

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2018.05.009

# 分子毒理学技术在粮油质量安全评价的应用初探

綦文涛<sup>1</sup>, 陈文雅<sup>1</sup>, 李爱科<sup>1</sup>, 王春玲<sup>2</sup>

(1. 国家粮食局科学研究院, 北京 100037; 2. 天津科技大学 食品学院, 天津 300222)

**摘要:** 随着生物技术的迅猛发展, 分子毒理学在用于评价药物安全性方面展示出了巨大的优势, 因而受到越来越多的重视, 但在粮油质量安全评价方面的应用仍然不足。在综述粮油质量安全传统检测方法和分子毒理学应用特点的基础上, 结合实例介绍了分子毒理学在粮油质量安全评价方面的独特优势, 以期分子毒理学在粮油质量安全领域的推广应用提供参考。

**关键词:** 分子毒理学; 粮油; 质量安全; 检测与评价

中图分类号: TS 201.6 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2018)05-0048-05

## Applications of molecular toxicology in the evaluation of quality and safety of grain and oil

QI Wen-tao<sup>1</sup>, CHEN Wen-ya<sup>1</sup>, LI Ai-ke<sup>1</sup>, WANG Chun-ling<sup>2</sup>

(1. Academy of State Administration of Grain, Beijing 100037;

2. Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300222)

**Abstract:** With the rapid development of biotechnology, molecular toxicology has shown great advantages in evaluations of drug safety and has drawn more and more attentions, while its application in safety evaluation of grain and oil is still infrequent. Based on the introduction of the traditional detection methods of grain & oil quality and the characteristics of molecular toxicology, the unique advantages of molecular toxicology in the evaluation of grain & oil quality were introduced by a practical example in order to provide reference for the application of molecular toxicology in the field of quality and safety of grain & oil.

**Key words:** molecular toxicology; grain and oil; quality and safety; detection and evaluation

粮食安全既包含数量安全, 也包括质量安全。研究表明: 当恩格尔系数在 50% 以上时, 人们主要关注粮油食品的数量安全; 当恩格尔系数在 40%~50% 时, 人们逐步注重粮油食品的质量安全; 当恩格尔系数降至 40% 以下, 人们对粮油食品营养、安全卫生水平的要求更加迫切<sup>[1-2]</sup>。恩格尔系数 (Engel's Coefficient) 是食品支出总额占个人消费支出总额的比重。其反映的是居民生活水平的高低。越富裕的家庭, 食品支出占比越低,

恩格尔系数也越小<sup>[3]</sup>。目前, 我国已进入工业化中期阶段, 2010 年城镇居民和农村居民恩格尔系数已经分别达到 35.7% 和 41.1%<sup>[4]</sup>。这个阶段人们已由“吃得饱”向“吃得好、吃得安全”转变, 更多地开始考虑粮食是否安全、是否有益于健康。

粮油质量安全检测与评价技术是保证粮油产品质量与安全最严格监管的重要基础。近年来, 我国科学工作者积极探索, 研究建立新型稳定、准确、灵敏、高通量、低成本以及简便快速的粮油质量安全检测技术, 并取得了一定的进展, 为粮油产品的质量安全监管, 确保人们吃的安全提供了重要技术支撑。在粮油质量安全评价方面,

收稿日期: 2018-02-28

基金项目: 粮食公益性行业科研专项 (201313006-5), 自然科学基金面上项目 (31471591)

作者简介: 綦文涛, 1977 年出生, 男, 博士, 副研究员。

目前的做法主要还是根据检测结果进行基于有毒有害物质浓度的简单评估,而基于实际影响结果和分子机理上的更为直接的粮油及其制品安全性评价研究还严重不足。近几年来,随着生物技术的迅猛发展,分子毒理学在用于评价药物安全性方面展示出了巨大的优势,受到人们越来越多的重视。由于分子毒理学可以对有毒有害物质的剂效关系和作用机制给出详细的解释,因此其在粮油质量安全评价方面也蕴藏着巨大的应用潜力。本文在综述影响粮食质量安全因素和检测方法的基础上,结合实例介绍了分子毒理学在粮油质量安全评价领域的应用特点和存在问题,以期分子毒理学在粮油质量安全领域的推广应用提供参考。

## 1 粮油质量安全的影响因素与现状

影响粮食质量安全的主要因素通常包括以下几个方面<sup>[5]</sup>:一是土壤污染。如农田施用的化肥、农药,生活和工业废弃物等。土壤污染类型多样化,其中最为严重的是重金属污染,中科院生态中心最新研究表明,目前全国受镉、砷、铬、铅、铜等重金属污染的耕地面积近2 000万 $\text{hm}^2$ ,每年因重金属污染而减产粮食1 000多万 $\text{t}$ <sup>[6]</sup>,形势极为严峻;二是水污染。生活污水、垃圾不经降解或处理后没有达到排放标准,使农田用水遭受严重污染。水污染既有酸、碱、氧化剂,以及铜、镉、汞、砷等化合物,又有苯、二氯乙烷、乙二醇等有机毒物;三是大气污染。主要来源为矿物和工业生产,包括硫氧、碳氢化物,氮氧化物,微粒等,粮食作物长期暴露在受污染空气中,污染物在作物表面和体内积累,从而造成农作物污染;四是熏蒸杀虫化学药剂的污染。粮食储藏过夏需要各种类型的熏蒸杀虫,如溴甲烷、二硫化碳、四氯化碳、磷化氢等,残留量控制不当也会使粮食污染;五是粮油产品非法添加。包括企业非法使用违禁有毒有害物质、掺假、以次充好等,如“地沟油”、“毒大米”等不断曝光,严重打击了消费者安全消费的信心;六是粮食在包装、运输、销售等环节所形成的各类污染等。有统计表明我国粮油产品受黄曲霉毒素、呕吐毒素等真菌毒素污染严重并呈加重趋势,每年因霉变造成的粮食产后损失高达3 100万 $\text{t}$ ,其中储藏期损失

约2 100万 $\text{t}$ ,占总损失的67%,而造成粮油产品的直接经济损失高达680~850亿元<sup>[7]</sup>。总体来讲,我国粮食质量安全现状极为严峻。

## 2 粮油质量安全检测方法及存在问题

粮油污染物主要可分为重金属、农残和真菌毒素三大类,与之相关的检测技术主要包括<sup>[8]</sup>:

(1)用于农药残留和真菌毒素污染粮检测的基于色谱理论的检测技术,如气相色谱、液相色谱及气质、液质联用法等。该类方法具有准确度高,重现性好的优点。缺点是样品前处理麻烦,仪器对操作人员的要求较高。(2)用于重金属元素分析检测的分光光度法、高效液相色谱检测法、原子光谱及电感耦合等离子体质谱检测法、电化学检测法等。(3)随着传感技术等新型科学的迅猛发展,近年来发展起来的计算机视觉技术、电子舌技术和电子鼻技术等,也为粮油中真菌毒素的检测提供了极大的便利性和准确性,在粮油品质检测中有着广阔的发展前景<sup>[9]</sup>。(4)随着生物技术发展起来的基于免疫学基础上的新型检测新技术因具有灵敏度高,特异性强,操作方便,分析时间短,成本低等优点,也成为真菌毒素领域的研究热点<sup>[10]</sup>。

以上检测方法都有一个共同的特点,即通过定量检测确定粮油食品里目的毒性物质的种类和含量,这些方法都只是定量了粮油制品中污染物的数量或浓度,而不能确定其毒性级别和机制,即不能对其安全程度做出评价。此外,对于通过物理、化学或生物学方法脱毒的粮油及其制品,也不能评价其安全性。如通过微生物降解脱毒法处理过的霉变粮食,也不能通过上述检测方法确定毒素降解产物或脱毒粮食是否能达到食品安全要求,是否能够再次应用于食品加工等。此外,对于最近的焦点问题,即转基因粮油的安全性问题,上述检测方法显然也没法解决。而基于细胞和动物实验基础上的分子毒理学理论和技术将可能有效的解决上述问题。

## 3 分子毒理学技术概述与应用特点

### 3.1 分子毒理学简介

分子毒理学是在毒理学的发展过程中,受到

分子生物学理论和技术的促进而发展起来的,它是通过细胞和动物实验,从分子水平上研究外源化合物,即毒性物质与生物机体相互作用的一门学科<sup>[11]</sup>。一方面,它要探究毒素化合物对生物机体组织中的各种分子,特别是生物大分子的作用机制,从而阐明毒素化合物对生物机体健康的不利影响;另一方面则是要从分子水平上表述生物体对毒素化合物的剂量关系和应激效应<sup>[12]</sup>。分子毒理学使宏观与微观研究有机的结合起来,大大改变了化学物质危险度评价的模式,使有毒物质对机体的损伤作用和分子机制领域的研究取得了重要突破,形成了诸多新的研究热点<sup>[13]</sup>。

### 3.2 分子毒理学在粮油质量安全评价领域的应用特点

基于现代分子生物学技术基础上的分子毒理学在用于粮油质量安全评价方面具有不可取代的独特优势,主要包括:

(1) 可以从分子水平上研究生命机体对粮油污染物的反应和应激蛋白的形成。生命体处于感染或接触某些特定化学物和药物,尤其是毒性物质都会产生一系列普遍而保守的应答,诱导机体细胞中基因表达谱的改变,相关蛋白的表达就会相应的增加或降低<sup>[14-15]</sup>。通过分析这些特定或靶向蛋白表达变化的分析,就可以确定粮油,尤其是污染粮油及其制品对生物机体的影响。

(2) 可以研究粮油污染物对机体细胞周期的影响。细胞周期性增殖是生命过程的基本特征,与机体的生长发育、组织器官分化、细胞程序性死亡都有密切联系。细胞周期是一个程序性的、周而复始的级联过程,并受多种蛋白的调控。当细胞接触某种特定毒物时,如影响到某种周期蛋白的表达和活性,则就会扰乱细胞的程序化周期变化,使之非正常增殖,从而引起机体健康的变化,甚至诱发癌症<sup>[16]</sup>。例如,目前检测到的细胞周期相关蛋白包括,P53、P38、P21 和 P27 等<sup>[17-18]</sup>。它们的表达经常会受到毒性物质的影响而发生变化。

(3) 可用于研究粮油污染物对细胞信息传递过程的影响。细胞信号传递是目前生物学研究领域中的热门。大量研究表明,细胞的增殖和分化,癌基因和抑癌基因的表达,肿瘤的启动、促进、

进展以及转移,细胞凋亡乃至各种细胞应激过程,细胞信号传递都在其中都起重要的作用。而各种毒物已被证明可在细胞信息传递途径的各个环节起作用<sup>[19]</sup>。如许多重金属、农药残留物和真菌毒素<sup>[20-22]</sup>,可通过特定信号通路蛋白影响细胞信息传递。其中有些蛋白质与毒物的活性和含量有关,因此,通过研究粮油毒性物质对细胞信号通路蛋白表达和活性的影响,即可更深入评价粮油毒性物质的安全含量和毒性级别,将污染粮油进行分级处理。

总之,通过细胞和动物实验进行污染物分子毒理学效果评价和机制分析,能更直接有效评价粮油及其制品的质量水平和安全级别。当细胞受到毒物损害时,是否产生凋亡,要视毒物的剂量而定,大剂量毒物往往直接导致细胞坏死和不同程度凋亡的产生<sup>[23]</sup>。通过对细胞凋亡的研究,即可确定不同物质的毒性程度和安全含量<sup>[24]</sup>。不同品质的粮食加工成的日粮用于小鼠或大鼠的饲喂时,也会对动物机体的不同内脏器官产生不同程度影响,甚至损害。如在研究评价小麦胚芽油的使用安全时,利用大鼠和小鼠作为实验动物,通过急性和亚急性毒理实验,就可以检测小麦胚芽油对动物内脏器官和各项生理生化指标的影响,从而确定其安全性和健康级别<sup>[25]</sup>。此外,由于不涉及伦理道德,并且能够最有效模拟人体内的生物及遗传机制变化,通过细胞和动物模型来检测转基因粮食及其制品的安全性,也是最有潜力和有效的解决办法。

## 4 粮油质量安全的分子毒理学评价实例

### 4.1 转基因和非转基因大豆的安全性评价

以非转基因大豆为对照,通过细胞和小鼠模型实验分别尝试评价了转基因大豆对生命有机体的安全性影响,结果如下。

#### (1) 细胞模型实验

用 MTT 法检测了非转基因和转基因大豆水溶性提取物处理结肠癌细胞 HCT-116 时的增殖状况,其中水溶性提取物通过将 70 g 大豆粉加入 1 L 水中。充分溶解,高速离心分离得到上清液,按照与细胞培养基体积比 1 : 4 的比例处理细胞 48 h。如图 1 所示,结果表明非转基因和转基因

大豆处理后结肠癌细胞增殖活性得到明显抑制 ( $n=6, P<0.01$ ), 其中非转基因大豆 F 组相对于对照组增殖活性降低 19.99%; 转基因大豆 G 组降低 18.66%; 这与大豆水溶性提取物中具有抑制肿瘤细胞增殖活性的异黄酮和低聚糖等物质有关。但非转基因和转基因大豆间并无显著差异, 即与非转基因大豆比, 转基因大豆并未引起肿瘤细胞增殖活性的明显变化。

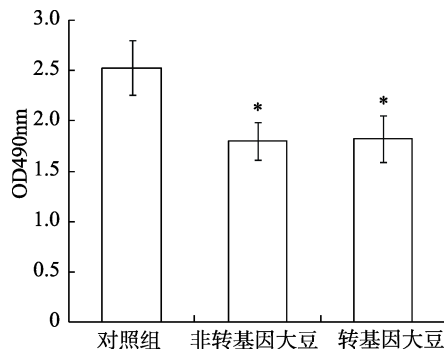


图 1 非转基因和转基因大豆对结肠癌细胞 HCT-116 增殖的影响

### (2) 小鼠模型实验

采用水溶性大豆提取物灌喂 SPF 级 C57 小鼠法, 评价了非转基因和转基因大豆对雄性小鼠健康状况的安全性影响。其中提取物灌喂小鼠的剂量为 10 mL/(kg·d), 每周 5 d, 连续灌喂 70 d, 实验期间各组动物 ( $n=12$ ) 自由饮水、采食。表 1 为非转基因和转基因大豆对小鼠体重、肝脏指数和结肠组织健康状态的影响。由表可见, 非转基因和转基因大豆对小鼠的体重均有一定抑制作用, 但抑制效果不显著。非转基因和转基因大豆

均不同程度降低了小鼠的肝脏指数, 但两种大豆间无显著差异。在结肠长度方面, 两种大豆饲喂的小鼠均有不同程度缩短, 在结肠炎或结肠癌等病理条件下, 结肠的长度、弹性及粪便的分布状态都会发生变化, 如结肠的长度变短, 弹性变差, 结肠中的粪便呈大小不一, 分布不均, 粘度增大等<sup>[26]</sup>。研究发现, 由于大豆含有的抗营养因子, 如蛋白酶抑制因子、水苏糖、棉子糖等并没有去除, 且大豆在小鼠日粮中添加量较高, 因此, 过量大豆的摄入降低了肝脏系数和结肠长度, 但两种大豆间并无显著差异。

表 1 非转基因和转基因大豆对小鼠体重增长率, 肝脏系数和结肠组织的影响

组别	体重增长率/%	肝脏系数/%	结肠长度/cm
对照	25.90±4.59	3.57±0.11	7.34±0.83
F	21.12±9.32	3.03±1.10	7.18±0.63
G	22.32±2.12	3.17±0.48	7.08±0.86

进一步用生化分析仪检测了不同大豆饲喂条件下小鼠血液指标的变化, 主要检测了与脂肪代谢和肝功能相关参数的变化情况, 包括血液中总蛋白 (TP), 白蛋白 (ALB), 葡萄糖 (GLU), 甘油三酯 (TG), 总胆固醇 (CHOL), 高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 和低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 等, 结果如表 2 所示 (与对照组相比, \*表示  $P<0.05$ , \*\*表示  $P<0.01$ ), 由表可以看出, 除非转基因大豆显著降低了小鼠血液中 TG 的含量外, 其他指标并未产生显著差异。

表 2 非转基因和转基因大豆对小鼠生化指标的影响

组别	TP/(g/L)	ALB/(g/L)	GLU/(mM/L)	TG/(mM/L)	CHOL/(mM/L)	HDL-C/(mM/L)	LDL-C/(mM/L)
对照	56.19±6.36	16.08±2.04	9.62±2.39	1.57±0.38	1.53±0.11	1.02±0.10	0.18±0.04
F	57.16±5.48	16.83±1.54	9.39±1.49	0.75±0.12**	1.55±0.20	0.97±0.20	0.22±0.06
G	56.77±7.06	16.46±1.52	9.51±0.87	1.28±0.55	1.64±0.22	1.10±0.14	0.19±0.01

### 4.2 效果分析与评价

细胞及动物模型的实验结果表明, 非转基因和转基因大豆对小鼠的健康参数并无显著差异, 即转基因大豆对小鼠并无毒性作用。但本研究尚未进行蛋白和基因水平上的差异化分析, 此外, 也未确定转基因大豆中外源基因的引入是否存在隐性的短期内难以显现的不安全因素, 这需要进

一步的动物毒理学实验, 以确定转基因大豆对小鼠遗传性状安全性的影响。

基于分子毒理学基础上的粮油质量安全评价结果更能直接有效评价粮油及其制品的安全水平或等级, 是对传统检测手段结果的有效补充。它既能使真正有毒有害的粮油及其制品不进入人类的餐桌, 又能有效保证不危及身体健康粮油的充

分合理利用，实现节粮减损。

## 5 结论

近年来，粮食、农产品和食品安全被提升为国家安全战略，加快建立健全粮油产品质量安全监管体系和检验检测体系，发展新型评价检测技术尤为重要。毒理学已被广泛应用于化学品、食品及药品等安全评价领域，尤其近 20 年来，细胞与分子生物学技术的飞速发展使分子毒理学拥有了新的理论和手段，真正实现了从整体和器官水平向细胞和分子水平的飞跃，在阐明毒性物质对机体损伤作用和致癌过程的分子机制方面取得了重要的突破，形成了一些新的研究热点，建立了许多新的分子生物标志物的检测方法，使宏观与微观研究有机地结合起来，改变了毒性物质危险度评价的模式。分子毒理学的发展势必将对不同情况下粮油质量安全评价提供重要的理论依据。

### 参考文献：

[1] 陈晓华. 完善农产品质量安全监管的思路和举措[J]. 行政管理改革, 2011(6): 14-19.

[2] 曹丹丹. 国际粮价高涨形势下对我国粮食安全的思考[J]. 兰州交通大学学报, 2008, 27(5): 51-54.

[3] 毕宁远, 邢天天. 我国城乡恩格尔系数与居民收入的关系研究. 中国市场, 2018(6): 19-21.

[4] 傅辰昊, 周素红, 闫小培, 等. 中国城乡居民生活水平差距的时空变化及其影响因素[J]. 世界地理研究, 2015, 24(4): 67-77.

[5] 祝滔. 影响粮食安全的主要因素[J]. 食品安全导刊, 2016(1-2): 57.

[6] 张瑞凌, 魏云波, 刘书花, 等. 我国重金属污染现状及其微生物处理方法研究进展[J]. 现代农业, 2011, 20: 272-272.

[7] 污染作物威胁健康, 影响社会经济发展[N]. 农民日报, 2014-06-11.

[8] 孙利, 霍江莲, 崔维刚, 等. 粮食产品中真菌毒素的色谱及质谱检测技术研究进展[J]. 食品科学, 2013, 34 (19): 367-375.

[9] 胡桂仙, 王建军, 王小骊, 等. 粮油品质检测评价新技术的研究进展及展望. 中国粮油学报, 2011, 26(3): 110-113.

[10] 沈飞, 吴启芳, 刘兵, 等. 粮食真菌毒素污染的无损检测方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2014(8): 2372-2377.

[11] 庄志雄. 分子毒理学研究的现状与展望[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2000, 18(1): 12-15.

[12] 袁晶, 蒋义国. 分子毒理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2017.

[13] LIU Y, ZHANG S, ZHOU L, LIU L. The toxicity of aconitum

alkaloids on cardiocytes and the progress of its research using the methods of molecular toxicology[J]. Chinese Journal of Forensic Medicine, 2009, 24(6): 398-401.

[14] VAN EDEN W, JANSEN M A A, LUDWIG I, et al. The enigma of heat shock proteins in immune tolerance [J]. Front Immunol. 2017(8): 1599-1604.

[15] MURSHID A, PRINCE T L, LANG B, et al. Role of heat shock factors in stress-induced transcription[J]. Methods Mol Biol. 2018, 1709: 23-34.

[16] DOI K, UETSUKA K. Mechanisms of mycotoxin-induced dermal toxicity and tumorigenesis through oxidative stress-related pathways [J]. J Toxicol Pathol. 2014, 27(1): 1-10.

[17] KIM H, KOKKOTOU E, NA X, et al. Clostridium difficile toxin A-induced colonocyte apoptosis involves p53-dependent p21 (WAF1/CIP1) induction via p38 mitogen- activated protein kinase [J]. Gastroenterology, 2005, 129(6): 1875-1888.

[18] 王少康, 王婷婷, 黄桂玲, 等. 伏马菌素 B<sub>1</sub> 对人正常食管上皮细胞细胞周期相关基因 mRNA 表达的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(23): 313-316.

[19] BONDY G S, PESTKA J J. Immunomodulation by fungal toxins [J]. Journal of Toxicology & Environmental Health, 2000, 3 (2): 109-143.

[20] GOSWAMI P, GUPTA S, BISWAS J, et al, Endoplasmic reticulum stress plays a key role in rotenone-induced apoptotic death of neurons[J]. Molecular Neurobiology, 2016, 53 (1): 285-296.

[21] 姜勇. 内毒素激活内皮细胞的信号机制的研究进展[J]. 中华医学杂志. 1999(1): 76-78.

[22] REPKA V, FIALA R, PAVLOVKIN J. Role of ethylene and phospholipid-mediated signalling in mycotoxin-induced programmed cell death in the apical part of maize roots [J]. Biologia, 2017, 72(4): 378-387.

[23] DAI Y, XIE H, XU Y. Evaluation of deoxynivalenol-induced toxic effects on mouse endometrial stromal cells: Cell apoptosis and cell cycle [J]. Biochemical & Biophysical Research Communications. 2016, 483(1): 572-577.

[24] M K RUHI, A A CAN, M GÜLSOY. Dose-dependent photochemical/photothermal toxicity of indocyanine green-based therapy on three different cancer cell lines [J]. Photodiagnosis & Photodynamic Therapy, 2018, 21: 334-343.

[25] 赵文英, 朱庆书, 金青. 小麦胚芽油毒理学研究. 粮食与油脂, 2006(12): 44-45.

[26] QI W, CHRISTOPHER R W, KAARIN W, et al. Genistein inhibits proliferation of colon cancer cells by attenuating a negative effect of epidermal growth factor on tumor suppressor FOXO3 activity[J]. BMC Cancer, 2011(11): 219-228. 