

葡萄中产赭曲霉毒素 A 炭黑曲霉的控制方法

蒋春美¹, 师俊玲^{1*}, 刘延琳², 邵东燕¹

(1. 西北工业大学生命学院, 西安 710072;

2. 西北农林科技大学葡萄酒学院, 杨凌 712100)

摘 要: 炭黑曲霉(*Aspergillus carbonarius*)属曲霉属黑色曲霉菌, 是葡萄中赭曲霉毒素 A(ochratoxin A, OTA)主要产生菌, 广泛存在于许多国家和地区的葡萄及其制品中, 是造成葡萄酒中 OTA 污染的主要来源。控制这些霉菌的生长与产毒是从源头上减少葡萄原料及其制品 OTA 污染的关键环节, 有关炭黑曲霉的污染规律及其控制方法方面的研究成为近年来的国际研究热点。根据已有研究, 紫外线照射、杀菌剂、二氧化硫、纳他霉素、多酚、香精油、天然提取物和挥发性化合物等都能够一定条件下对炭黑曲霉的生长与产生 OTA 的能力产生一定的抑制作用。最新研究发现, 酵母、细菌和一些非产毒真菌及其代谢产物也对炭黑曲霉的生长和 OTA 产生具有良好抑制作用, 而且具有无毒无害, 安全性好等优点, 在实际应用中展示出很好的应用潜力, 越来越受到相关科研工作者和应用者的重视。本文主要围绕上述研究内容, 对国内外近年来的相关研究进展进行综述。

关键词: 炭黑曲霉; 赭曲霉毒素 A; 葡萄; 生物控制; 物理控制; 化学控制

Review on the control of *Aspergillus carbonarius* producing ochratoxin A in grape

JIANG Chun-Mei¹, SHI Jun-Ling^{1*}, LIU Yan-Lin², SHAO Dong-Yan¹

(1. School of Life Sciences, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China; 2. College of Enology, Northwest Agriculture & Forestry University, Yangling 712100, China)

ABSTRACT: *Aspergillus carbonarius* belongs to *Aspergillus* Section of *Nigri*, which is the main fungi producing ochratoxin A (OTA) in grapes. It has been widely found in grape and related products in many countries and regions around the world. It has been identified as the major source of OTA contamination in wine making. Inhibition of *A.carbonarius* infection and OTA production are the key step for the control of OTA contamination in grape berries and their products. Investigation of this fungi contamination and exploration of the control methods have been extensively studied in recent years. Many methods and substances such as ultraviolet irradiation, fungicide, sulfur dioxide, natamycin, polyphenols, essential oil, natural extract and volatile compounds have been found to have significant inhibitory effects on the growth and OTA production of *A.carbonarius* under certain conditions. In recent years, some strains of yeast, bacteria and other non-toxin-producing fungi and their metabolites were also found to have significant inhibitory effects on growth of *A.carbonarius* and OTA production. Due to the unique advantages of

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2015BAD16B02)、国家葡萄产业技术体系(CARS-30)

Fund: Supported by National Science and Technology Support Program (2015BAD16B02) and National Technical System for the Grape Industry Subject(CARS-30)

*通讯作者: 师俊玲, 博士, 教授, 研究方向为生物技术。E-mail: sjlshi2004@nwpu.edu.cn

*Corresponding author: SHI Jun-Ling, Ph.D, Professor, Key Laboratory for Space Bioscience and Biotechnology, Institute of Special Environmental Biophysics, School of Life Sciences Northwestern Polytechnical University, 127 Youyi West Road, Xi'an 710072, China. E-mail: sjlshi2004@nwpu.edu.cn

non-toxic and safety, these microorganisms showed great potential in practical applications and attracted greater attention of food researches and users. This article reviewed the related research progress in recent years at home and abroad around the study content.

KEY WORDS: *Aspergillus carbonarius*; ochratoxin A; grape; biological control; physical control; chemical control

1 引 言

赭曲霉毒素 A(ochratoxin A, OTA)是一种毒性较强的真菌毒素,被国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)归为对人类可能致癌的毒素(2B)^[1]。欧盟对葡萄酒中 OTA 含量进行了严格限定,规定其不能高于 2.0 μg/kg^[2]。根据市场调查,我国葡萄酒中 OTA 的含量范围为 0.1~5.65 μg/L。其中,东北产区的葡萄酒中 OTA 含量为 2.18 μg/L,高于国内其它产区^[3]。葡萄酒中的 OTA 会通过影响酵母菌的生长代谢而给产品品质带来不利影响^[4]。炭黑曲霉(*Aspergillus carbonarius*)是造成葡萄及其制品中 OTA 污染的主要来源,在阿根廷、巴西、法国、意大利、西班牙^[5,6]、葡萄牙、突尼斯^[7]、希腊、澳大利亚以及我国^[8]均有发现和报道。控制炭黑曲霉

及其他 OTA 产毒菌在葡萄原料及加工过程中的生长与产毒是从源头上解决葡萄酒和其他葡萄制品中 OTA 污染的关键环节。

2 炭黑曲霉产生 OTA 的能力

从微生物分类而言,炭黑曲霉属真菌界、真菌门、半知菌亚门、半知菌纲、壳霉目、杯霉科、曲霉属微生物,属黑色曲霉(*Aspergillus Section Nigri*),能够污染葡萄、谷物、咖啡、可可和花生等食品基质,其中从葡萄中分离到的炭黑曲霉数量最多,报道也最多^[9]。表 1 列出从不同食品中分离到的炭黑曲霉及其 OTA 产生能力。从表 1 可以看出,从葡萄和可可中分离到的炭黑曲霉 OTA 产量最高,可达 195000 μg/L;而从谷物和花生中分离到的炭黑曲霉 OTA 产生能力较低。

表 1 从不同食品中分离到的炭黑曲霉及其 OTA 产生能力
Table 1 *Aspergillus carbonarius* isolated from different foodstuffs and their OTA production capacity

分离源	培养条件	检测限 LOD	OTA 含量(μg/L or kg)	参考文献
葡萄	YES, 30 ℃	1 μg/L	180~2340	[10]
	YES, 30 ℃	1 μg/L	1920~195000	[11]
	CYA, 25 ℃	NA*	>LOD~8380	[12]
	CYA, 25 ℃	0.05 μg/kg	1.2~1285	[13]
	CYA, 25 ℃	20 μg/kg	2500~9600	[14]
	CYA, 25 ℃	1 mg/kg	>LOD~37500	[15]
	CYA, 25 ℃	1 μg/kg	2274~13179	[8]
	CYA, 25 ℃	NA*	50.8~337.1	[16]
	SNM, 25 ℃	NA*	0.2~710	[16]
	PDA, 25 ℃	0.023 μg/L	4.1~28	[17]
谷物	PDA, 25℃	1.9 μg/L	>LOD~<20	[18]
	CYA, 25℃	0.02 μg/kg	>LOD~9.35	[19]
	YES, 28 ℃	1 μg/kg	820~1900	[20]
咖啡和可可	PDA, 28℃	6 μg/kg	>LOD~3520	[21]
	PDA, 25℃	NA	573~2772	[22]
	CYA, 25℃	NA	200~8000	[23]
花生	YES, 30 ℃	1 μg/L	9~20	[24]

*NA, 数据未检测。

炭黑曲霉可在麦芽汁琼脂培养基(malt agar medium, MEA)、酵母提取物培养基(yeast extracts, YES)、查氏酵母膏琼脂培养基(czapek yeast extract agar, CYA)、土豆葡萄糖琼脂培养基(potato-dextrose agar, PDA)和合成培养基(synthetic nutrient medium, SNM)等多种培养基上生长并合成 OTA 毒素,以 YES 和 CYA 培养基中 OTA 产量最高。其中,SNM 培养基是用来模拟葡萄汁中营养成分的一种培养基^[25,26]。同时,炭黑曲霉也可以在谷物、玉米^[27]、葡萄^[7,28,29]、葡萄干^[30]和可可豆^[31]等多种食品中生长,并产生 OTA。Jiang 等^[32]研究发现,炭黑曲霉也可在不同的鲜食葡萄品种上进行生长与产毒,其中以在无核白葡萄上的侵染速度最快,OTA 产量最高。

3 抑制炭黑曲霉生长与 OTA 产生的方法

国外有关炭黑曲霉生长和 OTA 产生的抑制方法可以归纳为 3 种:物理方法、化学方法和生物方法。国内有关这方面的研究较少且多为文献综述,研究内容主要为 OTA 的生物去除和降解^[33,34]。不过,随着人们食品安全意识的提高,如何利用高效、天然、无毒无害的抑菌剂来控制食品原料和加工过程中的炭黑曲霉的生长与产毒,已经成为近年来国内外的研究热点。

3.1 物理方法

研究发现,采用紫外线照射可以有效抑制炭黑曲霉的生长与产毒。Garcia-Cela 等^[35]发现,紫外线 A(UV-A)和 B(UV-B)对炭黑曲霉的菌落形态(直径、物质干重和菌落密度)和 OTA 产量都会产生显著影响,而且其影响程度在不同菌种间有所差异。其中,照射时间由 16 h 减少到 6 h 时,炭黑曲霉的生长量显著减小,但 OTA 产量不变;UV-A 照射时,OTA 的降低量大于 UV-B 照射,而且其降低量随照射时间的延长而减少,UV-B 照射下的菌落颜色会发生改变。 γ -射线辐照也可抑制炭黑曲霉的生长与 OTA 的产生,人为添加炭黑曲霉的葡萄干用辐照量为 10.0 kGy 的 γ -射线处理后,培养 12 d 时葡萄干中未检测到 OTA^[36]。

3.2 化学方法

有关化学法抑制炭黑曲霉生长和 OTA 产生的方法主要包括杀菌剂、二氧化硫、纳他霉素、多酚、香精油和挥发性化合物等。

3.2.1 杀菌剂

杀菌剂主要用于葡萄采前和田间葡萄园内病虫害的防治。研究发现,将葡萄果粒在采摘前用杀菌剂处理后,炭黑曲霉的侵染比例显著降低,OTA 产量下降^[37]。Belli 等^[38]考察了 26 种杀菌剂对炭黑曲霉生长和 OTA 产生的影响,结果发现,9 种杀菌剂均可显著降低炭黑曲霉的生长速率,13 种杀菌剂可以完全抑制炭黑曲霉的生长;能够完全抑制炭黑曲霉生长的杀菌剂均可抑制 OTA 的产生;但只能部分

抑制炭黑曲霉生长的杀菌剂不能抑制 OTA 的合成,只有含铜或甲氧基丙烯酸酯类的杀菌剂,才能同时抑制炭黑曲霉的生长与 OTA 合成;而含硫的杀菌剂反而会对炭黑曲霉的生长和 OTA 产生有促进作用。多菌灵能够显著抑制炭黑曲霉的 OTA 产生,但不影响其菌体生长^[39]。咪唑类杀菌剂,可以控制炭黑曲霉生长,但不抑制 OTA 产生^[40]。

3.2.2 二氧化硫

二氧化硫(SO_2)对各种微生物都具有杀灭作用。其作用机制主要有两方面:一是 SO_2 对微生物有很强的毒性和诱变效应,可使微生物的 mRNA 失活,也可与蛋白质的二硫键发生反应;其次, SO_2 对细胞膜有毒害作用^[41]。不同 SO_2 产品的毒性差异较大,以亚硫酸(H_2SO_3)形式提供的 SO_2 毒性最大,其次为亚硫酸氢盐(HSO_3^-)和亚硫酸盐(SO_3^{2-})^[42]。研究发现,焦亚硫酸钠可以显著抑制炭黑曲霉的孢子萌发、菌丝生长和 OTA 产生,但所需浓度不同。Pateraki 等^[43]研究发现,葡萄汁培养基中的焦亚硫酸钠浓度高于 500 mg/L 时,可以抑制炭黑曲霉的孢子萌发、菌丝生长和 OTA 产生。Ioannidis 等^[44]研究发现,焦亚硫酸钠可延长炭黑曲霉的延滞期,在浓度为 50 mg/L 时对炭黑曲霉没有抑制作用;但在较高浓度(100 mg/L 和 150 mg/L)下会抑制炭黑曲霉的生长;在 200 mg/L 时可完全抑制炭黑曲霉生长。 SO_2 保鲜剂可以用作抑制葡萄贮藏过程中炭黑曲霉生长的抑制剂,在浓度为 0.4 mg/L 时葡萄表面的真菌菌落数量明显低于对照,且形成的菌落不能产生孢子^[45]。

3.2.3 纳他霉素

纳他霉素(natamycin),是由纳塔链霉菌(*Streptomyces natalensis*)发酵得到的一种食品防腐剂。它能与真菌的麦角甾醇以及其它甾醇基团相结合,阻遏麦角甾醇的生物合成,从而使细胞膜发生畸变,最终导致细胞质渗漏,引起细胞死亡。Medina 等^[46]发现,50~100 ng/mL 的纳他霉素可有效抑制炭黑曲霉的生长和 OTA 产生。但 Kogkaki 等^[47]研究发现,纳他霉素对炭黑曲霉菌体的生长速率没有显著影响,对第 10 d 和 15 d 时炭黑曲霉的 OTA 产量有降低作用,在浓度较高(800~1000 ng/mL)时才会对菌体生长产生显著抑制作用。

3.2.4 多酚类化合物

葡萄和葡萄酒中富含多酚类化合物,如没食子酸、香草酸、原儿茶酸、儿茶素、咖啡酸、绿原酸和白藜芦醇等。近年来研究发现,这些酚类化合物对炭黑曲霉的菌体生长和 OTA 产生有一定抑制作用,但其抑制效果会因霉菌和酚类物质的种类不同而有所差异。香草酸和 4-羟基苯甲酸可抑制大部分 OTA 产生菌的生长与产毒,但不能抑制炭黑曲霉和赭曲霉(*A. ochraceus*)的生长与产毒^[48]。没食子酸可抑制炭黑曲霉的菌体生长,延长其延滞期,减少其 OTA 产量,并能在 500 mg/L 浓度下,完全抑制炭黑曲霉的生长^[49]。咖啡酸、香豆酸和阿魏酸则在 0.30~1.10 g/L 的浓度范围内对炭黑曲霉的生长没有显著影响,但香豆酸和阿魏酸可降低

炭黑曲霉的 OTA 合成, 并在 0.65 mg/mL 时降低炭黑曲霉中聚酮合酶(AcOTApks)和非核糖体多肽合成酶(AcOTAnrps)的基因表达量^[50]。低浓度的白藜芦醇对炭黑曲霉生长没有显著影响, 高浓度时可抑制霉菌的 OTA 产生^[51]。当葡萄中白藜芦醇含量在真菌侵染之前已经达到较高水平时, 也能有效控制 OTA 的合成。然而, 如果白藜芦醇浓度在真菌侵染之后(40 h)才有所提高, 则不能抑制 OTA 的合成^[52]。另外, 一些其他抗氧化剂如甲萘醌(menadione)和 3,5-二叔丁基-4-羟基甲苯(BHT)也会对炭黑曲霉的生长、活性氧(ROS)和 OTA 产生有一定的抑制作用; 其中, 甲萘醌在浓度高于 20 $\mu\text{mol/L}$ 时, 能显著降低炭黑曲霉的生长速率, 但会提高其 OTA 产量和 ROS 水平; BHT 在浓度为 2.5~10 mmol/L 时, 则可提高 OTA 产量和 ROS 水平; 只有当 BHT 浓度高于 5 mmol/L 时, 才能抑制炭黑曲霉的生长^[51]。

3.2.5 香精油

从百里香(*Thymus serpyllum* L.)中提取的香精油、麝香草酚和总酚对炭黑曲霉的生长和 OTA 合成的抑制率可达 60%, 其中以香精油的抑制作用最强^[53]。从牻牛儿科天竺葵属的碰碰香(*Pelargonium odoratissimum*)叶子中提取的香精油, 在 0.5 $\mu\text{L/mL}$ 的浓度水平时, 可完全抑制炭黑曲霉生长^[54]。已报道有 20 种植物精油均可在 0.33 $\mu\text{L/mL}$ 的水平上有效抑制鲜食葡萄上主要霉菌的生长, 其中南亚蒿精油在浓度为 0.29 $\mu\text{L/mL}$ 时, 能够抑制真菌生长; 在 0.58 $\mu\text{L/mL}$ 时, 对所有曲霉都有致死作用^[55]。

3.2.6 挥发性化合物

从天然植物和真菌中提取得到的挥发性化合物对炭黑曲霉的生长和产毒也有一定的抑制作用。牛至(oregano)提取物浓度为 2.5 mL/100 mL 时, 对炭黑曲霉和黑曲霉(*Aspergillus niger*)的抑制率分别为 95.6%和 45.6%; 其中主要的抑菌成分为香芹酚(34.20%)和香芹酮(18.05%)^[56]。*Muscodor albus*(一种内生真菌)被证明可以产生超过 20 种具有抗真菌、抗细菌和杀虫活性的挥发性化合物, 而且, 这些挥发性化合物在浓度为 2 g/L 时, 可杀死或阻止多种真菌孢子的萌发。其中, 两种最主要的成分即异丁酸(IBA)和 2-甲基-1-丁醇(2MB)在 50 $\mu\text{L/L}$ 和 100 $\mu\text{L/L}$ 时, 可不同程度地抑制炭黑曲霉等 7 种真菌的生长; 但当两者共同使用时可杀死或抑制 94%的真菌孢子; 两者浓度分别为 50 $\mu\text{L/L}$ 和 100 $\mu\text{L/L}$ 时, 可杀死或抑制 7 种真菌的孢子^[57]。

综上所述, 化学合成的杀菌剂虽然对炭黑曲霉的生长和产毒有一定的抑制作用, 但会引起一定的食品安全问题, 因此适用的食品种类和加工过程有限, 可作为葡萄等作物田间生长过程霉菌污染与控制的主要辅助手段。SO₂、纳他霉素等食品添加剂和来自于食品或香料的多酚、香精油和其他挥发性化合物对炭黑曲霉的生长和产毒有一定抑制作用, 也成为近年来的研究热点, 但因所需浓度较高或风味较大, 在新鲜果蔬防腐应用方面也有一定的局限性。

3.3 生物方法

生物控制方法主要是利用酵母菌、细菌和真菌及其代谢产物对炭黑曲霉的生长和 OTA 产生进行抑制, 因其具有高效、安全和环保等特点, 具有广阔的应用前景, 也得到了研究者们越来越多的重视与报道。

3.3.1 酵母

能够抑制炭黑曲霉生长和 OTA 产生的酵母主要有酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)和非酿酒酵母菌(non-Saccharomyces)。Armando 等^[58]发现, 酿酒酵母菌 RC008 和 RC016 可显著降低炭黑曲霉的生长速率和 OTA 产生。Cubaiu 等^[59]研究发现, 酿酒酵母菌 DISAABA1182 在体内(*in vivo*)和体外(*in vitro*)实验中对炭黑曲霉和赭曲霉(*A.ochraceus*)均有抑制作用, 且其去菌体发酵液可完全抑制两株霉菌的生长与 OTA 产生。当两株霉菌与酿酒酵母菌的活细胞或其去菌体发酵液共培养时, 可显著降低霉菌中 *pks* 基因的表达水平。

一些来自于酿酒葡萄果实和植株的非酿酒酵母菌, 也可以显著抑制炭黑曲霉的生长和 OTA 产生。目前已经报道的能够显著抑制炭黑曲霉生长和 OTA 产生的酵母菌主要有东方伊萨酵母菌(*Issatchenkia orientalis*)^[60]和耐热克鲁维酵母菌(*Kluyveromyces thermotolerans*)^[61,62]。Fiori 等^[63]分析了两株非酿酒酵母菌(*Cyberlindnera jadinii* 273 和 *Candida friedrichii* 778)和两株低发酵性酵母菌(*Candida intermedia* 235 和 *Lachancea thermotolerans* 751)对炭黑曲霉的抑制作用, 及其对葡萄汁中 OTA 的去除能力。结果发现, 其中两株菌对炭黑曲霉的生长有明显的抑制作用, 但其过滤物和无菌培养液都不能有效抑制霉菌生长, 4 株酵母菌的挥发性产物均能够持续抑制病原菌的生长, 1 株酵母菌的非发酵性产物也能有效抑制炭黑曲霉的营养生长, 而且这 4 株酵母菌均能有效吸附葡萄汁中 OTA, 且灭菌处理能够提高 4 株菌对 OTA 的吸附能力。

3.3.2 细菌

利用细菌抑制炭黑曲霉生长和产毒的研究报道相对较少。Ngang 等^[64]发现, 从可可发酵液中分离到的乳酸菌 A19 和 A21 对 OTA 产生菌有很好的抑制活性, 抑制率为 15%~66.7%, 其发酵液过滤物经 100 $^{\circ}\text{C}$ 处理后的抑菌活性降低, 表明其抑菌活性物质为蛋白质, 可能为细菌素。乳酸菌 A19 作为可可发酵启动剂时, 可显著降低炭黑曲霉和黑曲霉的数量, OTA 含量也基本降为 0。枯草芽孢杆菌及其发酵液也能显著抑制炭黑曲霉的生长和 OTA 产生^[65-67]。

3.3.3 真菌

葡萄、土壤和其他分离源中的不产毒素的真菌对炭黑曲霉的生长和产毒也有一定的抑制作用, 其抑制程度与所用菌种有关。Ahmed 等^[68]发现, *Penicillium adametzioides* 对葡萄采前的 OTA 产生菌污染有一定抑制作用。灰霉(*Botrytis cinerea*)是葡萄表面主要的污染真菌之一, 当其与炭黑曲霉在 SNM 培养基中共同培养(paired culture)时可显

著抑制后者的 OTA 产生, 这与 Kogkaki 等^[69]的研究结果一致; 而且灰霉菌可以降解 SNM 培养基中的 OTA, 降解率为 24.2%~26.7%^[70]。

Barberis 等^[71]发现, 炭黑曲霉与黑曲霉(*A. niger* aggregate)共培养时可完全抑制 OTA 的产生; 木霉属(*Trichoderma* spp.)对炭黑曲霉产 OTA 的抑制率为 80%, 枝孢属(*Cladosporium* spp.)、枝顶孢属(*Acremonium* spp.)和地霉菌属(*Geotrichum* spp.)对炭黑曲霉产 OTA 的抑制率为 40%。但是, 当炭黑曲霉与毛霉菌(*Mucor* spp.)在液体培养基中共培养时, 可以促进 OTA 的产生^[71]。Senthil 等^[66]发现, 木霉属中绿色木霉(*Trichoderma viride*)对炭黑曲霉也有一定的抑制作用, 抑制率可达 88.8%。

Kogkaki 等^[69]发现一些不产 OTA 的真菌和炭黑曲霉间存在相互影响, 且其影响程度与培养环境的水分活度(a_w)和温度有关。大多数情况下, 炭黑曲霉对其他真菌的生长也有强烈的抑制作用。但是, 黑色曲霉(*Aspergillus* section *Nigri*)的一些菌株在任何条件下都能对炭黑曲霉产生一定的拮抗作用。小刺青霉(*Penicillium spinulosum*)和枝孢属(*Cladosporium* spp.)在 15 °C 时对炭黑曲霉的拮抗能力较强, 而灰霉菌则在 20 °C 下对炭黑曲霉的拮抗作用更强。炭黑曲霉与其他真菌共培养时, OTA 产量会因所用拮抗菌株和环境条件的不同而有所增加或者减少。总体而言, 在 15~20 °C, 0.98 a_w 的条件下, 其他真菌的存在都会提高炭黑曲霉的 OTA 产量。

4 结 论

由炭黑曲霉引起的食品特别是葡萄和葡萄酒中 OTA 污染的问题, 不但给人们健康带来危害, 而且会影响产品的质量与感官品质。如何高效、安全地控制炭黑曲霉的生长与产毒受到国内外学者的广泛关注。现有研究发现, 一些天然化合物和微生物能够对炭黑曲霉等 OTA 产生菌的生长和产毒产生很好的抑制作用, 从而表现出较好的应用前景。然而, 现有研究主要集中于在培养基条件下研究所用材料或菌种对炭黑曲霉生长和产毒的抑制作用, 而有关如何利用这些方法来控制实际果蔬和食品中炭黑曲霉的生长和产毒, 所用制剂或菌种对食品加工过程和产品品质的影响以及所用方法具体作用的机理与机制等方面的研究则较为少见。因此, 进一步筛选无毒无害且不影响食品加工过程的天然或生物防治剂对食品中 OTA 产生菌的生长进行控制, 对从源头上控制食品中毒素的污染具有重要意义。

参考文献

- [1] International Agency for Research on Cancer (IARC). Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins [Z].
- [2] Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs [S].
- [3] Zhang XX, Chen L, Li JM, *et al.* Occurrence of ochratoxin A in Chinese wines: influence of local meteorological parameters [J]. *Eur Food Res Technol*, 2013, 236(2): 277–283.
- [4] Bizaj E, Curtin C, Cadez N, *et al.* Interactions between industrial yeasts and chemical contaminants in grape juice affect wine composition profile [J]. *Food Technol Biotech*, 2014, 52(2): 222–231.
- [5] Abarca ML, Accensi F, Bragulat MR, *et al.* *Aspergillus carbonarius* as the main source of ochratoxin A contamination in dried vine fruits from the Spanish market [J]. *J Food Prot*, 2003, 66(3): 504–506.
- [6] Garcia-Cela E, Crespo-Sempere A, Gil-Serna J, *et al.* Fungal diversity, incidence and mycotoxin contamination in grapes from two agro-climatic Spanish regions with emphasis on *Aspergillus* species [J]. *J Sci Food Agric*, 2015, 95(8): 1716–1729.
- [7] Lasram S, Oueslati S, Mliki A, *et al.* Ochratoxin A and ochratoxigenic black *Aspergillus* species in Tunisian grapes cultivated in different geographic areas [J]. *Food Control*, 2012, 25(1): 75–80.
- [8] Jiang CM, Shi JL, Han QA, *et al.* Occurrence of toxin-producing fungi in intact and rotten table and wine grapes and related influencing factors [J]. *Food Control*, 2013, 31(1): 5–13.
- [9] Amézqueta S, Schorr-Galindo S, Murillo-Arbizu M, *et al.* OTA-producing fungi in foodstuffs: A review [J]. *Food Control*, 2012, 26: 259–268.
- [10] Da RR, Palacios V, Combina M, *et al.* Potential ochratoxin A producers from wine grapes in Argentina and Brazil [J]. *Food Addit Contam*, 2002, 19: 408–414.
- [11] Ponsone ML, Combina M, Dalcero A, *et al.* Ochratoxin A and ochratoxigenic *Aspergillus* species in Argentinean wine grapes cultivated under organic and non-organic systems [J]. *Int J Food Microbiol*, 2007, 114: 131–135.
- [12] El Khoury A, Rizk T, Lteif R, *et al.* Fungal contamination and Aflatoxin B₁ and ochratoxin A in Lebanese wine-grapes [J]. *Food Chem Toxicol*, 2008, 46: 2244–2250.
- [13] Chiotta ML, Ponsone ML, Combina M, *et al.* *Aspergillus* section *Nigri* species isolated from different wine-grape growing regions in Argentina [J]. *Int J Food Microbiol*, 2010, 136: 137–141.
- [14] Lasram S, Belli N, Chebil S, *et al.* Occurrence of ochratoxigenic fungi and ochratoxin A in grapes from a Tunisian vineyard [J]. *Int J Food Microbiol*, 2007, 114: 376–379.
- [15] Bejaoui H, Mathieu F, Taillandier P, *et al.* Black aspergilli and ochratoxin A production in French vineyards [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2006, 255: 203–208.
- [16] Selouane A, Bouya D, Lebrihi A, *et al.* Impact of some environmental factors on growth and production of ochratoxin A of/by *Aspergillus tubingensis*, *A.niger*, and *A.carbonarius* isolated from Moroccan grapes [J]. *J Microbiol*, 2009, 47(4): 411–9.
- [17] Dachoupan C, Ratomahenina R, Martinez V, *et al.* Study of the phenotypic and genotypic biodiversity of potentially ochratoxinogenic black *Aspergilli* isolated from grapes [J]. *Int J Food Microbiol*, 2009, 132: 14–23.
- [18] Díaz GA, Torres R, Vega M, *et al.* Ochratoxigenic *Aspergillus* species on grapes from Chilean vineyards and *Aspergillus* threshold levels on grapes [J]. *Int J Food Microbiol*, 2009, 133: 195–199.
- [19] Riba A, Mokrane S, Mathieu F, *et al.* Mycoflora and ochratoxin A

- producing strains of *Aspergillus* in Algerian wheat [J]. Int J Food Microbiol, 2008, 122 (1–2): 85–92.
- [20] Moslem MA, Mashraqi A, Abd-Elsalam KA, *et al.* Molecular detection of ochratoxigenic *Aspergillus* species isolated from coffee beans in Saudi Arabia [J]. Genet Mol Res, 2010, 9: 2292–2299.
- [21] Amézqueta S, González-Peñas E, Dachoupan C, *et al.* OTA-producing fungi isolated from stored cocoa beans [J]. Lett Appl Microbiol, 2008, 47: 197–201.
- [22] Mounjouenpou P, Gueule D, Fontana-Tachon A, *et al.* Filamentous fungi producing ochratoxin A during cocoa processing in Cameroon [J]. Int J Food Microbiol, 2008, 121: 234–241.
- [23] Sánchez-Hervás M, Gil J V, Bisbal F, *et al.* Mycobiota and mycotoxin producing fungi from cocoa beans [J]. Int J Food Microbiol, 2008, 125: 336–340.
- [24] Magnoli C, Astoreca A, Ponsone ML, *et al.* Ochratoxin A and *Aspergillus* section *Nigri* in peanut seeds at different months of storage in Córdoba, Argentina [J]. Int J Food Microbiol, 2007, 119: 213–218.
- [25] Chiotta ML, Sosa DM, Ponsone ML, *et al.* Effect of water activity and temperature on growth of *Aspergillus carbonarius* and *Aspergillus tubingensis* and their interactions on ochratoxin A production [J]. World Mycotoxin J, 2015, 8(1): 99–105.
- [26] Passamani FRF, Hernandez T, Lopes NA, *et al.* Effect of temperature, water activity, and pH on growth and production of ochratoxin A by *Aspergillus niger* and *Aspergillus carbonarius* from Brazilian grapes [J]. J Food Prot, 2014, 77(11): 1947–1952.
- [27] Alborch L, Bragulat MR, Abarca ML, *et al.* Effect of water activity, temperature and incubation time on growth and ochratoxin A production by *Aspergillus niger* and *Aspergillus carbonarius* on maize kernels [J]. Int J Food Microbiol, 2011, 147(1): 53–57.
- [28] Belli N, Marin S, Coronas I, *et al.* Skin damage, high temperature and relative humidity as detrimental factors for *Aspergillus carbonarius* infection and ochratoxin A production in grapes [J]. Food Control, 2007, 18(11): 1343–1349.
- [29] Paola B, Marco CL. OTA-grapes: a mechanistic model to predict ochratoxin A risk in grapes, a step beyond the systems approach [J]. Toxins, 2015, 7(8): 3012–3029.
- [30] Kapetanidou AE, Panagou EZ, Gialitaki M, *et al.* Evaluating the combined effect of water activity, pH and temperature on ochratoxin A production by *Aspergillus ochraceus* and *Aspergillus carbonarius* on culture medium and Corinth raisins [J]. Food Control, 2009, 20(8): 725–732.
- [31] Copetti MV, Pereira JL, Iamanaka BT, *et al.* Ochratoxigenic fungi and ochratoxin A in cocoa during farm processing [J]. Int J Food Microbiol, 2010, 143(1–2): 67–70.
- [32] Jiang CM, Shi JL, Zhu CY. Fruit spoilage and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* in the berries of different grape cultivars [J]. Food Control, 2013, 30(1): 93–100.
- [33] 王海英, 张红印, 杨其亚, 等. 葡萄赭曲霉毒素污染及其产毒素菌株的筛选方法研究进展[J]. 食品工业科技, 2015, 36(10): 369–372.
- Wang HY, Zhang HY, Yang QY, *et al.* Advance of research on ochratoxin contamination in grapes and screening methods of toxin producing strains [J]. Sci Technol Food Ind, 2015, 36(10): 369–372.
- [34] 王峻峻, 张红印, 王海英, 等. 控制葡萄及其制品中赭曲霉毒素A的研究进展[J]. 食品工业科技, 2014, 35(16): 395–399.
- Wang JJ, Zhang HY, Wang HY, *et al.* Research progress in the controlling ochratoxin A in grape and its products [J]. Sci Technol Food Ind, 2014, 35(16): 395–399.
- [35] Garcia-Cela E, Marin S, Sanchis V, *et al.* Effect of ultraviolet radiation A and B on growth and mycotoxin production by *Aspergillus carbonarius* and *Aspergillus parasiticus* in grape and pistachio media [J]. Fungal Biol, 2015, 119(1): 67–78.
- [36] Kanapitsas A, Batrinou A, Aravantinos A, *et al.* Gamma radiation inhibits the production of Ochratoxin A by *Aspergillus carbonarius* development of a method for OTA determination in raisins [J]. Food Bio Sci, 2016, 15:42–48.
- [37] Valero A, Marin S, Ramos A J, *et al.* Effect of preharvest fungicides and interacting fungi on *Aspergillus carbonarius* growth and ochratoxin A synthesis in dehydrating grapes [J]. Lett Appl Microbiol, 2007, 45(2): 194–199.
- [38] Belli N, Marin S, Sanchis V, *et al.* Impact of fungicides on *Aspergillus carbonarius* growth and ochratoxin A production on synthetic grape-like medium and on grapes [J]. Food Addit Contam. 2006, 23(10): 1021–1029.
- [39] Medina A, Mateo R, Valle-Algarra FM, *et al.* Effect of carbendazim and physicochemical factors on the growth and ochratoxin A production of *Aspergillus carbonarius* isolated from grapes [J]. Int J Food Microbiol, 2007, 119(3): 230–235.
- [40] Garcia-Cela E, Gil-Serna J, Marin S, *et al.* Effect of preharvest anti-fungal compounds on *Aspergillus steinii* and *A. carbonarius* under fluctuating and extreme environmental conditions [J]. Int J Food Microbiol, 2012, 159(2): 167–176.
- [41] Babich H, Stotzky G, Ehrlich H. Environmental factors that influence the toxicity of heavy metal and gaseous pollutants to microorganisms [J]. Crit Rev Microbiol, 1980, 8(2): 99–145.
- [42] Ribéreau-Gayon P, Dubourdieu D, Donèche B, *et al.* Handbook of Enology, The microbiology of wine and vinifications (Vol. 1) [M]. USA: John Wiley Sons, 2006.
- [43] Pateraki M, Dekanea A, Mitchell D, *et al.* Influence of sulphur dioxide, controlled atmospheres and water availability on in vitro germination, growth and ochratoxin A production by strains of *Aspergillus carbonarius* isolated from grapes [J]. Postharvest Biol Technol, 2007, 44(2): 141–149.
- [44] Ioannidis AG, Kogkaki EA, Natskoulis P I, *et al.* Modelling the influence of temperature, water activity and sodium metabisulphite on the growth and OTA production of *Aspergillus carbonarius* isolated from Greek wine grapes [J]. Food Microbiol, 2015, 49:12–22.
- [45] Guzev L, Danshin A, Zahavi T, *et al.* The effects of cold storage of table grapes, sulphur dioxide and ethanol on species of black *Aspergillus* producing ochratoxin A [J]. Int J Food Sci Technol, 2008, 43(7): 1187–1194.
- [46] Medina A, Jimenez M, Mateo R, *et al.* Efficacy of natamycin for control of growth and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* strains under different environmental conditions [J]. J Appl Microbiol, 2007, 103(6): 2234–2239.
- [47] Kogkaki EA, Natskoulis PI, Panagou EZ. Modeling the effect of natamycin, pine-resin and environmental factors on the growth and OTA production by *Aspergillus carbonarius* using response surface methodology [J]. Food Res Int, 2016, 79: 19–28.

- [48] Palumbo JD, O'Keeffe TL, Mahoney NE. Inhibition of ochratoxin - A production and growth of *Aspergillus* species by phenolic antioxidant compounds [J]. Mycopathologia, 2007, 164(5): 241–248.
- [49] Romero SM, Alberto MR, Vaamonde G. Effect of gallic acid on *Aspergillus carbonarius* growth and ochratoxin A production [J]. World Mycotoxin J, 2010, 3(1): 45–48.
- [50] Ferrara M, Gallo A, Lo Scalzoa R, et al. Inhibition of ochratoxin A production in *Aspergillus carbonarius* by hydroxycinnamic acids from grapes [J]. World Mycotoxin J, 2015, 8(3): 283–289.
- [51] Crespo-Sempere A, Selma-Lazaro C, Palumbo J D, et al. Effect of oxidant stressors and phenolic antioxidants on the ochratoxigenic fungus *Aspergillus carbonarius* [J]. J Sci Food Agr, 2016, 96(1): 169–177.
- [52] De Rossi P, Ricelli A, Reverberi M, et al. Grape variety related trans-resveratrol induction affects *Aspergillus carbonarius* growth and ochratoxin A biosynthesis [J]. Int J Food Microbiol, 2012, 156(2): 127–132.
- [53] Sokolic-Mihalak D, Frece J, Slavica A, et al. The effects of wild Thyme (*Thymus serpyllum* L.) essential oil components against ochratoxin-producing *Aspergillus* [J]. Arh Hig Rada Toksikol, 2012, 63(4): 457–462.
- [54] Andrade MA, Cardoso MG, Batista LR, et al. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil of *Pelargonium odoratissimum* [J]. Revista Brasileira De Farmacognosia-Brazilian J Pharmacogn, 2011, 21(1): 47–52.
- [55] Sonker N, Pandey AK, Singh P. Efficiency of *Artemisia nilagirica* (Clarke) Pamp. essential oil as a mycotoxinant against postharvest mycobiota of table grapes [J]. J Sci Food Agric, 2015, 95(9): 1932–1939.
- [56] Kocic-Tanackov S, Dimic G, Tanackov I, et al. The inhibitory effect of oregano extract on the growth of *Aspergillus* spp. and on sterigmatocystin biosynthesis [J]. LWT-Food Sci Technol, 2012, 49(1): 14–20.
- [57] Braun G, Vailati M, Prange R, et al. *Muscodor albus* volatiles control toxigenic fungi under controlled atmosphere (CA) storage conditions [J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(12): 15848–15858.
- [58] Armando MR, Dogi CA, Poloni V, et al. In vitro study on the effect of *Saccharomyces cerevisiae* strains on growth and mycotoxin production by *Aspergillus carbonarius* and *Fusarium graminearum* [J]. Int J Food Microbiol, 2013, 161(3): 182–188.
- [59] Cubaiu L, Abbas H, Dobson ADW, et al. A *Saccharomyces cerevisiae* wine strain inhibits growth and decreases Ochatoxin A biosynthesis by *Aspergillus carbonarius* and *Aspergillus ochraceus* [J]. Toxins, 2012, 4(12): 1468–1481.
- [60] Blevé G, Grieco F, Cozzi G, et al. Isolation of epiphytic yeasts with potential for biocontrol of *Aspergillus carbonarius* and *A.niger* on grape [J]. Int J Food Microbiol, 2006, 108(2): 204–209.
- [61] Var I, Erginkaya Z, Kabak B. Inhibition of Ochatoxin A production of *Aspergillus carbonarius* by peast ppecies [J]. Czech J Food Sci, 2011, 29(3): 291–297.
- [62] Ponsone ML, Chiotta ML, Combina M, et al. Biocontrol as a strategy to reduce the impact of ochratoxin A and *Aspergillus* section *Nigri* in grapes [J]. Int J Food Microbiol, 2011, 151(1): 70–77.
- [63] Fiori S, Urgeghe PP, Hammami W, et al. Biocontrol activity of four non- and low-fermenting yeast strains against *Aspergillus carbonarius* and their ability to remove ochratoxin A from grape juice [J]. Int J Food Microbiol, 2014, 189: 45–50.
- [64] Ngang JJE, Yadang G, Kamdem SLS, et al. Antifungal properties of selected lactic acid bacteria and application in the biological control of ochratoxin A producing fungi during cocoa fermentation [J]. Biocontrol Sci Technol, 2015, 25(3): 245–259.
- [65] Jiang CM, Shi JL, Liu YL. Inhibition of *Aspergillus carbonarius* and fungal contamination in table grapes using *Bacillus subtilis* [J]. Food Control, 2014, 35(1): 41–48.
- [66] Senthil R, Prabakar K, Rajendran L, et al. Efficacy of different biological control agents against major postharvest pathogens of grapes under room temperature storage conditions [J]. Phytopathol Mediterr, 2011, 50(1): 55–65.
- [67] Shi L, Liang ZH, Li JX, et al. Ochatoxin A biocontrol and biodegradation by *Bacillus subtilis* CW 14 [J]. J Sci Food Agric, 2014, 94(9): 1879–1885.
- [68] Ahmed H, Strub C, Hilaire F, et al. First report: *Penicillium adametzioides*, a potential biocontrol agent for ochratoxin-producing fungus in grapes, resulting from natural product pre-harvest treatment [J]. Food Control, 2015, 51: 23–30.
- [69] Kogkaki EA, Ntskoulis PI, Magan N, et al. Effect of interaction between *Aspergillus carbonarius* and non-ochratoxigenic grape-associated fungal isolates on growth and ochratoxin A production at different water activities and temperatures [J]. Food Microbiol, 2015, 46: 521–527.
- [70] Valero A, Sanchis V, Ramos AJ, et al. Brief in vitro study on *Botrytis cinerea* and *Aspergillus carbonarius* regarding growth and ochratoxin A [J]. Lett Appl Microbiol, 2008, 47(4): 327–332.
- [71] Barberis CL, Pena G, Carranza C, et al. Effect of indigenous mycobiota on ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* isolated from soil [J]. Mycotoxin Res, 2014, 30(1): 1–8.

(责任编辑: 姚菲)

作者简介



蒋春美, 博士, 主要研究方向为食品生物技术。

E-mail: jiangchunmei2006@163.com



师俊玲, 博士, 教授, 主要研究方向为生物技术。

E-mail: sjlshi2004@nwpu.edu.cn