



学校食品卫生

工作管理与监督检查执法全书



◎ 本书编委会 编

吉林科学技术出版社

学校食品卫生工作管理 与监督检查执法全书

(第二卷)

主编 储德发

第二节 学校食品卫生的毒素检测

一、自然产生的毒素分析方法

(一) 贝类毒素的快速分析方法

1. 贝类毒素概述

在动物界中的软体动物,因大多数具有贝壳,故通常又称之为贝类。贝类的种类很多,至今已记载的约有十几万种。有毒食用贝类主要有以下几类。

(1) 蛤类。蛤的类型杂、种类多,是贝类中经济价值较大的一类海产品。它们的两壳相等、质地坚厚。其中少数种类含有毒物质,如文蛤 (*Meretrix meretrix*)、石房蛤 (*Saxidomus nuttalli*) 等。石房蛤毒素是一种神经毒,在分子量较小的毒素中为毒性较高者。对人经口致死量约为0.54 ~ 0.9 mg。

(2) 螺类。螺的种类很多,已知有8万多种,分布很广,与人类关系密切,绝大部分具有较大的经济价值,可食用,但少数种类含有毒物质。螺属于单壳类,其有毒部位分别在螺的肝脏或鳃下腺、唾液腺内,误食或食用过量,可引起中毒。我国常引起中毒的螺按中毒症状可分为麻痹型和皮炎型两种类型。

(3) 鲍类。鲍的体外包被着一个厚的石灰质贝壳,其种类较少,其中有些含有有毒物质,如杂色鲍、皱纹盘鲍和耳鲍等。杂色鲍 (*Haliotis diversicolor*) 壳质厚,一般栖息于潮下带水深2~10m的岩礁上。栖息环境需潮流畅通,水清,海藻繁茂。从鲍的肝及其他内脏中可提取出不定型的有光感力的色素毒素。人食用其肝和内脏后再经日光曝晒,可引起皮炎反应。此外,在鲍的中肠里也常积累一些毒素,这主要是由于在赤潮时,鲍进食了藻类所含的有毒物质。人食用后也可致病。

(4) 海兔。海兔又名海珠,是一种生活在浅海中的贝类。海兔体内的毒腺又叫蛋白腺,能分泌一种略带酸性的乳状液体,具有令人恶心的气味,从中提取出的海兔毒素是一种芳香异环溴化合物。在海兔皮肤组织中所含的有毒物质是一种挥发油,对神经系统有麻痹作用。所以,误食其有毒部位,或皮肤有伤口时接触海兔,都会引起中毒。

某些无毒可供食用的贝类,在摄取了有毒藻类后,就被毒化。有毒藻类主要为甲藻类 (*Dinoflagellate*),特别是一些属于膝沟藻科 (*Gonylaecae*) 的藻类。毒藻类中的贝类麻痹性毒素主要是石房蛤毒素 (saxitoxin, STX)。该毒素为白色,易溶于水,耐热,胃肠道易吸收。因毒素在贝类体内呈结合状态,故贝体本身并不中毒,也无生态和外形上的变化。但是,当人们食用这种贝类后,毒素迅速被释放,就会发生麻痹性神经症状,故称麻痹性贝类中毒 (PSP)。蛤类摄入此种毒素对其本身并无危害,因毒素在其体内呈结合状态,但当人食用蛤肉后,毒素则迅速被释放,引起中毒。严重者常在2~12h因呼吸麻痹死亡,死亡率约为5%~18%。目前,对麻痹性蛤类中毒尚无有效的解毒剂,

而且此种毒素在一般烹调中不易完全去除。据测定,经 116℃加热的罐头,仍有 50%以上的毒素未被去除。我国浙江、福建、广东等地曾多次发生贝类中毒,导致中毒的贝类有蚶子、花蛤、香螺、织纹螺等常食用的贝类。目前,美国和加拿大对冷藏鲜贝肉含石房蛤毒素的限量为 $\leq 80/\mu\text{g}/100\text{g}$,对罐头原料用贝肉中毒素限量,美国为 $\leq 200\mu\text{g}/100\text{g}$,加拿大为 $\leq 160/\mu\text{g}/100\text{g}$ 。

要预防贝类中毒,主要从三方面进行:(1)定期对贝类生长水域采样进行显微镜检查,如发现水中藻类细胞增多,即有中毒的危险,应对该批贝类作毒素含量测定;(2)规定贝类及加工原料用贝类中毒素限量;(3)采取正确方法安全食用贝类,贝类毒素主要积聚于内脏,如除去内脏、洗净、水煮,捞肉弃汤,可使毒素降至最小程度。

下面介绍小鼠生物试验法检测麻痹型贝类毒素和腹泻型贝类毒素,目前进出口商品检验所用的行业标准(SN 0352—95, SN 0294—93)主要是用小鼠生物试验法。

2. 麻痹型贝类毒素检验方法

(1) 样品制备。

①蛤蜊、牡蛎、贻贝和扇贝。用清水将贝壳外表彻底洗干净,切断闭壳肌,开壳,用清水冲洗内部除掉泥砂和其他外来物。将闭壳肌和连接在胶合部的组织分开,仔细取出贝肉,不要割破肉体。开壳前不要加热或用麻醉剂。收集 200g 肉置于 10 号筛子中沥水 5min (不要使肉堆积),拣出碎壳等杂物,将贝肉均质。

②贝类罐头。将罐内所有内容物(肉及液体)倒入均质器充分均质。如果是大罐,将贝肉沥水并收集沥下的液体,分别称重,将固形物和汤汁按比例混合,充分均质。

③用酸保存的贝肉。沥去酸液,分别存放贝肉及酸液,将沥干的贝肉充分均质。

④冷冻贝类。在室温下,使冷冻的样品(带壳或脱壳的)呈半冷冻状态,按①方法开壳、清洗、取肉、均质。

⑤贝肉干制品。干制品可于 HCl (0.18 mol/L) 溶液中浸泡(冷藏),按③方法沥干、均质。

⑥试样保存。上述经均质处理的样品如不能及时检测,可取 100g 已均质贝肉加入 100mL HCl (0.18 mol/L) 溶液,置于 4℃冷藏保存(尽可能及时检验)。

(2) 测定方法。

①方法提要。本方法采用鼠单位测定,对麻痹型贝类毒素(PSP)予以定量。鼠单位定义为:对体重为 20g 的小白鼠腹腔注射 1mL 贝类提取液后,在 15min 时杀死小鼠所需的最低毒素量。采用 saxitoxin 作为毒素的标准品,将鼠单位换算成毒素的微克数。根据小鼠注射贝类提取液后的死亡时间,查出鼠单位,并按小鼠体重,校正鼠单位,计算确定每 100g 贝肉内的 PSP 的微克数。所测定结果代表存在于贝肉内各种化学结构的 PSP 毒素的总量。

②试剂和材料。

盐酸溶液: 0.18 mol/L, 将 15mL 浓 HCl 用蒸馏水稀释至 1L。

盐酸溶液: 5mol/L, 将 41.7mL 浓 HCl 用蒸馏水稀释至 100mL。

氢氧化钠溶液: 0.1 mol/L, 将 4.6 g NaOH 溶于 1L 蒸馏水中。

麻痹性贝类毒素(saxitoxin)标准液: 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 经酸化, 含有 20% 的乙醇作为保护

剂, 冷藏时, 无限期稳定。

体重 19~21g ICR 晶系的雄性健康小白鼠。

③仪器和设备。均质器、天平(感量 0.5 g)、离心机、pH 计、秒表、烧杯、量筒、容量瓶、搅棒、注射器(1mL)。

(3) 测定步骤。

①PSP 标准工作液的配制。用移液管取 1mL ($100\mu\text{g}$ saxitoxin/mL) 标准液于 100mL 容量瓶中, 加入用 HCl 酸化至 pH 值为 3 的蒸馏水并定容。该液为 $1\mu\text{g}$ saxitoxin/mL, pH 值在 2.0~4.0 之间。在 3~4℃ 下能稳定数周。分别用 10mL, 15mL, 20mL, 25mL 和 30mL 水稀释 10mL 浓度为 $1\mu\text{g}$ /mL 标准液, 稀释液的 pH 值应为 2~4。

②中位数死亡时间的标准液选择。将系列浓度的 PSP 标准工作稀释液各 1mL 腹腔注射数只小鼠, 选择中位数死亡时间为 5~7min 的浓度剂量。如某浓度稀释液已达到要求, 还需以 1mL 水的增减量补充稀释试验。例如, 用 25mL 水稀释的 10mL 标准液在 5~7min 杀死小鼠, 还需要进行 24+10 和 26+10 的稀释度试验。

以 10 个小鼠为一组, 用中位数死亡时间在 5~7min 范围内的两种(最好是三种)稀释度的标准液注射小鼠。记录每只小鼠腹腔注射完毕至停止呼吸的所需死亡时间。

每只小鼠事先称重, 精确到 0.5 g。记录注射完毕至死亡时间的最短间隔为 5s, 即 7s 校正为 5s, 8s 校正为 10s, 见表 2-5-12。

表 2-5-12 麻痹型贝类毒素死亡时间-鼠单位的关系

时间	鼠单位	时间	鼠单位	时间	鼠单位	时间	鼠单位	时间	鼠单位
1:00	100	2:45	4.26	4:20	2.26	6:30	1.48	12:00	1.05
1:10	66.2	2:50	4.06	4:25	2.21	6:45	1.43	12:13	1.03
1:15	38.3	2:55	3.88	4:30	2.16			12:14	1.015
1:20	26.4			4:35	2.12	7:00	1.39	12:15	1.000
1:25	20.7	3:00	3.70	4:40	2.08	7:15	1.35	12:16	0.99
1:30	16.5	3:05	3.57	4:45	2.04	7:30	1.31	12:17	0.98
1:35	13.9	3:10	3.43	4:50	2.00	7:45	1.28	12:18	0.972
1:40	11.9	3:15	3.31	4:55	1.96			12:19	0.965
1:45	10.4	3:20	3.19			8:00	1.25	12:20	0.96
1:50	9.33	3:25	3.08	5:00	1.92	8:15	1.22	12:21	0.954
1:55	8.42	3:30	2.98	5:05	1.89	8:30	1.20	12:22	0.948
		3:35	2.88	5:10	1.86	8:45	1.18	12:23	0.942
2:00	7.67	3:40	2.79	5:15	1.83			12:24	0.937
2:05	7.04	3:45	2.71	5:20	1.80	9:00	1.16	12:25	0.934
2:10	6.52	3:50	2.63	5:30	1.74	9:30	1.13	12:30	0.917

续表

时间	鼠单位	时间	鼠单位	时间	鼠单位	时间	鼠单位	时间	鼠单位
2:15	6.06	3:55	2.56	5:40	1.69			12:40	0.898
2:20	5.66			5:45	1.67	10:00	1.11	12:60	0.875
2:25	5.32	4:00	2.50	5:50	1.64	10:30	1.09		
2:30	5.00	4:05	2.44						
2:35	4.73	4:10	2.38	6:00	1.60	11:00	1.075		
2:40	4.48	4:15	2.32	6:15	1.54	11:30	1.06		

③毒素转换系数的计算。计算用各种稀释液所注射的 10 只小鼠的中位数死亡时间。若某种稀释液注射的所有 10 只小鼠中位数死亡时间小于 5min 或大于 7min，则弃去该组结果；若另一种稀释液注射的 10 只小鼠中位数死亡时间在 5~7min，即使某些小鼠死亡时间可能小于 5min 或大于 7min，也要使用该组所有数据。但是某组稀释液经注射后，10 只小鼠中有 3 只以上存活，则要再取 10 只小鼠进行重复试验。

根据所选稀释液注射的 10 只小鼠中位数死亡时间为 5~7min 之间的死亡时间，由表 2-5-12 分别查出鼠单位（MU），再由表 2-5-13 查出小鼠的体重校正因子，两者相乘求得每毫升稀释液的校正鼠单位（CMU）。将所选稀释液每毫升实际毒素含量的微克数（以石房蛤毒素 saxitoxin 计算）除以 CMU 值得到毒素转换系数（CF），即 $CF = \mu gSAX/CMU$ 。

计算每组 10 只小鼠的平均 CF 值，再取其组间平均 CF 值，并以此为标准作常规检测。

表 2-5-13 小鼠体重校正表

小鼠质量/g	鼠单位	小鼠质量/g	鼠单位	小鼠质量/g	鼠单位	小鼠质量/g	鼠单位	小鼠质量/g	鼠单位
10	0.50	13	0.675	16	0.84	19	0.97	22	1.05
10.5	0.53	13.5	0.70	16.5	0.86	19.5	0.985	22.5	1.06
11	0.56	14	0.73	17	0.88	20	1.000	23	1.07
11.5	0.59	14.5	0.76	17.5	0.905	20.5	1.015		
12	0.62	15	0.785	18	0.93	21	1.03		
12.5	0.65	15.5	0.81	18.5	0.95	21.5	1.04		

④CF 值定期检查。如 PSP 检测间隔时间较长，每次测定时要用适当的标准稀释液注射 5 只小鼠，重新测定 CF 值。如果一周有几次检测，则用中位数死亡时间 5~7min 的标准稀释液每周检查一次。测得的 CF 值应在原测定 CF 平均值的 ±20% 范围内。若结果不符，用同样的标准稀释液另注射 5 只小鼠，综合先前注射的 5 只小鼠结果，算出

CF 值。并用同样的标准稀释液注射第二组 10 只小鼠，将第二组求出的 CF 值和第一组的 CF 值进行平均，即为一个新的 CF 值。

重复检查的 CF 值通常在原结果的 $\pm 20\%$ 之内。若经常发现有较大偏差，在进行常规检测前应调查该方法中是否存在未控制或未意识到的可变因素。

⑤样品中 PSP 的提取。取 100g 已均质的样品置于称重过的 800mL 烧杯中，加 100mL HCl 溶液 (0.18 mol/L) 或样品中沥得的酸液，充分搅拌，检查 pH 值，pH 值应为 2.0 ~ 4.0。若需要，可逐滴加入 HCl (5mol/L) 或 NaOH (0.1 mol/L) 搅拌以防止局部碱化使毒素破坏。将混合物加热，并徐徐煮沸 5min，冷却至室温，调节已冷却混合物的 pH 值至 2.0 ~ 4.0。将混合物移至量筒中并稀释至 200mL。

将混合物倒回烧杯，搅拌至均质状，使其沉降至上清液呈半透明状，直至离心分离时不产生大至堵塞注射针头的固体颗粒为止。必要时将混合物或上清液以 3000r/min 离心 5min，或通过滤纸过滤。保留足以进行小鼠注射用的液体。

⑥小鼠试验。将小鼠称重并记录质量。每个样品注射三只小鼠。对每只试验小鼠腹腔注射 1mL 提取液。注射要准确熟练，若有一滴以上提取液溢出就须将该只小鼠丢弃，并重新注射一只小鼠。记录注射完毕时间，仔细观察小鼠停止呼吸时所表明的死亡时间（到小鼠呼出最后一口气止），用秒表记录死亡时间。若小鼠的中位数死亡时间小于 5min，则要进行稀释再注射另一组小鼠 3 只，以得到 5 ~ 7min 的死亡时间。若注射未稀释的样品后，1 或 2 只小鼠的中位数死亡时间大于 7min，则需注射至少 3 只小鼠以确定样品的毒力。如需稀释样品，要逐滴加入 HCl (0.1 或 0.01 mol/L)，调节稀释液的 pH 值至 2.0 ~ 4.0。

(4) 结果的计算与判断。

①PSP 毒力的计算与判断。根据小鼠的死亡时间，在表 4-1 中查出相应的每毫升注射液的鼠单位数 MU。若试验动物质量小于 19g 或大于 21g，则就根据表 4-2 查出质量校正系数，质量校正系数乘以该只小鼠的 MU 便得到 CMU。计算该组小鼠的中位值 CMU（将存活鼠的死亡时间视为大于 60min 或相当于小于 0.875 MU）。以中位值按下列公式计算样品中的 PSP 毒素的含量。

$$\mu\text{gPSP}/100\text{g 肉} = \text{中位数 CMU}/\text{mL} \times \text{CF} \times \text{稀释系数} \times 200$$

任何大于 80 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 肉的值即被认为是有害的，对人类食用不安全。

②MU 毒力的计算与判断。取得麻痹性贝类毒素标准品有困难的实验室可使用鼠单位 MU 对检验结果予以计算与判断。按①求出该组小鼠的中位数 CMU，然后求出 100g 贝肉的 MU 值。

$$\text{MU}/100\text{g 肉} = \text{中位数 CMU}/\text{mL} \times \text{稀释系数} \times 200$$

任何大于 400MU/100g 肉的值即被认为是有害的，对人类食用不安全。

3. 腹泻性贝类毒素检验方法

本方法可以用于检验海产双壳类贝肉、贝柱、外套膜及其制品的腹泻性贝类毒素。

(1) 样品的制备。

①生鲜带壳样品，用刀切开闭壳肌开壳取出贝肉。不得以加热及加药物的方法开壳。注意不要破坏闭壳肌以外的组织，尤其是中肠腺（又称消化盲囊，组织呈暗绿色或

褐绿色)。将去壳贝肉放在孔径约 2mm 的金属网上,控水 5min,按④或⑤制备检样。

②冷冻的带壳样品,使其在室温下呈半冷冻状态后,以前述方法开壳取肉,这时的贝肉仍呈冷冻状态。经除去贝壳外部附着的冰片,轻轻抹去水分后,按④或⑤制备样品。

③事先已除水分的冷冻去壳贝肉,按④或⑤制备样品。

④扇贝、贻贝、牡蛎等可以切取中肠腺的去壳贝肉,称量 200g 贝肉质量后仔细切取全部中肠腺,将中肠腺称重后细切混合作为检样。同时,注意不要使中肠腺内容物污染案板。

⑤对不便切取中肠腺的去壳贝肉样品,可将全部贝肉细切,混合,作为检样。

⑥为避免毒素的危害,应戴手套进行检验操作。移液管等用过的器材应在 5% 的次氯酸钠溶液中浸泡 1h 以上,以使毒素分解,同样,废弃的提取液等也应以上述溶液处理。

(2) 测定方法。

①方法提要 用丙酮提取贝类中毒素,再转移至乙醚中,经减压浓缩至干后,再以 1% 吐温-60 生理盐水溶解残留物注射小白鼠观察存活情况,计算其毒力。

②试剂和材料 丙酮(分析纯)、乙醚(分析纯)、1% 吐温-60 生理盐水。

③仪器和设备 旋转蒸发器、均质器、天平(感量 0.1 g)、刻度试管(15mL,具有 0.2 mL 刻度)、注射器(1mL)及针头、体重为 16~20g 的健康 ICR 系雄性小白鼠。

(3) 测定步骤。

①提取。

a. 将检样置于均质杯中,加入 3 倍量丙酮至少均质 2min。

b. 用布氏漏斗抽滤,收集提取液。

c. 对残渣以检样两倍量丙酮再抽滤两次,合并抽滤液。

d. 将抽滤液移入旋转蒸发瓶中,减压浓缩去除丙酮直至液体表面分离出油状物。

e. 将浓缩物移入分液漏斗内,以 100~200mL 乙醚和少量的水洗下粘壁部分,以不生成乳浊液的程度轻轻振荡,静置分层后去除水层。

f. 用相当乙醚半量的蒸馏水洗醚层两次,再将醚层移入 300~500mL 的茄形瓶中,减压浓缩去除乙醚。

g. 以少量乙醚将浓缩物移入 50 或 100mL 茄形瓶中,再次减压浓缩去除乙醚。

h. 以 1% 吐温-60 生理盐水将全部浓缩物在刻度试管中稀释到 10mL。以中肠腺作为检样的,此时 1mL 液量相当于预先测定的 20g 去壳贝肉的质量。对其他检样,此时 1mL 液量也相当于 20g 去壳贝肉的质量,以此悬浮液作为试验溶液。

i. 如必要时,对试验溶液可做进一步稀释,稀释前,应先以振荡器使试液成均一悬浮物,再取其部分以 1% 吐温-60 生理盐水稀释成 4 倍或 16 倍的试液。

②小白鼠试验。

a. 以振荡器使试液或其稀释液成为均一的悬浮液。

b. 分别将 1mL 试液注射到三只体重 16~20g 的健康 ICR 系雄性小白鼠腹腔中。

c. 按上项方法,注射 1% 吐温-60 生理盐水,作为阴性对照。

d. 观察自注射开始到 24h 后的小白鼠存活情况, 求出一组三只中死亡两只以上的最小注射量。

e. 小白鼠注射腹泻性贝类毒素后的症状为运动不活泼, 大多呼吸异常, 致死时间长 (也有 24h 以上的)。

(4) 结果计算和表述。

毒力的计算: 使体重 16~20g 的小白鼠在 24h 死亡的毒力为 1 个小白鼠单位 (MU), 实际小白鼠单位的计算, 按表 2-5-14 从一组三只中两只以上在 24h 内死亡的最小注射量及最大稀释倍数进行计算。

表 2-5-14 注射量与毒力的关系

试验液	注射量/mL	检样量/g	毒力/(MU/g)	试验液	注射量/mL	检样量/g	毒力/(MU/g)
原液	1.0	20	0.05	4 倍稀释液	0.5	2.5	0.4
原液	0.5	10	0.1	16 倍稀释液	1.0	1.25	0.8
4 倍稀释液	1.0	5	0.2	16 倍稀释液	0.5	0.625	1.6

(二) 鱼类毒素的检验

鱼类是人们日常生活中经常食用的水产品。我国鱼类约数千种, 其中有毒鱼类为数百种。有人将有毒鱼类区分为主动毒素鱼类和被动毒素鱼类。前者有一个较发达的产毒器官, 作为防御和进攻的武器, 如鲉科、虹科中的鱼类; 后者是体内含有毒素, 人们在食用时才引起中毒, 它们主要分布在热带海中, 不同种类的鱼, 其毒性不同。几种主要的有毒鱼类有以下几种。

(1) 河豚鱼。河豚鱼, 全球 200 多种, 我国有 70 多种, 广泛分布于各海区。河豚鱼中毒是世界上最严重的动物性食物中毒, 各国都很重视。河豚鱼是味道鲜美但含有剧毒的鱼类。其毒素主要有两种: 河豚毒素 ($C_{11}H_{17}N_{20}$) 和河豚酸 ($C_{11}H_{17}N_{18}$), 0.5 mg 河豚毒素就可以毒死一个体重 70kg 的人。河豚鱼的有毒部位主要是卵巢和肝脏。河豚毒素是一种很强的神经毒, 它对神经细胞膜的 Na^+ 通道具有高度专一性作用, 能阻断神经冲动的传导。使呼吸抑制, 引起呼吸肌麻痹。对胃、肠道也有局部刺激作用, 还可使血管神经麻痹、血压下降。河豚鱼中毒的特点是发病急速而剧烈, 潜伏期 10min 至 3h。一般先感觉手指、唇、舌等部位刺疼, 然后出现呕吐、腹泻等胃肠道症状, 并有四肢无力、发冷, 以及口唇、指尖、趾端等处麻痹。以后言语不清、紫绀、血压和体温下降, 呼吸困难, 最后死于呼吸衰竭。其死亡率较高。此外, 对动物, 如猫、狗、猪、鼠和鸟等也能引起中毒并致死。

(2) 青皮红肉鱼。海产鱼中的青皮红肉鱼类, 如鲐鱼、金枪鱼、刺巴鱼、沙丁鱼等可引起类过敏性食物中毒, 其原因是, 这些鱼中含有较高量的组氨酸, 经脱羧酶作用强的细菌作用后, 产生组胺。一般引起人体中毒的组胺摄入量为 1.5 mg/kg 体重。

(3) 胆毒鱼类。青鱼、草鱼、鲢鱼、鳙鱼和鲤鱼是我国主要淡水经济鱼类。因为它

们的胆有毒,所以属于胆毒鱼类。胆毒鱼类中毒可能与其胆汁中含有组胺、胆盐及氧化物有关。鱼胆中毒主要是胆汁毒素严重损伤肝、肾,造成肝脏变性坏死和肾小管损害。脑细胞亦可受损,发生脑水肿,心血管与神经系统亦有改变,并可促使病情恶化。

(4) 肝毒鱼类。我国常见的扁头哈拉鲈、灰星鲈、鳕鱼、七鳃鳗等鱼的肝中有毒,属于肝毒鱼类。它们的肝中含大量维生素,如鲨鱼肝中有大量维生素 A,维生素 D 和脂肪,主要是维生素 A 中毒。

下面介绍的是河豚鱼毒素含量的检验方法。

1. 试样的制备

样品装于密封内置常流水中急速解冻后取样。将样品剪碎后,用研钵充分磨碎,取 log 放入烧杯,加 0.1 % 醋酸溶液 25mL 沸水浴中不断搅拌,加热 10min。冷却后,减压过滤,将滤纸上的残渣用 0.1 % 醋酸溶液反复洗净。滤液和洗液合在一起定容 50mL。难于过滤的皮、肝脏、卵巢分别用 0.1 % 醋酸溶液处理后,经 3000r/min, 10min 离心沉淀取上清液,用 0.1 % 醋酸溶液定容至 50mL。该提取液称作原试液,1mL 相当于内脏组织 0.2 g。

2. 毒性测试

采用小白鼠试验法进行毒性测试。试验动物为出生后 4 周,体重 19 ~ 21g 健康的 ICR 系雄性小白鼠。

(1) 预备试验。分别向两只小白鼠的腹腔内注射原试液各 1mL,以 s 为单位测定致死时间的平均值。根据河豚毒素致死一小白鼠单位换算表换算原试液 1mL 中的毒量,再以该值配制稀释到小白鼠在 10min 左右死亡的浓度,在本试验中使用 0.1 % 醋酸水溶液作为稀释液,记录稀释度。

(2) 正式试验。分别向 2 只小白鼠的腹腔内注射稀释后的试液各 1mL,测定致死的时间。小白鼠在 10min 左右死亡时,再加注 1 ~ 3 只小白鼠测定致死时间。同时用 0.1 % 醋酸溶液 1.0 mL 注射两只 20g 左右的小白鼠作阴性对照,并取 1 只不注射任何液体的正常小白鼠作空白观察。

3. 毒力计算和表示

在该试验取得的 3 ~ 5 只小白鼠的致死时间也包括生存小白鼠,从短时间开始排列,求中间致死时间,从所得的中间致死时间,然后计算毒量(小白鼠单位: MU)。10g 内脏组织研磨物制成 50mL 毒素提取原试液,提取比是 5。求原检样 1g 的 MU。1MU 表示对一只 ICR 系体重 20g 的雄性小白鼠腹腔注射后 30min 内死亡的毒素剂量。

原检样 1g 的毒力 (MU/g) = 中间致死时间试液的毒力 × 提取比 × 稀释倍数。

二、真菌毒素的快速分析方法

(一) 真菌毒素概述

真菌毒素 (mycotoxin), 有时也俗称霉菌毒素, 是某些真菌产生的代谢产物, 目前已发现的真菌毒素有十多种, 它们包括黄曲霉毒素、赭曲霉毒素、伏马毒素、脱氧雪腐

镰刀菌烯酮(也称为呕吐毒素)、玉米赤霉烯酮、T-2毒素、麦角碱、杂色曲霉素、黄米毒素、岛青霉毒素、展青霉毒素(棒曲霉毒素)、橘青霉素、皱褶青霉素、黄绿青霉素、红矢精、黄绿素、圆弧青霉偶氮酸和F-2毒素等。

常见的产毒真菌多为曲霉、青霉和镰刀霉。

(1) 曲霉属 (*Aspergillus* Link): 黄曲霉 (*A. flavus*)、寄生曲霉 (*A. parasiticus*)、赭曲霉 (*A. ochraceus*)、杂色曲霉 (*A. flavus*)、烟曲霉 (*A. fumigatus*)、构巢曲霉 (*A. nidulans*) 和棒曲霉 (*A. clavus*) 等。

(2) 青霉属 (*Penicillium* Link ex Fr): 岛青霉 (*P. islandicum*)、橘青霉 (*P. citrinum*)、红色青霉 (*P. rubrum*)、展青霉 (*P. patulum*) 和黄绿青霉 (*P. citreo-vinide*) 等。

(3) 镰刀菌属 (*Fusarium* Link ex Fr): 禾谷镰刀菌 (*F. graminearum*)、串珠镰刀菌 (*F. moniliforme*)、木贼镰刀菌 (*F. equiseti*)、茄病镰刀菌 (*F. solani*)、三线镰刀菌 (*F. tritinctum*) 和镰草镰刀菌 (*F. sporotrichioides*) 等。

表2-5-15中所列为目前已知的与人体有关的主要真菌毒素中毒症。

表2-5-15 已知的与人体有关的主要真菌毒素中毒症

菌 种	易感染食品	毒 素	主要症状及病变
黄曲霉	花生、大豆、菜豆、谷物及副产品	黄曲霉毒素	肝癌
赭曲霉	谷物、咖啡、火腿	赭曲霉素	
麦角菌	谷物及副产品	麦角碱、麦角毒碱、麦角胺、麦角克碱等	麦角中毒(手足麻木、痉挛、坏疽等)
三线镰刀菌	谷物及副产品	含有玉米赤霉烯酮的复合性毒素类	恶心、猪的发情作用
爪哇镰刀菌素	马铃薯		牛的肺浮肿
拟分枝孢镰孢变种、三线镰刀菌	谷物及副产品、谷核	镰刀霉素	食物中毒性白血球缺乏症
黄绿青霉以及橘青霉	米	一种抗菌素、橘霉素	对皮肤及粘膜的刺激、对肝脏、肾脏的毒性
圆瓜青霉	玉米	环并偶氧酸	
扩展青霉	苹果、苹果酒和苹果汁	棒曲霉素	致癌性、变异原性
岛青霉	米	霉米上的樱红色、岛青霉毒素、瑰天精、赤醌茜素	肝的毒性、肝脏的变异及肝癌

续表

菌 种	易感染食品	毒 素	主要症状及病变
黑葡萄穗霉	蔬菜残屑、秸秆	未分离出来、强毒	皮炎、卡他性咽峡炎、白血球缺失症、经过气管的作用
黑根霉	椰子、霉大豆		眩晕、痉挛、发绀(在爪哇,起因于对霉大豆的消费)
粉红单端孢	玉米	单端孢菌素	

我们在讨论产毒真菌与真菌毒素的关系时,应该注意到:

①提及到某种产毒真菌时,只是说明该种菌的某些菌株有产毒能力,并不意味着所有的菌株都产毒;

②同一产毒菌株的产毒能力具有一定的可变性和易变性;

③同一种真菌毒素可能由几种不同的真菌产生,而同一种真菌有可能产生几种不同的真菌毒素,所以说产毒真菌产生真菌毒素时,没有严格的专一性;

④存在有真菌的物品中,不一定都存在有真菌毒素,发现有真菌毒素时,有时从表面上不一定能观察到有霉变现象,两者之间不存在必然的因果关系,但是它们存在有概率关系,存在真菌与霉变现象较多的物品中,检测到真菌毒素的可能性会大一些。

由于真菌毒素对人体的危害,因此其快速检测方法迅速得到发展,特别是生物化学方法,如亲和色谱法和酶联免疫吸附测定法。在进行真菌毒素的检测时,大部分的毒素标准不仅很毒,而且非常难以得到,所以无毒素标准的方法适应了这种需求,如黄曲霉毒素荧光仪的使用。但是,由于毒素的分析属于痕量分析,因此在仲裁中最终必须通过气相或液相色谱方法进行准确定量。

(二) 亲和色谱法和酶联免疫吸附测定法简介

现代真菌毒素的快速分析方法主要应用的原理有亲和色谱法和酶联免疫吸附法,下面先对这两种方法作一简要的介绍。

1. 亲和色谱法 (affinity chromatography)

生物大分子具有能和某些相对应的专一分子可逆结合的特性,例如,酶蛋白与辅酶、酶活性中心与专一性底物或抑制剂、抗原与抗体、激素与受体、核糖核酸与其互补的脱氧核糖核酸等体系。这种结合往往是专一的,而且是可逆的。生物分子间形成专一的可逆性结合的能力称为亲和力。当把可亲和的一对分子的一方固定在固定相时,另一方若随流动相流经固定相,双方即专一地结合成复合物,然后利用亲和吸附剂的可逆性质,通过特定的洗脱剂洗脱,可以达到分离、纯化与固定相有特异亲和能力的某种物质。利用生物分子间亲和吸附和解离的层析方法称为亲和色谱法。通常把作为固定相的一方称为配基或亲和吸附剂。由于亲和层析中大分子化合物与其结构相对的专一分子的

可逆结合是互相的,任何一方均可被固定作为配基。因此既可把酶蛋白作为固定相亲和地吸附辅酶,也可把辅酶作为固定相亲和地吸附酶蛋白。在真菌毒素快速分析中,通常作为配基的是真菌毒素的单克隆抗体,将其制备成亲和柱用来将样品中的真菌毒素分离、净化、浓缩。

(1) 亲和色谱法的基本原理。亲和色谱法是利用生物分子间所具有的专一亲和力而设计的层析技术。首先将载体在碱性条件下用溴化氰(CNBr)活化,再用化学方法将能与生物分子进行可逆性结合的物质(称为配基)结合到某种活化固相载体上,此过程称为偶联反应。将偶联反应得到的亲和吸附剂装入层析柱中而形成亲和柱,溶液样品通过亲和柱时,生物大分子和亲和柱中的配基结合而被吸附在亲和吸附剂表面,而其他没有特异结合的杂蛋白可通过清洗而流出。再用适当方法使这些生物大分子与配基分离而被洗脱下来,从而达到分离、纯化的目的。

(2) 载体的选择。用于亲和色谱法的理想载体应非特异性吸附要尽可能小,对其他大分子物质的作用很微弱;必须具有多孔的网状结构,能使大分子自由通过而增加配基的有效浓度;必须具有相当量的化学基团可供活化,并在温和条件下能与大量的配基连接;具有良好的机械性能;在较宽的 pH 值、离子强度和变性剂浓度范围内具有化学和机械稳定性;高度亲水,使固相吸附剂易与水溶液中的生物高分子接近。

亲和色谱法常用的载体有纤维素、琼脂糖凝胶、聚丙烯酰胺凝胶及聚乙烯凝胶等。

① 纤维素。纤维素是制备固相酶和免疫吸附剂的常用载体。纤维素虽具有价廉和来源充足的优点,但由于它的纤维性和不均一性的缺点,蛋白质大分子难以掺入,非专一性吸附也比较严重,因而用纤维素制备的吸附剂亲和层析倍数不高。

② 琼脂糖凝胶。琼脂糖已制成珠状凝胶颗粒,商品名称为 Sepharose,内含 2%, 4% 和 6% 的琼脂糖的珠状凝胶分别称为 Sepharose 2B, 4B, 6B。凝胶浓度越低,其结构越松散,孔径越大,但机械强度随浓度的降低而减少。

珠状琼脂糖凝胶亲水能力弱,物理和化学性能稳定,在室温条件下用 0.1 mol/L NaOH 或 1 mol/L HCl 处理 2~3h 都不致引起颗粒性质变化,用 6 mol/L 盐酸胍或 7 mol/L 尿素长期处理,只引起珠状凝胶略微缩小,而不引起吸附性能的减弱。因此用琼脂糖制成的吸附剂可反复使用。

③ 聚丙烯酰胺凝胶。聚丙烯酰胺凝胶结构稳定。控制单体和交联剂的浓度便可得到不同交联度的产品,珠状聚丙烯酰胺凝胶的商品名为 Bio-gel-P。由于凝胶韧性强,易于过筛做成颗粒,也可做成微球。聚丙烯酰胺凝胶的物理和化学性质稳定,抗微生物侵袭能力比琼脂糖强。它有很多的可供化学反应的酰胺基,使之能制得配基含量高的衍生物,因此特别适用于配基与蛋白质之间亲和力比较弱的系统中。

(3) 配基的选择。纯化生物大分子的配基(ligand)可以选小的有机分子,也可以选天然生物高分子作理想的配基,它首先必须对欲纯化的大分子具有很高的亲和力。另外这些配基必须具备可修饰的基团,而且通过这些基团与载体形成共价键。这些共价键的形成不致于严重地影响配基与欲纯化蛋白质的亲和力。用于亲和层析的配基有酶的底物、酶的辅助因子以及抗体(或抗原)等。

(4) 配基与载体的结合。配基要结合到载体上,首先要活化载体上的功能基团,再

将配基连接到活化基团上。此偶联反应必须在温和条件下进行,不致使配基和载体遭到破坏;且偶联后要反复洗涤载体,以除去残存的未偶联的配基,还要测定偶联的配基的量。

最常用的载体是琼脂糖 4B (Sephrose 4B)。把琼脂糖与溴化氰在 pH 值为 11 条件下进行处理,能使琼脂糖活化。此时,溴化氰与琼脂糖的羟基反应生成氨基甲酸酯基团。若有邻位羟基存在,则形成亚氨碳酸基团。经取代后的载体最后用有机合成法和配基结合,这种配基必须含有一种适合反应的基团,通常是氨基或羟基。

(5) 亲和色谱法条件的选择。亲和色谱法一般采用柱层析法,要达到好的分离效果,必需选择好操作条件。

① 吸附。亲和柱所用的平衡缓冲液的组成、pH 值和离子强度都应选择最有利于配基与生物大分子形成复合物。吸附时,一般在中性条件下,上柱样品液应和亲和柱平衡缓冲液一样,上柱前样品应对平衡缓冲液进行充分透析,这有利于络合物的形成。亲和吸附常在 4℃ 下进行,以防止生物大分子因受热变性而失活。上柱流速尽可能缓慢,流速控制在 1.5 mL/min。流出液需及时检测,以判断亲和吸附效率。

② 洗涤。样品上柱后,用大量平衡缓冲液连续洗去无亲和力的杂蛋白,层析色谱上出现第一个蛋白峰和其他杂质峰。除了用平衡缓冲液,经常还用各种不同的缓冲液或有机溶剂洗涤,这样可以进一步除去非专一性吸附的杂质,在柱上只保留下专一性的亲和物。

③ 洗脱。洗脱所选取的条件应该能减弱亲和对象与吸附剂之间的相互作用,使复合物完全解离。由于亲和层析中亲和对象差异很大,洗脱剂很难统一标准。如果亲和双方吸附能力很强,大量的洗脱液往往只能获得平坦的亲和物洗脱峰。此时往往要改变洗脱缓冲液的 pH 值和离子强度,但这种改变不能使亲和物失去活性,大多数用 0.1 mol/L 乙酸或 0.01 mol/L 盐酸,有时也可用 pH 值为 10 左右的 0.1 mol/L NaOH 溶液洗脱。

④ 再生。当洗脱结束后,需要用大量洗脱剂彻底洗涤亲和柱,然后再用平衡缓冲液使亲和柱充分平衡,亲和柱上可以再次加入试样,反复进行亲和层析。暂不用的亲和柱可存放在防菌污染的冰箱或冷室(低于 4℃)中,以备下次再用。

2. 酶联免疫吸附测定法

免疫酶技术是将酶标记在抗体/抗原分子上,形成酶标抗体/酶标抗原,称为酶结合物。在抗原与抗体反应形成复合物后,该酶结合物的酶作用于加入的底物使之呈色,根据颜色的有无和深浅,定性或定量抗体/抗原。酶联免疫吸附测定法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)是免疫酶技术的一种。其特点是利用聚苯乙烯微量反应板(或球)吸附抗原/抗体,使之固相化。免疫反应和酶促反应在其中进行。无论是免疫反应,还是酶促反应,每次反应后都要反复洗涤,这既保证了反应的定量关系,也避免了未反应的游离抗体/抗原的分离步骤。在 ELISA 法中酶促反应只进行一次,而抗原、抗体的免疫反应可进行一次或数次,即可用二抗(抗抗体)、三抗再次进行免疫反应,这就便于根据需要自行设计实验。所需酶标抗体、酶标抗抗体已试剂化出售,便于各种 ELISA 测定。

(1) 几种常用的 ELISA 测定法

①测定抗体的间接法。首先将已知定量抗原吸附在聚苯乙烯微量反应板的凹孔内,加待测抗体(如需筛选的杂交瘤细胞株的组织培养上清液);保温后洗涤以除去未结合的杂蛋白质,加酶标抗体;保温后洗涤,加底物保温 30min 后,加酸或碱中止酶促反应,用目测或光电比色测定抗体含量。间接法测抗体示意图见图 2-5-8。

②测定抗原的双抗体夹心法。首先将抗原免疫第一种动物获得的特异抗体的免疫球蛋白吸附在反应板凹孔内,洗涤除去未吸附的抗体,加入含有抗原的待测溶液,保温形成抗原-抗体复合物,洗涤除去杂蛋白后再加抗原免疫第二种动物获得的特异抗体。由于抗原是多价的并未被抗体饱和,经保温则可形成抗体-抗原-抗体复合物,洗涤后加酶标抗体(抗第二种动物抗体的抗体),保温洗涤后加底物呈色,中止酶活性,比色测定抗原量。由于该法要求抗原是多价的,故此法不能用来测定半抗原或低于二价的小分子抗原。双抗体夹心法测抗原示意图见图 2-5-7。

③测定抗原的竞争法。将含有特异抗体的免疫球蛋白吸附在两份相同的载体甲和乙中,然后在甲中加入酶标抗原和待测抗原,乙中只加酶标抗原,其浓度相同于甲中加入的酶标抗原的浓度,保温洗涤后加底物呈色。待测液中未知抗原量愈多,则酶标抗原被结合的量就愈少,有色产物就愈少,以此便可测出未知抗原的量,即等于甲与乙底物降解量的差值。竞争法测抗原示意图见图 2-5-9。

(2) 免疫酶技术中常用的酶-底物系统 各种免疫酶技术,最终都是以某种显色反应而揭示待测物质来进行定性和定量分析。不同酶要选择相应的底物,见表 2-5-16。

表 2-5-16 免疫酶技术中常用的酶-底物系统

酶	底 物	显色反应	测定波长/nm
辣根过氧化物酶	二氨基联苯胺	深褐色	沉淀
	5-氨基水杨酸	棕色	449
	邻苯二胺	橘红色	492、460
	邻联甲苯胺	蓝色	425
	4-硝基酚磷酸	黄色	400
碱性磷酸酶	萘酚-As-M 倍磷酸盐 + 重氮盐	红色	500
葡萄糖氧化酶	ABTS + HRP + 葡萄糖	黄色	405、420

酶结合物催化作用随时间的延长而增强。但随着酶催化时间的延长,某些底物会产生自发的变性,使最终颜色反应加深而干扰结果判断。产物产生的多少(反应产生颜色的深浅)与 H_2O_2 的用量有很大的关系,故在底物溶液配制时应注意控制 H_2O_2 的用量。由于这是氧化还原反应,无色供氢体可被空气中的氧氧化,因此底物溶液必须临用时配制(可在临用前加 H_2O_2),以保证新鲜,另外要控制好酶促反应时间,常掌握在 20 ~ 60min 之间。

用 ELISA 法检测半抗原时,由于它不能被聚苯乙烯反应板吸附,故而不能直接进行

检测。目前最常用的方法是用半抗原-载体蛋白结合物的形式包被。例如将半抗原与牛血清蛋白偶联产物免疫动物制备抗半抗原的抗血清或单克隆抗体,再用半抗原与卵清蛋白偶联产物进行包被和检测。但这种方法制备的包被抗原重复性不好,在贮存中不稳定,且易与抗血清发生交叉反应。为了解决半抗原吸附问题,Verschoor等报道用尼龙(如尼龙-6)作为半抗原的载体,用二环己基碳二亚胺(dicyclohexylcarbodiimide, Dcc)为交联剂制备半抗原-尼龙结合物。它不仅在室温放置稳定,且用苯酚-乙醇溶解后即可在聚苯乙烯反应板上包被。也有的用戊二醛将含有氨基的半抗原直接与微孔反应板连接。总之,用ELISA法测定半抗原是很困难的。

在提高ELISA法的灵敏度方面,可采用预先将抗体、酶标抗抗体混合,使之充分结合后,再加入到包被抗原中。也有的采用多种酶的放大系统,如采用形成酶₁-抗体-抗原-酶₂复合物的两种酶的级联放大系统,使灵敏度大大提高。

在ELISA法检测中,非特异性反应会有严重的干扰作用。在包被液中加入牛血清清蛋白或白明胶,在洗涤液中加入吐温-20(吐温-月桂酸)都是为了减少非特异吸附的。目前诸多的检测试剂盒是用单克隆抗体代替多克隆抗体,这样可提高免疫反应的特异性,减少非特异反应的干扰。

目前,ELISA法测定技术与其他技术结合已发展为专门的分析方法,如与电泳技术结合的免疫印染技术,与层析结合的层析-ELISA技术等。特别是免疫印染技术在生物化学、分子生物学的应用,已相当成熟和广泛。

ELISA法可检测范围在ng至pg水平,属于超微量分析技术。显然它对试剂、蒸馏水、微孔板以及实验各步骤的反应条件和操作,都有严格要求。但如果实验结果不理想,也还是要从上述几方面及抗原抗体比例方面寻找原因。

(三) 黄曲霉毒素快速分析技术

1. 概述

黄曲霉毒素是黄曲霉和寄生曲霉的代谢产物,特曲霉也能产生黄曲霉毒素,但产量较少。黄曲霉毒素是一组化学结构类似的化合物,目前已分离鉴定出12种,包括B₁, B₂, G₁, G₂, M₁, M₂, P₁, Q, H₁, GM, B_{2a}和毒醇。黄曲霉毒素的基本结构为二呋喃环和香豆素,在紫外线下,黄曲霉毒素B₁, B₂发蓝色荧光,黄曲霉毒素G₁, G₂发绿色荧光。黄曲霉毒素M₁是黄曲霉毒素B₁在体内经过羟化而衍生成的代谢产物。黄曲霉毒素的相对分子质量为312~346。难溶于水,易溶于油、甲醇、丙酮和氯仿等有机溶剂,但不溶于石油醚、己烷和乙醚中。一般在中性及酸性溶液中较稳定,但在强酸性溶液中稍有分解,在pH9~10的强碱溶液中分解迅速。其纯品为无色结晶,耐高温,黄曲霉毒素B₁的分解温度为268℃,紫外线对低浓度黄曲霉毒素有一定的破坏性。

1993年黄曲霉毒素被世界卫生组织(WHO)的癌症研究机构划定为I类致癌物,是一种毒性极强的剧毒物质。黄曲霉毒素的危害性在于对人及动物肝脏组织有破坏作用,严重时,可导致肝癌甚至死亡。在天然污染的食品中以黄曲霉毒素B₁最为多见,其毒性和致癌性也最强。

1995年,世界卫生组织制定的食品中黄曲霉毒素最高允许浓度为15/μg/kg,我国

政府对各种食物中黄曲霉毒素的最高允许含量见表 2-5-17。美国联邦政府有关法律
规定人类消费食品和奶牛饲料中的黄曲霉毒素含量(指 $B_1 + B_2 + G_1 + G_2$ 的总量)不能
超过 $15\mu\text{g}/\text{kg}$, 人类消费的牛奶中的含量不能超过 $0.5\mu\text{g}/\text{kg}$, 其他动物饲料中的含量不
能超过 $300\mu\text{g}/\text{kg}$ 。而欧盟国家规定更加严格, 要求人类生活消费品中的黄曲霉毒素 B_1
的含量不能超过 $2\mu\text{g}/\text{kg}$, 总量不能超过 $4\mu\text{g}/\text{kg}$, 牛奶和奶制品中的黄曲霉毒素 M_1 含量
不能超过 $0.05\mu\text{g}/\text{kg}$, 世界各国及地区对花生及其制品中黄曲霉毒素的最高允许含量见
表 2-5-18。

黄曲霉毒素常常存在于土壤、动植物、各种坚果特别是花生和核桃中。在大豆、稻
谷、玉米、通心粉、调味品、牛奶、奶制品、食用油等制品中也经常发现黄曲霉毒素。
一般在热带和亚热带地区, 食品中黄曲霉毒素的检出率比较高。在我国, 产生黄曲霉毒
素的产毒菌种主要为黄曲霉, 1980 年测定了从 17 个省粮食中分离的黄曲霉 1660 株, 广
西地区的产毒黄曲霉最多, 检出率为 58%。总的分布情况为: 华中、华南、华北产毒
株多, 产毒量也大, 东北、西北地区较少。表 2-5-19 中列出了世界各地各种商品中
黄曲霉毒素存在的情况。

表 2-5-17 中国对食物中黄曲霉毒素的最高允许含量

食 物 名 称	最高允许含量/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$
玉米、花生、花生油, 坚果和干果(核桃、杏仁)	20(黄曲霉毒素 B_1)
玉米及花生仁制品(按原料折算)	20(黄曲霉毒素 B_1)
大米、其他食用油(香油、菜籽油、大豆油、葵花油、胡麻油、茶油、麻 油、玉米胚芽油、米糖油、棉籽油)	10(黄曲霉毒素 B_1)
其他粮食(麦类、面粉、薯干)、发酵食品(酱油、食用醋、豆豉、腐乳制 品)、淀粉类制品(糕点、饼干、面包、裱花蛋糕)	5(黄曲霉毒素 B_1)
牛乳及其制品(消毒牛乳、新鲜生牛乳、全脂牛奶粉、淡炼乳、甜炼 乳、奶油)、黄油、新鲜猪组织(肝、肾、血、瘦肉)	0.5(黄曲霉毒素 M_1)

表 2-5-18 世界各国及地区对花生及其制品中黄曲霉毒素的最高允许含量

国家及地区	黄曲霉毒素	最高允许含量 / $(\mu\text{g}/\text{kg})$
国际食品法典(CAC)	$B_1 + B_2 + G_1 + G_2$	15
欧盟	$B_1(B_1 + B_2 + G_1 + G_2)$	2(4)
阿根廷	$B_1(B_1 + B_2 + G_1 + G_2)$	5(20)
澳大利亚	$B_1 + B_2 + G_1 + G_2$	15
奥地利、意大利	同欧盟	