

葡萄及其制品中赭曲霉毒素 A 的污染与控制研究进展

王刘庆^{1,2}, 焦健³, 王蒙^{1,2*}

[1. 北京市农林科学院质量标准与检测技术研究所, 北京 100097; 2. 农业农村部农产品质量安全风险评估实验室(北京), 北京 100097; 3. 中国科学院科技战略咨询研究院, 北京 100190]

摘要: 赭曲霉毒素 A (ochratoxin A, OTA) 是葡萄及其制品中最常见的真菌毒素, 主要由炭黑曲霉产生, 具肾毒性和致癌性。葡萄及其制品中 OTA 污染普遍存在, 且有超标现象, 需持续关注, 保持警惕。OTA 污染程度受产毒菌、环境条件以及加工方式等影响, 其中高温、高湿、虫害等可能造成毒素累积。本文就葡萄及其制品中 OTA 污染状况和防控技术的最新研究展开综述, 明晰了葡萄及其制品中 OTA 污染现状及其产生的关键因素, 认清了葡萄在生产加工中 OTA 污染的关键控制点, 综合分析了 OTA 毒素污染的防控技术, 提出了今后防控策略研究方向, 为实际生产中采取针对性的控制措施减轻 OTA 的污染提供理论参考。

关键词: 赭曲霉毒素 A; 真菌毒素; 葡萄; 炭黑曲霉; 防控

Advances on contamination and control of ochratoxin A in grapes and their products

WANG Liu-Qing^{1,2}, JIAO Jian³, WANG Meng^{1,2*}

[1. *Institute of Quality Standard and Testing Technology of BAAFS (Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences), Beijing 100097, China*; 2. *Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Agro-products (Beijing), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100097, China*; 3. *Institutes of Science and Development, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China*]

ABSTRACT: Ochratoxin A (OTA) is the most common mycotoxin in grapes and their products, which is mainly produced by *Aspergillus carbonarius*. OTA exhibits nephrotoxic and carcinogenic properties. OTA contamination of grapes and their products is widespread, and there are still some samples that exceed the standard limit. Therefore, it is necessary to pay continuous attention to it and keep alert of its potential safety problems. OTA contamination is affected by the mycotoxin producing fungi, environmental conditions and processing methods, among which high temperature, high humidity and insect pests may cause toxin accumulation. This paper summarized the latest research on OTA pollution in grapes and their products and the prevention and control technology, clarified the current situation and key factors of OTA pollution in grapes and their products, and recognized the key control of OTA pollution in grape production and processing, comprehensively analyzed prevention and control techniques of OTA toxin contamination, and proposed the research direction of prevention and control strategies in the future, so as to provide a theoretical

基金项目: 北京市自然科学基金项目(6191001)、北京市农林科学院科技创新能力建设专项(KJ CX20200201)

Fund: Supported by the Beijing Natural Science Foundation (6191001), and the Innovation, Capacity-building Projects by Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences (KJ CX20200201)

*通信作者: 王蒙, 博士, 副研究员, 主要研究方向为农产品质量与安全。E-mail: wangm@brcast.org.cn

*Corresponding author: WANG Meng, Ph.D, Associate Professor, Beijing Research Center for Agricultural Standards and Testing, No.11 Middle Road of Shuguanghuayuan, Haidian District, Beijing 100097, China. E-mail: wangm@brcast.org.cn

reference for taking targeted control measures to reduce the pollution of OTA in actual production.

KEY WORDS: ochratoxin A; mycotoxin; grape; *Aspergillus carbonarius*; prevention and control

0 引 言

赭曲霉毒素 A (ochratoxin A, OTA)是由曲霉和青霉属真菌产生的聚酮类毒性次生代谢产物。OTA 污染范围广,谷物、水果、咖啡、坚果、香辛料等农产品及其制品均有检出。OTA 具有强肾毒性,也表现出致癌、致畸的特性^[1-3]。人患巴尔干流行性肾病可能与 OTA 毒素有关,表现为肾病综合征,包括肾脏收缩、肾小管变性、间质纤维化、肾小球透明化^[1-3]。欧盟对葡萄干、葡萄酒及葡萄汁产品均进行了限量标准的规定,分别为 10.0、2.0、2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。我国 GB 2761—2017《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》中也对葡萄酒提出了同水平的限量要求。

OTA 的生物合成途径及其遗传基础-生物合成基因簇已被成功解析^[4-6]。OTA 生物合成基因簇包括 4 个合成酶基因和 1 个转录因子基因。OTA 生物合成通路为乙酰 CoA \rightarrow 7-甲基蜂蜜曲菌素 \rightarrow OT β \rightarrow OTB \rightarrow OTA, 4 步反应依次分别由聚酮合酶、P450 氧化酶、非核糖体多肽合成酶、卤化酶催化合成,而簇内转录因子通过正向调控合成酶基因表达进而调控毒素合成。

OTA 是葡萄及其制品中最常见的真菌毒素^[7-8]。OTA 产毒菌主要包括赭曲霉(*Aspergillus ochraceus*)、炭黑曲霉(*A. carbonarius*)、疣孢青霉(*Penicillium verrucosum*)、诺迪亚青霉(*P. nordicum*)等^[9-10]。其中,炭黑曲霉是常见侵染葡萄的主要产毒菌^[11]。近年来发现,葡萄及其制品中 OTA 污

染较普遍,污染程度差异较大,总体上葡萄制品中葡萄干较之葡萄酒、葡萄汁等液体饮品污染较重。随着人们生活水平提高,葡萄及其制品的消费逐年增加,其中面临的 OTA 污染问题亟待解决,如何有效地降低 OTA 毒素污染是葡萄及其制品食用安全的必然要求。

本文就葡萄及其制品中 OTA 污染状况和防控技术的最新研究展开综述,明晰了葡萄及其制品中 OTA 污染现状及其产生的关键因素,认清了葡萄在生产加工中 OTA 污染的关键控制点,综合分析了 OTA 毒素污染的防控技术,提出了今后防控策略研究方向,将有助于有效地解决葡萄及其制品的 OTA 污染问题。

1 葡萄及其制品中的 OTA 污染

1.1 葡萄及其制品中 OTA 污染状况

ZIMMERLI 和 DICK 首次在葡萄酒中检测出了 OTA^[12]。至此,OTA 在葡萄及其制品中陆续被检出。统计自 2015 年至今已报道的葡萄及其制品中 OTA 污染数据(表 1)显示,葡萄及其制品 OTA 毒素污染普遍存在,但报道中不同国家或地区不同葡萄及其制品之间污染发生率差异较大(0.93%~99.3%;见表 1)。参照欧盟对各类葡萄制品中 OTA 限量标准规定,报道中总体上超标的样品数较少;然而,美国的葡萄干^[18]、葡萄酒^[23],伊朗的葡萄汁^[27]等个别样品仍有超标的现象。

表 1 葡萄及其制品中 OTA 污染状况(报道自 2015 年至今)
Table 1 OTA occurrence in grape and its products (reported since 2015)

种类	国家	阳性/抽样数	检出率/%	阳性检出值/ $(\mu\text{g}/\text{kg}$ 或 $\mu\text{g}/\text{L})$	参考文献
葡萄	中国	11/57	19.3	0.2~8.8	[13]
	中国	3/320	0.93	0.35~1.11	[14]
	阿根廷	19/1356	1.4	Max: 4	[15]
葡萄干	中国	3/195	1.54	0.18~10.14	[14]
	中国	18/32	56.3	0.4~65.7	[16]
	中国	2/30	6.7	4.55~7.42	[17]
	美国	48/109	44.0	0.28~15.34	[18]
	伊朗	39/66	59.1	0.16~8.4	[19]
	葡萄酒	中国	1/14	7.1	1.27
葡萄酒	美国	4/157	2.5	Max: 0.48	[21]
	美国	4/157	2.5	Max: 0.48	[22]
	美国	35/41	85.4	0.3~8.6	[23]
	意大利	29/30	96.6	0.021~1.56	[24]
	克罗地亚	102/110	92.8	0.003~0.163	[25]
	阿根廷	135/136	99.3	0.02~0.98	[26]
	葡萄汁	伊朗	39/70	55.7	0.125~2.6

由于葡萄酒是欧美最受欢迎的酒精饮品之一,因此欧美国家对葡萄酒中 OTA 毒素污染状况比较关注,分析发现部分欧美国家进口或当地自产葡萄酒样品中 OTA 污染率较高^[28]。不同类型的葡萄酒污染水平也有所差异。这与葡萄酒酿造工艺的不同有关,其中红葡萄酒发酵前停留时间较长,产毒菌活动导致其中 OTA 污染较严重^[29]。

1.2 OTA 污染的影响因素

1.2.1 物理因素

影响葡萄及其制品 OTA 污染的物理因素主要包括温度和湿度^[30-31]。在葡萄成熟期和采收前,温度因素尤其重要^[10,32]。高温条件下霉菌侵入导致 OTA 污染较重^[33]。湿度是霉菌污染和 OTA 产生的另一重要物理因素^[34]。降雨能够引起 OTA 毒素升高,这与其增加了相对湿度有关;然而仅相对湿度的升高可能不会显著影响 OTA 的产生,需与高温条件同时发生才可引起毒素激增^[35]。另外,葡萄遭受机械损伤利于 OTA 产毒菌的侵染定植。葡萄生长成熟阶段,浆果的损伤主要由葡萄花翅小卷蛾(*Lobesia botrana*)和其他昆虫的幼虫、真菌病原、降雨等引起。已有研究证实虫害和 OTA 污染有相关性,而葡萄花翅小卷蛾第三代幼虫的成功防治能够降低曲霉侵染和 OTA 毒素产生,因此学者提出了在葡萄晚熟期成功防治虫害以降低 OTA 毒素污染的防控策略^[8]。

1.2.2 化学因素

良好农业规范(good agricultural practices, GAP)的执行能够抑制霉菌生长和 OTA 毒素产生^[36]。按照良好农业规范的应用,果农通常在葡萄园使用杀菌剂来防止真菌侵染。然而,针对诸如灰葡萄孢、粉孢菌等的杀菌剂—多菌灵,可能导致包括曲霉在内的其他真菌在土壤生态位占据优势,这也可能是 OTA 污染加重的原因^[37]。因此,杀菌剂的选择至关重要。

1.2.3 生物因素

葡萄园中产 OTA 的真菌主要是黑色曲霉,其中污染最频繁的是炭黑曲霉,其次是黑曲霉,可能还包括塔宾曲霉(*Aspergillus tubingensis*)^[9,30,38-40]。虽然黑色曲霉在葡萄浆果上的存在是 OTA 污染与否的先决条件,但是并非葡萄受其侵染必然造成 OTA 毒素的污染发生。不同葡萄品种对炭黑曲霉定植的敏感性不同^[41],这为葡萄抗性品种的选育提供了重要的参考价值。葡萄浆果内的糖含量影响 OTA 毒素污染^[42]。高糖环境利于炭黑曲霉等产生 OTA 毒素,这可能是特甜葡萄酒较之于干葡萄酒更易受 OTA 污染的原因。

葡萄酒是葡萄最重要的加工制品之一。不同种类的葡萄酒酿造工艺不同,红葡萄酒可能比白葡萄酒 OTA 污染程度更重^[43]。红葡萄酒在酿造过程中,压榨后需要将葡萄皮汁充分浸渍,以使天然色素溶解于葡萄汁中,浸渍阶段发酵尚未开始,葡萄汁和果皮长时间接触,若果皮存在产毒

菌的天然污染,则可能导致 OTA 污染更严重^[35]。而白葡萄酒酿制过程中,葡萄先压榨,然后进行葡萄汁分离即开始发酵,这也解释了白葡萄酒中 OTA 污染程度较之红葡萄酒低的原因。

2 OTA 污染控制

2.1 OTA 产生菌的防控

2.1.1 理化防控

葡萄中 OTA 毒素污染防控常用物理方法主要是紫外线照射。损伤的葡萄接种病原菌后,短波紫外线(50 W/m², 40 cm, 60 s)处理能够有效抑制炭黑曲霉、塔宾曲霉等侵染葡萄,储藏 5 d OTA 的合成几乎完全受抑制,含量仅有 0.04 ng/g^[44]。

化学控制是重要的抑制霉菌生长和毒素产生的防控策略^[45]。有报道称,有多种杀菌剂能够刺激或抑制 OTA 毒素的合成^[37]。噻菌酯或敌螨普联合硫应用可以有效降低葡萄酒中的 OTA 含量^[46]。相反,多菌灵和 Chorus(有效成分:噻菌环胺)却不能控制黑色曲霉引起的酸腐。但是,Swith(有效成分:噻菌环胺和咯菌腈)却可以显著降低黑色曲霉在葡萄上的发生率。由此看出,咯菌腈是 Swith 中抑制黑色曲霉生长的主要活性成分。通常,含铜或丙烯酸酯的杀菌剂能够降低炭黑曲霉的生长和产毒,而含硫杀菌剂恰恰相反^[47]。因此杀菌剂的使用需要非常谨慎。抗氧化剂的使用是抑制产毒真菌生长和毒素产生的另一策略,如对羟基苯甲酸等酚酸^[48-49]和植物精油^[50-51]等。其中,按照我国 GB 2760—2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》规定,对羟基苯甲酸酯和盐类、肉桂醛等植物精油可作为食品添加剂用于果蔬防腐保鲜。

除杀菌剂和抗氧化剂之外,辣椒素可以有效抑制炭黑曲霉的生长和毒素的产生。100 μL 的 60 mg/mL 的辣椒素对炭黑曲霉最大抑制率为 89.7%,可以降低黑葡萄样品中 61.5%的 OTA 污染^[52]。从防止虫害以减少昆虫引起的损伤角度,利用杀虫剂控制葡萄花翅小卷蛾的虫害有助于葡萄 OTA 毒素污染的管控^[53]。明确高效抗菌物质的最佳使用剂量和使用方式尤其重要,因为高剂量可能产生不良的感官特性,而低剂量以及分布不均匀,特别在低水活度下可能导致霉菌生长甚至刺激次生代谢,反而造成毒素积累^[54]。

另外,随着纳米技术的发展与成熟,纳米技术也越来越多地应用于真菌毒素研究之中,尤其真菌毒素的快速检测^[55-56],而在真菌毒素的防控研究方面则相对较晚。GÓMEZ 等^[57]合成的银纳米颗粒能够抑制炭黑曲霉等 OTA 产毒菌的生长和毒素的积累,其中炭黑曲霉孢子于 10 μg/mL 银纳米颗粒暴露 20 h 则完全抑制其生长和毒素合成。而将纳米技术与绿色安全的杀菌剂或抗氧化剂相结合,开发适宜于葡萄及其制品生产工艺的产品是今后重要的研究方向,如植物精油的纳米包封技术^[58]。

2.1.2 生物防控

虽然农药杀菌剂能够降低真菌的生长和毒素产生, 但是因为抗性菌株的快速适应以及杀菌剂对环境和人体健康的潜在危害, 现已建立了严格的使用规范, 包括葡萄在内的农药的最大残留限量已经制定了相应标准。而生物防控是一种控制产毒真菌的有效替代或弥补方案^[59]。生物防控优势之一是拮抗微生物可与杀菌剂联合使用以降低杀菌剂使用剂量, 极大减轻杀菌剂残留对环境和人体的危害。

多种酵母和芽孢杆菌是极其重要的生物防控用菌(表 2)。酵母菌可与霉菌竞争营养、生存空间, 也可产生抑菌物质进而影响霉菌的次生代谢。至今已发现多种酵母菌株具有抑制 OTA 产毒曲霉的作用。PONSONE 等^[60]利用酵母(*Lanchancea thermotolerans*)菌株 RCKT4/5 不仅在实验室条件高效控制产毒菌的生长和毒素积累, 而且进一步在温室和田间环境进行了验证, 使 OTA 毒素产量下降 27%~100%。多种芽孢杆菌也可高效抑制 OTA 产毒菌的生长。其中, 枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) CCTCC M 207209 发酵上清液能够有效控制葡萄冷藏期炭黑曲霉对红地球葡萄的侵害, 超过 80%的浆果仍然留在茎上, 并且完好无损^[63]。短小芽孢杆菌 QBP344-3 发酵上清液能完全抑制炭黑曲霉孢子萌发, 显著抑制炭黑曲霉的生长和毒素产生^[67]。此外, 分离自南极地区的真菌菌株 *Lecanicillium muscarium* CCFEE 5003 具有极强的几丁质酶活性, 能够强效防止炭黑曲霉孢子在白葡萄和红葡萄上的定植, 而且并不影响酵母的生长定植, 因此具有较强的应用潜能^[64]。为预防病原菌对水果果实的侵染, 在病原菌繁殖体定植前, 生物防控制剂覆盖果实表面至关重要。另外, 基于生物防控制剂和杀菌剂的联合使用策略似乎是更加值得信赖的防控 OTA 产毒菌和毒素污染的有效手段。

2.2 OTA 脱毒

OTA 脱毒包括吸附脱毒和降解转化。其中, 吸附脱毒是基于吸附剂对 OTA 毒素的吸附作用, 脱除农产品及其制品中的毒素。降解转化是经物理、化学或者生物作用, OTA

化学键改变, 最终转化为低毒或者无毒化合物。

2.2.1 吸附脱毒

现今, 最常用的降低真菌毒素污染暴露的方法是利用吸附剂降低毒素的生物可及性。吸附剂包括传统吸附剂、生物吸附剂和新型材料吸附剂。真菌毒素吸附剂的关键评价标准是检验其在不同 pH(酸性和中性)条件下的有效性, 以适应哺乳动物消化系统相应器官的酸碱环境变化。吸附剂应用于防止毒素在动物体内消化吸收的前提是其自身必须安全有效。传统吸附剂有活性炭、硅酸盐、膨润土、沸石等。膨润土和蒙脱土可以吸附葡萄酒中 40%~100%的 OTA^[68]。生物吸附剂中, 微生物对真菌毒素的吸附作用可能是由于其表面细胞壁成分, 如多糖、蛋白、肽聚糖等^[69-71]。研究表明, 能够吸附 OTA 毒素的微生物有乳酸菌、酵母和曲霉等, 吸附效果与 pH、细胞浓度、菌体形态和毒素浓度等因素有关^[40]。微生物吸附剂的研究应聚焦于筛选获得安全高效的吸附菌株, 探索其应用潜能, 开发安全高效的可市场化产品。近年来, 纳米复合材料吸附 OTA 的研究为纳米材料在吸附脱毒领域的应用奠定了基础。APPELL 等^[72]合成的 β -环糊精高交联聚氨酯聚合物作为吸附剂, 最大吸附能达到 0.22 mg OTA/g 聚合物。该聚合物具有多种 OTA 结合位点, 能够将红酒中高达 10 $\mu\text{g/L}$ 的 OTA 吸附至限量标准水平以下。今后, 利用纳米技术开发吸附材料将越来越受关注, 而提高吸附选择性、减少营养损失、保障材料安全性等是其在葡萄制品加工中应用的前提。

总之, 在 OTA 的吸附脱毒中传统吸附剂、微生物吸附剂、新型纳米吸附材料均有研究, 而实际应用仍以传统吸附剂为主。微生物吸附脱毒的效率与微生物浓度以及其细胞壁组分等密切相关, 因此发酵条件优化至关重要, 否则可能会引起吸附效率不稳。另外, 微生物对葡萄及其制品营养成分的影响以及自身的安全性也是制约其应用的重要因素。纳米材料在吸附脱毒上的应用也受到诸多因素的限制, 包括安全性、材料成本、是否可降解、是否可重复利用等。如何克服各类吸附剂的缺点, 突破制约因素是今后研究的重点。

表 2 微生物抑制葡萄及其制品中 OTA 产毒菌及其毒素
Table 2 Microorganisms inhibiting OTA producing fungi and the toxin in grape and its products

种类	防控菌株	OTA 产毒菌	参考文献
酿酒葡萄(浆果、温室、田间)	酵母(<i>Lanchancea thermotolerans</i>) RCKT4/5	炭黑曲霉	[60]
成熟葡萄	东方伊萨酵母(<i>Issatchenkia orientalis</i>) 2C2 和 16C2, 美极梅奇酵母(<i>Metschnikowia pulcherrima</i>) 20C1 和假丝酵母(<i>Candida incommunis</i>) 24K2	炭黑曲霉和黑曲霉	[61]
食用和酿酒葡萄	季也蒙假丝酵母(<i>Candida guilliermondii</i>) A12 和顶头孢霉菌(<i>Acremonium cephalosporium</i>) B11	黑曲霉	[62]
食用葡萄	枯草芽孢杆菌(<i>Bacillus subtilis</i>) CCTCC M 207209	炭黑曲霉	[63]
食用葡萄	<i>Lecanicillium muscarium</i> CCFEE 5003	炭黑曲霉	[64]
葡萄(浆果和葡萄园)	出芽短梗霉(<i>Aureobasidium pullulans</i>) Arnaud Y-1	炭黑曲霉	[65]
红地球葡萄	出芽短梗霉(<i>Aureobasidium pullulans</i>) 3BM1	塔宾曲霉	[66]

2.2.2 降解转化

赭曲霉毒素 A 的降解转化, 主要包括物理、化学、生物降解等。物理降解包括 γ 射线辐照降解、紫外线照射分解、超声等手段。葡萄及其制品中 OTA 的化学降解主要是利用臭氧氧化分解毒素。

(1) 理化降解

真菌毒素的辐照降解效果受辐照剂量、毒素种类和浓度、水分含量和基质营养成分等因素影响。CALADO 等^[73]发现, 在 30.5 kGy 辐照剂量下, 葡萄汁的 OTA 去除率(12%)比葡萄酒(23%)低, 推测葡萄汁中不溶性固形物可能对毒素具有保护作用。真菌毒素超声降解中, 降解速率显著受超声波强度、超声时间的影响^[74]。20 kHz 脉冲超声, OTA 最高降解率可达 91.6%。另外, 电子束辐照对 OTA 的降解效率也较高, 发现 16 kGy 电子束辐射降解 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 OTA, 降解率超过 90%^[75]。考虑到辐照等物理降解 OTA 受葡萄基质的影响以及其可能造成的营养成分的非选择性破坏, 葡萄及其制品中 OTA 的物理降解的应用受到了一定限制。

臭氧对毒素的氧化分解是一种重要的降低毒素污染的手段^[76]。鉴于臭氧具有高效性、品质损失少、加工过程适用以及环境友好等优点; 2004 年, 美国食品和药品监督管理局建议苹果汁和苹果酒生产使用臭氧降低病原菌的侵染, 因此臭氧也有开发应用于葡萄汁和葡萄酒防控降解毒

素的潜力。然而研究表明, 臭氧降解 OTA 的效果相对较差, 50 mg/L 臭氧 180 s 对 2 mL 的质量浓度为 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 OTA 降解率仅有 34%^[75]。因此, 葡萄及其制品中 OTA 毒素污染的臭氧降解相对应用潜能较弱。

(2) 生物降解

研究表明, 多种微生物具有降解葡萄及其制品中 OTA 的能力。OTA 生物降解机制主要是将 OTA 转化为低毒的 OT α ^[77-79]。通过异源表达分析已明确该降解反应由羧肽酶催化, 并确证了该酶的降解产物 OT α ^[80-82]。此外, 多种微生物菌株还表现出 OTA 去除的多功能性, 包括抑制产毒菌的生长、抑制 OTA 合成基因的表达、降解或吸附 OTA 毒素等, 如枯草芽孢杆菌 CW14^[80-81,83]、链霉菌菌株 AT10 等^[84]。其中, 枯草芽孢杆菌 CW14 提出了“菌-酶-肽”协同脱毒的新机制: 菌株自身对 OTA 具有吸附作用; 所产羧肽酶能够降解 OTA; 所产多肽具有 OTA 消减效果; 且细胞实验表明其可以减轻 OTA 对 Caco-2 细胞(人结肠腺癌细胞)的毒性作用^[83], 如表 3。总之, 筛选获得高效降解 OTA 的安全性菌株和降解酶基因资源是 OTA 生物降解应用的关键, 结合葡萄制品的加工流程及葡萄酒的酿造工艺, 适宜于发酵的酵母菌株的优选或高效降解酶基因表达体系的酵母工程菌的构建与优化将是未来葡萄及其制品中 OTA 毒素生物降解研究的重要方向。

表 3 OTA 的生物降解转化(报道自 2015 年)
Table 3 Biotransformation of ochratoxin A (OTA) (reported since 2015)

菌株	来源	降解率/%	降解产物	降解酶	参考文献
枯草芽孢杆菌 CW 14	新鲜的麋鹿粪便	97.6	OT α	羧肽酶	[80-81,83]
链霉菌 AT10、AT8、SN7、MS1、ML5、G10 和 PT1	土壤	22.83~52.68	-	-	[84]
醋酸钙不动杆菌 396.1	葡萄园土壤	82	OT α	-	[85]
不动杆菌 neg1 ^a	葡萄园土壤	91	OT α	-	[86]
解淀粉芽孢杆菌 ASAG1	玉米	98.5	OT α	羧肽酶	[87]

注: a 为发酵上清液, OTA 降解率大于 70%; -为不明确。

3 总结与展望

OTA 是最重要的污染葡萄及其制品的真菌毒素。OTA 产毒菌可能在田间(收获前变质)、储藏期间(采后变质)或加工过程中污染农产品。全球各地葡萄及其制品中 OTA 污染分析显示, 该毒素污染普遍存在, 而且个别地区存在污染较重的现象。随着我国生活水平的提高, 人们对葡萄及其制品的需求日益扩大, 而我国对葡萄及其制品中 OTA 的限量标准尚不完善, 仍需进一步提出最新的更加全面的针对不同葡萄及其制品的限量的规定, 这有助于针对性地监管、保障葡萄及其制品的安全。另外, 为减轻葡萄及其制品中 OTA 毒素的普遍污染问题, 防止出现 OTA 毒素超标

影响人体健康的情况, 学者采用诸多手段进行了 OTA 毒素的防控与脱毒研究。葡萄采前和采后防控 OTA 产毒菌侵染是毒素污染控制的最有效方法, 因此杀菌剂或抗氧化剂结合微生物防控剂、新型纳米防控材料用于葡萄采前喷施和采后防腐保鲜以高效抑制产毒菌的侵染定植是未来防控策略的首选攻关方向。虽然该策略很难完全阻止 OTA 的形成, 但是可有效控制 OTA 的污染水平。若葡萄中 OTA 污染已发生, 加工过程中 OTA 的去除手段是葡萄高效利用和挽回损失的关键。因而, 今后研究还应重视 OTA 去除技术的开发与应用, 尤其注重 OTA 脱毒技术开发。虽然已发现多种 OTA 脱毒方法可以减少其污染水平, 但如何嵌入葡萄加工工艺而又保持其脱毒高效性尚有瓶颈。微生物及其降

解酶以其高效性、专一性等优点具有较高应用潜能, 而开发应用性强的安全、高效去除 OTA 的菌制剂或酶制剂仍需进一步研究。另外, 有效应对不同葡萄制品的 OTA 污染或解决葡萄制品多毒素污染问题的技术方法也亟需开发。

参考文献

- [1] GLAB C, XIN Y, LHAB C, *et al.* Ochratoxin A induces glomerular injury through activating the ERK/NF- κ B signaling pathway [J]. *Food Chem Toxicol*, 2020, 143: 111516.
- [2] PFOHL-LESZKOWICZ A, MANDERVILLE RA. Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2007, 51(1): 61-99.
- [3] MIN CP, CHOI IG, LEE KW. Transcriptome analysis reveals the AhR, Smad2/3, and HIF-1 α pathways as the mechanism of ochratoxin A toxicity in kidney cells [J]. *Toxins*, 2021, 13(3): 190.
- [4] GERIN D, GARRAPA F, BALLESTER AR, *et al.* Functional role of *Aspergillus carbonarius* AcOTAbZIP gene, a bZIP transcription factor within the OTA gene cluster [J]. *Toxins*, 2021, 13(2): 111.
- [5] GIL-SERNA J, VÁZQUEZ C, PATIÑO B. Genetic regulation of aflatoxin, ochratoxin A, trichothecene, and fumonisin biosynthesis: A review [J]. *Int Microbiol*, 2020, 23(9): 89-96.
- [6] 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): e01009-e01018.
- [7] MONDANI L, PALUMBO R, TSITSIGIANNIS D, *et al.* Pest management and ochratoxin A contamination in grapes: A review [J]. *Toxins*, 2020, 12(5): 303.
- [8] KIZIS D, VICHOU AE, NATSKOULIS PI. Recent advances in mycotoxin analysis and detection of mycotoxigenic fungi in grapes and derived products [J]. *Sustainability*, 2021, 13(5): 1-26.
- [9] DUTRA-SILVA L, PEREIRA GE, BATISTA LR, *et al.* Fungal diversity and occurrence of mycotoxin producing fungi in tropical vineyards [J]. *World J Microb Biot*, 2021, 37: 112.
- [10] CHIOTTA LM, FUMERO VM, CENDOYA E, *et al.* Toxicogenic fungal species and natural occurrence of mycotoxins in crops harvested in Argentina [J]. *Rev Argent Microbiol* 2020, 52: 339-347.
- [11] CERVINI CARLA, VERHEECKE-VAESSEN CAROL, FERRARA M, *et al.* Interacting climate change factors (CO₂ and temperature cycles) effects on growth, secondary metabolite gene expression and phenotypic ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* strains on a grape-based matrix [J]. *Fungal Biol*, 2021, 125(2): 115-122.
- [12] ZIMMERLI B, DICK R. Ochratoxin A in table wine and grape-juice: Occurrence and risk assessment [J]. *Food Addit Contam*, 1996, 13(6): 655.
- [13] WEI D, WANG Y, JIANG D, *et al.* Survey of *Alternaria* toxins and other mycotoxins in dried fruits in China [J]. *Toxins*, 2017, 9: 200.
- [14] WEI D, WU X, XU J, *et al.* Determination of ochratoxin A contamination in grapes, processed grape products and animal-derived products using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectroscopy system [J]. *Sci Rep*, 2018, 8: 2051.
- [15] OTEIZA JM, KHANEGHAH AM, CAMPAGNOLLO FB, *et al.* Influence of production on the presence of patulin and ochratoxin A in fruit juices and wines of Argentina [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2017, 80: 200-207.
- [16] HAN Z, DONG M, HAN W, *et al.* Occurrence and exposure assessment of multiple mycotoxins in dried fruits based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *World Mycotoxin J*, 2016, 9(3): 465-474.
- [17] WANG Y, NIE J, YAN Z, *et al.* Occurrence and co-occurrence of mycotoxins in nuts and dried fruits from China [J]. *Food Control*, 2018, 88: 181-189.
- [18] PALUMBO JD, O'KEEFFE TL, HO YS, *et al.* Occurrence of ochratoxin A contamination and detection of ochratoxigenic *Aspergillus* species in retail samples of dried fruits and nuts [J]. *J Food Protect*, 2015, 78(4): 836-842.
- [19] HESHMATI A, NEJAD ASM. Ochratoxin A in dried grapes in Hamadan Province, Iran [J]. *Food Addit Contam B*, 2015, 8(4): 255-259.
- [20] ZHANG B, CHEN X, HAN SY, *et al.* Simultaneous analysis of 20 mycotoxins in grapes and wines from hexi corridor region (China): Based on a QuEChERS-UHPLC-MS/MS method [J]. *Molecules*, 2018, 23: 1926.
- [21] BOLTON SL, MITCHELL T, BRANNEN PM, *et al.* Assessment of mycotoxins in *Vitis vinifera* wines of the southeastern United States [J]. *Am J Enol Viticult*, 2017, 68(3): 336-343.
- [22] TANIWAKI MH, PITT JI, MAGAN N. *Aspergillus* species and mycotoxins: Occurrence and importance in major food commodities [J]. *Curr Opin Food Sci*, 2018, 23: 38-43.
- [23] JESUS CLD, BARTLEY A, WELCH AZ, *et al.* High incidence and levels of ochratoxin A in wines sourced from the United States [J]. *Toxins*, 2018, 10: 1.
- [24] DI-STEFANO V, PITONZO R, AVELLONE G, *et al.* Determination of aflatoxins and ochratoxins in sicilian sweet wines by high-performance liquid chromatography with fluorometric detection and immunoaffinity cleanup [J]. *Food Anal Methods*, 2015, 8(3): 569-577.
- [25] ZURGA P, VAHCIC N, PASKOVIC I, *et al.* Occurrence of ochratoxin A and biogenic amines in Croatian commercial red wines [J]. *Foods*, 2019, 8: 348.
- [26] MARINO-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: 2487-2497.
- [27] YUSEFI J, VALAEE M, NAZARI F, *et al.* Occurrence of ochratoxin A in grape juice of Iran [J]. *Iran J Pharm Res*, 2018, 17(1): 140-146.
- [28] BELLÍ N, MARÍN N, SANCHIS V, *et al.* Review: Ochratoxin A (OTA) in wines, musts and grape juices: Occurrence, regulations and methods of analysis [J]. *Trends Food Sci Technol Int*, 2002, 8(6): 325-334.
- [29] KLAPWIJK PM, JOUVE JL, STRINGER MF. Microbiological risk assessment in Europe: The next decade [J]. *Int J Food Microbiol*, 2000, 58(3): 223-230.
- [30] WELKE JE. Fungal and mycotoxin problems in grape juice and wine industries [J]. *Curr Opin Food Sci*, 2019, 29: 7-13.
- [31] 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: 126222.
- [32] BRAGULAT MR, ABARCA ML, CASTELLÁ G, *et al.* Intraspecific variability of growth and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* from different foods and geographical areas [J]. *Int J Food Microbiol*, 2019, 306: 108273.

- [33] CERVINI C, GALLO A, PIEMONTESE L, *et al.* Effects of temperature and water activity change on ecophysiology of ochratoxigenic *Aspergillus carbonarius* in field-simulating conditions [J]. *Int J Food Microbiol*, 2020, 315: 108420.
- [34] TEMPLALEXIS C, GIORNI P, LENTZOU D, *et al.* Environmental conditions affecting ochratoxin A during solar drying of grapes: The case of tunnel and open air-drying [J]. *Toxins*, 2021, 13(6): 400.
- [35] 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.
- [36] GONCALVES A, PALUMBO R, GUIMARAES A, *et al.* The route of mycotoxins in the grape food chain [J]. *Am J Enol Viticult*, 2020, 71: 89–104.
- [37] MEDINA Á, 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.
- [38] MIKUOVÁ P, CABOŇ M, MELICHÁRKOVÁ A, *et al.* Genetic diversity, ochratoxin A and fumonisin profiles of strains of *Aspergillus* section *Nigri* isolated from dried vine fruits [J]. *Toxins*, 2020, 12(9): 592.
- [39] PALUMBO JD, O'KEEFFE TL, QUEJARRO BJ, *et al.* Comparison of *Aspergillus* section *Nigri* species populations in conventional and organic raisin vineyards [J]. *Curr Microbiol*, 2019, 76: 848–854.
- [40] GOMEZ-ALBARRAN C, MELGUIZO C, PATINO B, *et al.* Diversity of mycobiota in Spanish grape berries and selection of *Hanseniaspora uvarum* U1 to prevent mycotoxin contamination [J]. *Toxins*, 2021, 13: 649.
- [41] MAGISTÀ D, COZZI G, GAMBACORTA L, *et al.* Studies on the efficacy of electrolysed oxidising water to control *Aspergillus carbonarius* and ochratoxin A contamination on grape [J]. *Int J Food Microbiol*, 2021, 338(2): 108996.
- [42] LEONG SL, HOCKING AD, VARELIS P, *et al.* Fate of ochratoxin A during vinification of Semillon and Shiraz grapes [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54(17): 6460–6464.
- [43] FERNANDES A, RATOLA N, CERDEIRA A, *et al.* Changes in ochratoxin A concentration during winemaking [J]. *Am J Enol Viticult*, 2007, 58(1): 92–96.
- [44] SELMA MV, FREITAS PM, ALMELA L, *et al.* Ultraviolet-C and induced stilbenes control ochratoxigenic *Aspergillus* in grapes [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(21): 9990–9996.
- [45] KUMAR P, MAHATO DK, SHARMA B, *et al.* Ochratoxins in food and feed: Occurrence and its impact on human health and management strategies [J]. *Toxicon*, 2020, 187: 151–162.
- [46] LO-CURTO R, PELLICANÒ T, VILASI F, *et al.* Ochratoxin A occurrence in experimental wines in relationship with different pesticide treatments on grapes [J]. *Food Chem*, 2004, 84(1): 71–75.
- [47] PONSONE ML, CHIOTTA ML, PALAZZINI JM, *et al.* Control of ochratoxin A production in grapes [J]. *Toxins*, 2012, 4(5): 364–372.
- [48] BOONMEE S, ATANASOVA V, CHÉREAU S, *et al.* Efficiency of hydroxycinnamic phenolic acids to inhibit the production of ochratoxin A by *Aspergillus westerdijkiae* and *Penicillium verrucosum* [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(22): 8548.
- [49] 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.
- [50] KONTAXAKIS E, FILIPPIDI E, STAVROPOULOU A, *et al.* Evaluation of eight essential oils for postharvest control of *Aspergillus carbonarius* in grapes [J]. *J Food Protect*, 2020, 83(9): 1632–1640.
- [51] KAPETANAKOU A, NESTORA S, EVAGELIOU V, *et al.* Sodium alginate–cinnamon essential oil coated apples and pears: Variability of *Aspergillus carbonarius* growth and ochratoxin A production [J]. *Food Res Int*, 2019, 119: 876–885.
- [52] KOLLIA E, PROESTOS C, ZOUMPOULAKIS P, *et al.* Capsaicin, an inhibitor of ochratoxin A production by *Aspergillus* section *Nigri* strains in grapes (*Vitis vinifera* L.) [J]. *Food Addit Contam A*, 2019, 36(11): 1709–1721.
- [53] COZZI G, SOMMA S, HAIDUKOWSKI M, *et al.* Ochratoxin A management in vineyards by *Lobesia botrana* biocontrol [J]. *Toxins*, 2013, 5(1): 49–59.
- [54] MARÍN S, GUYNOT ME, NEIRA P, *et al.* Risk assessment of the use of sub-optimal levels of weak-acid preservatives in the control of mould growth on bakery products [J]. *Int J Food Microbiol*, 2002, 79(3): 203–211.
- [55] LE VT, VASSEGHIAN Y, DRAGOI EN, *et al.* A review on graphene-based electrochemical sensor for mycotoxins detection [J]. *Food Chem Toxicol*, 2020, 148: 111931.
- [56] ZHOU S, XU L, KUANG H, *et al.* Immunoassays for rapid mycotoxin detection: State of the art [J]. *Analyst*, 2020, 145(22): 7088–7102.
- [57] GÓMEZ JV, TARAZONA A, MATEO F, *et al.* Potential impact of engineered silver nanoparticles in the control of aflatoxins, ochratoxin A and the main aflatoxigenic and ochratoxigenic species affecting foods [J]. *Food Control*, 2019, 101: 58–68.
- [58] CHAUDHARI AK, SINGH VK, DAS S, *et al.* Nanoencapsulation of essential oils and their bioactive constituents: A novel strategy to control mycotoxin contamination in food system [J]. *Food Chem Toxicol*, 2021, 149: 112019.
- [59] GONÇALVES BL, COPPA CFSC, DE NEEFF DV, *et al.* Mycotoxins in fruits and fruit-based products: Occurrence and methods for decontamination [J]. *Toxin Rev*, 2019, 38: 263–272.
- [60] PONSONE ML, NALLY MC, CHIOTTA ML, *et al.* Evaluation of the effectiveness of potential biocontrol yeasts against black sur rot and ochratoxin A occurring under greenhouse and field grape production conditions [J]. *Biol Control*, 2016, 103: 78–85.
- [61] BLEVE 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.
- [62] ZAHAVI T, COHEN L, WEISS B, *et al.* Biological control of *Botrytis*, *Aspergillus* and *Rhizopus* rots on table and wine grapes in Israel [J]. *Postharvest Biol Technol*, 2000, 20(2): 115–124.
- [63] JIANG C, SHI J, LIU Y, *et al.* Inhibition of *Aspergillus carbonarius* and fungal contamination in table grapes using *Bacillus subtilis* [J]. *Food Control*, 2014, 35(1): 41–48.
- [64] BARGHINI P, ESTI M, PASQUALETTI M, *et al.* Inhibition of the ochratoxin-A producer *Aspergillus carbonarius* on white and red grapes by crude cell-wall degrading enzymes from the antarctic fungus

- Lecanicillium muscarium* CCFEE 5003 [J]. *J Environ Prot Ecol*, 2013, 14(4): 1673–1679.
- [65] DIMAKOPOULOU M, TJAMOS SE, ANTONIOU PP, *et al.* Phyllosphere grapevine yeast *Aureobasidium pullulans* reduces *Aspergillus carbonarius* (sour rot) incidence in wine-producing vineyards in Greece [J]. *Biol Control*, 2008, 46(2): 158–165.
- [66] PANTELIDES IS, CHRISTOU O, TSOLAKIDOU M, *et al.* Isolation, identification and *in vitro* screening of grapevine yeasts for the control of black aspergilli on grapes [J]. *Biol Control*, 2015, 88: 46–53.
- [67] HIGAZY NS, SALEH AE, HASSAN ZU, *et al.* Investigation and application of *Bacillus pumilus* QBP344-3 in the control of *Aspergillus carbonarius* and ochratoxin A contamination [J]. *Food Control*, 2020, 119: 107464.
- [68] MINE-KURTBAY H, BEKÇI Z, MERDIVAN M, *et al.* Reduction of ochratoxin A levels in red wine by bentonite, modified bentonites, and chitosan [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(7): 2541–2545.
- [69] ABDI M, ASADI A, MALEKI F, *et al.* Microbiological detoxification of mycotoxins: Focus on mechanisms and advances [J]. *Infect Disord Drug Targets*, 2021, 21(3): 339–357.
- [70] NEI K, HABSCHIED K, MASTANJEVI K. Possibilities for the biological control of mycotoxins in food and feed [J]. *Toxins*, 2021, 13(3): 198.
- [71] AZAM MS, AHMED S, ISLAM N, *et al.* Critical assessment of mycotoxins in beverages and their control measures [J]. *Toxins*, 2021, 13(5): 323.
- [72] APPELL M, JACKSON MA. Sorption of ochratoxin A from aqueous solutions using beta-cyclodextrin-polyurethane polymer [J]. *Toxins*, 2012, 4(2): 98–109.
- [73] CALADO T, LUISA FCM, VERDE SC, *et al.* Gamma irradiation effects on ochratoxin A: Degradation, cytotoxicity and application in food [J]. *Food Chem*, 2018, 240: 463–471.
- [74] LIU Y, LI M, BAI F, *et al.* Effects of pulsed ultrasound at 20 kHz on the sonochemical degradation of mycotoxins [J]. *World Mycotoxin J*, 2019, 12(4): 357–366.
- [75] YANG K, LI K, PAN L, *et al.* Effect of ozone and electron beam irradiation on degradation of zearalenone and ochratoxin A [J]. *Toxins*, 2020, 12: 138.
- [76] AFSAH-HEJRI L, HAJEB P, EHSANI RJ, *et al.* Application of ozone for degradation of mycotoxins in food: A review [J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2020, 19: 1777–1808.
- [77] VILELA A. Non-*Saccharomyces* yeasts and organic wines fermentation: Implications on human health [J]. *Fermentat-Basel*, 2020, 6: 54.
- [78] XU H, WANG L, SUN J, *et al.* Microbial detoxification of mycotoxins in food and feed [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2021. DOI:10.1080/10408398.2021.1879730
- [79] XIONG K, ZHI HW, LIU JY, *et al.* Detoxification of ochratoxin A by a novel *Aspergillus oryzae* strain and optimization of its biodegradation [J]. *Rev Argent Microbiol*, 2020, 53(1): 48–58.
- [80] HU H, JIA X, WANG Y, *et al.* Detoxification of ochratoxin A by an expressed carboxypeptidase and some isolated peptides from *Bacillus subtilis* CW14 [J]. *Toxicon*, 2019, 158: S67.
- [81] XIONG L, PENG M, ZHAO M, *et al.* Truncated expression of a carboxypeptidase A from bovine improves its enzymatic properties and detoxification efficiency of ochratoxin A [J]. *Toxins*, 2020, 12: 680.
- [82] WEI W, QIAN Y, WU Y, *et al.* Detoxification of ochratoxin A by *Lysobacter* sp. CW239 and characteristics of a novel degrading gene carboxypeptidase cp4 [J]. *Environ Pollut*, 2019, 258: 113677.
- [83] PENG M, LIU J, LIANG Z. Probiotic *Bacillus subtilis* CW14 reduces disruption of the epithelial barrier and toxicity of ochratoxin A to Caco-2 cells [J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 126: 25–33.
- [84] EL-KHOURY R, MATHIEU F, ATOUI A, *et al.* Ability of soil isolated actinobacterial strains to prevent, bind and biodegrade ochratoxin A [J]. *Toxins*, 2017, 9: 222.
- [85] DE-BELLIS P, TRISTEZZA M, HAIDUKOWSKI M, *et al.* Biodegradation of ochratoxin A by bacterial strains isolated from vineyard soils [J]. *Toxins*, 2015, 7(12): 5079–5093.
- [86] FANELLI F, CHIARA M, LIUZZI VC, *et al.* Draft genome sequence of *Acinetobacter* sp. neg1 capable of degrading ochratoxin A [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2015, 362(7): Fnv004.
- [87] CHANG X, WU Z, WU S, *et al.* Degradation of ochratoxin A by *Bacillus amyloliquefaciens* ASAG1 [J]. *Food Addit Contam A*, 2015, 32(4): 564–571.

(责任编辑: 韩晓红 张晓寒)

作者简介



王刘庆, 博士, 主要研究方向为农产品质量与安全。
E-mail: wangliuqing2014@163.com



王蒙, 博士, 副研究员, 主要研究方向为农产品质量与安全。
E-mail: wangm@brcast.org.cn