

小麦中 T-2 毒素的污染调查

阳传和 罗雪云 计融 刘畅

(卫生部食品卫生监督检验所, 北京 100021)

采用酶联免疫吸附测定法 (ELISA), 调查了我国部分地区 1990 年国产小麦 T-2 毒素的污染状况。调查结果表明, 在 330 份样品中, 有 264 份检出 T-2 毒素, 占样品总数的 80%。样品中毒素含量最高达 1122.0ppb, 平均含量为 53.3ppb。在引起食物中毒的 48 份小麦样品中, 检出高含量的 T-2 毒素 (84.5—1064.4ppb)。我国小麦中 T-2 毒素的污染水平与小麦赤霉病的流行密切相关。

关键词 T-2 毒素; 酶联免疫吸附测定法污染调查

单端孢霉烯族化合物是某些农作物致病真菌的代谢产物。由镰刀菌 (*Fusarium* sp.) 引致的麦类、玉米等作物的赤霉病, 病谷物能污染大量的该类毒素, 人畜误食这类谷物后, 除可引起呕吐、腹泻、腹痛等急性中毒症状外, 还可引起心肌受损、肠胃上皮粘膜出血、皮肤组织坏死、造血组织破坏和免疫抑制、神经系统紊乱、心血管系统破坏等, 严重的可导致死亡^[1,2]。在这类化合物中, 毒性最大且污染水平较高的有 T-2 毒素等^[3,4]。

有关 T-2 毒素的毒性、产毒、代谢、检测方法等的研究, 国内外开展得比较多^[5-9]。但因传统的检测方法(薄层层析法)检测精度的限制(最低检出量为 200ppb), 给大量开展食品中 T-2 毒素的监测带来了困难。80 年代国外开展了 T-2 毒素免疫检测方法的研究, 运用单克隆抗体技术, 建立了灵敏、简便、快速、特异的酶联免疫吸附测定法^[10-12]。我们应用 B 淋巴细胞杂交瘤技术, 已研制出特异性强的抗 T-2 毒素的单克隆抗体^[13], 并建立了小麦中 T-2 毒素酶联免疫吸附测定法^[14](最低检出量为 1ppb)。在此基础上, 对 1990 年我国小麦中 T-2 毒素的污染状况以及引起食物中毒的小麦样品进行了调查, 阐述了我国小麦中 T-2 毒素的污染水平与小麦赤霉病发生的关系, 为制定谷物中 T-2 毒素的卫生标准, 确保广大消费者的身体健康提供了依据, 现报道如下。

材料与 方法

(一) 器材

植物粉碎机(河北省黄骅县齐家务五金厂); 511 型酶标分析仪(上海第三分析仪五金厂); 恒温水浴锅(北京长安科学仪器厂); 酶标微孔板(96 孔, 美国 Gibco 公司产品; 24 孔, 天津产品); 玻璃器皿等。

(二) 试剂

1. 抗 T-2 毒素特异性强的单克隆抗体: 由本室制备。
2. 抗原: T-2 毒素与载体蛋白——牛血清白蛋白 (BSA) 的结合物 (T-2-BSA), 按

Chu 报道的方法^[12]制备。

3. 化学药品: T-2 毒素, 牛血清白蛋白 (BSA), 四甲基联苯胺 (TMB), 辣根过氧化物酶 (HRP) 均购自美国 Sigma 公司, 其它化学药品均为分析纯。

4. ELISA 缓冲液系统及 T-2 毒素标准溶液的配制: 见参考文献[14]。

(三) 样品的采集

在我国主要产麦区山东、河南、河北、湖北、辽宁、陕西、安徽、江苏、上海等 9 省市, 以随机抽样方式, 共抽取 12 个调查点, 每个调查点采集 1990 年当地产小麦样品 5—50 份, 每份约 500g, 所有样品均采自农户, 共采集样品 330 份。另外, 在 1991 年因洪涝灾害而引起霉变小麦中毒的安徽、河南两省, 采集中毒小麦样品共 48 份。

(四) 样品的提取与检测

见参考文献[14]。

(五) 气象资料的应用

小麦中 T-2 毒素的污染情况, 在我国以前未见报道。另外, 我国 T-2 毒素与赤霉病麦的联系如何, 更应值得探讨。影响小麦赤霉病发生的重要因素之一就是小麦抽穗扬花期的气候因子。为此, 我们搜集了各采样点 1990 年 4 月及 5 月的气象要素值 (主要有平均气温、降水量、相对温度、蒸发量、日照百分率等), 并以此和样品中 T-2 毒素的含量进行了多元回归统计分析。

表 1 小麦中 T-2 毒素污染阳性率

Table 1 The positive rate of T-2 toxin detected in wheat samples with ELISA

省(市) Provinces	调查点数 Survey counts	样品数 Samples	阳性样品数 Positive samples	阳性率(%) Positive rate
安 徽 Anhui	3	55	48	87.3
江 苏 Jiangsu	1	49	48	98.0
上 海 Shanghai	2	46	40	87.0
山 东 Shandong	1	30	28	93.3
湖 北 Hubei	1	30	20	66.7
河 南 Henan	1	30	14	46.7
河 北 Hebei	1	30	19	63.3
辽 宁 Liaoning	1	30	24	80.0
陕 西 Shaanxi	1	30	23	76.7
总 计 Total	12	330	264	80.0

注: T-2 毒素含量大于零的样品为阳性样品。

Positive: T-2 toxin > 0 ($\mu\text{g/kg}$)。

结 果

(一) 1990 年国产小麦 T-2 毒素污染状况

对 330 份 1990 年国产小麦样品,用间接竞争性酶联免疫吸附测定法^[10],进行了 T-2 毒素含量测定,污染阳性率及 T-2 毒素含量见表 1、2。

表 2 小麦样品中 T-2 毒素含量

Table 2 The T-2 toxin concentration detected in wheat samples with ELISA

省(市) Provinces	样 品 数 Samples	T-2 毒素含量 T-2 toxin (ppb)			百分位数 ppb Percent conc. ppb		
		最小值 Min.	最大值 Max.	均 值 Mean	25%	50%	75%
安 徽 Anhui	55	0	563.7	59.5	11.2	26.4	74.4
江 苏 Jiangsu	49	0	796.2	82.3	12.6	33.0	93.6
上 海 Shanghai	46	0	381.1	68.5	16.7	35.6	80.0
山 东 Shandong	30	0	142.0	40.8	9.8	25.2	63.2
湖 北 Hubei	30	0	224.4	36.0	0.0	14.2	50.2
河 南 Henan	30	0	1122.0	89.8	0.0	0.0	15.8
河 北 Hebei	30	0	104.4	20.4	0.0	3.8	15.5
辽 宁 Liaoning	30	0	79.6	18.3	1.1	10.0	23.9
陕 西 Shaanxi	30	0	282.5	32.6	4.0	17.8	56.4
总 计 Total	330	0	1122.0	53.3	3.9	17.8	56.4

由表 1 可见,我国小麦中 T-2 毒素的污染率是比较高的,其阳性率为 46.7—98.0%,平均水平为 80%,其中以华东地区四省市为最高(均高于 85%)。样品中含毒素最大值为 1122.0ppb,平均含量为 53.3ppb(表 2)。

为进一步观察各调查省份及样品总数范围内毒素含量比例构成,将样品中毒素含量分为三个含量水平,并进行比较,结果见表 3。

检测结果表明,在供检的样品中,毒素含量小于 50ppb 的占样品总数的 71.2%;50—100ppb 的占 15.2%;大于 100ppb 的占 13.6%。表 3 还表明,安徽、江苏、上海三省市不仅在污染阳性率、毒素平均含量水平方面最高,且毒素含量大于 100ppb 的样品比例也高于样品总平均水平(13.6%),可见华东地区小麦样品中 T-2 毒素的污染水平是比较高的。

(二) T-2 毒素含量与四、五月份气象要素的关系

上述结果表明,华东地区小麦样品中 T-2 毒素含量与该地区同年小麦赤霉病大流行

表3 小麦样品中 T-2 毒素含量分级比较
Table 3 The classification of T-2 toxin concentration detected in wheat samples

省(市) Provinces	样品数 Samples	T-2 毒素含量 T-2 toxin (ppb)					
		<50		50—100		>100	
		样品数 Samples	比 例 Rate(%)	样品数 Samples	比 例 Rate(%)	样品数 Samples	比 例 Rate(%)
安 徽 Anhui	55	37	67.3	8	14.5	10	18.2
江 苏 Jiangsu	49	28	57.1	11	22.4	10	20.4
上 海 Shanghai	46	27	58.7	8	17.4	11	23.9
山 东 Shandong	30	19	63.3	8	26.7	3	10.0
湖 北 Hubei	30	22	73.3	5	16.7	3	10.0
河 南 Henan	30	26	86.7	0	0.0	4	13.0
河 北 Hebei	30	24	80.0	5	16.7	1	3.3
辽 宁 Liaoning	30	27	90.0	3	10.0	0	0.0
陕 西 Shaanxi	30	25	83.3	2	6.7	3	10.0

(农业部植保总站提供的资料)情况相吻合。为此,我们进一步探讨了 T-2 毒素含量水平与部分气象要素的关系。运用 ERRINFO Version 5 统计系统在微机上进行多元逐步回归处理。结果表明,四月份相对湿度与五月份降水量和 T-2 毒素含量间存在明显的线性相关关系,其逐步回归方程为:

$$Y = -154.3175 + 3.2233X_1 - 0.311X_2$$

式中: Y: T-2 毒素含量

X_1 : 四月份相对湿度

X_2 : 五月份降水量

F 值为 39.7 ($> F_{0.01}$)

复相关系数 $R = 0.934$ ($> R_{0.001}$)

(三) 1991 年引起中毒的小麦样品中 T-2 毒素的检出

从安徽、河南两省部分地区 1991 年因洪涝灾害引起霉变而造成食物中毒的小麦样品中检出 T-2 毒素,结果见表 4。

由表 4 可知,在 48 份中毒样品中,除一份为阴性外,其余 47 份均检出 T-2 毒素,且平均含量在 255.9—671.6ppb 之间,最大值可达 1064.6ppb,可见 T-2 毒素是引致此次霉变粮食中毒的主要致病因素之一。

表 4 中毒小麦样品中 T-2 毒素含量调查

Table 4 The T-2 toxin concentration detected in intoxication wheat samples

采 样 Counties	样 品 数 Samples	阳 性 率 Positive rate(%)	T-2 毒素含量 T-2 toxin (ppb)		
			最小值 Min.	最大值 Max.	均 值 Mean
安徽颍上县 Yingshang, Anhui	10	100.0	158.8	604.0	375.6
河南息县 Xixian, Henan	11	90.9	0.0	1064.4	405.8
河南淮滨县 Huaibin, Henan	10	100.0	94.9	533.5	362.0
河南罗山县 Luoshan, Henan	1	100.0	—	—	423.8
河南沈丘县 Shenqiu, Henan	14	100.0	84.5	475.5	255.9
河南新蔡县 Xincai, Henan	1	100.0	—	—	300.0
河南正阳县 Zhengyang, Henan	1	100.0	—	—	671.6

讨 论

1. 对小麦中 T-2 毒素污染调查的统计结果表明, 1990 年国产小麦 T-2 毒素含量最高值为 1122.0ppb, 平均值为 53.3ppb, 平均阳性率为 80%。样品中 T-2 毒素含量大于 100ppb 的占 13.6%, 小于 50ppb 的占 71.2%, 说明污染水平较高。

2. 按地理位置划分大区, 可以看出: 华东地区小麦中 T-2 毒素污染阳性率与中南、华北、西北等地区相比, 有显著性差异 ($P < 0.05$); 而 T-2 毒素含量, 华东与华北、东北有显著性差异。中南地区 T-2 毒素含量水平较高, 可能是由于个别样品值(河南省)过大所致。总之, 华东地区小麦中 T-2 毒素污染较其他地区为重。由于华东地区 1990 年是小麦赤霉病大流行年, 可见该地区小麦样品中高含量的 T-2 毒素与小麦赤霉病的流行有着一定的联系。小麦抽穗扬花期的气象条件与小麦赤霉病的发生关系密切。为此, 我们在不考虑其社会、地理等影响因素的情况下, 探讨了 T-2 毒素含量与气象要素之间的关系。多元逐步回归结果再次表明, 我国小麦样品中 T-2 毒素含量与小麦赤霉病密切相关。综合上述流行病学调查与统计分析, 我们认为小麦中 T-2 毒素的含量与赤霉病的流行呈正相关。

3. 小麦赤霉病非流行地区的河南省, 虽然污染阳性率较低(46.7%), 但其阳性样品中 T-2 毒素含量却高居不下。河南省是我国食管癌高发地区, 不少学者认为, 该地区食管癌的高发病率与群众主食中 T-2 等霉菌毒素的污染有密切的关系^[6,17]。因此, 对该地区的霉菌毒素污染状况, 应更加深入研究。

4. T-2 毒素是单端孢霉烯族化合物中毒性较大的一种, 对成年大鼠经口 LD_{50} 为 5.2mg/kg, 毒性分级为剧毒。它能引起动物呕吐, 可导致外周血白细胞缺乏, 具有明显细

胞毒和对蛋白质、DNA 合成的抑制作用, 并有致畸性和致突性。国际对此毒素非常重视, 前苏联已提出国家的食品卫生限量标准为 100ppb。我们从中毒样品中检出高含量的 T-2 毒素; 正常小麦的调查结果表明, 毒素含量超过 100ppb 的占样品总数的 13.6%。鉴于上述情况, 为保障消费者的身体健康, 加强谷物的卫生监督管理, 制定我国的 T-2 毒素卫生限量标准, 是非常迫切的。

5. 从 48 份中毒样品的检测结果 (T-2 毒素的平均含量为 255.9—671.6ppb, 最高含量超过 1000ppb) 中可以看出, T-2 毒素是引起食物中毒的主要致病因素之一。因此, 应切实加强, 谷物的防霉去毒措施的研究。

参 考 文 献

- [1] Cannon, M. et al.: *Biochem. J.*, 156:289, 1976.
- [2] Lutsky, I. et al.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 43:111, 1978.
- [3] Snyder, A. P.: *J. Food. Prot.*, 49:544, 1986.
- [4] Joffe, A. Z.: *Microbiol. Toxins*, 7:139, 1971.
- [5] Cooray, R.: *Food. Chem. Toxicol.*, 22:529, 1984.
- [6] Pawalsky, R. J. et al.: *J. Agric. Food. Chem.*, 32:1420, 1984.
- [7] Rosenstein, Y. et al.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 70:283, 1983.
- [8] Lee, S. S. et al.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 64:156, 1981.
- [9] 罗雪云等: 卫生研究, 14: 31, 1985.
- [10] Gendloff, E. H. et al.: *Phytopathology*, 77:57, 1987.
- [11] Goodbrand, I. A. et al.: *Lett. Appl. Microbiol.*, 5: 97, 1987.
- [12] Ramakrishna, N. et al.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 73: 71, 1990.
- [13] Yang, C. H. et al.: *Chinese Science Bulletin*, 36:1829, 1991.
- [14] 阳传和等: 环境科学学报, 12(3): 124, 1992.
- [15] Chu, F. S. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 37:104, 1979.
- [16] Hsis, C. C. et al.: *Cancer Detect. Prev.*, 13:79, 1988.
- [17] Luo, Y. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 56: 3723, 1990.

A SURVEY OF T-2 TOXIN IN WHEAT BY AN INDIRECT ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY

Yang Chuanhe Luo Xueyun Ji Rong Liu Chang

(Institute of Food Safety Control and Inspection, Ministry of Public Health, Beijing 100021)

The survey of T-2 toxin in wheat randomly sampled in nine provinces was carried out, employing an indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay. Among 330 samples, 264 samples (80%) showed positive results. The mean concentrations was 53.3 ppb and maximal concentration was 1122.0 ppb. It was also detected high concentration (84.5—1064.4) of T-2 toxin in human intoxication wheat samples in 1991. The investigation also showed that there existed close relationship between the level of T-2 toxin contamination and the epidemic of wheat scabby.

Key words T-2 toxin; Survey; Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)