

葡萄酒中赭曲霉毒素 A 污染情况及其分析方法的 研究进展

石鸿辉, 陈少敏, 黎欣欣, 刘鸿刚, 陈垛洁, 梁旭霞*

(广东省食品检验所, 广州 510435)

摘要: 葡萄酒作为一种酒精饮料, 对众多国家的经济贡献是显著的。然而, 该商品容易被某些真菌产生的霉菌毒素所污染, 其中最受关注的是产赭曲霉毒素 A(ochratoxin A, OTA)的炭黑曲霉。赭曲霉毒素 A 是葡萄酒中主要存在的霉菌毒素, 严重影响着人类的健康。因此, 葡萄酒的风险监测和暴露研究至关重要。本研究重点阐述了 OTA 的生物合成途径及其调控机制, 同时, 介绍了酿酒过程中 OTA 的变化情况以及控制和检测 OTA 的方法, 旨在为保证葡萄酒产品的质量安全提供一些理论参考。

关键词: 赭曲霉毒素 A; 葡萄酒; 生物合成; 酿酒过程

Research progress on ochratoxin A contamination in wine and its analytical methods

SHI Hong-Hui, CHEN Shao-Min, LI Xin-Xin, LIU Hong-Gang, CHEN Duo-Jie, LIANG Xu-Xia*

(Guangdong Institute for Food Inspection, Guangzhou 510435, China)

ABSTRACT: Wine is a significant contributor to the economies of many countries as an alcoholic beverage. However, the product is easy to be contaminated by mycotoxins produced by some fungi, among which the most concerned one is *Aspergillus carbonarius* which produces ochratoxin A (OTA). OTA is the main mycotoxin occurring in wine, which seriously affects human health. Therefore, risk monitoring and exposure studies of wine are essential. This study focused on the research of OTA biosynthetic pathway and regulatory mechanisms, as well as introduced the change of OTA during winemaking procedures and the methods of control and detection of OTA, aiming to provide some theoretical reference for ensuring the quality and safety of wine products.

KEY WORDS: ochratoxin A; wine; biosynthesis; winemaking procedures

1 引言

葡萄酒包含丰富的酚类化合物和矿物质元素, 适量饮用有益身心健康。但是, 根据 Paterson 等^[1]的描述, 葡萄酒中也可能存在一些有害物质, 比如重金属, 农药残留, 生物胺和霉菌毒素等。国际葡萄与葡萄酒组织(International Organization of Vine and Wine, OIV)的一份报告^[2]显示, 葡

萄酒产业对法国、意大利、西班牙、美国、阿根廷和南非等国家的经济做出了巨大贡献。美国是葡萄酒消费量最高的国家, 其次是法国。而中国作为第 5 大葡萄酒消费国, 对进口或国产葡萄酒质量安全的调查却鲜有报道。

赭曲霉毒素 A(ochratoxin A, OTA)主要由曲霉属或青霉属的一些真菌产生, 具有肾毒性、致畸性和致癌性^[3]。欧盟最早规定了葡萄酒中 OTA 的最大限量值为

*通讯作者: 梁旭霞, 博士, 主任技师, 主要研究方向为食品理化检验与食品安全。E-mail: liangxuxia@126.com

*Corresponding author: LIANG Xu-Xia, Ph.D, Chief Technician, Guangdong Institute of Food Inspection, No.1103, Zengcha Road, Baiyun District, Guangdong 510435, China. E-mail: liangxuxia@126.com

2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[4]。而我国在 2017 年 3 月 17 日发布的国标 GB 2761-2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》^[5]中补充添加了葡萄酒中 OTA 的限量标准,该标准规定了葡萄酒中 OTA 的最大限量值为 2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

据相关报道^[6],OTA 污染的问题经常发生在葡萄种植园中。葡萄的品种、气候变化、产地来源、收获时期以及葡萄园管理措施等因素均可影响葡萄酒中的 OTA 水平。实际上,在酿酒过程中,OTA 的含量变化非常明显。葡萄酒中存在高浓度的 OTA 可能会影响酵母的发酵能力,导致葡萄酒成分、风味和口味的变化,甚至是色泽的改变^[7],由此可见,葡萄酒中 OTA 污染的问题值得关注。本研究对 OTA 的生物合成途径、国内外葡萄酒 OTA 的污染情况、酿造过程中 OTA 的变化以及检测 OTA 的最新方法等方面进行综

述,旨在为葡萄酒酿造工艺中控制 OTA 污染提供一些理论参考。

2 赭曲霉毒素 A 的生物合成途径

2.1 OTA 及其衍生物的结构式

到目前为止,能够产生赭曲霉毒素的真菌多达 20 几种^[8]。其中,炭黑曲霉和黑曲霉是污染葡萄及其葡萄制品的主要真菌^[9,10]。赭曲霉毒素包括 7 种结构类似的化合物。其中,OTA 的毒性最高。OTA 及其衍生物的结构式如图 1 所示,与 OTA 高度相关的化合物主要有 OTB(OTA 的脱氯类似物),OTC(OTA 的乙酯衍生物)和 OT α 及其脱氯类似物 OT β 。

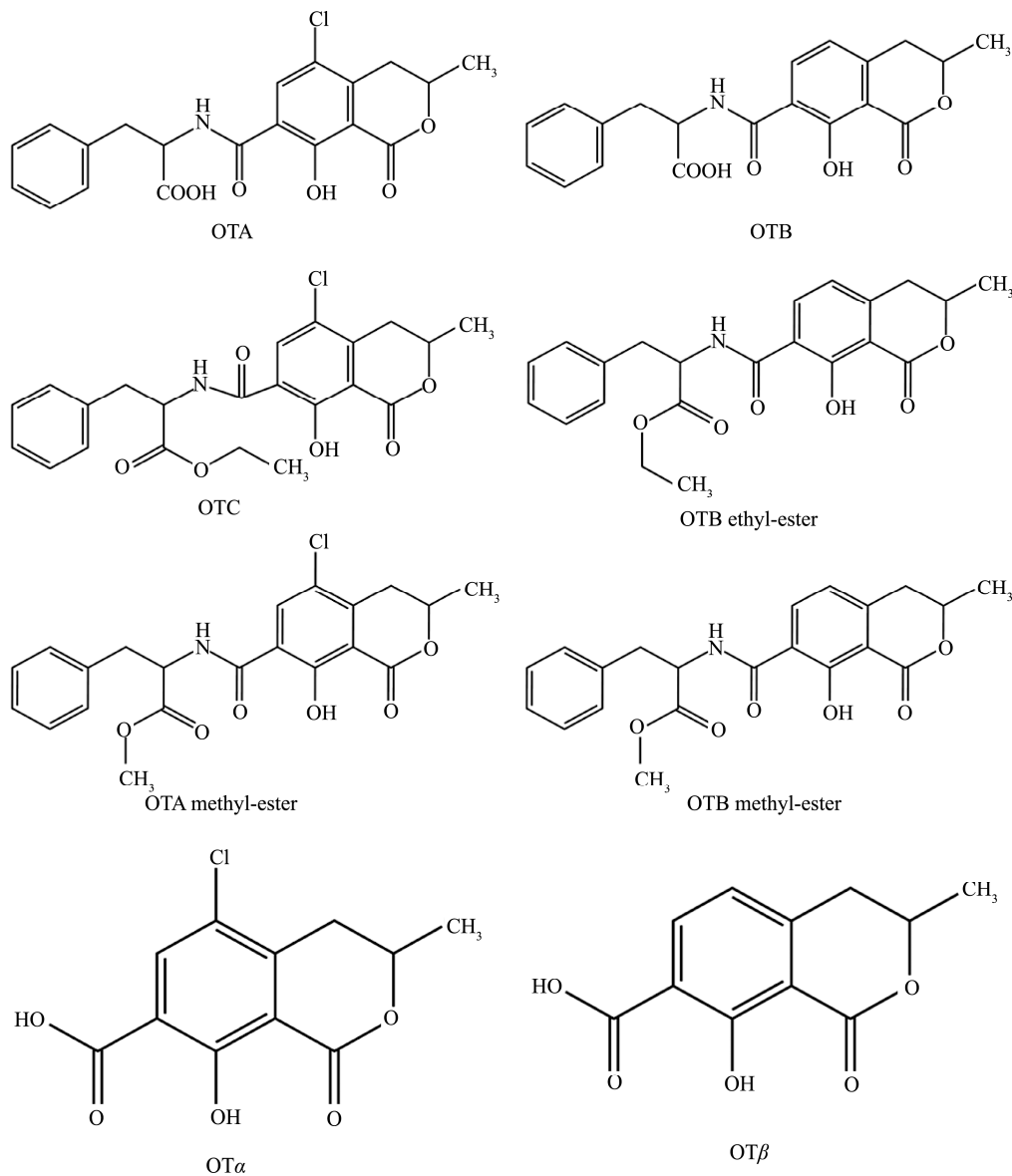


图 1 OTA 及其衍生物的结构式

Fig.1 Molecular structure of the OTA and its derivatives

2.2 OTA 生物合成途径及其分子调控机制

一般而言, OTA 衍生物的毒性大多低于 OTA。OTB 对大鼠肾脏不会造成明显的损伤, OTB 还可以降低 OTA 的毒性作用^[11]。OT α 作为 OTA 的异香豆素衍生物, 其毒性仅为 OTA 的五分之一^[12]。考虑到 OTA 及其衍生物的危害性, 阐明 OTA 的生物合成途径及其分子调控机制有助于预防和控制 OTA 的污染问题。

近 10 年来, 关于 OTA 生物合成途径及其分子机制的研究受到了广泛关注。然而, OTA 生物合成途径所涉及的基因簇和酶促步骤尚未完全清楚。最早, 根据 Huff 等^[13]的推测, OTA 作为一种聚酮化合物, 其合成方式类似于脂肪酸合成的碳链延长途径。首先, 乙酸经聚酮合酶 (polyketone synthase, PKS) 催化合成蜂蜜曲霉素, 然后, 蜂蜜曲霉素被甲基氧化为 OT β , 随后将其氯化生成 OT α , 最后, OT α 与苯丙氨酸衍生物结合生成 OTC, OTC 经去酯化反应生成 OTA。但是, Harris 等^[14]认为, 在此途径中, OT α 可直接与苯丙氨酸结合生成 OTA, OTC 并非是合成 OTA 的中间代谢物, 同时, 他们还提出了另外一种合成途径, 即从 OT β 到 OTB 最后到 OTA 的生物转化过程; 据另一篇文献报道^[15], OT β 可与 L-苯丙氨酸通过非核糖体多肽合成酶 (non-ribosomal peptide synthetase, NRPS) 催化生成 OTB, 然后经卤化酶催化加氯生成 OTA。OT α 可能是 OTA 水解

的副产物。在最近的一份报道中, Wang 等^[16]通过化学方法鉴定了该生物合成途径中的潜在中间体, 证实了 OTC 和 OT α 并非 OTA 生物合成的中间体, 而 OTB 和 OT β 是合成 OTA 的关键中间代谢物。

图 2 显示了 OTA 生物合成的可能途径, 关于其分子调控的研究主要集中在相关基因的鉴定上。其中所涉及到的基因簇可能由编码 PKS、NRPS、P450 单加氧酶和卤化酶的 4 个结构基因和一个 bZIP 转录因子共同构成, 而 bZIP 转录因子是在曲霉和青霉属中普遍存在的特异性调控因子^[17]。在 OTA 生物合成途径中, 关于 *pks* 基因的研究最早, 报道也最多。近年来, O'Callaghan 等^[18]在纯绿青霉中克隆并鉴定了参与 OTA 合成的 *pks* 基因 (*otapksPV* 基因)。

此外, 通过对几种曲霉进行部分基因组的测序, 研究人员还发现了 2 个 *pks* 基因, *AoOTApks-1* 和 *AoOTApks-2*, 参与了 OTA 的生物合成^[19]; 另一方面, Gallo 等^[17]通过基因敲除的技术证明了碳黑曲霉中的 *nrps* 基因 (*AcOTAnrps* 基因) 具有连接苯丙氨酸和二氢异香豆素的作用; 而在 *A.westerdijkiae* 中, Sartori 等^[20]发现, 编码 P450 单加氧酶的基因 (*AcOTAp450* 基因) 能够氧化聚酮化合物。虽然, OTA 生物合成分子方面的研究取得了一定的进展, 但是真菌的 OTA 合成途径因其种类不同而差异很大。从基因组学、转录组学和蛋白组学的方法上挖掘新的 OTA 合成调控的关键基因是未来研究 OTA 生物合成机制的重点。

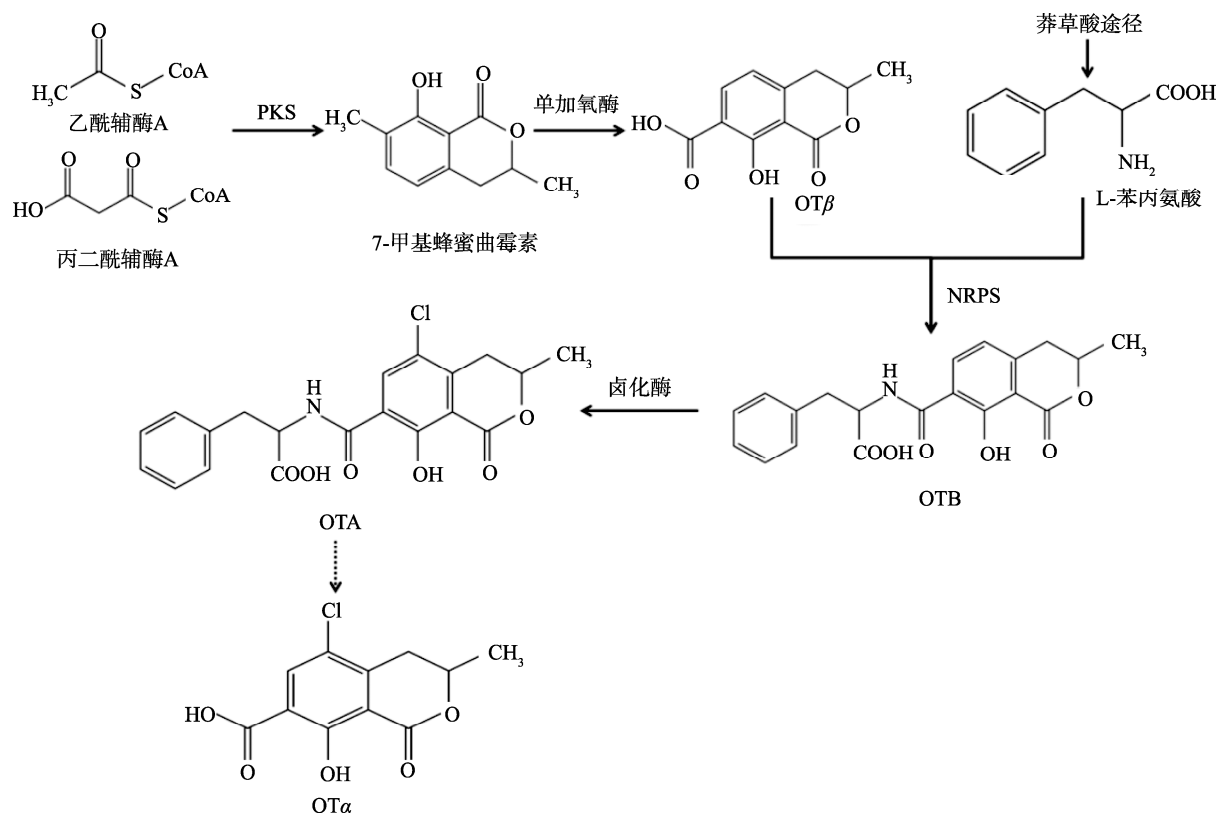


图 2 OTA 的生物合成途径

Fig.2 The biosynthetic pathway of OTA

3 国内外葡萄酒中赭曲霉毒素 A 的污染情况

自从在葡萄酒中首次报道了 OTA 的存在以来, 众多国家相继进行了一系列有关葡萄酒 OTA 污染的风险监测。表 1 汇总了近 10 年来全球葡萄酒中 OTA 污染的调查数据。如表 1 所示, 葡萄酒中 OTA 污染的发生率非常高, 但 OTA 含量很少超过欧盟和其他国家设定的限量值(2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。不同国家的 OTA 含量具有较大差异。地中海沿岸国家的葡萄酒受 OTA 污染比较严重, 这可能与气候变化有关^[21]。Ubeda 等^[22]认为欧洲南部地区的温度和湿度高于北部地区, 有利于产 OTA 真菌的生长和繁殖。从意大利的 5 份调查报告^[23-27]中发现, OTA 阳性率在 72%~100%之间, 最大含量为 1.56 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 并没有超过国家标准规定的限量水平。但值得注意的是, 在美国的这份报告^[28]中, 有 2 批红葡萄酒的 OTA 含量超过了限量水平。而在中国进行的一项调查中^[29]发现, 77 份红葡萄酒的 OTA 阳性率高达 57%, 最高值为 5.65 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。但在另一项调研^[30]中, 作者认为源自中国的葡萄酒是相对安全的, 葡萄酒的 OTA 阳性率只有 45%, 含量

范围在 0.01~0.98 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间。同样, 由表 1 可以看出, 西班牙、克罗地亚、希腊、法国、突尼斯、以色列、土耳其、澳大利亚、巴西和波兰等国家地区的红葡萄酒 OTA 水平较低, 也不会造成严重的安全问题。

除此之外, 由表 1 可知, 葡萄酒受污染最严重的区域是意大利。在希腊和美国的调查报告中发现有个别样品 OTA 含量超过限量值, 最高值分别为 2.3 和 8.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。通常, 无论地理区域如何不同, 红葡萄酒比白葡萄酒受污染的趋势更明显, 这种情况可能与酿酒工艺有关^[31]。在白葡萄酒生产过程中, 首先将葡萄去梗破碎后压榨, 从果皮和果肉中分离出葡萄汁, 然后迅速进行发酵。而酿造红葡萄酒需要将果皮和果汁一起浸泡几天。Lasram 等^[32]发现葡萄皮是 OTA 的主要来源。而这种浸渍过程一般在高温和有氧条件下进行, 在进行酒精发酵的同时也促进了某些真菌的生长和 OTA 的释放。

尽管全球范围内葡萄酒中的 OTA 浓度处在一个较低的水平, 但是考虑到 OTA 的危害性, 研究人员应该继续关注这一指标以保障葡萄酒产品的质量安全。

表 1 关于全球范围内红葡萄酒和白葡萄酒的主要调查
Table 1 Main surveys regarding the worldwide occurrence of OTA in red and white wines

类型	地区	阳性样品数/样品数	阳性率/%	含量范围/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	年份	参考文献
红葡萄酒	意大利	40/40	100	0.08~0.71	2016	[23]
		41/57	72	NA~1.56	2015	[24]
		12/12	100	0.005~0.286	2013	[25]
		16/17	94	NA~0.941	2014	[26]
		8/8	100	0.050~0.353	2012	[27]
	西班牙	12/12	100	0.001~0.104	2013	[25]
		2/2	100	0.064~0.138	2012	[27]
	克罗地亚	6/20	30	NA~0.24	2018	[33]
		12/12	100	0.004~0.061	2013	[25]
		110/110	100	0.003~0.163	2019	[34]
	希腊	17/22	77	NA~0.71	2014	[35]
		12/12	100	0.004~0.212	2013	[25]
	法国	13/14	93	NA~0.237	2012	[27]
		11/12	92	NA~0.088	2013	[25]
	非洲北部	12/12	100	0.084~0.045	2013	[25]
	突尼斯	14/18	78	0.09~0.94	2013	[37]
	以色列	12/12	100	0.004~0.065	2013	[25]
	土耳其	12/12	100	0.003~0.101	2013	[25]
	澳大利亚	3/6	50	NA~0.072	2012	[27]
	巴西	12/16	75	0.03~0.62	2013	[37]
美国	28/31	90	NA~2.1	2017	[28]	
中国	44/77	57	NA~5.65	2013	[29]	

续表 1

类型	地区	阳性样品数/样品数	阳性率/%	含量范围/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	年份	参考文献
白葡萄酒	意大利	15/15	100	0.02~0.11	2016	[23]
	克罗地亚	2/6	33	NA~0.19	2018	[33]
	希腊	27/30	90	NA~2.3	2014	[35]
	突尼斯	6/7	86	NA~1.5	2013	[36]
	巴西	1/7	14	NA~0.03	2013	[37]
	美国	7/10	70	NA~8.6	2017	[28]
	中国	1/34	3	NA~0.07	2013	[29]
红/白葡萄酒	波兰	8/32	25	NA~0.5	2019	[38]
	中国	101/223	45	NA~0.98	2014	[30]

4 酿酒过程中赭曲霉毒素 A 的变化过程

除了葡萄本身受 OTA 污染的影响外, 酿酒过程的各个环节还将影响葡萄酒最终的 OTA 浓度, OTA 含量在完整的酿酒过程中能够降低 80% 以上^[39]。OTA 污染主要归因于可以在葡萄上生长并产生毒素的真菌。葡萄皮公认是污染最严重的组织。新鲜的葡萄经破碎后, OTA 会从果皮中转移出来。Fernandes 等^[40]估计, 浸渍会使 OTA 的含量增加 20%。就红葡萄酒而言, 酒精发酵的初期同时进行浸渍, 产生的乙醇有利于从破碎的葡萄中提取 OTA, 因此, 这一步骤是 OTA 浓度升高最明显的时期。而酿酒过程中 OTA 含量的降低主要是通过葡萄汁中的固体颗粒或酵母细胞的吸附作用进行的^[41,42]。在酒精发酵阶段, 酿酒酵母细胞壁最外层的多孔甘露糖蛋白可能吸附 OTA^[43], 当发酵过程结束, 酵母会自然沉降, OTA 的含量因此在一定程度上有所减少。

红葡萄酒的生产通常还需要一个苹果酸-乳酸发酵过程, 该过程也是有助于降低 OTA 浓度的步骤, 其作用主要是降低酸度, 改善风味, 以及增加微生物的稳定性^[44]。此外, 酿酒厂通常采用澄清剂去除酒中的浑浊成分。常用的澄清剂主要有活性炭、膨润土、明胶、蛋清蛋白、酪蛋白酸钾和天然聚合物(壳聚糖和几丁质)。这些化合物能够吸附 OTA, 但也有可能导致花色苷的损失, 进而影响最终产品的风味、颜色和香气^[45]。由于一些悬浮颗粒与 OTA 结合的能力, 葡萄酒经澄清和过滤这一步骤后, OTA 的含量进一步减少^[46]。

鉴于这些变化, 酿酒厂应该更有针对性地改进工艺以控制 OTA 的产生。据报道, OTA 与酵母的细胞壁成分相结合并不依赖于其细胞活力^[47]。因此, 基于这一优势, 一些灭活的酵母菌或者它们的细胞壁制剂可以用来降低 OTA 的浓度^[48]。另外, SO_2 的添加可以抑制霉菌的生长, 但高浓度的 SO_2 影响着葡萄酒的感官品质。蒋春美^[49]提出用

一种抑菌脂肽替代 SO_2 用于酿酒过程的方案, 不仅取得了抑制霉菌生长的良好效果, 还提高了葡萄酒的品质。而 Shukla 等^[50]发现, 将枯草芽孢杆菌固定在可食用的藻酸盐中加入红葡萄酒中, 也能够显著降低酒中的 OTA 浓度。总的来说, 类似这样的创新手段还需要继续探索和试验。

5 赭曲霉毒素 A 的检测方法

简单、可靠又低成本的分析方法用以监测 OTA 的含量是保证食品安全和证明葡萄酒产品质量符合法律法规必不可少的手段。迄今为止, 气相色谱法^[51](gas chromatography, GC), 薄层色谱法^[52](thin layer chromatography, TLC) 和高效液相色谱法^[53](high performance liquid chromatography, HPLC) 等分析技术已广泛应用于 OTA 含量的检测。常用的葡萄酒中 OTA 的测定方法如表 2 所示。基于 OTA 的荧光特性, HPLC 配合荧光检测器(HPLC-fluorescence detector, HPLC-FLD)的应用最为广泛。

分析霉菌毒素通常包括 3 个步骤。首先, 从基质中提取, 然后从提取物中纯化, 必要时进行浓缩, 最后, 通过仪器进行检测和定量。通常, 检测 OTA 含量的方法研究主要集中在前处理技术上, 常用的前处理方法有固相萃取法(solid-phase extraction, SPE), QuEChERS 和免疫亲和层析法(immunoaffinity cleanup, IAC)等。而欧盟和我国国家标准推荐的检测方法是免疫亲和柱净化和荧光检测相结合的高效液相色谱法, 但是这种方法成本较高, 操作步骤繁琐, 因此, 基于免疫的分析方法似乎是用于 OTA 快速检测的更有前途的技术。Longobardi 等^[54]介绍了一种利用荧光法测定红葡萄酒中 OTA 含量的方法, 在直接荧光测量之前, 使用含有 1% 聚乙二醇和 5% 碳酸氢钠的溶液稀释葡萄酒样品, 过滤后使用免疫亲和-氨基丙基固相柱净化, 相比于官方推荐的方法, 这种方法显著节省了成本和时间; Tânia 等^[55]

也开发了一种基于 BSA-琼脂糖柱的固相萃取方法, 节约成本的同时也确保了检测的准确性。QuEChERS 法最初是用于农药残留成分的分析^[56], 其原理与 SPE 和 HPLC 相似。目前已成功用于除农药之外的食品中多种分析物的提取和净化。Fernandes 等^[57]开发了一种基于 QuEChERS 法提取结合 HPLC-MS 分析的检测技术, 该法灵敏, 可靠, 成本低, 快速并且适用于葡萄酒中 OTA 的常规监测, 可以用于目标真菌毒素的检测, 定量以及鉴定。

近年来, 生物传感技术在小分子检测领域取得了长足的进步。例如, 酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、电化学法 (electrochemical, EC)、胶体金免疫层析法 (gold immune chromatography assay, GICA) 和荧光免疫分析法 (fluoroimmunoassay, FIA) 等。这些方法实质上是在模拟抗体的识别特性, 主要是多肽、分子印迹聚合物或适体, 希望能够开发出像 IAC 一样有效结合 OTA 的多种净化方法。ELISA 法操作简单, 速度快, 但容易出现假阳性。全莉等^[58]采用 ELISA 法对新疆四大产区的

葡萄酒中的 OTA 含量进行检测, 回收率在 97%~111% 之间, 精密度为 3.54%, 结果是准确可靠的。分子印迹聚合物 (molecularly imprinted polymer, MIP) 作为一种人工生成的三维网络的合成材料, 能够特异性地结合目标分子。MIP 的优点是价格便宜, 化学和热稳定性好, 并且与所有溶剂兼容。Cao 等^[59]提出了一种基于分子印迹聚合物作为 SPE 选择性吸附剂的简单、可靠且低成本的方法, 该方法可通过 HPLC 结合荧光检测 (HPLC-FLD) 测定葡萄酒中的 OTA 含量。而且, 经过简单的再生程序后, 基于分子印迹聚合物的 SPE 色谱柱可以重复使用至少 14 次, 以实现实际样品中 OTA 的回收率超过 80%; Yin 等^[60]最近设计了一种新型的基于适体的比色生物测定法来测定白葡萄酒中的 OTA 含量, 游离适体被吸收到纳米金颗粒表面, 当适体识别 OTA, 颗粒会聚集, 这种聚集从红色到蓝色的变化可以通过肉眼观察到或通过分光光度计测量; 庞世琦等^[61]利用胶体金免疫层析技术进行大批量的葡萄酒 OTA 的现场快速筛查。

表 2 葡萄酒 OTA 的测定方法
Table 2 Methods for determination of OTA in wine.

葡萄酒类型	前处理方法	检测方法	回收率/%	相对标准偏差/%	检出限/($\mu\text{g/L}$)	参考文献
红葡萄酒	BSA-based SPE	HPLC-FLD	98~107	<8	0.017	[48]
红葡萄酒	免疫亲和-氨基丙基固相净化	HPLC-FLD	95~105	<15	0.2	[54]
红葡萄酒	QuEChERS	HPLC-MS	87~103	<9	0.1	[57]
红葡萄酒	分子印迹聚合物固相净化	HPLC-FLD	91~103	<5	0.025	[59]
红/白葡萄酒	QuEChERS	HPLC-MS	93~102	<4	1.0	[62]
红葡萄酒	IAC	HPLC-FLD	89~96	<0.7	0.007	[63]
红/白葡萄酒	在线免疫亲和固相萃取	HPLC-FLD	88~99	<5	0.05	[64]
红葡萄酒	直接稀释	LC-FLD	92~99	<5	0.39	[65]
白葡萄酒	直接稀释	LC-FLD	94~100	<7	0.08	[65]
红葡萄酒	IAC	HPLC-FLD	88~94	<10	0.006	[66]
红/白葡萄酒	稳定同位素直接稀释	UPLC-MS	88~108	<9	0.1	[67]
红/白葡萄酒	SPE	UPLC-FLD	102~105	<4	0.01	[68]
红葡萄酒	基于适体/ NH_2 Janus 颗粒的超敏电化学检测传感器		96~100	<10	0.1	[69]

6 结论与讨论

本研究对 OTA 的生物合成途径、国内外葡萄酒 OTA 的污染情况、酿造过程中 OTA 的变化以及检测 OTA 的最新方法等方面进行了综述。尽管酿酒过程中 OTA 的含量急剧下降, 但是为了避免在最终产品中检测出 OTA, 相关组织必须采取更有效的控制和排毒措施。外界环境的变化和真菌种类的分布都会对葡萄酒中 OTA 的发生造成一定的影响, 因此, 有必要对真菌种类和 OTA 衍生物的存在进行

更多的研究, 以揭示其在全球葡萄酒产品中的重要性, 从而更好地保障葡萄酒产品的质量安全。

参考文献

- [1] Paterson RRM, Venancio A, Lima N, *et al.* Predominant mycotoxins, mycotoxigenic fungi and climate change related to wine [J]. *Food Res Int*, 2018, 103(1): 478-491.
- [2] International Organization of Vine and Wine. World viticulture situation [EB/OL]. [2018-2-2]. <http://www.oiv.int/public/medias/5479/oiv-en-bilan->

- 2017.pdf.
- [3] Chen WY, Li C, Zhang BY, *et al.* Advances in biotransformation of ochratoxin A-A review of the past five decades [J]. *Front Microbiol*, 2018, (9): 1386–1389.
- [4] Commission Regulation EC No 1881/2006 Maximum levels for certain contaminants in foodstuffs [S].
- [5] GB 2761-2017 食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量[S].
GB 2761-2017 National food safety standard-Limits of fungal toxins in food [S].
- [6] Freire L, Passamani FRF, Thomas AB, *et al.* Influence of physical and chemical characteristics of wine grapes on the incidence of *Penicillium* and *Aspergillus* fungi in grapes and ochratoxin A in wines [J]. *Int J Food Microbiol*, 2017, (241): 181–190.
- [7] 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 Biotechnol*, 2014, 52(2): 222–231.
- [8] Wang Y, Wang L, Liu F, *et al.* Ochratoxin A producing fungi, biosynthetic pathway and regulatory mechanisms [J]. *Toxins*, 2016, 8(3): 1–15.
- [9] Reddy K, Salleh B, Saad B, *et al.* An overview of mycotoxin contamination in foods and its implications for human health [J]. *Toxin Rev*, 2010, 29(1): 3–26.
- [10] Huijuan H, Fuguo X, Nimal SJ, *et al.* Inhibitory effect of essential oils on *Aspergillus ochraceus* growth and ochratoxin A production [J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): 1–10.
- [11] Fernandes M, Keller NP, Adams TH. Sequence-specific binding by *Aspergillus nidulans* AflR, a C6 zinc cluster protein regulating mycotoxin biosynthesis [J]. *Mol Microbiol*, 1998, 28(6): 1355–1365.
- [12] Hend B, Florence M, Patricia T, *et al.* Biodegradation of ochratoxin A by *Aspergillus section Nigri* species isolated from French grapes: A potential means of ochratoxin A decontamination in grape juices and musts [J]. *Fems Microbiol Lett*, 2006, 255(2): 203–208.
- [13] Huff WE, Hamilton PB. Mycotoxins—Their biosynthesis in fungi: Ochratoxins—Metabolites of combined pathways [J]. *J Food Prot*, 1979, 42(10): 815–820.
- [14] Harris JP, Mantle PG. Biosynthesis of ochratoxins by *Aspergillus ochraceus* [J]. *Phytochemistry*, 2001, 58(5): 709–716.
- [15] Gallo A, Bruno KS, Solfrizzo M, *et al.* New insight into the ochratoxin A biosynthetic pathway through deletion of a nonribosomal peptide synthetase gene in *Aspergillus carbonarius* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2012, 78(23): 8208–8218.
- [16] Wang Y, Wang L, Wu F, *et al.* A consensus ochratoxin A biosynthetic pathway: Insights from the genome sequence of *Aspergillus ochraceus* and a comparative genomic analysis [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2018, 84(19): 1009–1018.
- [17] Gallo A, Ferrara M, Perrone G, *et al.* Recent advances on the molecular aspects of ochratoxin A biosynthesis [J]. *Curr Opin Food Sci*, 2017, (17): 49–56.
- [18] O’Callaghan J, Coghlan A, Abbas A, *et al.* Functional characterization of the polyketide synthase gene required for ochratoxin A biosynthesis in *Penicillium verrucosum* [J]. *Int J Food Microbiol*, 2013, 161(3): 172–181.
- [19] Wang L, Wang Y, Wang Q, *et al.* Functional characterization of new polyketide synthase genes involved in ochratoxin A biosynthesis in *Aspergillus ochraceus* fc-1 [J]. *Toxins*, 2015, (7): 2723–2738.
- [20] Sartori D, Massi FP, Ferranti LS, *et al.* Identification of Genes differentially expressed between ochratoxin-producing and non-producing strains of *Aspergillus westerdijkiae* [J]. *Indian J Microbiol*, 2014, 54(1): 41–45.
- [21] Esther GC, Sempere AC, Jessica GS, *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.
- [22] Ubeda C, Hornedo-Ortega R, Cerezo AB, *et al.* Chemical hazards in grapes and wine, climate change and challenges to face [J]. *Food Chem*, 2020, 314(6): 126222.
- [23] Gentile F, Torre GL, Potorti AG, *et al.* Organic wine safety: UPLC-FLD determination of ochratoxin A in southern Italy wines from organic farming and winemaking [J]. *Food Control*, 2016, (59): 20–26.
- [24] Stefano VD, Avellone G, Pitonzo R, *et al.* Natural co-occurrence of ochratoxin A, ochratoxin B and aflatoxins in Sicilian red wines [J]. *Food Addit Contam A*, 2015, 32(8): 1343–1351.
- [25] Remiro R, Irigoyen A, Gonzalezpenas E, *et al.* Levels of ochratoxins in Mediterranean red wines [J]. *Food Control*, 2013, 32(1): 63–68.
- [26] Giovannoli C, Passini C, Di NF, *et al.* Determination of ochratoxin a in Italian red wines by molecularly imprinted solid phase extraction and HPLC analysis [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(22): 5220–5225.
- [27] Quintela S, Villaran MC, Armentia IL, *et al.* Ochratoxin A in Spanish exportation wine market [J]. *Food Control*, 2012, 25(2): 501–504.
- [28] Jesus CLD, Bartley A, Welch AZ, *et al.* High incidence and levels of ochratoxin A in wines sourced from the United States [J]. *Toxins*, 2017, 10(1): 1–12.
- [29] Zhang X, Chen L, Li J, *et al.* Occurrence of ochratoxin A in Chinese wines: Influence of local meteorological parameters [J]. *Eur Food Res Technol*, 2013, 236(2): 277–283.
- [30] Zhong QD, Li GH, Wang DB, *et al.* Exposure assessment to ochratoxin A in Chinese wine [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(35): 8908–8913.
- [31] Covarelli L, Beccari G, Marini A, *et al.* A review on the occurrence and control of ochratoxigenic fungal species and ochratoxin A in dehydrated grapes, non-fortified dessert wines and dried vine fruit in the Mediterranean area [J]. *Food Control*, 2012, 26(2): 347–356.
- [32] Lasram S, Mani A, Zaied C, *et al.* Evolution of ochratoxin A content during red and rose vinification [J]. *J Sci Food Agric*, 2008, 88(10): 1696–1703.
- [33] Cepo DV, Pelajic M, Vrcek IV, *et al.* Differences in the levels of pesticides, metals, sulphites and ochratoxin A between organically and conventionally produced wines [J]. *Food Chem*, 2018, 246(1): 394–403.
- [34] Žurga P, Vahcic N, Paskovic I, *et al.* Occurrence of ochratoxin A and biogenic amines in Croatian commercial red wines [J]. *Foods*, 2019, 8(8): 339–348.
- [35] Sarigiannis Y, Kapalos J, Koliadima A, *et al.* Ochratoxin A levels in Greek retail wines [J]. *Food Control*, 2014, (42): 139–143.
- [36] Lasram S, Oueslati S, Chebil S, *et al.* Occurrence of ochratoxin A in domestic beers and wines from Tunisia by immunoaffinity clean-up and liquid chromatography [J]. *Food Addit Contam A*, 2013, 6(1): 1–5.
- [37] Terra MF, Prado G, Pereira GE, *et al.* Detection of ochratoxin A in tropical wine and grape juice from Brazil [J]. *J Sci Food Agric*, 2013, 93(4): 890–894.

- [38] Hajok I, Kowalska A, Piekut A, *et al.* A risk assessment of dietary exposure to ochratoxin A for the polish population [J]. *Food Chem*, 2019, 284(6): 264–269.
- [39] Freire L, Braga PA, Furtado MM, *et al.* From grape to wine: Fate of ochratoxin A during red, rose, and white winemaking process and the presence of ochratoxin derivatives in the final products [J]. *Food Control*, 2020, (113): 107167.
- [40] Fernandes PJ, Barros N, Camara JS. A survey of the occurrence of ochratoxin A in Madeira wines based on a modified QuEChERS extraction procedure combined with liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry [J]. *Food Res Int*, 2013, 54(1): 293–301.
- [41] Mariño-Repizo L, Gargantini R, Manzano H, *et al.* Assessment of ochratoxin A occurrence in Argentine red wines using a novel sensitive quechers-solid phase extraction approach prior to ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry methodology [J]. *J Sci Food Agric*, 2017, 97(8): 2487–2497.
- [42] Cecchini F, Morassut M, Moruno EG, *et al.* Influence of yeast strain on ochratoxin A content during fermentation of white and red must [J]. *Food Microbiol*, 2006, 23(5): 411–417.
- [43] Piotrowska M, Masek A. Saccharomyces cerevisiae cell wall components as tools for ochratoxin A decontamination [J]. *Toxins*, 2015, 7(4): 1151–1162.
- [44] Abrunhosa L, Ines A, Rodrigues AI, *et al.* Biodegradation of ochratoxin A by *Pediococcus parvulus* isolated from Douro wines [J]. *Int J Food Microbiol*, 2014, (188): 45–52.
- [45] Jiménez-Martínez MD, Gil Muñoz R, Gomezplaza E, *et al.* Performance of purified grape pomace as a fining agent to reduce the levels of some contaminants from wine [J]. *Food Addit Contam A*, 2018, 35(6): 1061–1070.
- [46] Zhang H, Apaliya MT, Mahunu GK, *et al.* Control of ochratoxin A-producing fungi in grape berry by microbial antagonists: A review [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2016, (51): 88–97.
- [47] Farbo MG, Urgeghe PP, Fiori S, *et al.* Adsorption of ochratoxin A from grape juice by yeast cells immobilised in calcium alginate beads [J]. *Int J Food Microbiol*, 2016, (217): 29–34.
- [48] Petrucci L, Baiano A, De GA, *et al.* Differential adsorption of ochratoxin A and anthocyanins by inactivated yeasts and yeast cell walls during simulation of wine aging [J]. *Toxins*, 2015, 7(10): 4350–4365.
- [49] 蒋春美. 产 OTA 炭黑曲霉对酿酒过程和葡萄酒品质的影响机制与脂肽类抑制[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
- Jiang CM. Influence mechanism of OTA-producing aspergillus carbonarius on winemaking process and wine quality and its inhibition by lipopeptides [D]. Yangling: North West Agriculture and Forestry University, 2016.
- [50] Shukla S, Park JH, Kim M. Efficient, safe, renewable, and industrially feasible strategy employing *Bacillus subtilis* with alginate bead composite for the reduction of ochratoxin A from wine [J]. *J Clean Prod*, 2019, (242): 118344.
- [51] Olsson J, Börjesson T, Lundstedt T, *et al.* Detection and quantification of ochratoxin A and deoxynivalenol in barley grains by GC-MS and electronic nose [J]. *Int J Food Microbiol*, 2002, 72(3): 203–214.
- [52] Pittet A, Royer D. Rapid, low cost thin-layer chromatographic screening method for the detection of ochratoxin A in green coffee at a control level of 10 mg/kg [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(2): 243–247.
- [53] Jorner D, Busto O, Guasch J. Solid-phase extraction applied to the determination of ochratoxin A in wines by reversed-phase high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2000, 882(1–2): 29–35.
- [54] Longobardi F, Iacovelli V, Catucci L, *et al.* Determination of ochratoxin A in wine by means of immunoaffinity and aminopropyl solid-phase column cleanup and fluorometric detection [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(8): 1604–1608.
- [55] Tânia L, Luis A, Lucília D, *et al.* BSA-based sample clean-up columns for ochratoxin A determination in wine: Method development and validation [J]. *Food Chem*, 2019, (300): 125204.
- [56] Musarurwa H, Chimuka L, Pakade VE, *et al.* Recent developments and applications of QuEChERS based techniques on food samples during pesticide analysis [J]. *J Food Compos Anal*, 2019, (84): 103314.
- [57] Fernandes PJ, Barros N, Camara JS. A survey of the occurrence of ochratoxin A in Madeira wines based on a modified QuEChERS extraction procedure combined with liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry [J]. *Food Res Int*, 2013, 54(1): 293–301.
- [58] 全莉, 马文瑞, 王雪薇, 等. 新疆葡萄酒中赭曲霉毒素 A 含量分析[J]. *中国酿造*, 2018, (7): 180–184.
- Quan L, Ma WR, Wang XW, *et al.* Analysis of ochratoxin A content in Xinjiang grape wine [J]. *China Brew*, 2018, (7): 180–184.
- [59] Cao J, Kong W, Zhou S, *et al.* Molecularly imprinted polymer-based solid phase clean-up for analysis of ochratoxin A in beer, red wine, and grape juice [J]. *J Sep Sci*, 2013, 36(7): 1291–1297.
- [60] Yin X, Wang S, Liu X, *et al.* Aptamer-based colorimetric biosensing of ochratoxin A in fortified white grape wine sample using unmodified gold nanoparticles [J]. *Anal Sci*, 2017, 33(6): 659–664.
- [61] 庞世琦, 刘青, 李志勇, 等. 胶体金技术快速测定葡萄酒中赭曲霉毒素 A[J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(9): 3073–3076.
- Pang SQ, Liu Q, Li ZY, *et al.* Rapid detection of ochratoxin A in wines by gold immunochromatography assay [J]. *J Food Saf Qual*, 2016, 7(9): 3073–3076.
- [62] 刘青, 庞世琦, 熊欣, 等. QuEChERS 前处理结合高效液相色谱法及高效液相色谱-串联质谱法检测葡萄酒中 3 种赭曲霉毒素[J]. *中国食品卫生杂志*, 2018, 30(5): 37–42.
- Liu Q, Pang SQ, Xiong X, *et al.* Detection of three ochratoxins in wine by QuEChERS combined with high performance liquid chromatography and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Food Hyg*, 2018, 30(5): 37–42.
- [63] 刘文红, 李卓, 朱洁, 等. 岛津 20A 液相色谱测定葡萄酒中赭曲霉毒素 A[J]. *现代食品*, 2019, (17): 175–182.
- Liu WH, Li Z, Zhu J, *et al.* Determination of ochratoxin A in wine by shimadzu LC-20A [J]. *Mod Food*, 2019, (17): 175–182.
- [64] 蔡伟谊, 毛新武, 林子豪, 等. 在线免疫亲和固相萃取-高效液相色谱法快速测定食品中赭曲霉毒素 A[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(12): 3100–3106.
- Ca WY, Mao XW, Lin ZH, *et al.* Rapid and sensitive determination of ochratoxin A in foods by on-line automatic immunoaffinity solid-phase extraction with high performance liquid chromatography [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(12): 3100–3106.
- [65] Silva LJ, Rodrigues AP, Pereira AM, *et al.* Ochratoxin A in the portuguese

wine market, occurrence and risk assessment [J]. Food Addit Contam A, 2019, 12(2): 145–149.

[66] Zurga P, Vahcic N, Paskovic I, *et al.* Occurrence of ochratoxin A and biogenic amines in croatian commercial red wines [J]. Foods, 2019, 348(8): 1–14.

[67] 陈东, 辛爽英, 刘平, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定葡萄酒中赭曲霉毒素 A 和赭曲霉毒素 α [J]. 卫生研究, 2019, 48(4): 646–650.

Chen D, Xing SY, Liu P, *et al.* Determination of ochratoxin A and ochratoxin alpha in wine by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Hyg Res, 2019, 48(4): 646–650.

[68] Kaya EM. Development and validation of a SPE-UHPLC-fluorescence method for the analysis of ochratoxin-a in certain Turkish wines [J]. Maced J Chem Chem Eng, 2019, 38(2): 161–170.

[69] Yang Y, Zhou Y, Xing Y, *et al.* A Label-free aptasensor based on Aptamer/NH₂ janus particles for ultrasensitive electrochemical detection

of ochratoxin A [J]. Talanta, 2019, 199(7): 310–316.

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介



石鸿辉, 硕士, 主要研究方向为食品质量与安全检测技术。

E-mail: 973435397@qq.com



梁旭霞, 博士, 主任技师, 主要研究方向为食品理化检验与食品安全。

E-mail: liangxuxia@126.com



“食源性致病微生物”专题征稿函

食源性疾病是指通过摄食而进入人体的有毒有害物质(包括生物性病原体)等致病因子所造成的疾病。近年来,由食源性致病微生物污染食物导致中毒或死亡事件在全球频发,食源性致病微生物引起的疾病已成为危害人类健康的头号杀手。食源性疾病的发病率居各类疾病发病率的前列,是当前世界上最突出的公共健康问题。

鉴于此,本刊特策划“食源性致病微生物”专题,由上海理工大学董庆利教授担任专题主编,主要围绕食源性致病微生物新型快速检测技术、食源性致病微生物的分离与检测、食源性致病微生物的毒力与耐药性、食源性致病微生物风险评估、食源性致病微生物的监测与风险控制等展开论述和研究。本专题计划在 2020 年 12 月正刊出版(学报为中国科技核心,2019 年知网影响因子 1.201)。

鉴于您在该领域丰富的研究经历和突出的学术造诣,主编吴永宁技术总师及专题主编董庆利教授特别邀请您为本专题撰写稿件,综述、研究论文、研究简报均可,以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。请在 2020 年 10 月 10 日前通过网站或 Email 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

同时烦请您帮忙在同事之间转发一下,再次感谢您的关怀与支持!

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com(注明“食源性致病微生物”专题)

E-mail: jfoodsq@126.com(注明“食源性致病微生物”专题)

《食品安全质量检测学报》编辑部