

# 中药材中黄曲霉毒素的防控措施研究进展

李婷<sup>1</sup>, 胡小松<sup>1</sup>, 巩颖<sup>2</sup>, 付闪雷<sup>3</sup>, 王龙<sup>3</sup>, 华国栋<sup>2\*</sup>, 刘春生<sup>1\*</sup>

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100029; 2. 北京中医药大学东方医院, 北京 100078;  
3. 北京科园信海医药经营有限公司, 北京 100160)

**[摘要]** 中医药受到国际社会越来越多的关注,世界范围内对中医药的需求日益增长,潜在的中药质量安全隐患也日渐突出。黄曲霉毒素污染是影响中药材安全问题的重要因素之一,目前已有多种方法被用于减少或降低黄曲霉毒素,然而很少有合适方法能在中药材中经济、高效、大规模的推广与应用。因此,继续研究解决黄曲霉菌及其毒素污染问题的措施有着非常重要的意义。该文通过对黄曲霉毒素的危害及污染现状、防控黄曲霉菌生长及降解黄曲霉毒素的措施进行综述,并对未来防控黄曲霉菌及其毒素的前景进行展望,旨在为解决黄曲霉菌及其毒素污染问题提供思路,以保证中药材质量,从而确保临床用药的安全有效。

**[关键词]** 黄曲霉毒素; 预防与控制; 中药材; 安全性; 黄曲霉菌; 微生物; 降解

**[中图分类号]** R22;S895.1+36;R282;R931 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)07-0228-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.20182403

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180913.1650.001.html>

**[网络出版时间]** 2018-09-15 12:13

## Research Progress on Prevention and Control Measures of Aflatoxin in Chinese Medicinal Materials

LI Ting<sup>1</sup>, HU Xiao-song<sup>1</sup>, GONG Ying<sup>2</sup>, FU Shan-lei<sup>3</sup>, WANG Long<sup>3</sup>, HUA Guo-dong<sup>2\*</sup>, LIU Chun-sheng<sup>1\*</sup>

(1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;  
2. Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China;  
3. Beijing Kyuan Xinhai Pharmaceutical Co. Ltd., Beijing 100160, China)

**[Abstract]** At present, traditional Chinese medicine (TCM) has attracted more and more attention from the international community. The demand for TCM is increasing in the world. The hidden dangers of potential quality and safety of TCM are also becoming increasingly prominent. Aflatoxin contamination has become one of the important factors affecting the safety of Chinese herbal medicines, and it will fundamentally affect human health and life safety. A variety of methods are used to reduce aflatoxins, however, there are few suitable methods that can be widely used in the cost-effective and large-scale promotion of Chinese herbal medicines. Therefore, it is of great significance to continue to study measures to solve the pollution problems of *Aspergillus flavus* and its toxins. This article summarizes the hazards and contamination status of aflatoxin, the prevention and control of the growth of *A. flavus*, and the measures for reducing aflatoxin, and looks ahead to the future prevention and control of *A. flavus* and its toxins, aiming at providing ideas for the pollution problem of *A. flavus* and its toxin, to ensure the quality of Chinese herbal medicines, so as to ensure clinical safety medication.

**[收稿日期]** 20180623(003)

**[基金项目]** 国家公益性科研专项(201507002);北京科园信海医药经营有限公司-北京中医药大学横向课题——冷链储藏条件下种子类药材的质量和安全性研究(2018110031002524)

**[第一作者]** 李婷,在读硕士,从事药用植物与分子生药学研究,Tel:010-84738624,E-mail:Abby1230@163.com

**[通信作者]** \*刘春生,教授,从事药用植物和分子生药学研究,Tel:010-84738624,E-mail:max\_liucs@263.net;

\*华国栋,教授,从事临床药学研究,Tel:010-67689957,E-mail:zhaojhuagd@126.com

[Key words] aflatoxin; prevention and control; Chinese herbal medicines; security; *Aspergillus flavus*; microbes; degradation

中医药是中华民族几千年来人们在实践发展中总结出来的经验,是中华民族瑰宝,对人类文明的丰富和发展具有重要意义。而中药材的质量和安全性是保证中医药健康、稳定、持续发展的关键因素<sup>[1]</sup>。随着社会经济的发展,人民生活水平的提高,人们对健康和安全的诉求日益增高,潜在的中药安全隐患日渐突出。中药材的质量安全尤其是中药材中黄曲霉毒素污染等因素已经严重制约了我国中医药现代化发展进程。目前,此类现象已引起人们的高度重视。中药材在种植、采收、加工、运输、贮藏过程中,由于含有脂肪、蛋白质等丰富的营养物质,同时因药材自身的呼吸、氧化作用等活动的进行,当外界条件适宜时,极易滋生霉菌。目前,黄曲霉菌等真菌所产生的黄曲霉毒素造成的伤害程度较为严重,对黄曲霉菌进行防控并采取相应措施降解其毒素迫在眉睫。然而,目前诸多方法用于减少或降低黄曲霉毒素却不能大规模的推广应用。因此,继续研究解决黄曲霉菌及其毒素污染问题非常重要。本文分析了黄曲霉毒素的危害及污染现状,并对防控黄曲霉菌生长的方法以及降解黄曲霉毒素的措施进行总结与分析,同时还预测了未来防控黄曲霉菌生长及其毒素污染的途径,为解决黄曲霉毒素问题提供思路。

### 1 黄曲霉毒素的危害及污染现状

黄曲霉菌 *Aspergillus flavus* 是曲霉属真菌。在自然环境中,其是一种常见的霉菌,常会造成农作物以及药材储藏中霉菌污染现象。其亦是一种人类的病原,会造成肺部的曲霉病,有时候也会引起角膜、耳、鼻、眼眶的感染。黄曲霉毒素是由黄曲霉菌及寄生曲霉产生的次生代谢物,是一类二氢呋喃香豆素的衍生物。已被分离出来的毒素类型包括 B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> 等十几种,其中毒性最大的为黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>)。1993 年国际癌症研究机构将黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 列为 1 类致癌物,其毒性比砒霜大 68 倍,仅次于肉毒毒素,是目前已知霉菌中毒性最强的。黄曲霉毒素可能诱发急性和长期的慢性效应,会造成致畸、致癌和免疫抑制等结果。据报道,黄曲霉毒素的危害在于对人及动物肝脏组织的破坏,严重时可能导致肝癌甚至死亡<sup>[2]</sup>。目前,国内外对于黄曲霉毒素的检测主要集中在粮油产品、奶制品和饲料等领域,用于中药材的检测力度相对较小。中药材种类丰富,且随着其使用日益增多,感染黄曲霉菌甚至产生黄曲霉毒素的概率就会大大增加。2015 年版

《中国药典》中规定了莲子、肉豆蔻、大枣、柏子仁等 14 种植物类药材和水蛭、全蝎等 5 种动物类药材需要检测黄曲霉毒素<sup>[3]</sup>。LIU 等<sup>[4]</sup>通过建立的快速 LC-ESI-MS/MS 检测莲子中的黄曲霉毒素,结果发现 95% 的莲子被不同水平 (0.02 ~ 688.4 μg·kg<sup>-1</sup>) 的黄曲霉毒素污染;王帆等<sup>[5]</sup>采用免疫亲和柱-高效液相色谱法-荧光检测仪测定 23 个不同来源的陈皮中黄曲霉毒素,得出“7 月和 8 月份抽样陈皮中黄曲霉毒素均超过了限量”这一结论。此外,除了 2015 年版《中国药典》所规定的 19 种中药材必须检测黄曲霉毒素外,一些研究者在其他中药材中也发现了黄曲霉毒素污染问题,甚至存在毒素超标现象。D'Ovidio 等<sup>[6]</sup>通过开发的一套分析方法测定 11 种野生模拟和 12 种栽培人参根样品中的黄曲霉毒素,结果发现 2 种野生模拟的人参根均受黄曲霉毒素污染,并且发现了从药店买来的发霉人参根黄曲霉毒素污染量为 16 ng·g<sup>-1</sup>;ZHOU 等<sup>[7]</sup>通过将灭菌的甘草与黄曲霉菌培养发现,黄曲霉菌不仅可以产生黄曲霉毒素,而且在一定程度上影响了甘草的内在质量。此外,类似报道在无花果<sup>[8]</sup>、苦杏仁<sup>[9]</sup>、生姜<sup>[10]</sup>、番泻叶<sup>[11]</sup>、黄芪<sup>[12]</sup>、益智仁<sup>[13]</sup>等中药材,甚至是在中成药如牛黄清心丸<sup>[14]</sup>中也出现过。由以上文献调研可知,一些中药材存在着感染黄曲霉菌甚至黄曲霉毒素超标的问题,因此,解决黄曲霉毒素污染问题刻不容缓。

### 2 黄曲霉毒素的防控

目前,有多种方法可以用来减少中药材中黄曲霉菌及其毒素的污染。主要是从预防控制和降解 2 个方面入手,即从源头防治黄曲霉菌的生长从而减少黄曲霉毒素形成、降解受污染中药材的霉菌毒素。由于不恰当的种植、采收、储藏、加工及运输等操作,中药材极易滋生黄曲霉菌进而产生黄曲霉毒素,故从源头防治黄曲霉菌的产生无疑是降低黄曲霉毒素的最佳办法。目前,提高种植技术、保障采收时间、加强储藏管理、确保加工及运输条件是预防黄曲霉菌产生的常用措施。

**2.1 提高种植技术** 由于目前野生中药材资源匮乏,人工种植的中药材占常用中药材很大比例。因而,栽培技术是保障中药质量安全的可靠途径。目前,农作物如玉米、花生等通过田间管理措施来减少黄曲霉菌的研究较多,而关于中药材栽培技术影响黄曲霉菌产生的报道却较少。王明道等<sup>[15]</sup>研究了

怀地黄连作对土壤微生物区系的影响,结果发现地黄连作后土壤微生物多样性有着较大的变化,黄曲霉菌数量会增加。由此可知,种植技术不当容易使药材滋生霉菌。同一块土地连年种植同一种药材常导致植物感染霉菌,合理轮作能避免植物自身排泄物的不利影响,减少霉菌生长。Bhat 等<sup>[16]</sup>认为发达国家的人群通常比发展中国家的人群更少接触霉菌毒素的一个因素是发达国家有着较先进的栽培管理技术。此外,一些其他的田间管理措施如灌溉、施肥等以及包括种植日期选择在内的种植习俗都可以限制黄曲霉菌感染以及随后的毒素积累。

**2.2 保障采收时间** 中药材的质量和与安全采收时间有着密不可分的关系。保障中药材的采收时间也是一种减少黄曲霉菌感染的方法。Atukwase 等<sup>[17]</sup>对玉米真菌毒素发生的相关因素进行研究,结果发现延迟收割会增加真菌毒素的污染。同样的,在 Gnonlonfin 等<sup>[18]</sup>的研究中也可发现,延迟采收确实增加了黄曲霉菌感染的风险。说明在保障中药材质量的前提下及时采收能预防霉变。

**2.3 加强储藏管理** 环境因素如温度、湿度、氧气等与霉菌的生命活动有着密切的联系,只有在环境条件最合适的环境下,霉菌才能生长与繁殖。目前,恰当的储藏管理措施用于防止黄曲霉菌的生长是较为有效的方法之一。黄曲霉菌是温暖地区常见的优势菌种,合适的温度和湿度是霉菌产生毒素的最佳环境条件。黄曲霉菌适宜的生长温度在 4 ~ 50 °C,相对湿度在 25% ~ 40%<sup>[2]</sup>。大部分被检出黄曲霉毒素的中药材多来源于南方较温暖的地区。因此,在储藏中药材过程中控制其温度或湿度能产生对黄曲霉菌不利的条件。ZHAO 等<sup>[13]</sup>发现益智仁通常是在储藏条件不当的情况下产生霉菌,并采用中心复合设计-响应面法研究不同温度和湿度条件下储藏对黄曲霉毒素积累的影响,结果表明在温度 < 25 °C 和相对湿度 < 85% 下储藏药材,黄曲霉毒素水平可以被最小化。骆骄阳等<sup>[19]</sup>以陈皮为研究对象,以中药材的性状特征、含水量、有效成分含量及真菌毒素的积累为评价指标考察了陈皮在不同储藏条件下存放 12 个月前后的质量变化,结果表明低温低湿适合药材的储藏。同样,许艳丽等<sup>[20]</sup>通过研究黄曲霉菌的产毒条件来预测影响毒素产生和积累的主要环境因素,结果发现较低的温度和良好的通风,即凉爽干燥的储存环境,加上弱碱性条件可以有效降低黄曲霉毒素的产生。此外,仓库中也常采用充惰性气体的方式来抑制霉菌的生长和繁殖。据 Gilbert 等<sup>[21]</sup>报道,空气中二氧化碳的浓度会极大地影响

黄曲霉菌对水分和温度的响应,这也可以说明如果降低药材储存期间的水分含量,可能会造成真菌生长及代谢的不适宜条件。

**2.4 确保加工及运输条件** 恰当的加工方式及运输条件能降低药材被黄曲霉菌感染的风险。中药材最常见的加工方式如分拣、洗涤、干燥、脱皮、碾磨、蒸煮可以增加或减少黄曲霉菌的产生。药材的含水量也会影响黄曲霉菌的产生。采收的中药材例如种子类药材,如果没有快速干燥,堆放后可能会开始发热,这种现象就预示着会有黄曲霉菌的生长。药材的水分含量与霉菌的生长和代谢活动密切相关,未经霉菌发育的药材储藏的安全期限在贮存开始时高度依赖水分。因此,保证采收后快速对药材进行干燥能有效减少黄曲霉菌的产生,从而减少黄曲霉毒素的积累。运输过程中的包装材料对黄曲霉菌的产生也会有影响。周文菊<sup>[22]</sup>以薄荷、陈皮、槟榔为研究对象,以药材的性状特征、含水量、有效成分含量及真菌毒素的积累为评价指标,将 3 种药材用不同的材料包装,分别为自封袋、牛皮纸和编织袋,储存 12 个月后考察其质量变化及霉变情况,结果发现 3 种药材储藏在自封袋中成分含量变化最小以及真菌毒素含量较低。

提高种植技术、保障采收时间、加强储藏管理、确保加工及运输条件等途径只适用于预防黄曲霉菌的产生以及黄曲霉毒素的形成。然而,一旦黄曲霉毒素形成甚至超标,则需实施后续的黄曲霉毒素降解或脱毒的方法来管理中药材。

### 3 黄曲霉毒素的降解

**3.1 物理方法** 传统的物理方法就是通过热、光等来破坏黄曲霉毒素的毒性,主要包括高温法、加热法、吸附法、辐照法、精油熏蒸法。高温法是将黄曲霉毒素加热使其降解。然而黄曲霉毒素具有很强的耐高温性,一般的加工温度不能将其破坏, > 300 °C 才会使之裂解,故一般很少采用高温法来使黄曲霉毒素降解。吸附法则常选择吸附剂进行黄曲霉毒素的降解。常用的吸附剂有活性炭、酵母、改性蒙脱土、膨润土等,WANG 等<sup>[23]</sup>探索了非离子表面活性剂辛基酚聚氧乙烯醚改性蒙脱土作为真菌毒素吸附剂的潜力。所得改性蒙脱土在不同的表面活性剂加载量下具有不同的结构构型、有机碳含量、表面疏水性和质构性质。通过模拟胃肠道条件,将制备的改性蒙脱土用在单一和二元污染体系中极性黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的吸附。改性蒙脱土对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的高吸附容量可以在低表面活性剂加载量下达到。这项研究表明改性蒙脱土可能是一种很有前景的吸附剂,

可对霉菌毒素进行解毒。Martinez 等<sup>[24]</sup>将活性炭用作赭曲霉毒素和黄曲霉毒素的吸附材料,结果发现所有的实验对象中真菌毒素浓度均降低。Bhatti 等<sup>[25]</sup>研究膨润土、活性炭以及新发现的一种酵母菌 *Trichosporon mycotoxinivorans* 对真菌毒素在组织内转移的抑制作用,结果表明降低肝脏黄曲霉毒素的有效性排序依次为膨润土 > 活性炭 > 酵母菌。总之,吸附剂降低黄曲霉毒素目前还很少用于中药材,但其是否会对药材有效成分有影响仍然值得研究。

精油熏蒸法是利用一些植物精油及其组分具有相对高的挥发性、短暂性和生物可降解性通过熏蒸对黄曲霉毒素进行降解,目前被工作者广泛关注。精油在美国食品药品监督管理局的“一般认为安全 (GRAS)”区中被列为抗真菌剂<sup>[26]</sup>,这也就是说精油在食品药品中的使用不需要进一步批准,可以作为抑制真菌的物质。精油熏蒸在药材中黄曲霉毒素的降解也取得了较好的成绩。LI 等<sup>[27]</sup>研究了山苍子油对甘草黄曲霉菌和黄曲霉毒素的影响,通过顶空挥发物实验表明不同浓度的山苍子挥发油对黄曲霉菌丝体生长的抑制效果优于接触法,而且发现山苍子挥发油能有效抑制甘草中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的积累。说明山苍子挥发油有可能作为一种高效和环保的抗真菌熏蒸剂,用于控制采后真菌和甘草在贮藏过程中的黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 产生。Sukcharoen 等<sup>[28]</sup>利用接触和蒸汽处理评价了黄樟精油对曲霉菌株的菌丝生长、产孢率和黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的抑制作用,结果发现通过蒸汽处理熏蒸活性比接触处理有着更高的抑制作用。说明精油熏蒸可以对黄曲霉毒素进行生态友好的抑制。Mishra 等<sup>[29]</sup>研究了穿心莲在真菌和黄曲霉毒素污染下的贮藏过程中的物质降解,并用 3 种精油进行了控制。结果 3 种精油在储存容器熏蒸过程中显示出了有效的防腐剂效果,分别提供 71.93%、93.86% 和 88.60% 的草药原料对真菌污染的保护。表明精油能有效抑制黄曲霉毒素。可见,精油熏蒸凭借其易挥发、环境友好等优点用于抑制黄曲霉毒素的形成有着可观的前景。

辐射法有两类,一类诸如 X 射线,紫外线,γ 射线,电子束等是电离辐射;另一类是包括微波、红外、可见光在内的非电离辐射。紫外线和 γ 射线照射技术应用于降毒有着明显的效果。由于紫外线的波长在 10 ~ 400 nm,而黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 吸收 222, 265, 362 nm 处的紫外辐射,最大吸收发生在 362 nm 处,故采用紫外照射技术降解黄曲霉毒素是目前较为常用的方法。王峰<sup>[30]</sup>以乙腈、水和花生油为介质,研究不同初始浓度、照射光类型、照射强度和时

间等因素对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 紫外光降解行为的影响。结果发现黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 紫外光降解速度和初始浓度无关,与照射光类型、强度以及时间等因素有关。而且还发现,水中紫外光降解产物毒性已经大幅度降低但没有彻底去除,而花生油中紫外光降解产物毒性完全消失。文章最后还研究了紫外照射应用于花生油对花生品质的影响,结果发现除使花生油过氧化值增加外,其余均无影响。γ-射线被用于降解中药材中黄曲霉毒素已有报道,Nurtjahja 等<sup>[31]</sup>研究了射线辐照对肉豆蔻黄曲霉菌株种群、活力和黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 产生的影响。结果表明随着辐照剂量的增加,黄曲霉菌种群总数显著下降;菌株活力降低,但 5, 10 kGy 的射线辐照剂量不足以完全消除某些黄曲霉菌株的活力;辐照没有改变产毒性,却触发存活的产毒菌株产生黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>。同样的,在 Di Stefano 等<sup>[32]</sup>的研究中发现即使用 15 kGy 的 γ 射线对试验材料中黄曲霉毒素进行完全破坏也不是有效的。因此,相比较其他方法,笔者认为紫外照射技术可以作为降解黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的一种有效安全且可以大规模使用的方法;但紫外照射法由于其本身波长范围窄以及穿透力差,可以考虑研究具有更高波长的白光源的降毒素作用。此外,新兴脉冲光<sup>[33]</sup>、等离子体<sup>[34]</sup>等技术均有着较好的发展前景。

**3.2 化学方法** 常用的化学方法有强酸化、氨化、强氧化等。虽然化学试剂能有效降解黄曲霉毒素,但因其存在化学残留而引发二次污染很少被使用。氨化是经过气态氨或氢氧化铵水溶液处理,用氨处理以减少霉菌毒素的毒性很早就已被发现且一直是全世界科学家研究的热点领域。Abu-El-Zahab 等<sup>[35]</sup>研究氨和粘土对黄曲霉毒素的降毒作用,结果发现二者均可以推荐用于降解黄曲霉毒素。Allameh 等<sup>[36]</sup>通过研究也发现氨处理能降解黄曲霉毒素。虽然氨化的效率得到了显著的支持,然而其存在的残留仍然阻碍了被广泛应用。同理,强酸不能展开应用原因也是如此。强氧化法通常是选择臭氧进行处理。Kamber 等<sup>[37]</sup>使用不同剂量的臭氧处理添加过黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的红辣椒样品,结果发现黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的减少取决于臭氧剂量,黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 含量减少百分比在 6.1% ~ 74.1%。相比于其他化学方法,臭氧降解黄曲霉毒素的机制<sup>[38]</sup>研究较完整,且污染较小,然而其获得方式繁琐、价格昂贵、降解产物存在着安全隐患而不能大规模推广使用。

**3.3 生物方法** 与传统的物理化学方法相比,安全高效的生物方法的使用频率近年来逐渐增加。减少黄曲霉毒素积累的一大战略是基于生物竞争排斥的

控制。据研究报道,一些细菌诸如链霉菌<sup>[39]</sup>、土壤杆菌<sup>[40]</sup>、乳酸菌<sup>[41]</sup>、枯草芽孢杆菌<sup>[42]</sup>等均能降低黄曲霉毒素的含量。此外,一些真菌如黑曲霉、寄生曲霉、根霉菌、假蜜环菌等也能利用自身的代谢物降解黄曲霉毒素。例如齐景凯等<sup>[43]</sup>发现的黑曲霉固体发酵玉米干酒糟及其可溶物(DDGS)可以降解黄曲霉毒素。张晓雪等<sup>[44]</sup>通过黑曲霉液体发酵对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 进行脱除。目前,研究者将焦点转移至海洋微生物,并且发现了一些海洋细菌及真菌有着降解黄曲霉毒素的功能<sup>[45]</sup>。陈璐<sup>[46]</sup>从南海海绵中筛选出多株黄曲霉菌拮抗菌株,并对其拮抗活性最强的菌株进行研究,结果证明其产生的抑菌活性物质可以抑制黄曲霉菌的孢子。可见,海洋微生物在抑制黄曲霉菌这个领域有着很好的应用前景。目前较为成功的应用于黄曲霉菌的对抗则是不产毒的黄曲霉菌株。美国和澳大利亚已经将不产毒菌株应用到花生、玉米等大田作物中来对抗黄曲霉毒素的形成。另外,Adebo 等<sup>[47]</sup>研究黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 对 *Pontibacter* sp. 液体培养物和裂解物的降解,通过 HPLC 含量测定发现液体培养物和未经蛋白酶抑制的裂解物分别显著降低了 50% 和 36% 的黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>,且进一步证实降解机制为酶促反应,也就是说明生物酶也可以降低黄曲霉毒素。

#### 4 黄曲霉毒素防控前景预测

**4.1 抗黄曲霉菌中药材新品种的研究** 虽然恰当的贮藏方法能减少中药材采收后黄曲霉毒素的污染状况,但是切断中药材采收前污染黄曲霉毒素的途径才是关键。近几年来,黄曲霉菌的污染和黄曲霉毒素的产前控制是研究密集的领域,包括遗传育种、转基因工程等,但是多为农作物研究。由于黄曲霉菌株存在的一些不产毒菌株,可以从基因水平上对调控毒素的基因进行编排或敲除。一些越来越受到关注的方法包括通过 RNA 干扰(RNAi)技术诱导的基因沉默。RNAi 在植物系统中的应用有可能成为一种稳定且高度特异的技术,借此转基因宿主植物表达一种小分子干扰 RNA (siRNA) 分子,该分子靶向定殖病原体中的特定基因 mRNA 以用于随后的 RNAi 诱导的降解。此外, RNAi 技术还包括 siRNA 的喷雾诱导基因沉默,也可导致 RNAi 诱导。在基于 RNAi 的载体中使用组织特异性和诱导型启动子可能会更有效、更高效地控制病原体,这也就解决了基因沉默可能受到病原体类型、侵染部位等引发的问题<sup>[48]</sup>。Gilbert 等<sup>[49]</sup>研究了在以黄曲霉菌  $\alpha$ -淀粉酶基因为靶向的玉米籽粒中表达 RNAi 结构,结果抑制了  $\alpha$ -淀粉酶基因的表达,并减少了原位感染

过程中真菌生长,导致黄曲霉毒素减少。如之前报道一样,敲除编码黄曲霉菌的  $\alpha$ -淀粉酶基因就不能产生黄曲霉毒素<sup>[50]</sup>。目前,抗黄曲霉菌新品种多用于玉米、花生等农作物,未见有应用于中药材的报道。由于中药材的特殊性,自然界存在着许多能对抗黄曲霉毒素的药用植物,深入研究其抑制黄曲霉菌生长及其毒素形成的机制,从基因水平上找出其抑制黄曲霉毒素的基因。一旦基因被确定,将通过转基因工程培育抗黄曲霉菌新品种的中药材。这就意味着有可能从源头解决黄曲霉毒素污染的问题。

**4.2 药对同贮** 如上述精油熏蒸法降解黄曲霉毒素一样,药对同贮也可称为对抗贮藏,是传统中药材储藏中的一种特殊方法,其是将 2 种或多种中药材共同放在一起,利用自身的化学成分如挥发性成分来防止生虫霉变。早在《本草蒙筌》<sup>[51]</sup>中就有记载:“凡药藏贮,宜常提防。倘阴干、曝干、烘干未尽去湿,则蛀蚀、霉垢、朽烂不免为殃。……人参须和细辛,冰片必同灯草。麝香宜蛇皮裹,硼砂共绿豆收。生姜择老沙藏,山药侯干灰窖。沉香、真檀香甚烈,包纸须重;茧水、腊雪水至灵,埋阴宜久。”利用中药材的挥发性成分在环境中释放来杀死或抑制黄曲霉菌的生长和繁殖无疑不是一种廉价、简便、绿色环保的方法。

**4.3 微生物防治** 与传统的物理化学方法相比,把真菌毒素转化成毒性较低的代谢物的微生物防治不乏为较安全环保的方法<sup>[52]</sup>。微生物防治仍然是今后开展黄曲霉毒素防治的一个关注点。目前,生物防治虽然取得了一定的研究成果,然而却未见有应用于中药材上的报道。有益菌能干扰病原体,对植物有着正面的影响,将其用于黄曲霉菌的对抗及其毒素的降解将是解决毒素污染问题的又一条有效途径。

#### 5 讨论与展望

中药材黄曲霉菌感染导致的不可逆转的质量损失现象并不罕见。一些诸如物理、化学、生物手段被用来抑制黄曲霉菌生长及其毒素的污染。然而,每味中药材的基质不同,所采取降毒措施是否有效仍然是值得研究的问题。开发抗黄曲霉菌中药材品种是一大关注点。基因工程技术有潜力整合有益的植物性状,特别是提高抵御病原体攻击的能力,通过基因工程敲除调控黄曲霉菌产毒的关键基因或者进行基因重组从而开发具有抗黄曲霉菌特性的中药材品种,将会从源头切断黄曲霉菌的生长以及黄曲霉毒素的形成。由于一些中药材自身具有的挥发性成分,利用其进行黄曲霉菌的对抗具有绿色环保的

优势,未来将是防治黄曲霉菌的主要途径,但仍需进一步深入研究挥发性成分对抗黄曲霉菌的作用机制,再将其研发成功并推广应用。此外,微生物降解黄曲霉毒素这一方法日益受到关注,将益生菌用来抵抗中药材上黄曲霉菌的生长作为可能解决毒素污染问题的方案之一,能将其开发成功并且大规模的应用于中药材将具有重大意义。综上,本文分析了物理方法、化学方法、生物方法在防治黄曲霉毒素污染中的应用,预测了未来可能大规模应用于中药材储藏以对抗黄曲霉菌的 3 种方式,即基因工程培育抗黄曲霉菌品种从源头切断黄曲霉菌滋生、挥发性成分对抗黄曲霉菌以及益生菌抵抗黄曲霉菌的生长,期望后期从此角度出发研究防治黄曲霉菌的生长从而抑制黄曲霉毒素形成的措施,为解决中药材储藏时的毒素污染问题提供参考。

[参考文献]

[1] 王莎. 易霉变中药材的储藏规范研究[D]. 北京:北京协和医学院,2016.

[2] Nesic K, Ivanovic S, Nesic V. Fusarial toxins; secondary metabolites of *Fusarium* fungi[J]. *Rev Environ Contam Toxicol*, 2014, 228:101-120.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:22-273.

[4] LIU S Y, QIU F, KONG W J, et al. Development and validation of an accurate and rapid LC-ESI-MS/MS method for the simultaneous quantification of aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> in lotus seeds[J]. *Food Control*, 2013, 29(1):156-161.

[5] 王帆,乙引,杨占南,等. 陈皮中黄曲霉毒素测定及其安全评价[J]. *广东农业科学*, 2012, 39(3):84-86.

[6] D'Ovidio K, Trucksess M, Weaver C, et al. Aflatoxins in ginseng roots[J]. *Food Addit Contam*, 2006, 23(2):174-180.

[7] ZHOU S, KONG W, CAO J, et al. Effect of *Aspergillus flavus* contamination on the inherent quality of *Glycyrrhiza uralensis* [J]. *World Mycotoxin J*, 2014, 7(1):83-89.

[8] Drusch S, Aumann J. Mycotoxins in fruits; microbiology, occurrence, and changes during fruit processing[J]. *Adv Food Nutr Res*, 2005, 50:33-78.

[9] 祁光增,蒋玉宝,常浩祥,等. 苦杏仁中黄曲霉毒素影响因素分析[J]. *农业科技与信息*, 2015(4):67-69.

[10] Kabak B, Dobson A D. Mycotoxins in spices and herbs-an update[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2017, 57(1):18-34.

[11] Müller P, Basedow T. Aflatoxin contamination of pods of Indian *Cassia senna* L. (Caesalpinaceae) before harvest, during drying and in storage: reasons and

possible methods of reduction[J]. *J Stored Prod Res*, 2007, 43(4):323-329.

[12] HU Y C, KONG W J, LUO H L, et al. Dynamic variation of bioactive compounds and aflatoxins in contaminated radix astragali during extraction process[J]. *J Sci Food Agric*, 2016, 96(5):1571-1579.

[13] ZHAO X S, WEI J H, ZHOU Y K, et al. Quality evaluation of *Alpinia oxyphylla* after *Aspergillus flavus* infection for storage conditions optimization[J]. *AMB Express*, 2017, 7(1):151.

[14] 王菲菲,张聿梅,郑秋丽,等. 牛黄清心丸中黄曲霉毒素的检测[J]. *药物分析杂志*, 2015, 35(1):75-79.

[15] 王明道,吴宗伟,原增艳,等. 怀地黄连作对土壤微生物区系的影响[J]. *河南农业大学学报*, 2008, 42(5):532-538.

[16] Bhat R, Rai R V, Karim A A. Mycotoxins in food and feed: present status and future concerns[J]. *Compr Rev Food Sci F*, 2010, 9(1):57-81.

[17] Atukwase A, Kaaya A N, Muyanja C. Factors associated with fumonisin contamination of maize in Uganda[J]. *J Sci Food Agric*, 2009, 89(14):2393-2398.

[18] Gnonlonfin G J, Hell K, Adjovi Y, et al. A review on aflatoxin contamination and its implications in the developing world; a sub-Saharan African perspective[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2013, 53(4):349-365.

[19] 骆骄阳,周文菊,李坤伦,等. 不同储藏环境和包装形式对陈皮质量的影响[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(5):985-992.

[20] 许艳丽,吴振兴,刘恩德,等. 低温等环境条件对黄曲霉菌产毒的影响研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(7):2718-2722.

[21] Gilbert M K, Medina A, Mack B M. Carbon dioxide mediates the response to temperature and water activity levels in *Aspergillus flavus* during infection of maize kernels[J]. *Toxins (Basel)*, 2017, 10(1):E5.

[22] 周文菊. 不同储藏环境和包装形式对槟榔等药材质量影响的研究[D]. 镇江:江苏大学,2017.

[23] WANG G F, LIAN C, XI Y F, et al. Evaluation of nonionic surfactant modified montmorillonite as mycotoxins adsorbent for aflatoxin B<sub>1</sub> and zearalenone[J]. *J Colloid Interface Sci*, 2018, 518:48-56.

[24] Martinez N D, Rodriguez A M, Gomez D A. Ochratoxin A and aflatoxins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> in grape juice: simultaneous adsorption with activated carbon[J]. *Latin Am Appl Res*, 2017, 47(3/4):119-124.

[25] Bhatti S A, Khan M Z, Hassan Z U, et al. Comparative efficacy of bentonite clay, activated charcoal and *Trichosporon mycotoxinivorans* in regulating the feed-to-tissue transfer of mycotoxins[J]. *J Sci Food Agric*, 2018, 98(3):884-890.

[26] Prakash B, Kedia A, Mishra P K, et al. Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin

- contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities-potentials and challenges [ J ]. Food Control, 2015, 47: 381-391.
- [ 27 ] LI Y J, KONG W J, LI M H, et al. *Litsea cubeba* essential oil as the potential natural fumigant; inhibition of *Aspergillus flavus* and AFB<sub>1</sub> production in licorice [ J ]. Ind Crop Prod, 2016, 80: 186-193.
- [ 28 ] Sukcharoen O, Sirirote P, Thanaboripat D. Control of aflatoxigenic strains by *Cinnamomum porrectum* essential oil [ J ]. J Food Sci Tech Mys, 2017, 54 ( 9 ) : 2929-2935.
- [ 29 ] Mishra P K, Prakash B, Kedia A, et al. Efficacy of *Caesulia axillaris*, *Cymbopogon khasans* and *Cymbopogon martinii* essential oils as plant based preservatives against degradation of raw materials of *Andrographis paniculata* by fungal spoilage [ J ]. Int Biodeterior Biodegrad, 2015, 104: 244-250.
- [ 30 ] 王锋. 黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的辐射降解机理及产物结构特性分析 [ D ]. 北京: 中国农业科学院, 2012.
- [ 31 ] Nurtjahja K, Dharmaputra O S, Rahayu W P, et al. Gamma irradiation of *Aspergillus flavus* strains associated with Indonesian nutmeg ( *myristica fragrans* ) [ J ]. Food Sci Biotechnol, 2017, 26 ( 6 ) : 1755-1761.
- [ 32 ] Di Stefano V, Pitzano R, Cicero N, et al. Mycotoxin contamination of animal feedingstuff; detoxification by gamma-irradiation and reduction of aflatoxins and ochratoxin A concentrations [ J ]. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess, 2014, 31 ( 12 ) : 2034-2039.
- [ 33 ] WANG B, Mahoney N E, PAN Z L, et al. Effectiveness of pulsed light treatment for degradation and detoxification of aflatoxin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in rough rice and rice bran [ J ]. Food Control, 2016, 59: 461-467.
- [ 34 ] SHI H, Cooper B, Strohshine R L, et al. Structures of degradation products and degradation pathways of aflatoxin B<sub>1</sub> by high-voltage atmospheric cold plasma ( HVACP ) treatment [ J ]. J Agric Food Chem, 2017, 65 ( 30 ) : 6222-6230.
- [ 35 ] Abu-El-Zahab H S H, Aziz A A, Yousry D. Studies on detoxification of aflatoxins contaminated rabbits' ration treated with clay and ammonia [ J ]. Life Sci J, 1980, 9 ( 9 ) : 2713-2721.
- [ 36 ] Allameh A, Safamehr A, Mirhadi S A, et al. Evaluation of biochemical and production parameters of broiler chicks fed ammonia treated aflatoxin contaminated maize grains [ J ]. Anim Feed Sci Technol, 2005, 122 ( 3/4 ) : 289-301.
- [ 37 ] Kamber U, Gülbaz G, Aksu P, et al. Detoxification of aflatoxin B<sub>1</sub> in red pepper ( *Capsicum annum* L. ) by ozone treatment and its effect on microbiological and sensory quality [ J ]. J Food Process Pres, 2017, doi: 10.1111/jfpp.13102.
- [ 38 ] Jalili M. A review on aflatoxins reduction in food [ J ]. Iran J Health Saf Environ, 2016, 3 ( 1 ) : 445-459.
- [ 39 ] Shakeel Q, LYU A, ZHANG J, et al. Biocontrol of *Aspergillus flavus* on peanut kernels using *Streptomyces yansingensis* 3-10 [ J ]. Front Microbiol, 2018, doi: 10.3389/fmicb.2018.01049.
- [ 40 ] WANG Y, ZHAO C X, ZHANG D D, et al. Simultaneous degradation of aflatoxin B<sub>1</sub> and zearalenone by a microbial consortium [ J ]. Toxicon, 2018, 146: 69-76.
- [ 41 ] Perczak A, Golinski P, Bryla M, et al. The efficiency of lactic acid bacteria against pathogenic fungi and mycotoxins [ J ]. Arh Hig Rada Toksikol, 2018, 69 ( 1 ) : 32-45.
- [ 42 ] Siahmoshteh F, Hamidi-Esfahani Z, Spadaro D, et al. Unraveling the mode of antifungal action of *Bacillus subtilis* and *Bacillus amyloliquefaciens* as potential biocontrol agents against aflatoxigenic *Aspergillus parasiticus* [ J ]. Food Control, 2018, 89: 300-307.
- [ 43 ] 齐景凯, 李丹丹, 王思珍, 等. 黑曲霉固体发酵 DDGS 降解黄曲霉毒素初探 [ J ]. 饲料工业, 2017, 38 ( 16 ) : 53-54.
- [ 44 ] 张晓雪, 孙秀兰, 张银志. 新型黑曲霉液体发酵及对黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的脱除 [ J ]. 食品与生物技术学报, 2017, 36 ( 3 ) : 266-270.
- [ 45 ] KONG Q. Marine microorganisms as biocontrol agents against fungal phytopathogens and mycotoxins [ J ]. Biocontrol Sci Technol, 2018, 28 ( 1 ) : 77-93.
- [ 46 ] 陈璐. 拮抗黄曲霉海洋细菌的筛选、发酵及其活性物质的研究 [ D ]. 曲阜: 曲阜师范大学, 2017.
- [ 47 ] Adebo O A, Njobeh P B, Sidu S, et al. Aflatoxin B<sub>1</sub> degradation by culture and lysate of a *Pontibacter* specie [ J ]. Food Control, 2017, 80: 99-103.
- [ 48 ] Koch A, Biedenkopf D, Furch A, et al. An RNAi-Based control of *Fusarium graminearum* infections through spraying of long dsRNAs involves a plant passage and is controlled by the fungal silencing machinery [ J ]. PLoS Pathog, 2016, 12 ( 10 ) : e1005901.
- [ 49 ] Gilbert M K, Majumdar R, Rajasekaran K, et al. RNA interference-based silencing of the alpha-amylase ( amy1 ) gene in *Aspergillus flavus* decreases fungal growth and aflatoxin production in maize kernels [ J ]. Planta, 2018, 247 ( 6 ) : 1465-1473.
- [ 50 ] Fakhoury A M, Woloshuk C P. Amy1, the alpha-amylase gene of *Aspergillus flavus*: involvement in aflatoxin biosynthesis in maize kernels [ J ]. Phytopathology, 1999, 89 ( 10 ) : 908-914.
- [ 51 ] 陈嘉谟. 本草蒙筌 [ M ]. 北京: 中医古籍出版社, 2009: 12.
- [ 52 ] 罗朝权, 张敏玲, 郑润生, 等. 6 种动物类药材中黄曲霉毒素污染的液质联用检测 [ J ]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24 ( 3 ) : 67-71.

[ 责任编辑 刘德文 ]