。ZHAO 等^[10]对我国 181 份小麦粉和 142 份面制品进行检测时发现 4 种样品中 TeA 检出率≥96.2%, TEN 检出率≥82.0%, AME 检出率≥44.0%, AOH 检出率范围为

表5 不同地区间交链孢霉毒素污染情况

Table 5 The contamination of *Alternaria* toxins between different regions

采样区域	毒素名称	检出率/%	分布范围/(μg/kg)	均值/(μg/kg)	中位值/(μg/kg)
皖北	TEN	82.7	0.35~1.57	0.66	0.57
	TeA	97.3	1.34~15.22	4.30	3.68
皖西北	TEN	75.0	0.35~1.66	0.60	0.53
	TeA	98.4	1.43~17.60	3.77	3.40
皖中	TEN	83.7	0.34~1.74	0.69	0.55
	TeA	100.0	1.17~85.68	5.09	3.70

注: TeA 为细交链孢菌酮酸; TEN 为展青霉素; 皖北 75 份、皖西北 66 份、皖中 104 份

TeA 和 TEN 浓度分布具有显著线性相关(Spearman, $r=0.386, P<0.05$); 61 份面包样品(图 3C)中有 57 份样品同时检出到 TeA 和 TEN, 共同检出率为 89.5%, TeA 和 TEN 浓度分布具有显著线性相关(Spearman, $r=0.326, P<0.05$)。结果证明了不同种类的毒素之间会相互影响或产生关联, 对于进一步研究和防控毒素具有一定的意义和价值。

0~6.1%。本研究中,面粉及挂面样品中的毒素含量均高于馒头和面包,已有研究表明,加工过程会影响农产品中毒素水平,且不同加工方式对毒素的去除率也不同^[19]。SIEGEL^[20]等研究了交链孢霉毒素在面包烘烤中的消解代谢,在230℃下烘焙1h,面包中AOH、AME、ALT几乎完全降解,推测可能与高温加热有关。馒头中检出的交链孢霉毒素含量显著低于其他面制品,除了高温因素外,馒头加工过程中加入的小苏打可能也起到了促进作用^[21]。本研究结果显示小麦制品中TEN和TeA的平均浓度分别为0.66和4.47 μg/kg,AME、AOH和ALT均小于LOD,样品中的TEN和TeA的检出率较高,但浓度相对偏低,与ZHAO等^[10]前期报道的检出率和污染水平较高结果差异较大,可能由于近年来安徽省小麦赤霉病重发频发,当地农业部门大力推进小麦“一喷三防”(防病害、防虫害、防灾害)技术有关,在重点防治小麦赤霉病的同时,有效地控制了小麦其他病害的发生,进而提升了小麦的品质。

李改婵等^[22]对榆林地区、延安地区和铜川地区小麦中呕吐毒素、玉米赤霉烯酮和黄曲霉毒素B₁进行检测时发现,地理条件、气候环境、收获前后的天气等是产生真菌毒素的重要因素。本研究中皖中地区的毒素含量略大于皖北和皖西北地区,皖西北气候相对干燥、降水少,不利于霉菌繁殖,因此面制品中毒素含量较低;而皖中地区降雨量偏多,气候、土壤条件更适宜麦类和霉菌生长,因此面制品中毒素含量较高。本研究显示,不同种类的毒素之间会相互影响或产生关联。杨玉莲等^[23]研究交链孢霉毒素的毒理学时指出,TeA与TEN、AME、AOH等交链孢霉毒素共存相关性高,需要重视毒素间的联合毒性作用。SCHWARZ等^[4]在研究交链孢霉毒素对大米复合提取物的DNA损伤作用时发现,单一毒素存在时其毒性远远低于多种毒素共存的情况,表明各毒素之间可能产生协同作用,从而增加了毒性。这对真菌毒素的研究与污染防控提供了一定的指导。

本次暴露评估中,TeA和TEN的日均暴露剂量均小于TTC值,表明经小麦制品摄入的交链孢霉毒素对人群健康影响的风险较小。EFSA的慢性饮食暴露调查评估^[25]显示,婴幼儿和素食主义者较一般人可能面临较高的交链孢霉毒素饮食暴露风险,这与本研究的结果相符,这可能是跟婴幼儿的体质量较低和素食主义者的小麦制品消费量较高有关。由于本研究中所用的毒素污染数据主要为面粉、馒头、挂面和面包等小麦粉制品,数据量有限,未将可能被交链孢霉毒素污染的其他食品类别进行评估,因此在食品中毒素污染水平数据来源方面存在不

确定性。其次,本次评估所用的膳食消费量数据仅参考于中国居民膳食指南的调查数据,并未考虑到人们的饮食习惯等因素,因此膳食消费量数据上存在不确定性。最后,采集样品中AOH、AME和ALT的检出率均小于检出限,对于未检出数据参考WHO对未检出数据的处理原则,按照0来计算其暴露量,可能对其暴露量的估计值不够精准。

综上所述,本文采用优化的QuEChERS-UPLC-MS/MS法针对安徽省皖北、皖中、皖西北3个地区4种市售小麦制品中交链孢霉毒素检测,结果显示其中TeA及TEN检出率较高,膳食暴露量计算结果显示TEN和TeA在4种人群中日均暴露剂量均低于TTC值,膳食风险较小。近年来粮食中的真菌毒素污染水平和健康风险受到人们广泛关注,为有效降低人群中交链孢霉毒素膳食暴露风险,建议尽量选择经过高温加工后的小麦制品,提倡饮食多样化,从而降低人群因其引起的健康风险。

参考文献

- [1] 王春明, 韩青梅, 黄丽丽, 等. 3种杀菌剂对小麦黑胚病菌的毒力测定及病害防治作用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2006, 34(7): 55-60.
WANG C M, HAN Q M, HUANG L L, et al. Control of 3 fungicides against wheat black point in vitro and in vivo [J]. Journal of Northwest Agricultural & Forestry University (Natural Science Edition), 2006, 34(7): 55-60.
- [2] 张养利, 贾凯峰, 郝平琦, 等. 小麦黑胚病发生情况及其对发芽的影响[J]. 陕西农业科学, 2015, 61(6): 56-57.
ZHANG Y L, JIA K F, HAO P Q, et al. Occurrence of wheat scab disease and its impact on germination [J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2015, 61(6): 56-57.
- [3] YEKELER H, BITMIŞ K, OZÇELİK N, et al. Analysis of toxic effects of *Alternaria* toxins on esophagus of mice by light and electron microscopy [J]. Toxicologic Pathology, 2001, 29(4): 492-497.
- [4] SCHWARZ C, KREUTZER M, MARKO D. Minor contribution of alternariol, alternariol monomethyl ether and tenuazonic acid to the genotoxic properties of extracts from *Alternaria alternata* infested rice [J]. Toxicology Letters, 2012, 214(1): 46-52.
- [5] OSTRY V. *Alternaria* mycotoxins: an overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs [J]. World Mycotoxin Journal, 2008, 1(2): 175-188.
- [6] ARNTZEN C J. Inhibition of photophosphorylation by tentoxin, a cyclic tetrapeptide [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics, 1972, 283(3): 539-542.
- [7] BRUGGER E M, WAGNER J, SCHUMACHER D M, et al. Mutagenicity of the mycotoxin alternariol in cultured mammalian cells [J]. Toxicology Letters, 2006, 164(3): 221-230.
- [8] LIU G T, QIAN Y Z, ZHANG P, et al. Etiological role of *Alternaria alternata* in human esophageal cancer [J]. Chinese Medical Journal, 1992, 105(5): 394-400.

- [9] EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Scientific opinion on the risks for animal and public health related to the presence of *Alternaria* toxins in feed and food[J]. EFSA Journal, 2011, 9(10): 2407.
- [10] ZHAO K, SHAO B, YANG D, et al. Natural occurrence of *Alternaria* toxins in wheat-based products and their dietary exposure in China[J]. PLoS One, 2015, 10(6): e0132019.
- [11] 环境保护部. 中国人群暴露参数手册(成人卷)[M]. 北京: 中国环境出版社, 2013.
Ministry of Environmental Protection. Manual of Exposure Parameters for Chinese population (Adult volume) [M]. Beijing: China Environment Press, 2013.
- [12] SHI W, ZHANG F, ZHANG X, et al. Identification of trace organic pollutants in freshwater sources in Eastern China and estimation of their associated human health risks[J]. Ecotoxicology, 2011, 20(5): 1099-1106.
- [13] 中国营养学会. 中国居民膳食指南 2022[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2022.
Chinese Nutrition Society. Dietary Guidelines for Chinese Residents 2022[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2022.
- [14] WHO. GEMS/Food-EURO second workshop on reliable evaluation of low-level contamination of food-report of a workshop in the frame of GEMS/Food-ERUO[A]. 1995.
- [15] PUVAČA N, AVANTAGGIATO G, MERKURI J, et al. Occurrence and Determination of *Alternaria* Mycotoxins Alternariol, Alternariol Monomethyl Ether, and Tentoxin in Wheat Grains by QuEChERS Method[J]. Toxins, 2022, 14(11): 791.
- [16] 何玲, 秦忠雪, 任琳, 等. 四川省市售小麦及其制品中链格孢霉毒素污染状况调查[J]. 预防医学情报杂志, 2020, 36(11): 1433-1437.
HE L, QIN Z X, REN L, et al. Investigation on Contamination of *Alternaria* Toxins From Wheat and Its Products Sold in Sichuan Province[J]. Journal of Preventive Medicine Information, 2020, 36(11): 1433-1437.
- [17] SIEGEL D, RASENKO T, KOCH M, et al. Determination of the *Alternaria* mycotoxin tenuazonic acid in cereals by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization ion-trap multistage mass spectrometry after derivatization with 2, 4-dinitrophenylhydrazine[J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1216(21): 4582-4588.
- [18] ASAM S, LICHTENEGGER M, LIU Y, et al. Content of the *Alternaria* mycotoxin tenuazonic acid in food commodities determined by a stable isotope dilution assay[J]. Mycotoxin Research, 2012, 28: 9-15.
- [19] SCHAARSCHMIDT S, FAUHL-HASSEK C. The fate of mycotoxins during the primary food processing of maize[J]. Food Control, 2021, 121: 107651.
- [20] SIEGEL D, FEIST M, PROSKE M, et al. Degradation of the *Alternaria* mycotoxins alternariol, alternariol monomethyl ether, and tenuazonic acid upon bread baking[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(17): 9622-9630.
- [21] SCHAARSCHMIDT S, FAUHL-HASSEK C. The fate of mycotoxins during secondary food processing of maize for human consumption[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2021, 20(1): 91-148.
- [22] 李改婵, 祖瑞锋, 巩智利. 陕西地区玉米生霉粒、小麦病斑粒与真菌毒素关系的探讨分析[J]. 粮食储藏, 2018, 47(6): 33-39.
LI G C, ZU R F, GONG Z L. Study on the relationship between mildew grains, scab grains and mycotoxin in Shaanxi area[J]. Grain Storage, 2018, 47(6): 33-39.
- [23] 杨玉莲, 周鸿媛, 刘虫虫, 等. 典型链格孢霉毒素的污染现状与毒理学性质研究进展[J]. 中国食品学报, 2023, 23(3): 376-389.
YANG Y L, ZHOU H Y, LIU C C, et al. Advanced progress in contamination status and toxicological properties of typical *alternaria* toxins[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(3): 376-389.
- [24] ARCELLA D, ESKOLA M, RUIZ J, et al. Dietary exposure assessment to *Alternaria* toxins in the European population[J]. EFSA Journal, 2016, 14(12): e04654.