

果蔬常见病原菌及真菌毒素的防控技术研究进展

徐安琪¹, 赖文珊¹, 刘 弘², 秦璐昕², 武爱波¹, 刘 娜^{1*}

(1. 中国科学院大学, 中国科学院上海营养与健康研究所, 上海 200031;

2. 上海市疾病预防控制中心, 上海 200336)

摘 要: 果蔬在田间的生长过程以及采摘后的贮存、运输和加工过程中, 易发生真菌性病害, 不仅可引起腐烂或腐败, 带来严重的经济损失, 部分病原菌还可能产生真菌毒素对人体造成潜在危害。真菌毒素是一类由丝状真菌在适宜条件下产生的有毒次级代谢产物, 是继农药残留、重金属污染后, 影响果蔬质量安全的又一类关键风险因子, 具有强毒性。链格孢毒素、赭曲霉毒素、展青霉素是存在于果蔬及其制品中主要的真菌毒素种类。本文综述了近年来果蔬中常见病原真菌及其真菌毒素, 并阐述了真菌毒素防控方法, 包括物理、化学和生物方法, 对未来果蔬中真菌毒素的防控研究方向进行了展望, 以期为该领域研究者提供参考。

关键词: 果蔬; 病原真菌; 真菌毒素; 防控方法

Progress on prevention and control methods of common pathogens and mycotoxins in fruits and vegetables

XU An-Qi¹, LAI Wen-Shan¹, LIU Hong², QIN Lu-Xin², WU Ai-Bo¹, LIU Na^{1*}

(1. Shanghai Institute of Nutrition and Health, Chinese Academy of Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China; 2. Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China)

ABSTRACT: Fruits and vegetables are easily contaminated by pathogenic fungi during the process of growing, storage, transportation and processing in the field or after harvest, which can not only cause decay or corruption, but also bring serious economic losses. Some pathogens may also produce mycotoxins, which may cause potential harm to human body. Mycotoxins are toxic secondary metabolites produced by silk-shaped fungi under the proper conditions. It is another key risk factor that affect the quality and safety of fruits and vegetables after pesticide residues and heavy metal pollution, and have strong toxicity. *Alternaria* toxin, ochratoxin and patulin are the main mycotoxins in fruits and vegetables and their products. This paper reviewed the common pathogenic fungi and mycotoxins in fruits and vegetables in recent years, described the control methods of mycotoxins, including physical, chemical and biological methods, and prospected the future research direction of prevention and control of mycotoxins in fruits and vegetables, aiming to provide reference for researchers in this field.

KEY WORDS: fruits and vegetables; pathogenic fungus; mycotoxin; prevention and control measures

基金项目: 上海市科技兴农重点攻关项目(2019-02-08-00-02-F01146)

Fund: Supported by the Shanghai Agriculture Applied Technology Development Program, China (2019-02-08-00-02-F01146)

*通信作者: 刘娜, 博士, 副研究员, 主要研究方向为真菌毒素与食品安全。E-mail: liuna@sibs.ac.cn

*Corresponding author: LIU Na, Ph.D, Associate Professor, Shanghai Institute of Nutrition and Health, University of Chinese Academy of Sciences, 320 Yueyang Road, Xuhui District, Shanghai 200031, China. E-mail: liuna@sibs.ac.cn

0 引言

我国作为果蔬生产大国, 2020 年果品和蔬菜农业生产总值分别为 1.16×10^9 、 5.06×10^{10} , 较 2019 年提升了 4.533×10^6 、 3.76887×10^8 ^[1]。果蔬富含丰富的维生素、矿物质和膳食纤维等营养物质, 是人类膳食结构的重要来源, 2022 年《中国居民膳食指南》推荐成人每天摄入蔬菜类 (300~500 g), 水果类 (200~350 g)。然而果蔬水分含量高, 在采前生长过程及采后的生产加工过程中容易受到病原真菌感染而腐烂变质, 导致大量真菌毒素的积累。真菌毒素 (mycotoxin) 是由真菌产生的次级代谢产物, 果蔬中常见的真菌毒素包括链格孢毒素 (*Alternaria* toxin, AT)、赭曲霉毒素 (ochratoxin, OT)、展青霉素 (patulin, PAT) 和单端孢霉烯毒素 (trichothecenes, TCs), 这些真菌毒素不仅导致果蔬腐败变质、品质降低, 造成了果蔬总产量 35%~55% 的损失, 还会引起人体的代谢紊乱、神经麻痹、器官功能衰竭、致癌和免疫破坏等毒性效应^[2]。目前, 我国关于赭曲霉毒素和展青霉素的限量标准 (GB 2761—2011《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》) 见表 1; 对链格孢毒素的研究比较有限, 缺少安全评估基础数据, 对该类毒素还未设定限量标准。

果蔬中真菌毒素污染具有广谱性, 是继农药残留、重金属污染外, 影响食品品质安全的一个关键风险因子, 因此寻找高效、安全、操作方便的防控方法, 对行业发展和人类健康具有重要的研究价值和现实意义。科学的作物耕种管理、良好的采前栽培措施和对危害分析和关键控制点的有效控制, 以及采收、贮藏、运输以及加工等环节的科学处理能够降低果蔬真菌毒素的污染风险。本文综述了果蔬及其制品中常见真菌毒素及其病原菌, 并从物理、化学、生物方法总结了国内外近年来的防控途径, 以期对果蔬及其制品中真菌毒素防控应用和发展提供理论参考。

1 果蔬中常见真菌毒素及病原菌

1.1 链格孢毒素及其产毒病原真菌

链格孢 (*Alternaria* spp.) 是产生 AT 的主要病原真菌,

链格孢对生长环境适应能力较强, 最适生长 pH 为 4.0~5.4, 生长温度为 -5~36℃, 由于其在低温下也可以生长繁殖, 冷链条件下运输贮藏的果蔬及其制品也会受到链格孢毒素的感染而发生变质腐败。链格孢侵染果蔬主要有两种方式^[3]: (1) 通过机械伤口的侵染; (2) 生长期间的潜伏侵染。其中潜伏侵染是指链格孢菌通过穿透表皮或气孔等侵染果蔬组织后, 由于果实抗性不立即发病, 病原菌保持低的代谢速率, 而是等到寄主和环境条件适宜才显现出侵染现象, 这种现象在番茄中报道很多, 链格孢菌侵染番茄组织, 分泌各种酶类水解其细胞壁, 导致原生质体破裂从而死亡。

链格孢毒素根据对寄主是否具有特异生理活性和高度转化作用位点, 可分为非寄主特异性毒素 (non-host specific toxin, NHST) 和寄主特异性毒素 (host specific toxin, HST)^[4]。常见的 NHST 和 HST 见表 2。NHST 是加重病害的毒力因子^[5], HST 是寄主选择性的致病因子, 侵染前期与植物细胞中特定毒素受体结合, 使链格孢菌定植于寄主表面^[5], HST 对寄主有较高的选择性, 表 2 中 AK、AF、AAL、AM、ACT 毒素的感病寄主分别为梨、草莓、番茄、苹果、柑橘。

1.2 赭曲霉毒素 A 及其产毒病原真菌

OT 分为 A、B、C、D 4 类化合物, 其中 OTA 在果蔬中污染严重, OTA 常存在于葡萄及葡萄酒、红辣椒等果蔬及其制品中且毒性强^[6]。其中, 葡萄及其制品中 OTA 污染最为严重^[7-8]。果蔬中 OTA 主要由赭曲霉 (*Aspergillus ochraceus*)、疣孢青霉 (*Penicillium verrucosum*)、黑曲霉 (*Aspergillus niger*) 产生。赭曲霉^[6]的最适生长温度和最适水活度分别为 24~31℃, 0.95~0.99 Aw, 因此产 OTA 毒素的赭曲霉主要生长在温热带地区; 疣孢青霉多污染低温地区的食物, 其最适生长温度和最适水活度为 20℃、0.8 Aw; 黑曲霉多以侵染葡萄为主, 且多表现为通过机械伤口侵染, 当果蔬因物理、化学和致病性微生物侵袭导致机械损伤时, 黑曲霉侵入果实内部生长繁殖并产生 OTA, 它对生长环境的适应性较强, 40℃仍可繁殖, 低温下也生长良好, 产 OTA 的最适温度和水活度分别为 15~20℃, 0.95~0.98 Aw^[9]。

表 1 中国和欧盟制定的果蔬中真菌毒素限量标准
Table 1 Maximum tolerated levels for mycotoxins in fruits and vegetables in China and European Union

国家/地区	产品	毒素种类	限量
中国	水果及其制品、果汁类、酒类	PAT	50 μg/kg
	以苹果为原料的果汁及其果肉饮料	PAT	50 μg/kg
	可直接食用的固体苹果制品	PAT	25 μg/kg
欧盟	婴幼儿和儿童食用的苹果汁及其固体苹果制品	PAT	10 μg/kg
	蔓生干果 (葡萄干、提子干等)	OTA	10 μg/kg
	葡萄酒	OTA	2 μg/L

注: OTA: 赭曲霉毒素 A (ochratoxin A)。

表 2 链格孢毒素的分类及名称
Table 2 Classification and designation of AT

链格孢毒素类别	毒素名称	毒素英文名及缩写
NHST	交链孢酚	alternariol, AOH
	交链孢酚甲基醚	alternariol monomethyl ether, AME
	细交链孢菌酮酸	tenuazonic acid, TeA
	交链孢烯	altenuene, ALT
	腾毒素	tentoxin, TEN
	交链孢毒素 I、II、III	altertoxins I、II、III, ATX I、II、II
	AK 毒素	<i>A. kikuchiana</i> toxin, AK
HST	AF 毒素	<i>A. fries</i> toxin, AF
	AAL 毒素	<i>A. alternata Lycopersici</i> toxin, AAL
	AM 毒素	<i>A. malus</i> toxin, AM
	ACT 毒素	<i>A. citrus</i> toxin, ACT
	交链孢酸	alternaric acid

1.3 展青霉素及其病原真菌

PAT 也称棒曲霉素, 是曲霉属(*Aspergillus*)、青霉属(*Penicillium*)、拟青霉属(*Paecilomyces*)等真菌产生的次级代谢产物。棒曲霉(*A. clavatus*)、扩展青霉(*P. expansum*)、展青霉(*P. patulin*)和曲青霉(*P. pergillus*)等均能产生 PAT, 其中扩展青霉是最为常见的水果病原真菌^[2], 可引发青霉病, 造成贮藏期和货架期损失。与链格孢类似, 采前产生的伤口以及采后处理过程中造成的机械损伤是扩展青霉的重要入侵点。扩展青霉是一种好寒性霉菌, 生长温度最低可达 -6℃, 最适生长温度为 25℃^[10]; 扩展青霉对生长环境要求不高, 在低氧浓度下(2.1%)生长也几乎不受影响, 而且浓度为 15%的 CO₂ 能刺激扩展青霉的生长, 过高的 CO₂ 浓度会降低其生长速率。PAT 首次在腐烂的苹果中发现^[11], 广泛存在于苹果(汁、酱)、梨(汁、酱)、樱桃、杏、桃等水果及其制品中^[12-14]。

2 果蔬中真菌毒素的防控

果蔬中真菌毒素的防控方法包括物理、化学和生物方法, 物理和化学防控易操作但存在安全隐患、营养损失等问题, 以微生物为主的生物防控方法绿色高效, 是目前真菌毒素控制较具竞争力的技术, 例如细菌(乳酸菌)、真菌(酵母菌、霉菌), 微生物代谢产物等。不同防控方法在果蔬中的应用及方法间比较见表 3。

2.1 物理方法

果蔬及其制品中真菌毒素的物理防控主要包括分级分选、辐照、吸附和温度控制等。分级、分选是减少果蔬真菌毒素最直接高效的传统方法之一。通常利用光学性质(紫外、红外、荧光)对产品进行分级, 剔除色泽异常的产品, 人工和机械分选结合可大大降低水果制品中真菌毒素的污染, 最高可达 99%^[15]。近年来, 在果蔬真菌毒素防控中也逐渐发展出新的物理方法, 如辐照、吸附、温度控制等。

表 3 果蔬中真菌毒素的防控方法比较
Table 3 Comparison of prevention and control methods of mycotoxins in fruits and vegetables

防控方法		果蔬及其制品	真菌毒素	优点	缺点	文献
物理 防控	分级、分选	大多数果蔬	AT、PAT、OTA		基因编辑	[15]
	辐照处理	番茄、苹果汁等	AT、PAT	快速高效	交叉污染	[16-17]
	物理吸附	苹果汁等其他液体制品	PAT	易操作	安全隐患	[18-20]
	温度控制	黄桃、红辣椒、番茄等	AT、OTA		营养损失	[21-22]
	人工合成杀菌剂	胡萝卜、葡萄等	AT、OTA		成本高	[23-25]
化学 防控	天然成分	葡萄、苹果、番茄等	AT、PAT、OTA	快速	效率低	[26-28]
	臭氧	苹果、橘子、柠檬、苹果汁等	PAT	易操作	安全隐患	[29-31]
	细菌	桃子、柑橘汁、葡萄酒等	AT、PAT、OTA			[32-37]
生物 防控	酵母	苹果(汁)、火龙果、果汁等	AT、PAT、OTA	高特异性 安全环保	缺乏机制研究	[38-41]
	霉菌	葡萄(汁、酒)等	AT、OTA	繁殖能力快	缺乏安全性评价	[42]
	微生物代谢产物 及降解酶	番茄等	AT、PAT、OTA	无健康威胁	适合毒素类型少	[43-46]

辐照处理可以抑制果蔬制品中病原菌生长和毒素生成。5 kGy 的 γ 射线可有效抑制链格孢菌生长, 10 kGy 可完全抑制其生长^[16]。此外, 适当的辐照处理可以降低毒素生成。苹果汁在辐照处理 5 min 后, PAT 含量显著降低 83%^[17]。

物理吸附也是有效去除 PAT、OTA 的有效方法^[47]。活性炭、沸石、硅藻土、大孔树脂^[18]等物理吸附剂可用于果汁、葡萄酒中真菌毒素的脱除。蒙脱石和壳聚糖微球能吸附去除葡萄酒中 60%~100% 的 OTA, 且对葡萄酒特性破坏小^[19]。此外, 一些新型材料吸附也被应用于果蔬制品中。LIU 等^[20]金属有机框架为基底, 开发吸附剂 UiO-66(NH₂) 去除苹果汁和其他液体中 PAT, 吸附能力达到 4.18 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 。

温度控制对真菌毒素防控有着重要影响。低温可降低采后果实的呼吸强度, 抑制病原菌生长繁殖^[21]。MENG 等^[22]发现在 28℃ 时, 黄桃果实中链格孢菌生长迅速, 接种 15 d 黄桃病斑直径达 4.0 cm 左右, 而 4℃ 贮藏可明显抑制链格孢菌生长。此外, 适当的热处理也可有效杀死或抑制病原菌, 达到果蔬防腐保鲜的目的。52℃ 热水处理红辣椒 15 min 可有效抑制曲霉的生长和真菌毒素的产生。番茄经 60℃ 热处理 15 s 后, 链格孢菌等孢子萌发率可降低 48%, 可延长贮藏期^[3]。但热处理操作要注意温度与时间的组合方式, 降低对果蔬本身品质的影响。

2.2 化学方法

2.2.1 人工合成杀菌剂

人工合成杀菌剂按照作用方式主要分为两类: (1) 对病菌有直接抑制作用, 常用的有三唑类(如环氧菌唑、羧菌唑)、甲氧基丙烯酸酯类(如嘧菌酯、苯氧菌酯)、酰胺类杀菌剂(如环酰菌胺、噻氟酰胺)等^[48]; (2) 间接诱导果实对病菌产生抗性(诱抗剂), 常用的有壳寡糖、绿原酸、水杨酸等。ZHANG 等^[23]发现以 0.65 g/L 的嘧菌酯悬浮剂处理浸泡 6 h, 可有效杀灭胡萝卜种子内的链格孢菌。COSTA 等^[24]使用葡萄园中最常用的杀菌剂(甲基氯索脒和恶沙酮), 在推荐浓度下处理感染葡萄的病害真菌, 结果显示黑曲霉的生长分别减少了 76% 和 60%。

除了传统的杀菌剂和诱抗剂外, MAGISTA 等^[25]还提出通过电化学活化技术有效控制真菌生长的解决方案, 如电解氯化钾溶液产生电解氧化水(electrolyzed-oxidizing water, EOW), 结果表明葡萄的曲霉感染率降低 87%~92%, OTA 水平降低 92%。由于耐药真菌菌株的数量不断增加以及过度使用杀菌剂对环境 and 人类健康的影响, 开发低毒的新型杀菌剂十分必要, 因此具有抑菌作用的天然产物受到人们的重视。

2.2.2 天然成分

植物天然成分可以抑制病原真菌的生长和真菌毒素的产生^[49], 比如辣椒素、橙皮苷、柚皮苷、植物精油等。辣椒素作为一种天然化合物, 可抑制葡萄中黑曲霉 OTA 的产生, 抑制率为 28.9%~78.1%^[26]。从柑橘加工副产物中获

得的橙皮苷、柚皮苷、橙皮素葡萄糖苷等物质均能抑制扩展青霉和曲霉产生 PAT, PAT 积累量减少 95%。槲皮素和伞形花内酯可替代传统的化学杀菌剂, 用于澳洲苹果采后青霉病的防治。此外, 研究发现植物精油的有效成分能与真菌细胞膜的磷脂双分子层结合, 阻碍细胞壁中多糖的合成, 从而改变细胞膜的流动性和完整度, 抑制真菌生长。植物精油互花千层叶油(melaleuca alternifolia oil, MAO)具有较强的抗真菌作用, 随着浓度增加, MAO 显著抑制了葡萄赭曲霉菌丝生长和孢子萌发, 且减少了 OTA 的积累^[27]。0.2% 柠檬精油和 2% 橙子精油抑制苹果中 PAT 的产生。SANDULESCU 等^[28]使用不同浓度的水解胶原蛋白和百里香油处理番茄种子, 研究发现这两者的混合物可防止链格孢菌感染番茄种子表面。随着人们对食品安全的日益重视, 天然产物对果蔬采后防控具有重要意义, 实际应用中需注意天然产物的适合浓度。

2.2.3 臭氧

臭氧可以抑制病原微生物的孢子萌发与菌丝生长, 从而抑制毒素产生。0.5 $\mu\text{L}/\text{L}$ 的臭氧处理苹果, 发现扩展青霉(*P. expansum*)的数量和 PAT 的产生显著降低^[29]。FAN^[30]将橘子和柠檬分别置于 0.3 mg/mL 的臭氧气体中 4 周和 9 周后, 都继续置于 1 mg/mL 臭氧气体中 2 周, 研究发现臭氧延缓了青霉发病 1 周, 并且孢子数量减少。LONG^[31]研究发现 200 mg/m³ 的臭氧气体熏蒸 40 min 与 7.85 mg/L 的臭氧水处理柑橘对青霉的抑菌效果最好, 同时可显著抑制青霉分生孢子的萌发率, 抑制菌丝生长和菌落扩展。此外, 臭氧的强氧化作用可以破坏毒素结构, 从而起到降解毒素的作用。研究表明, 7~12 mg/L 的臭氧处理苹果汁 10 min 时, PAT 降解率为 64.78%~81.67%^[18]。在实际应用中, 应尽量降低臭氧处理时间或使用浓度, 以减少对食品自身品质的影响。

2.3 生物方法

由于成本高、效率低、安全隐患、营养和风味的损失等问题, 物理和化学防控方法受到限制。近年来, 以微生物为主的生物防控方法绿色高效, 是目前果蔬中真菌毒素控制最具竞争力的技术之一^[50]。其主要作用包括: 利用微生物的拮抗作用抑制病原菌及其毒素的积累; 微生物对毒素的吸附作用; 微生物或其代谢产物对真菌毒素的降解作用(转化为低毒或无毒的代谢产物)。常用的主要包括细菌、真菌(酵母菌、霉菌), 代谢产物(降解酶、多糖、多肽、抗生素等)。

2.3.1 细菌

乳酸菌(lactic acid bacteria, LAB)被广泛用于食品工业, 能够抑制病原真菌和降解真菌毒素, 延长货架期^[51]。HAWAR 等^[32]报道植物乳杆菌不仅可以显著抑制扩展青霉的生长, 并对 PAT 具有直接的降解作用, 经植物乳杆菌处理 4 h 后, PAT 含量降低了 80%。WEI 等^[33]报道了植物乳

杆菌 13M5 (*Lactobacillus plantarum* 13M5)可将 PAT 降解至 5 mg/L(降解率为 43.8%),细胞实验表明植物乳杆菌 13M5 可以缓解 PAT 诱导的 Caco-2 细胞损伤,可作为一种益生菌补充剂改善肠道微生态的平衡。

此外,乳酸菌菌株也可通过吸附作用去除真菌毒素。用 1.2 g/20 mL 的乳酸菌菌粉吸附柑橘汁中 TeA (pH 3.15, 12 h), TeA 去除率为 87%^[34]。DEL-PRETE 等^[35]报道了乳酸菌活菌对葡萄酒中 OTA 的吸附去除率为 8%~28%。目前,关于乳酸菌对 PAT 吸附研究较少,乳酸菌对 PAT 的吸附作用与菌体的多糖及蛋白质成分有关^[36]。

除了乳酸菌,研究表明芽孢杆菌、根际细菌和假单胞菌等均可抑制病原真菌。ZHANG 等^[37]利用枯草芽孢杆菌 JK-14 研究桃果采摘后抗真菌病害的能力,结果显示,JK-14 对链格孢菌的生长表现出明显的竞争抑制作用,且可显著降低桃果发病率和病变直径。研究表明对链格孢菌有拮抗作用的细菌还包括根际细菌 (*Rhizosphere bacteria*)^[52]、假单胞菌属 (*Pseudomonas* spp.)、芽孢杆菌属 (*Bacillus* spp.)和沙雷菌属 (*Serratia* spp.)等^[3]。综合考虑,筛选高效去除真菌毒素的菌株和提高菌种去除真菌毒素的能力是十分必要的。

2.3.2 真 菌

近年来,国内外相继利用酵母菌和木霉来防治果蔬采后病害。酵母菌作为重要的生物防治真菌,其优点在于繁殖能力快、环保无污染,且对人和动物体无健康威胁。酵母菌在抑制水果中病原真菌的生长和毒素生成有着显著效果,例如清酒假丝酵母 (*Candida sake*)、浅白色隐球酵母 (*Cryptococcus albidus*)、胶红酵母 (*Rhodotorulamucilaginosus*) 等拮抗菌^[8]。VILAPLANA 等^[38]从厄瓜多尔水果中分离了酵母 CPN3,测定其对黄色火龙果上的链格孢菌的拮抗作用,结果表明 CPN3 可有效防治黄色火龙果的黑腐病。TRYFINOPOULOU 等^[39]研究发现酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae* Y₃₃)可抑制葡萄汁和葡萄酒中曲霉生长和 OTA 生成,为生物防治剂的开发提供参考。

酵母细胞也可通过吸附作用去除真菌毒素。在酿酒过程中,酿酒酵母可通过吸附减少 OTA^[40],提高发酵时间和发酵温度有助于减少酿酒过程中 PAT 含量。ZHANG 等^[41]用酿酒酵母菌株 CITCC 93161 处理苹果汁(30℃处理 2 d),PAT 的去除率为 85.88%,这是因为酿酒酵母细胞壁表面的蛋白质和多糖与 PAT 相互作用,从而起到吸附作用。QIU 等^[53]将制备的硫醇改性酵母[Y-SH(GI)]嵌入琼脂气凝胶中,发现含有 Y-SH(GI)的琼脂可以去除苹果汁中的 PAT,且细胞毒性研究表明,该琼脂生物相容性好且食品安全风险较低,可作为一种新型吸附剂用于控制果汁中的 PAT 污染。微生物吸附具有效益高、环境友好等优点,已被广泛用于真菌毒素、重金属和染料的吸附。

木霉因其具有拮抗作用也受到广泛的研究。木霉的作

用主要包括:侵占病原菌的生存空间,产生抗生素抑制病原菌生长及产生水解酶降解病原菌的细胞壁。目前基因编辑技术 CRISPR/Cas9 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated protein 9)已应用于丝状真菌里氏木霉菌 C30 的改造,为阐明木霉菌生物防控相关基因的功能与作用提供理论基础。在未来的研究中,结合新技术挖掘木霉菌潜在的生物防控能力具有重要意义。

此外,真菌中的曲霉(*Aspergillus*)、根霉(*Rhizopus*)、出芽短梗霉菌 (*Aureobasidium pullulans*)、粉红粘帚霉 (*Gliocladium roseum*)等吸附或降解毒素效果也很明显^[54]。BELLIS 等^[42]研究发现从葡萄分离出来的部分曲霉和青霉能降解 80%以上的 OTA,这是因为 OTA 的毒性基团被破坏,从而失去毒性。黑色曲霉对葡萄汁中 OTA 具有吸附作用,可能与其细胞壁的糖类物质(葡聚糖、壳聚糖等)有关。在此基础上,也有研究表明黑色曲霉可降解 OTA,其机制主要是通过断裂酰胺键,将 OTA 水解成 L-β-丙氨酸和无毒的赭曲霉毒素 α(毒性仅为 OTA 的 1/500)^[55]。

2.3.3 微生物代谢产物

微生物的代谢产物具有一定的抑菌作用,如酶、多糖、多肽、抗生素等物质。乳酸菌发酵过程中产生的代谢物质能够控制微生物生长,常见有抑菌活性的有机小分子包括过氧化氢、羟基脂肪酸、有机酸、细菌素、酚类化合物以及蛋白类短肽,其中有机酸在抑制真菌活性方面发挥着重要作用^[56]。YAN 等^[43]报道绿脓假单胞菌产生的鼠李糖能使番茄腐烂程度降低 30%,而拮抗酵母与绿脓假单胞菌产生的鼠李糖复配使用能使番茄腐烂程度降低 60%,实际加工生产中也可以使用复配来降低果蔬损耗。

生物降解酶通过一系列生化反应(如乙酰化、葡萄糖基化、水解和脱羧等)将真菌毒素转化为无毒或低毒代谢物^[44]。降解 OTA 的生物酶主要为羧肽酶,包括羧肽酶 A 和羧肽酶 Y,前者对 OTA 的亲性和性较高,25℃条件下 K_m 值 (Michaelis constant, 米氏常数)为 1.5×10^{-4} mol/L。此外,脂肪酶、蛋白酶和酰胺酶等亦被发现具有降解赭曲霉毒素的功能。ABRUNHOSA 等^[45]研究发现在 pH 7.5 条件下反应 25 h,蛋白酶 A 和胰酶对 OTA 的降解率分别为 87.3%、43.4%。YU 等^[46]的专利中报道用 160 ng/mL 的酰胺酶降解 50 μg/mL 的赭曲霉毒素,降解率可达 83%。XING 等^[57]报道了短链脱氢酶/还原酶基因 *CgSDR* 可在体外将 PAT 降解为 E-三环二醇,此外,以 150 μg/mL 添加 *CgSDR* 可使苹果汁中的棒曲霉毒素减少 80%,且生物降解过程不影响苹果汁的品质。目前降解链格孢毒素和 PAT 的生物酶研究较少。生物降解酶由于降解效率不高、稳定性差等问题还处于实验室研究阶段,因此应用基因工程手段对降解酶的挖掘和改造仍是未来重要研究的方向。

3 总结与展望

果蔬中的真菌毒素污染主要以链格孢毒素、赭曲霉毒素和展青霉素为主, 真菌毒素污染造成重大的经济问题, 也对人类健康产生隐患。控制真菌毒素产生及其削减策略尤为重要。在果蔬采前和贮存过程中应注意控制环境因素, 避免真菌毒素的产生。传统的物理、化学防控方法虽然效率高且易操作, 但存在基因变异、二次污染、危害人体健康等问题, 限制了其应用范围。而天然抑菌成分以及利用微生物的生物防控方法展现出很大的应用潜力。此外, 可从以下 3 方面加强果蔬中常见真菌毒素防控工作: (1) 针对不同的果蔬及其制品筛选及优化适合的降解方法, 易可多技术联合使用; (2) 可以结合蛋白质工程、酶工程、发酵工程等高新技术, 开发新型的毒素防控产品; (3) 关注降解处理后果蔬的安全性及品质影响。

参考文献

- [1] Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Production crop [EB/OL]. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QV> [2022-5-13].
- [2] NAN MN, XUE HL, BI Y. Contamination, detection and control of mycotoxins in fruits and vegetables [J]. *Toxins*, 2022, 14(5): 309.
- [3] 王瑶, 姜冬梅, 姜楠, 等. 番茄中交链孢菌及其产毒的防治技术研究进展[J]. *食品科学*, 2017, 38(23): 275-281.
WANG Y, JIANG DM, JIANG N, *et al.* Research progress in the control of *Alternaria* species and its toxin accumulation in tomato fruits [J]. *Food Sci*, 2017, 38(23): 275-281.
- [4] MA HJ, ZHANG B, GAI YP, *et al.* Cell-wall-degrading enzymes required for virulence in the host selective toxin-producing necrotroph *Alternaria alternata* of citrus [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 2514-2514.
- [5] 王蒙, 姜楠, 戴莹, 等. 国内外水果真菌毒素的限量及检测方法标准分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(2): 459-467.
WANG M, JIANG N, DAI Y, *et al.* Maximum residue levels and testing standards of mycotoxins in fruits in China and abroad [J]. *J Food Saf Qual*, 2016, 7(2): 459-467.
- [6] MERWE KJ, STEYN PS, FOURIE L. Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus* [J]. *Nature*, 1965, 205: 1112-1113.
- [7] 王刘庆, 焦健, 王蒙. 葡萄及其制品中赭曲霉毒素 A 的污染与控制研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(2): 612-619.
WANG LQ, JIAO J, WANG M. Advances on contamination and control of ochratoxin A in grapes and their products [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(2): 612-619.
- [8] MONDANI L, PALUMBO R, TSITSIGIANNIS D, *et al.* Pest management and ochratoxin a contamination in grapes: A review [J]. *Toxins*, 2020, 12(5): 303.
- [9] 王景林. 生物毒素学[M]. 北京: 科学出版社, 2021.
WANG JL. *Biotoxology* [M]. Beijing: Science Press, 2021.
- [10] SETTIER L, LOPEZ G, HERNANDEZ P, *et al.* Apple-based coatings incorporated with wild apple isolated yeast to reduce *Penicillium expansum* postharvest decay of apples [J]. *Postharvest Biol Technol*, 2022, 185: 111805.
- [11] AL-RIACHY R, STRUB C, DURAND N, *et al.* Microbiome status of cider-apples, from orchard to processing, with a special focus on *Penicillium expansum* occurrence and patulin contamination [J]. *J Fungi*, 2021, 7(4): 244.
- [12] VIDAL A, OUHIBI S, GHALI R, *et al.* The mycotoxin patulin: An updated short review on occurrence, toxicity and analytical challenges [J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 129: 249-256.
- [13] WEI C, YU L, QIAO N, *et al.* Progress in the distribution, toxicity, control, and detoxification of patulin: A review [J]. *Toxicon*, 2020, 184(1): 83-93.
- [14] HAQUE MA, WANG Y, SHEN Z, *et al.* Mycotoxin contamination and control strategy in human, domestic animal and poultry: A review [J]. *Microb Pathogenesis*, 2020, 142: 104095.
- [15] LUO Y, LIU X, LI J. Updating techniques on controlling mycotoxins: A review [J]. *Food Control*, 2018, 89: 123-132.
- [16] BRAGHINI R, POZZI CR, AQUINO S, *et al.* Effects of gamma-radiation on the fungus *Alternaria alternata* in artificially inoculated cereal samples [J]. *Appl Radiat Isotopes*, 2009, 67(9): 1622-1628.
- [17] WALRAVENS J, MIKULA H, RYCHLIK M, *et al.* Development and validation of an ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometric method for the simultaneous determination of free and conjugated *Alternaria* toxins in cereal-based foodstuffs [J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1372: 91-101.
- [18] DIAO E, LIU W, WANG Y, *et al.* Design and application of ozone detoxification equipment for patulin in contaminated apple juice [J]. *Trans Chin Soc Agric Eng*, 2018, 34(12): 282-287.
- [19] COSME F, INES A, SILVA D, *et al.* Elimination of ochratoxin A from white and red wines: Critical characteristics of activated carbons and impact on wine quality [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2021, 140: 110838.
- [20] LIU MS, WANG J, YANG QF, *et al.* Patulin removal from apple juice using a novel cysteine-functionalized metal-organic framework adsorbent [J]. *Food Chem*, 2019, 270: 1-9.
- [21] ABARCA ML, BRAGULAT MR, CASTELLÁ G, *et al.* Impact of some environmental factors on growth and ochratoxin A production by *Aspergillus niger* and *Aspergillus welwitschiae* [J]. *Int J Food Microbiol*, 2019, 291: 10-16.
- [22] MENG J, GUO W, ZHAO Z, *et al.* Production of *Alternaria* toxins in yellow peach (*Amygdalus persica*) upon artificial inoculation with *Alternaria alternata* [J]. *Toxins*, 2021, 13(9): 656.
- [23] ZHANG X, WANG R, NING H, *et al.* Evaluation and management of fungal-infected carrot seeds [J]. *Sci Rep-UK*, 2020, 10(1): 1-8.
- [24] COSTA CLDA, CERQUEIRA MBR, GARDA-BUFFON J. Kresoxim-methyl and famoxadone as activators of toxigenic potential of *Aspergillus carbonarius* [J]. *Food Addit Contam A*, 2019, 36(12): 1860-1870.
- [25] MAGISTA 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.
- [26] 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.
- [27] KONG Q, QI J, AN P, *et al.* Melaleuca alternifolia oil can delay nutrient damage of grapes caused by *Aspergillus ochraceus* through regulation of key genes and metabolites in metabolic pathways [J]. *Postharvest Biol Technol*, 2020, 164(12): 111152.
- [28] SANDULESCU EB, MANOLE MS, STAVRESCU-BEDIVAN MM. Influence of hydrolyzed collagen and thyme oil on tomato seed germination and their use in controlling *Alternaria alternata* F. sp.

- lycopersici* [J]. Rom Biotech Lett, 2020, 25(1): 1223–1235.
- [29] THAER YAR, BURAK TURAN. Ozone for post-harvest treatment of apple fruits [J]. Phytopathol Mediterr, 2015, 54(1): 94–103.
- [30] FAN X. Gaseous ozone to preserve quality and enhance microbial safety of fresh produce: Recent developments and research needs [J]. Compr Rev Food Sci F, 2021, 20(5): 4993–5014.
- [31] LONG J. Study on inhibitory effect of ozone on *Penicillium italicum* and effect on refreshing of citrus [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2013.
- [32] HAWAR S, VEVERS W, KARIEB S, *et al.* Biotransformation of patulin to hydroascadiol by *Lactobacillus plantarum* [J]. Food Control, 2013, 34(2): 502–508.
- [33] WEI C, YU L, QIAO N, *et al.* The characteristics of patulin detoxification by *Lactobacillus plantarum* 13M5 [J]. Food Chem Toxicol, 2020, 146: 111787.
- [34] 葛娜, 彭帮柱, 徐晓云, 等. 失活乳酸菌去除柑橘汁中链格孢霉毒素 TeA 工艺优化[J]. 食品科学, 2017, 38(14): 256–262.
- GE N, PENG BZ, XU XY, *et al.* Optimization of adsorption removal of alternaria mycotoxin tea from citrus juice by inactive lactic acid bacteria [J]. Food Sci, 2017, 38(14): 256–262.
- [35] DEL-PRETE V, RODRIGUEZ H, CARRASCOSA AV, *et al.* *In vitro* removal of ochratoxin A by wine lactic acid bacteria [J]. J Food Protect, 2007, 70(9): 2155–2160.
- [36] HATAB S, YUE T, MOHAMAD O. Reduction of patulin in aqueous solution by lactic acid bacteria [J]. J Food Sci, 2012, 77(4): 238–241.
- [37] ZHANG S, ZHENG Q, XU B, *et al.* Identification of the fungal pathogens of postharvest disease on peach fruits and the control mechanisms of *Bacillus subtilis* JK-14 [J]. Toxins, 2019, 11(6): 322.
- [38] VILAPLANA R, CIFUENTES C, VACA L, *et al.* Curative activity of possible biocontrol agents in the postharvest of yellow pitahaya and organic banana [J]. Postharvest Biol Technol, 2020, 159: 111030.
- [39] TRYFINOPOULOU P, CHOURDAKI A, NYCHAS GJE, *et al.* Competitive yeast action against *Aspergillus carbonarius* growth and ochratoxin A production [J]. Int J Food Microbiol, 2020, 317: 108460.
- [40] GÓMEZ-ALBARRÁN C, MELGUIZO C, PATIÑO 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] ZHANG Z, LI M, WU C, *et al.* Physical adsorption of patulin by *Saccharomyces cerevisiae* during fermentation [J]. J Food Sci Technol, 2019, 56(4): 2326–2331.
- [42] 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.
- [43] YAN F, XU S, CHEN Y, *et al.* Effect of rhamnolipids on *Rhodotorula glutinis* biocontrol of *Alternaria alternata* infection in cherry tomato fruit [J]. Postharvest Biol Technol, 2014, 97: 32–35.
- [44] ZHANG HY, DONG MJ, YANG QY, *et al.* Biodegradation of zearalenone by *Saccharomyces cerevisiae*: Possible involvement of ZEN responsive proteins of the yeast [J]. J Proteomics, 2016, 143: 416–423.
- [45] ABRUNHOSA L, SANTOS L, VENANCIO A. Degradation of ochratoxin A by proteases and by a crude enzyme of *Aspergillus niger* [J]. Food Biotechnol, 2006, 20(3): 231–242.
- [46] YU S, POULSEN CH, DALSGAARD S, *et al.* Food additive comprising an amidase for detoxifying ochratoxin: US, EP2613647(B1) [P]. 2018-02-14.
- [47] QIU Y, GUO H, GUO C, *et al.* One-step preparation of nano-Fe₃O₄ modified inactivated yeast for the adsorption of patulin [J]. Food Control, 2018, 86: 310–318.
- [48] UMETSU N, SHIRAI Y. Development of novel pesticides in the 21st century [J]. J Pestic Sci, 2020, 45(1–2): 54–74.
- [49] 邱涛涛, 温飞燕, 李彩健. 天然植物成分防控农产品中真菌毒素的研究进展[J]. 现代食品科技, 2020, 36(12): 320–327.
- QIU TT, WEN FY, LI CJ. Research progress on the prevention and control of mycotoxins in agricultural products with natural plant ingredients [J]. Mod Food Sci Technol, 2020, 36(12): 320–327.
- [50] SARROCCO S, VANNACCI G. Preharvest application of beneficial fungi as a strategy to prevent postharvest mycotoxin contamination: A review [J]. Crop Prot, 2018, 110: 160–170.
- [51] WEI C, YU L, QIAO N, *et al.* The characteristics of patulin detoxification by *Lactobacillus plantarum* 13M5 [J]. Food Chem Toxicol, 2020, 146: 111787.
- [52] GHOSH R, BARMAN S, KHATUN J, *et al.* Biological control of *Alternaria alternata* causing leaf spot disease of *Aloe vera* using two strains of rhizobacteria [J]. Biol Control, 2016, 97: 102–108.
- [53] QIU Y, ZHANG Y, WEI J, *et al.* Thiol-functionalized inactivated yeast embedded in agar aerogel for highly efficient adsorption of patulin in apple juice [J]. J Hazard Mater, 2020, 388: 121802.
- [54] ZHANG XY, GU XY, ZHAO L, *et al.* Biocontrol of postharvest disease of grapes and OTA accumulation by *Yarrowia lipolytica* Y-2.J [J]. Food Sci Technol, 2020, 20: 201–206.
- [55] PANTELIDES IS, CHRISTOU O, TSOLAKIDOU MD, *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.
- [56] LE-LAY C, COTON E, LE-BLAY G, *et al.* Identification and quantification of antifungal compounds produced by lactic acid bacteria and propionibacteria [J]. Int J Food Microbiol, 2016, 239: 79–85.
- [57] XING M, CHEN Y, LI B, *et al.* Characterization of a short-chain dehydrogenase/reductase and its function in patulin biodegradation in apple juice [J]. Food Chem, 2021, 348: 129046.

(责任编辑: 韩晓红 张晓寒)

作者简介



徐安琪, 硕士研究生, 主要研究方向为真菌毒素与食品安全。

E-mail: xuanqi2021@sibs.ac.cn



刘娜, 博士, 副研究员, 主要研究方向为真菌毒素与食品安全。

E-mail: liuna@sibs.ac.cn