

苹果制品中棒曲霉素脱除技术的研究进展

张晓瑞, 郭玉蓉*, 孟永宏

(陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 陕西西安 710062)

摘要:棒曲霉素(PAT), 是一种具有致癌性、致畸性、细胞毒性、免疫毒性及生殖毒性的真菌代谢产物, 经常出现在霉变的水果及其制品中, 以苹果及其制品污染最严重。我国是苹果制品生产第一大国, 棒曲霉素污染及脱除问题应引起广泛重视。本文从物理方法, 化学方法和生物方法三方面介绍了目前国内外去除棒曲霉素的主要研究, 并讨论了其优点及存在问题, 以期苹果制品生产提供借鉴。

关键词:苹果制品, 棒曲霉素, 脱除技术

Research progress in the elimination of patulin in apple products

ZHANG Xiao-rui, GUO Yu-rong*, MENG Yong-hong

(College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract: Patulin (PAT) is a secondary metabolite of fungi which has carcinogenic, teratogenic, cytotoxic, immunosuppressive and embryotoxic effects, which is usually found in moldy fruits and their products, especially in the apple and its products. China is the largest producer of apple products in the world. It must be pay more attention on contamination and elimination of patulin. In this review, it was introduced that the latest research on reduction and elimination of PAT with physical, chemical and biological methods in the world. In addition, advantages and disadvantages of various technologies were discussed, which provided a reference to reduce PAT of apple products in industrial production.

Key words: apple products; patulin; elimination

中图分类号: TS255

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2014)14-0363-07

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2014.14.072

随着人们生活水平的提高, 越来越多的人关注到食品营养和安全的问题, 而有关真菌毒素引发的问题层出不穷。棒曲霉素(Patulin, PAT), 又称展青霉素, 是一种具有较强毒性的真菌代谢产物, 晶体无色棱形, 分子式为 $C_7H_6O_4$, 分子量为154, 化学结构式见图1, 化学名称为4-羟基-4-氢-呋喃(3,2-碳)吡喃-2(6-氢)酮[4-hydroxy-4-H-furo(3,2c)pyran-2(6H)-one]^[1]。长期或短期接触棒曲霉素会引起人及动物严重的健康问题。大量的研究表明, 其具有基因

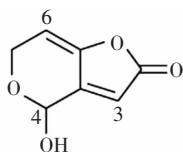


图1 棒曲霉素的结构

Fig.1 Molecular structure of patulin

毒性和细胞毒性, 能导致哺乳动物细胞的DNA损伤^[2], 染色体畸变和微核形成^[3-4], 并具有致癌性、致畸性、免疫毒性和生殖毒性^[5-7], 在动物活体内, 会损害肾脏、肝脏和肠等器官组织^[8-11]。

除棒曲霉能产生棒曲霉素外, 还有扩张青霉、展青霉、棒型青霉、土壤青霉、新西兰青霉、石状青霉、粒状青霉、梅林青霉、圆弧青霉、产黄青霉、萎地青霉、巨大曲霉、土曲霉和雪白丝衣霉等真菌可以产生^[12-13]。在许多因霉菌腐败的水果, 如苹果、杏子、蓝莓、樱桃、葡萄、梨、桃子和李子及其制品中都曾发现棒曲霉素, 以苹果发霉最易产生该种毒素^[14-17]。

我国是世界上水果产量最大的国家, 是苹果及苹果制品生产和出口的第一大国, 因而防控水果霉变和棒曲霉素污染水果制品十分重要。但在大规模生产中, 一些企业为了追求利润最大化, 将落地果、霉变果一并加工, 棒曲霉素的污染普遍存在, 该毒素在酸性条件下稳定, 耐热, 在苹果制品生产过程中不易去除, 成为判断苹果制品质量安全性的一个重要指标, 受到世界各国及国际组织的极大关注, 也是限制我国苹果制品出口的一个瓶颈, 例如欧盟在2004年就颁布了限制含棒曲霉素食品进口的法令^[18](表1)。苹果榨汁后的果渣主要应用于饲料生产, 其中残留

收稿日期: 2013-10-09 * 通讯联系人

作者简介: 张晓瑞(1979-), 女, 博士, 讲师, 主要从事食品化学和食品微生物方面的研究。

基金项目: 农业部现代苹果产业技术体系建设专项基金资助(CARS-28)。

表1 欧盟对相关食品中含棒曲霉素的限量标准
Table 1 The limited standard of patulin in food of EU

产品	棒曲霉素最高限量($\mu\text{g/kg}$)
果汁及水果原汁,特别是苹果汁,以及其他饮品的果汁成分——根据生产商指示稀释后的浓缩果汁。	50.0
酒精饮品、苹果酒,以及其他用苹果制成或含有苹果汁的发酵饮品。	50.0
苹果肉产品,包括可直接食用的苹果蜜饯、苹果泥。	25.0
苹果汁及苹果肉产品,包括供婴儿及幼童食用的苹果蜜饯及苹果泥。	10.0

的棒曲霉素严重影响着果渣再利用。因此,研发环保、安全、经济、高效、实用的棒曲霉素新型脱除技术具有重要意义。近年来,国内外学者对如何去除棒曲霉素做了大量研究,本文对其进行归纳整理,为苹果及其制品中棒曲霉素的脱除提供依据。

1 物理吸附和降解技术

1.1 吸附脱除技术

一些物质,如活性炭、硅胶、树脂及其他的多孔物质等具有很好的吸附作用,可以吸附棒曲霉素,以降低液态环境中的毒素含量。

1.1.1 活性炭吸附 用活性炭吸附以减少果汁中的棒曲霉素,同时具有澄清作用,可有效降低果汁中的棒曲霉素的含量,其处理效果取决于活性炭的用量和形态,粉末状活性炭比颗粒状活性炭对棒曲霉素去除效果好,且有利于保持和提高果汁品质。温度升高能促进活性炭对棒曲霉素的吸附作用^[19]。

Kadalkal等^[20-21]认为用活性炭吸附去除棒曲霉素的最佳使用条件是加入3.0~5.0g/L活性炭,搅拌处理5min,不会对果汁的糖度、pH和富马酸含量产生显著影响,但可以使果汁中棒曲霉素含量大幅下降,澄清度提高,果汁的颜色变浅。然而,采用活性炭脱除棒曲霉素,脱色后易在超滤截留液中积累活性炭以及果汁固形物,使超滤负载增大,同时容易造成超滤系统生产能力降低,甚至造成超滤膜管的堵塞,不易实现自动化。

将极为细小的活性炭颗粒吸附在石英砂颗粒上,制成一种表面积大、孔隙性好、体积密度大的新型炭吸附剂,装入吸附柱中,能吸附阻挡76%以上的棒曲霉素,吸附效果好,可改善沉积堵塞问题,但该处理却对苹果汁的外观与风味影响较大^[22]。

故在工业生产中,活性炭脱除棒曲霉素的应用受到了限制。

1.1.2 树脂吸附 树脂是许多有机高分子复杂化合物互相溶合而成的混合物,具有更好的吸附和再生性能。朱振宝等^[23]研究发现,ZG150、ZG200、LSA-800、LSA-800B、LSA-800C、SD223、SD224、SD309八种型号大孔吸附树脂对果汁中的棒曲霉素都有一定吸附作用,对果汁的理化指标也都有有一定的改善作用。LSA-800B型树脂柱在流速为4BV/h,温度为50℃时,对棒曲霉素的吸附效果最佳。刘华峰等^[24]分别用LSA-900B、XDA-600、LS-803、LS-806、HPD-850、DM-2、DM-3和LKS01八种型号的大孔吸附树脂吸附去除苹果汁中的棒曲霉素,结果表明:LSA-900B、LS-803和XDA-600三种树脂吸附效果较好,在50℃条件下对苹果汁中棒曲霉素静态吸附率分别达到

92.55%、90.67%和89.01%。

研究表明,树脂处理的开始阶段可以将毒素全部吸附,但随时间的延长,其吸附能力会出现一定程度下降。但综合来看,树脂吸附吸附效果较好,可以再生,对苹果汁的品质影响较小,是目前果汁生产厂家最常用的一种吸附剂。

1.1.3 硅胶吸附 Appell等^[25]用键合了丙基硫醇功能团的SBA-15硅胶来吸附液态环境中的棒曲霉素。在这种材料上修饰的丙基硫醇功能团可以与棒曲霉素以双键形式结合,发生Michael反应,在室温下可有效减少pH7.0的液态环境中的棒曲霉素。它在低pH环境中效果不好,在热的低pH环境,如60℃的苹果汁中有很好的去除效果。因此他们认为,利用带丙基硫醇功能团的SBA-15硅胶脱除液态环境包括苹果汁中的棒曲霉素是可行的。然而,该吸附作用与pH环境和温度关系密切,故在苹果制品中应用需考虑其适用范围。

1.1.4 分子印迹聚合物吸附 近年来,新兴的分子印迹技术也可被应用于降解棒曲霉素。以棒曲霉素结构类似物为模板分子(印迹分子),与功能性单体混合接触时会形成多重作用点,利用交联剂使功能性单体聚合,这种作用就被记忆下来,当模板分子除去后,多聚物内部就会形成一个相对于模板分子的空间结构,它与模板分子在结构、大小、电荷等方面都具有非常好的互补性,因而这种聚合物具有特异性识别模板分子(印迹分子)的功能。

利用羟吡啶为模板,以甲基丙烯酸为功能性单体,乙二醇二甲基丙烯酸酯为交联剂,以非共价键方式,通过自由基聚合制备了一种分子印迹聚合物,其颗粒可装于萃取柱中,用来吸附苹果汁中的棒曲霉素,吸附率达到80%以上^[26]。上海交通大学赵大云等^[27]利用自由基嫁接法为原理,以棒曲霉素为目标分子,硅胶球为载体,6-羟基烟酸为模板,5-羟甲基糠醛为干扰物,制备了一种新的分子印迹聚合物,对棒曲霉素表现了特异性吸附,而对于干扰物吸附较少。将其应用于分子印迹固相萃取中,吸附率超过了90%。

与其他吸附材料相比,分子印迹聚合物有更好的吸附特异性和高效性。与传统的特异性生物识别分子,如抗体和酶相比较,分子印迹聚合物具有更加好的机械强度,耐高温和高压,在极端环境中,比如酸、碱或有机溶剂、金属离子存在的情况下,仍保持高度的生物识别特性,适用范围广泛。因此分子印迹技术在工业生产中应用前景广阔。

1.1.5 微生物细胞吸附 一些在食品中常用的微生

物的细胞可以通过吸附作用排除其所处液态环境中的真菌毒素,例如一些乳杆菌、乳球菌可以吸附排除液体培养基中的赭曲霉毒素A,还有些乳酸菌可以吸附排除酸化MRS培养基中的伏马菌素^[28],对玉米赤霉烯酮、单端孢霉烯族毒素也有吸附作用^[29-30]。董媛等^[31]采用固定化失活酵母、磁性固定化失活酵母和失活酵母粉脱除苹果汁中棒曲霉素,比较三种处理的脱除效果,并分析了对苹果汁感官品质的影响。结果表明,固定化失活酵母的去除率最高可达70.4%,且对果汁的色值、透光率、pH、可溶性固形物、总糖及总酸均无显著影响。

灭活的酿酒酵母菌对棒曲霉素也具有吸附作用^[32]。研究发现经过NaOH和丙酮处理能够提高其对毒素的吸附能力,而经过氨基甲基化和羧基酯化处理吸附能力明显下降,说明酿酒酵母的细胞在吸附棒曲霉素过程中,氨基和羧基起到了重要的作用。进一步分析吸附前后红外光谱图,推测酵母细胞表面与吸附作用有关的官能团主要存在于细胞壁上的蛋白质和糖类物质中,包括:氨基、羧基和羟基。

微生物生长迅速,繁殖快,短时间就可以获得大量菌体,与其他吸附材料相比,生产成本较低。利用可食用菌体或灭活菌体安全性更好,也可在发酵苹果制品中直接应用。但目前的研究还仅限于实验室阶段,有待更深入、更广泛的研究。

1.1.6 其他吸附 其他一些多孔或分支的化学物质也有较好的吸附效果,如聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)或 β -环糊精(β -CD)等,可以降低苹果汁中的棒曲霉素含量,同时也降低了苹果汁中的总酚类物质含量,对苹果汁的酶促褐变起到有效的抑制作用。Appell等^[33]分析了多种聚氨酯- β -环糊精聚合物对液态环境中棒曲霉素的吸附作用,以2,4-二异氰酸甲苯酯(tolylene-2,4-diisocyanate)作为交联剂的聚合物更适合吸附苹果汁中的棒曲霉素。他们认为棒曲霉素与聚合物存在多种结合方式,可与环糊精上的氢氧根形成分子间氢键。这些纳米多孔的环糊精聚合物无毒、廉价,已在脱除食品基质中的有毒有害成分方面表现出广阔的应用前景,有望应用于苹果汁加工产业。

1.2 微波降解技术

微波法降解棒曲霉素早在1993年就已在杏汁中得到应用,微波处理15min可使棒曲霉素降低95%以上,且对杏汁的风味无显著影响^[34-35]。张小平等^[36]优化了处理方案,对乙酸盐缓冲液(pH4.0)中的棒曲霉素中火处理90s,当棒曲霉素浓度为100~1000 μ g/L时,其去除率可以达到100%。进一步分析,他们认为微波对棒曲霉素的破坏作用,除了高频波动效应以外,主要是热效应。一些苹果制品,如苹果汁、苹果酒与乙酸盐缓冲液(pH4.0)同为酸性体系,微波法对其中的棒曲霉素可能有效,但目前还没有相关的实验证明。

1.3 辐照降解技术

1.3.1 γ -射线辐照 辐照处理,如利用 γ -射线辐照,能降解处理有机污染物,不需要加入任何化学试剂,

也不会产生二次污染,具有降解效率高、反应速度快、污染物降解彻底等优点,作为一种新兴的降解技术,也可应用于脱除棒曲霉素。

0.35kGy的 γ -射线辐照可以降低苹果汁中50%的PAT,对其非酶褐变无促进作用^[37]。Yun等^[38]对含50mg/L棒曲霉素的水溶液和苹果汁分别进行⁶⁰Co- γ 射线辐照,当辐照剂量为1kGy时,水溶液中的棒曲霉素几乎降解完全,而苹果汁中的还残留33%,存放30d,苹果汁中仍残留25.8%。剂量增加到5kGy时,苹果汁中的棒曲霉素可降解到99%以上。

由于棒曲霉素在低pH的环境中稳定,耐热性和抗化学分解性较强,因此苹果汁的酸性环境可能增强了棒曲霉素的抗辐射降解性。总体说来, γ -射线辐照无化学添加,对棒曲霉素有良好的降解作用,而且在剂量小于2.5kGy时对果汁的营养成分和感官特性没有影响,是可以推荐果汁生产厂使用的一种技术。

1.3.2 脉冲光辐照 脉冲光是一种非加热的可替代常规流程的保鲜技术,高能脉冲光可以引起微生物的DNA,蛋白质,细胞膜和其他细胞结构的改变,被美国食品药品监督管理局认可用于净化食品和食品表面。近期研究发现,脉冲光可以减少液体环境中一些真菌毒素,如玉米赤霉烯酮,脱氧雪腐镰刀菌烯醇,黄曲霉毒素B1和赭曲霉毒素的含量^[39]。

Funes等^[40]将含有棒曲霉素的缓冲液,苹果汁和苹果酱样品暴露在2.4~35.8J/cm²的脉冲光中,发现棒曲霉素含量均有显著降低。35.8J/cm²的脉冲光处理30s,在缓冲液中大约残留5%~15%,在苹果汁中大约残留22%。有研究表明,14J/cm²以下脉冲光对苹果汁的pH、糖度、色泽、总酚含量、总抗氧化能力、甜味、酸度和气味无明显影响,而更高的剂量对香味和抗氧化能力均有负面影响^[41]。

既要有好的脱除效果又不影响苹果制品的营养成分和感官特征,选择合适的脉冲光剂量十分重要,而在保持苹果制品品质的前提下,棒曲霉素虽显著减少却未被彻底除去。

1.3.3 紫外线辐照 紫外线辐照也可以减少或消除棒曲霉素^[42]。暴露于14.2~99.4mJ/cm²的UV中,新鲜苹果汁中棒曲霉素的含量呈线性减少(9.4%~43.4%),照射不到15s时减少量最大,且苹果汁的化学组成和感官特征无变化。最近的研究表明,253.7nm的单色紫外线用于苹果汁或苹果酒的商业生产具有可行性^[43]。

该方法操作简便,高通量,成本效益好,同时具有杀菌作用。日光中含有紫外线,可以推测,在日光下暴晒也可以一定程度上减少棒曲霉素的含量,该方法可以尝试用于脱除苹果渣中的棒曲霉素,而难以应用于苹果汁和苹果酱的工业化生产。

此外,应用热处理模拟巴氏消毒也可以降低苹果制品中的棒曲霉素^[44-45]。

2 化学降解

化学脱毒的方法也表现出一定效果。通过氧化,可将棒曲霉素转化为毒性更小的化合物,如在酸、碱

环境中用高锰酸钾氧化含棒曲霉素的实验室废弃物,其含量可减少99.99%以上;或者氨化,处理实验室废弃物中的棒曲霉素,含量也可以减少99.9%,在果汁中可减少99.8%^[46],效果显著,但不适合于可食用的苹果制品生产。

2.1 含硫化合物的作用

用各种含硫化合物处理棒曲霉素也是人们尝试过的方法,例如,使用SO₂与之生成一些混合物。大多数研究一致认为,在SO₂存在下,棒曲霉素是不稳定的^[47-48]。有实验表明,每1kg苹果汁中加100mg SO₂可以减少42%的棒曲霉素。然而,也有实验采用食品企业允许使用SO₂的最大剂量200ppm,处理果汁24h只降低了其中12%的棒曲霉素,2000ppm处理2d后方可减少90%^[13]。可见,SO₂对苹果制品中的棒曲霉素的脱除作用是不彻底的。

在生物体系中含硫化合物常常与棒曲霉素的毒性有关,研究认为谷胱甘肽,半胱氨酸和巯基乙酸盐可以与其反应生成非生物活性产物^[49-50],杀菌作用和对小鼠的致死作用均大大减弱,虽然该处理可以降低棒曲霉素的毒性,但在苹果制品中应用的研究极少。王丽等^[12]选用的两类巯基类物质,即还原型谷胱甘肽和β-乳球蛋白,对澄清苹果汁中棒曲霉素进行降解。二者均有微小缓慢的作用,β-乳球蛋白会致使澄清果汁迅速发生严重混浊,故认为还原型谷胱甘肽和β-乳球蛋白不宜用于苹果汁中的棒曲霉素降解。

2.2 维生素类的作用

人们也尝试利用各种有机酸和维生素脱除棒曲霉素,由于采用的是食品级的添加物,因而这被认为是安全的。

维生素B族,如硫胺素、维生素B₆及泛酸钙,对苹果浓缩汁中棒曲霉素含量具有降低作用,该作用与果汁的保存温度有关。添加它们的果汁在4℃贮藏6个月后,棒曲霉素的降低幅度为55.5%~67.7%,而对照的降低率为35.8%;在(22±2)℃下贮藏6个月后,果汁中的棒曲霉素可被完全降解,但在此条件下,果汁的品质会显著劣变。含有1g/kg和2.5g/kg泛酸钙的果汁在(22±2)℃下贮藏1个月时能维持较好的果汁质量,且棒曲霉素的含量可分别降低73.6%和94.3%,而对照仅降低了42.1%^[51]。它们对苹果汁中的PAT均有一定程度的降解作用,但在保持果汁品质的前提下均不能完全清除。

维生素C、酚类等还原剂都能对棒曲霉素起到一定的降解作用。Drusch等^[52]在含有2mg/L棒曲霉素的柠檬酸-磷酸二氢钠缓冲液中加482mg/L的抗坏血酸,34d后可使棒曲霉素降解至30%,而对照降至68%~71%。其降解可能是由于抗坏血酸氧化为脱氢抗坏血酸时产生羟基自由基引起的,在有氧条件及金属离子的催化作用下抗坏血酸快速氧化可导致棒曲霉素的减少,当抗坏血酸完全氧化后,棒曲霉素则不再降解。由于食品包装内含氧量较低,抗坏血酸氧化缓慢,所以在果汁中加入抗坏血酸抑制棒曲霉素不能视为一种有效的降解手段。

2.3 臭氧的作用

臭氧可以杀菌,对真菌毒素也有一定的氧化降解和解毒作用。用2%、10%和20%质量浓度的臭氧对30μmol/L的棒曲霉素水溶液进行5min处理,分析表明,高浓度的臭氧(20%)能在15s时将PAT迅速降解,且无副产物生成。毒性测试表明,臭氧对棒曲霉素处理15s后可以显著降低毒素的毒性^[53]。

李艳玲等^[54]采用臭氧对水和苹果汁中500、250、200、100、50μg/L浓度的PAT进行5、10、15、20、30min的降解处理。发现毒素浓度越低降解效果越好,处理时间越长降解效果越好,处理15min,50μg/L时的降解率最高,而且该条件下苹果汁的pH、V_c含量、可溶性固形物和色值均没有明显的影响。

臭氧用于食品处理和加工,既可以降低苹果制品中棒曲霉素的浓度,又可以去除毒性,与其他化学方法相比,是一种高效、安全、低廉的降解方法,应进一步研发有效的设备以应用于苹果制品的工业化生产之中。

2.4 其他物质的作用

西北农林科技大学师俊玲等^[55]研究了经米糠、麦皮等天然物质发酵而成的果汁护色剂JPX,Na₂SO₃和维生素C对果汁中棒曲霉素的降解效果,发现0.8g/L JPX对棒曲霉素的降解率为61%,0.5g/L的Na₂SO₃对毒素的降解率为90%,而0.2g/L V_c对毒素的降解率为38%。在苹果浓缩汁加工的榨汁和酶解阶段分别加入0.8g/L和1.6g/L的JPX,降解率可达70%~80%,且对果汁有很好的护色效果。

3 生物降解和解毒

3.1 细菌的降解作用

一些微生物,尤其是细菌,具有减少真菌毒素含量或降低其毒性的能力。乳酸菌作为最重要的胃肠道益生菌被广泛应用在食品工业中,它们对机体的保护作用之一就是食品中的一些毒素,如:杂环芳胺、多环芳烃、活性氧及真菌毒素等具有抗性^[56]。前人研究发现,乳酸菌对强致癌物黄曲霉毒素有解毒作用^[57],近年来,也有一些学者研究了乳酸菌对液态环境中棒曲霉素的脱除作用。Fuchs等^[58]研究了乳酸杆菌、双歧杆菌,乳酸链球菌等20种30株可在食品中添加使用的乳酸菌对棒曲霉素及赭曲霉毒素的降解活性。菌种活化后,经生理盐水洗涤3次,与棒曲霉素一同添加到磷酸盐缓冲液(pH5.0)中,与灭活死菌对照,37℃摇床振荡4h,离心,HPLC检测上清液,发现多株乳酸菌对棒曲霉素有降解活性,其中,动物双歧杆菌VM12的降解活性最高,可去除液体中大约80%的毒素。利用人的肝癌细胞株HepG2进行微核测试(MCN)表明,一些菌株还可以大幅降低棒曲霉素对真核细胞的毒性。

屎肠球菌是可以应用于酸奶、奶酪和饲料生产的一类乳酸菌。Topcu等^[58]研究发现,屎肠球菌M74和EF031可脱除液体环境中的棒曲霉素,其作用随培养时间延长而增强。在pH4.0的环境中脱除率最高,48小时,M74死菌和活菌分别降解了38.6%和41.6%,而EF031死菌和活菌分别降解了36.4%和45.3%,在高

pH环境中降解能力下降。由于活菌和死菌的作用效果不同,他们认为尿肠球菌对棒曲霉素既有细胞壁的吸附脱除作用,又有细胞的代谢转化作用。

3.2 真菌的降解作用

从1977年,Burroughs^[59]发现酵母发酵可以去除大约90%的棒曲霉素后,真菌降解的研究对象主要为酵母菌,它们几乎可以将毒素完全降解。

8株酵母菌培养2周,可降解发酵液中约99%的棒曲霉素,其中6株可降解至不可检测的程度,而对于果汁,同样条件却只减少了10%^[60]。Harwig等^[61]研究得出了相似的结论,发酵2周,酵母菌未能使果汁中棒曲霉素含量显著减少。用酵母菌的蛋白质合成阻断剂——十二碳三烯酸处理,完全阻断了蛋白合成也就彻底阻止了酵母菌的降解作用,在毒素加入3h后,添加十二碳三烯酸,结果出现降解效果,表明蛋白可在3h内被合成并能催化棒曲霉素的降解。因此,酵母菌对棒曲霉素的降解作用是活细胞中酶的催化作用,而非反应加合脱除过程。

Shao等^[62]用气相色谱-质谱联用分析了啤酒酵母降解棒曲霉素过程中的72种代谢物,发现通过酵母发酵,棒曲霉素可以被转化为6种降解产物,其中含量较大的是其还原性的合成前体ascladiol,结构如图2,作用96h,棒曲霉素残余7.0%时ascladiol的浓度最大。

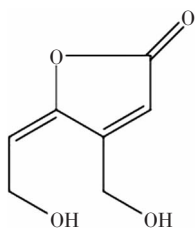


图2 ascladiol的分子结构

Fig.2 Molecular structure of ascladiol

在自然发酵的葡萄酒中存在红冬孢酵母菌^[63]。Castoria等^[64]将红冬孢酵母的LS11菌株细胞(10^5 CFU/mL)与棒曲霉素溶液混合,23℃,150r/min培养72h。薄层色谱检测发现棒曲霉素的斑点消失了,新出现了2个斑点,其中一个斑点一段时间后也会消失。进一步利用HPLC和二维核磁共振谱研究该酵母菌的生物降解作用,鉴定出新的产物为脱氧的棒曲霉素酸(Desoxypatulinic Acid),结构如图3所示。可见,该红冬孢酵母菌的代谢使棒曲霉素的内酯被水解了,这

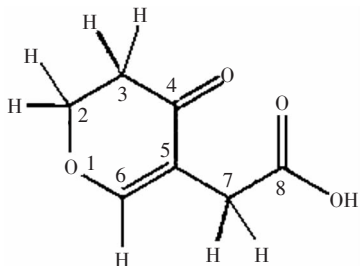


图3 脱氧的棒曲霉素酸的分子结构

Fig.3 Molecular structure of desoxypatulinic acid

既是一个生物降解途径也是一个解毒途径。

利用酵母菌进行生物脱毒显然是有效的,这主要是一些还原酶和内酯降解酶发挥了作用。但作用于苹果汁,效果并不乐观,而且苹果制品必须是可发酵的才能应用。有一些酵母菌本身对棒曲霉素也是敏感的,当其浓度大于200μg/mL时,解毒作用就会被完全抑制。

4 存在问题与展望

各种生长于苹果及其制品中的霉菌是棒曲霉素产生的根源。多数研究工作集中于控制霉菌生长,抑制霉菌产毒及阻止生产过程由原料中带入棒曲霉素,这些工作可以在一定程度上发挥作用,然而大规模生产中残次果及苹果腐烂问题很难避免,因此,寻找高效、安全脱除棒曲霉素的方法非常必要。

目前利用物理方法减少果汁中棒曲霉素的研究已取得了一定进展,有些已应用于生产,如树脂吸附脱除技术,有些具有很好的应用潜力,如分子印迹聚合物脱除技术等。然而,物理吸附脱除技术,棒曲霉素没有得到根本的降解,而是转移进了吸附剂、水、果渣和沉淀物中,这些物质的排放同样对环境造成污染。辐照技术降解效果较好,其关键在于选择合适的辐照剂量,否则会破坏苹果汁的品质。上述两种方法只适用于液态的苹果制品,对于粘度较大或固态制品,如苹果酱、苹果渣中的毒素无法发挥作用。微波处理降解效果好,穿透性强,现在仅限于实验室少量产品的处理,大规模应用技术还不成熟。

化学方法脱除棒曲霉素的研究多用于液态环境,许多能显著减少毒素的方法并不适合于苹果制品。维生素类安全性高,但在保持果汁品质的前提下均不能彻底清除毒素。另外,化学法还涉及到果汁品质和处理成本等诸多问题。臭氧处理是化学处理中最有效的方法,同样涉及到处理成本和技术问题,目前还未能大规模应用。

生物脱除是最环保的一种方法,其特点是脱除效率高,未使用有害化学试剂,不会造成二次污染,安全性好,反应条件温和,对食品营养价值破坏小,但仅适用于可发酵的苹果制品中。目前,研究主要集中在乳酸菌和酵母菌对棒曲霉素的降解及解毒作用,其他物种的降解能力还有待发现,其作用机理也有待进一步探究。

近年来,更多的研究工作倾向于利用微生物脱除各种有毒、有害物质,均有明显的效果。与物理方法相比,微生物降解更彻底;与化学方法相比,用于食品更易于被消费者接受。而且微生物的物种资源丰富,生长代谢迅速,环境适应性强,应用于脱除苹果及其制品中的棒曲霉素蕴藏着巨大潜力。微生物的酶在降解过程中发挥了主要作用,因此,加强对其酶类的研究,使其适用于更广泛的苹果制品,可更高效、更安全的除去棒曲霉素,应用前景十分广阔。

参考文献

- [1] Sant'ana A S, Rosenthal A, Massaguer P R. The fate of patulin in apple juice processing: A review[J]. Food Research

International, 2008, 41(5):441-453.

[2] Zhou SM, Jiang LP, Geng CY, *et al.* Patulin-induced oxidative DNA damage and p53 modulation in HepG2 cells[J]. *Toxicol*, 2010, 55(2-3):390-395.

[3] Alves I, Oliveira NG, Laires A, *et al.* Induction of micronuclei and chromosomal aberrations by the mycotoxin patulin in mammalian cells: role of ascorbic acid as a modulator of patulin clastogenicity[J]. *Mutagenesis*, 2000, 15(3):229-234.

[4] Melo FT, Oliveira IM, Greggio S, *et al.* DNA damage in organs of mice treated acutely with patulin, a known mycotoxin[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2012, 50(10):3548-3555.

[5] Puel O, Galtier P, Oswald IP. Biosynthesis and toxicological effects of patulin[J]. *Toxins*, 2010, 2(4):613-631.

[6] Kawauchiya T, Takumi R, Kudo Y, *et al.* Correlation between the destruction of tight junction by patulin treatment and increase of phosphorylation of ZO-1 in Caco-2 human colon cancer cells[J]. *Toxicology Letters*, 2011, 205(2):196-202.

[7] Glaser N, Stopper H. Patulin: Mechanism of genotoxicity[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2012, 50(5):1796-1801.

[8] Wu TS, Liao YC, Yu FY, *et al.* Mechanism of patulin-induced apoptosis in human leukemia cells(HL-60)[J]. *Toxicology Letters*, 2008, 183(1-3):105-111.

[9] Mohan HM, Collins D, Maher S, *et al.* The mycotoxin patulin increases colonic epithelial permeability *in vitro*[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2012, 50(11):4097-4102.

[10] Saxena N, Ansari KM, Kumar R, *et al.* Role of mitogen activated protein kinases in skin tumorigenicity of Patulin[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2011, 257(2):264-271.

[11] Kwon O, Soung NK, Thimmegowda NR, *et al.* Patulin induces colorectal cancer cells apoptosis through EGR-1 dependent ATF3 up-regulation[J]. *Cellular Signalling*, 2012, 24(4):943-950.

[12] 王丽. 展青霉素降解技术方法研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2007.

[13] Moake MM, Padilla-Zakour OL, Worobo RW. Comprehensive Review of Patulin Control Methods in Foods[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2005, 4(1):8-21.

[14] Baert K, Meulenaer B, Kamala A, *et al.* Occurrence of patulin in organic, conventional, and handcrafted apple juices marketed in Belgium[J]. *Journal of Food Protection*, 2006, 69(6):1371-1378.

[15] Spadaro D, Garibaldi A, Gullino ML. Occurrence of patulin and its dietary intake through pear, peach, and apricot juices in Italy[J]. *Food Addit Contam*, 2008, 1(2):134-139.

[16] Reddy KRN, Spadaro D, Lore A, *et al.* Potential of patulin production by *Penicillium expansum* strains on various fruits[J]. *Mycotox Res*, 2010, 26(4):257-265.

[17] Barreira MJ, Alvito PC, Almeida CMM. Occurrence of patulin in apple-based-foods in Portugal[J]. *Food Chemistry*, 2010, 121(3):653-658.

[18] 张亚健, 刘阳, 邢福国. 我国浓缩苹果汁生产现状及棒曲霉素对其品质的危害[J]. *食品科技*, 2009, 34(11):54-57.

[19] Mutlu M, Hizarcioglu N, Gokmen V. Patulin adsorption

kinetics on activated carbon, activation energy, and heat of adsorption[J]. *Journal of Food Science*, 1997, 62(1):128-130.

[20] Leggott NL, Shephard G S, Stockenstrom S. The reduction of patulin in apple Juice by three different types of activated carbon[J]. *Food Additives Contaminants*, 2001, 18(9):825-829.

[21] Kadakal C, Nas S. Effect of activated charcoal on patulin fumaric acid and some other properties of apple juice[J]. *Nahrung*, 2002, 46(1):31-33.

[22] Huebner HJ, Mayura K, Pallaroni L. Development and Characterization of a Carbon-Based Composite Material for Reducing Patulin Levels in Apple Juice[J]. *Journal of Food Protection*, 2000, 63(1):106-110.

[23] 朱振宝, 易建华, 寇晓康. 苹果汁中棒曲霉素的吸附动力学研究[J]. *食品科学*, 2006, 27(6):91-95.

[24] 刘华峰, 韩舜愈, 盛文军, 等. 不同树脂对苹果汁棒曲霉素的吸附[J]. *甘肃农业大学学报*, 2010, 45(3):126-130.

[25] Appell M, Jackson MA, Dombrink-Kurtzman MA. Removal of patulin from aqueous solutions by propylthiol functionalized SBA-15[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 187(1-3):150-156.

[26] Khorrami AR, Taherkhani M. Synthesis and Evaluation of a Molecularly Imprinted Polymer for Pre-concentration of Patulin from Apple Juice[J]. *Chromatographia*, 2011, 73(1):S151-S156.

[27] Zhao DY, Jia JF, Yu XL, *et al.* Preparation and characterization of a molecularly imprinted polymer by grafting on silica supports: a selective sorbent for patulin toxin[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2011, 401(7):2259-2273.

[28] 成妮妮. 乳酸菌抗真菌生物防腐剂作用机理和前景展望[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(4):430-433.

[29] Kabak B, Dobson ADW, Var I. Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: A review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2006, 46(8):593-619.

[30] El-Nezami H, Polychronaki N, Salminen S, *et al.* Binding rather than metabolism may explain the interaction of two food-grade *Lactobacillus* strains with zearalenone and its derivative azearalenol[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68(7):3545-3549.

[31] 董媛, 岳田利, 袁亚宏, 等. 三种失活酵母对苹果汁中展青霉素去除研究[J]. *食品工业*, 2013, 34(1):116-118.

[32] 郭彩霞, 岳田利, 袁亚宏, 等. 基于傅里叶变换红外光谱的灭活酿酒酵母菌对展青霉素的吸附机理分析[J]. *光谱学与光谱分析*, 2013, 33(3):672-676.

[33] Appell M, Jacksonb MA. Synthesis and evaluation of cyclodextrin-based polymers for patulin extraction from aqueous solutions[J]. *J Incl Phenom Macrocycl Chem*, 2010, 68(1-2):117-122.

[34] Casadio S, Niola I. Patulin destabilization in fruit juices using microwaves[J]. *Industrie Delle Bevande*, 1993, 123(22):10-11.

[35] 张小平, 李元瑞, 师俊玲, 等. 苹果汁中棒曲霉素控制技术研究进展[J]. *中国农业科学*, 2004, 37(11):1672-1676.

[36] 张小平, 李元瑞, 师俊玲, 等. 微波处理对苹果汁中棒曲霉素的破坏作用[J]. *农业机械学报*, 2006, 37(3):64-67.

[37] Zegota H, Zegota A, Bachmann S. Effect of irradiation on

- the patulin content and chemical composition of apple juice concentrates[J]. *Z. Lebensm. Unters Forsch*, 1988, 187(3): 235–238.
- [38] Yun H, Lima S, Jo C, *et al.* Effect of organic acids, amino acids and ethanol on the radio-degradation of patulin in an aqueous model system[J]. *Radiation Physics and Chemistry*, 2008, 77(6): 830–834.
- [39] Moreau M, Lescure G, Agoulon A, *et al.* Application of the pulsed light technology to mycotoxin degradation and inactivation[J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2013, 33(5): 357–363.
- [40] Funes G J, Gómez PL, Resnik SL, *et al.* Application of pulsed light to patulin reduction in McIlvaine buffer and apple products[J]. *Food Control*, 2013, 30(2): 405–410.
- [41] Palgan I, Caminiti IM, Muñoz A, *et al.* Effectiveness of High Intensity Light Pulses (HILP) treatments for the control of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in apple juice, orange juice and milk[J]. *Food Microbiology*, 2011, 28(1): 14–20.
- [42] Dong QF, Manns DC, Feng GP, *et al.* Reduction of Patulin in Apple Cider by UV Radiation[J]. *Journal of Food Protection*, 2010, 73(1): 69–74.
- [43] Zhu Y, Tatiana K, Warriner, Keith W, *et al.* Kinetics of patulin degradation in model solution, apple cider and apple juice by ultraviolet radiation[J]. *Food and Technology International*, 2013, 19(4): 291–303.
- [44] Kadakal C, Nas S. Effect of heat treatment and evaporation on patulin and some other properties of apple juice[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2003, 83(9): 987–990.
- [45] Raiola A, Meca G, García-Llata G, *et al.* Study of thermal resistance and *in vitro* bioaccessibility of patulin from artificially contaminated apple products[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2012, 50(9): 3068–3072.
- [46] Freym JM, Castegnaro MJJ, Gleizes E, *et al.* Procedures for destruction of patulin in laboratory wastes[J]. *Food Additives and Contaminants*, 1995, 12(3): 331–336.
- [47] Pohland AE, Allen R. Stability studies with patulin[J]. *Journal-Association of Official Analytical Chemists*, 1970, 53(4): 688–691.
- [48] Ough CS, Corison CA. Measurement of patulin in grapes and wines[J]. *Journal of Food Science*, 1980, 45(3): 476–478.
- [49] Morgavi DP, Boudra H, Jouany JP, *et al.* Prevention of patulin toxicity on rumen microbial fermentation by sh-containing reducing agents[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(23): 6906–6910.
- [50] Lindroth S, von Wright A. Detoxification of patulin by adduct formation with cysteine[J]. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 1990, 10(4–5): 254–259.
- [51] Yazici S, Velioglu YS. Effect of thiamine hydrochloride, pyridoxine hydrochloride and calcium-D-pantothenate on the patulin content of apple juice concentrate[J]. *Nahrung*, 2002, 46(4): 256–257.
- [52] Drusch S, Kopka S, Kaeding J. Stability of patulin in a juice-like aqueous model system in the presence of ascorbic acid[J]. *Food Chemistry*, 2007, 100(1): 192–197.
- [53] McKenzie KS, Sarr AB, Mayura K, *et al.* Oxidative Degradation and Detoxification of Mycotoxins Using a Novel Source of Ozone[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 1997, 35(8): 807–820.
- [54] 李艳玲, 惠伟, 赵政阳, 等. 臭氧对苹果汁中棒曲霉素的降解效果研究[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(10): 120–123.
- [55] 师俊玲, 张小平, 李元瑞, 等. 果汁护色剂JPX对苹果汁中棒曲霉素的降解作用及护色效果[J]. *农业工程学报*, 2006, 22(10): 237–239.
- [56] Fuchs S, Sontag G., Stidl R, *et al.* Detoxification of patulin and ochratoxin A, two abundant mycotoxins, by lactic acid bacteria[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46(4): 1398–1407.
- [57] El-Nezami H, Mykkanen H, Kankaanpää P, *et al.* Ability of *Lactobacillus* and *Propionibacterium* strains to remove aflatoxin B1 from the chicken duodenum[J]. *Journal of Food Protection*, 2000, 63(4): 549–552.
- [58] Topcu A, Bulat T, Wishah R, *et al.* Detoxification of aflatoxin B1 and patulin by *Enterococcus faecium* strains[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2010, 139(3): 202–205.
- [59] Burroughs LF. Stability of patulin to sulfur dioxide and to yeast fermentation[J]. *Journal-Association of Official Analytical Chemists*, 1977, 60(1): 100–103.
- [60] Stinson EE, Osman SF, Huhtanen CN, *et al.* Disappearance of patulin during alcoholic fermentation of apple juice[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1978, 36(4): 620–622.
- [61] Harwig J, Scott PM, Kennedy BPC, *et al.* Disappearance of patulin from apple juice fermented by *Saccharomyces* spp[J]. *Can Inst Food Sci Technol J*, 1973, 6(1): 45–46.
- [62] Shao SQ, Zhou T, McGarvey BD. Comparative metabolomic analysis of *Saccharomyces cerevisiae* during the degradation of patulin using gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2012, 94(3): 789–797.
- [63] 王泽举, 刘延琳, 刘爱国, 等. 新疆葡萄酒自然发酵过程酵母菌的种类和动态变化[J]. *华中农业大学学报*, 2008, 27(5): 664–667.
- [64] Castoria R, Mannina L, Durán-Patrón R, *et al.* Conversion of the Mycotoxin Patulin to the Less Toxic Desoxypatulinic Acid by the Biocontrol Yeast *Rhodosporidium kratochvilovae* Strain IS11[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(21): 11571–11578.

欢迎订阅《食品工业科技》，邮发代号2-399