



DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20180371

我国传统食醋生产过程中潜在危害因子的综述

郑宇^{1,2}, 张强¹, 刘静¹, 郭志鹏², 马建芳², 宋佳¹, 王敏¹

- (1. 食品营养与安全国家重点实验室, 天津市微生物代谢与发酵过程控制技术工程中心,
天津科技大学生物工程学院, 天津 300457;
2. 山西老陈壹号生物科技有限公司, 晋中 030600)

摘要: 食醋是人们日常生活中重要的调味品, 具有悠久的历史. 我国传统食醋主要由高粱、大米、糯米等富含淀粉质原料发酵而成. 近年来, 随着技术的进步, 传统食醋在生产工艺等方面不断改善, 产品质量安全水平不断提升, 但传统食醋从原料到发酵生产过程仍存在一些潜在的安全问题. 本文主要从真菌毒素、有害胺(氨)、致病微生物等方面综述了我国传统食醋领域存在的潜在危害因子, 并分析了其产生途径, 探讨了预防措施, 有利于企业保障产品质量, 促进传统食醋行业的健康发展.

关键词: 传统食醋; 危害因子; 真菌毒素; 有害胺(氨); 致病微生物

中图分类号: TS264 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-6510(2019)04-0001-08

Potential Harmful Factors in Chinese Traditional Vinegar Production: A Review

ZHENG Yu^{1,2}, ZHANG Qiang¹, LIU Jing¹, GUO Zhipeng², MA Jianfang²,
SONG Jia¹, WANG Min¹

- (1. State Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, Tianjin Engineering Research Center of
Microbial Metabolism and Fermentation Process Control, College of Biotechnology,
Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;
2. Shanxi Laochen Yi Biotechnology Co., Ltd., Jinzhong 030600, China)

Abstract: Vinegar is an important condiment, which has a long history. The traditional vinegars in China are mainly fermented with some starch-rich raw materials, such as sorghum, rice and glutinous rice, etc. With the development of technology, the production of traditional vinegars has been improved, and both the quality and safety of the products are better than before. However, there are still some potential safety problems from raw materials and fermentation process. In this article the potential harmful factors of the traditional Chinese vinegars related to mycotoxins, harmful amines (ammonia) and pathogens are summarized. Also, their in producing pathways and precaution approaches were discussed. We wish it will be helpful for enterprises to guarantee the quality and safety of their products, and beneficial for the development of the traditional vinegar industry.

Key words: traditional vinegar; harmful factor; mycotoxin; harmful amine (ammonia); pathogenic microorganism

食醋是我国消费量最大的酸性调味品, 不仅广泛用于菜品的烹饪和蘸食, 还用于酱腌菜等产品的家庭制作和保藏. 目前, 根据生产工艺和成分组成, 食醋可以分为酿造食醋和配制食醋. 酿造食醋是单独或

混合使用各种含有淀粉、糖的物料或食用酒精, 经微生物发酵酿制而成的液体酸性调味品; 配制食醋是以酿造食醋为主体, 与冰乙酸等混合配制而成的调味食醋, 且酿造食醋的添加量不得少于 50% (2019 年 12

收稿日期: 2018-10-23; 修回日期: 2019-05-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31671851, 31471722); 晋中市科技重点研发计划资助项目(Y182001)

作者简介: 郑宇(1980—), 男, 河北石家庄人, 教授; 通信作者: 王敏, 教授, minw@tust.edu.cn

月 21 日后, 配制食醋将被定义为复合调味料)^[1].

食醋在我国具有悠久的历史, 传统食醋使用各种谷物, 如高粱、糯米、大米、大麦、豌豆等为原料, 经制曲、酒精发酵、醋酸发酵和陈酿等阶段酿制而成, 含有丰富的有机酸、氨基酸等物质, 酸味柔和, 口感独特, 并且还含有多酚、黄酮、类黑素、川芎嗪等功能因子, 具有一定的抗氧化、预防高血压、降血脂等保健功能^[2]. 我国著名的传统食醋有山西老陈醋、镇江香醋、四川麸醋、永春老醋、独流老醋、浙江玫瑰醋、凉山晒醋等. 我国传统食醋普遍采用多菌种参与的开放式发酵工艺, 发酵周期较长, 发酵过程中微生物群落不断演替变化, 从而完成大分子原料的降解、转化、代谢等过程. 近年来, 我国传统食醋行业发展迅速, 在酿造工艺、生产环境等方面不断改进, 传统食醋质量和安全水平不断提升, 但由于发酵体系的复杂性, 传统食醋发酵过程中仍存在一些潜在的危害因子, 威胁产品质量安全.

本文综述了我国传统食醋发酵原料和发酵过程中真菌毒素、有害胺(氨)类、致病微生物等潜在危害因子及其潜在来源, 并讨论了其预防策略, 有助于指导我国传统食醋生产技术的进步与产品质量控制, 促进行业健康发展.

1 真菌毒素

1.1 真菌毒素的危害

真菌毒素是由真菌产生的具有毒性的次级代谢产物, 常发现于各种谷物及其相关制品中, 会对人体健康造成严重危害, 其中以曲霉属的黄曲霉毒素(aflatoxin, AFT) B1 和赭曲霉毒素(ochratoxin, OT) A 最为严重和常见^[3-5]. 此外还有玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)以及伏马菌素(fumonisin, FB)等^[5].

1.1.1 黄曲霉毒素 B1

曲霉属真菌产生的真菌毒素是最早被发现并被重视的一类真菌毒素, 不仅其种类繁多, 而且对人体的危害较大. 黄曲霉毒素 B1 是其中毒性最大、最为常见的一种.

(1) 黄曲霉毒素 B1 的危害

黄曲霉毒素主要是由黄曲霉、寄生曲霉等产生的次级代谢产物^[6], 是一类化学结构类似的化合物, 均为二氢呋喃香豆素的衍生物, 其中以黄曲霉毒素 B1 的毒性最大. 黄曲霉毒素 B1 具有较强的耐热性, 分

解温度在 268 °C 左右, 食物被黄曲霉毒素 B1 污染后, 正常的烹饪过程不能破坏其结构^[7]. 黄曲霉毒素 B1 可以通过呼吸道、黏膜或皮肤等途径毒害人体, 低浓度的黄曲霉毒素 B1 可导致原发性中毒, 主要症状包括消化不良、生长缓慢、先天性畸形、致突变和致癌症等^[6-7]. 高浓度的黄曲霉毒素 B1 可导致急性病症, 症状包括出血、急性肝损伤、水肿、消化问题, 甚至死亡^[6]. 黄曲霉毒素 B1 的半数动物致死量 LD₅₀ 为 0.249 mg/kg, 毒性是氰化钾的 10 倍, 敌敌畏的 100 倍. 鉴于黄曲霉毒素 B1 影响的广泛性和毒性的严重性, 国际癌症研究机构已经将黄曲霉毒素 B1 列为第一类致癌物^[8]. 欧盟对谷物及谷物制品中黄曲霉毒素 B1 的限制标准为 2 μg/kg^[8]. 我国 GB 2761—2017 《食品安全国家标准·食品中真菌毒素限量》^[9]规定, 调味品(包括酱油、醋、酿造酱)的黄曲霉毒素 B1 限制标准为 5 μg/kg, 与日本、美国的标准相近.

(2) 传统食醋中的黄曲霉毒素 B1 的产生途径

我国传统食醋的酿造主要以谷物及其衍生品为原辅料, 这些原辅料容易受到包括黄曲霉毒素 B1 在内的真菌毒素的污染, 并且黄曲霉毒素在中性和酸性条件下具有较好的稳定性, 最终带入到食醋产品中. 能够产生黄曲霉毒素 B1 的曲霉属在多种谷物及其相关制品中都有发现, 在谷物储存和运输过程中操作不规范有可能被黄曲霉污染^[10]. 除原料外, 制曲与食醋酿造过程也有可能受到真菌毒素的污染. 传统食醋多采用“曲”作为发酵剂, 曲中微生物体系复杂, 存在如毛霉、根霉、曲霉(包括能够产生黄曲霉毒素的黄曲霉、寄生曲霉)等微生物, 这些微生物具有分泌糖化酶、淀粉酶等功能, 也存在代谢产生真菌毒素的潜在可能^[7,10]. 酒精发酵前期需要定期搅拌, 酵母、霉菌等是主要的真菌, 它们可能主要来源于“曲”, 酒精发酵进入厌氧阶段后, 酒醪中的霉菌数急剧下降, 直至酒精发酵结束^[11]. 醋酸发酵阶段由于酸度较高, 几乎检测不到霉菌^[11]. 大多数霉菌生长繁殖的最适宜温度是 25 ~ 30 °C, 黄曲霉的产毒温度为 25 ~ 32 °C, 黄曲霉毒素的合成与霉菌生长的最适温度接近^[8,10], 因此, 在传统食醋的生产过程中可能存在黄曲霉毒素 B1 超标的安全隐患. 2010 年, 曹泽虹等^[12]对市售的 21 个食醋样品中黄曲霉毒素 B1 的检测结果显示, 有一个醋样中黄曲霉毒素 B1 含量达到了 8.530 μg/kg.

1.1.2 赭曲霉毒素 A

赭曲霉毒素是一类由苯丙氨酸与异香豆素组成的结构类似的聚酮类化合物, 它是由曲霉菌和青霉菌

产生的真菌毒素,其中毒性最大、分布最广的是赭曲霉毒素 A^[13]。

(1) 赭曲霉毒素 A 的危害

赭曲霉毒素 A 主要通过竞争性取代苯丙氨酰-tRNA 合成酶催化反应中的苯丙氨酸来抑制相关蛋白质合成,同时也能通过脂质过氧化和自由基形成诱导氧化应激,从而导致疾病的发生^[14]。赭曲霉毒素 A 对人和动物具有肾毒性、致畸性、致癌性以及潜在的神经毒性等^[15]。赭曲霉毒素 A 已在如豆酱^[16]、食醋^[17]等传统发酵食品中被检出。2017年10月,世界卫生组织国际癌症研究机构将赭曲霉毒素 A 归类在 2B 类致癌物清单中。虽然目前没有明确关于食醋中赭曲霉毒素 A 的限量标准,但相关产品中,欧盟对未加工谷物最高限量为 5 μg/kg,谷物加工产品最高限量为 3 μg/kg,葡萄酒及果酒中最高限量为 2 μg/L^[18]。韩国对豆酱及其相关食品中赭曲霉毒素 A 的最高限量为 20 μg/kg^[18]。中国在 GB 2761—2017《食品安全国家标准·食品中真菌毒素限量》^[9]中规定,赭曲霉毒素 A 在谷物及谷物加工产品中的限量为 5 μg/kg。

(2) 传统食醋中的赭曲霉毒素 A 的产生途径

赭曲霉毒素 A 主要是由曲霉菌和青霉菌产生的,而曲霉菌和青霉菌是传统食醋制曲阶段主要的真菌,在制曲阶段富集并且在酒精发酵阶段仍然存在,这些真菌中可能存在潜在的赭曲霉毒素 A 产生菌^[19]。与黄曲霉毒素 B1 类似,传统食醋中的赭曲霉毒素 A 污染可能来源于制曲、酒精发酵阶段及酿造原料。已有研究^[4]表明大曲生产过程中赭曲霉毒素 A 的浓度先迅速升高,然后缓慢降低,最后趋于稳定,与霉菌的生长规律基本一致。此外,传统食醋生产用谷物原料等也可能受到赭曲霉毒素 A 的污染,可能会随着发酵生产迁移到食醋产品中。

1.1.3 其他真菌毒素

除了黄曲霉毒素和赭曲霉毒素外,传统食醋还可能受到玉米赤霉烯酮、脱氧雪腐镰刀菌烯醇和伏马菌素等其他真菌毒素的污染。玉米赤霉烯酮和脱氧雪腐镰刀菌烯醇是世界上污染范围最广的两种镰刀霉毒素,伏马菌素近年来在全球范围内的污染也越来越严重^[20]。

玉米赤霉烯酮主要是由镰刀菌产生,广泛存在于高粱、小麦等谷物及谷物制品中,具有免疫毒性、类雌激素作用、肝毒性、细胞毒性等,尤其对生殖系统具有严重的损害作用^[21]。脱氧雪腐镰刀菌烯醇又称作呕吐毒素,结构上属于单端孢霉烯族化合物^[20],虽

然暂未发现明显的致癌、致突变性,但具有广泛的毒性效应,如引起腹泻、呕吐、肠道坏死等,能够抑制蛋白、DNA 和 RNA 的合成,抑制线粒体功能,还能够破坏正常的细胞分裂和细胞膜的完整性,诱导细胞凋亡^[20]。伏马菌素是由串珠镰刀菌产生的结构类似的水溶性双酯化合物,对人体具有神经毒性、器官毒性、免疫毒性、致癌性等^[22]。法国规定谷物及谷物制品中玉米赤霉烯酮的最大含量为 50 μg/kg^[21];欧盟规定谷物脱氧雪腐镰刀菌烯醇的最大残留限量值为 1 250 μg/kg^[23]。我国在 GB 2761—2017《食品安全国家标准·食品中真菌毒素限量》^[9]中规定了谷物和谷物制品中玉米赤霉烯酮和脱氧雪腐镰刀菌烯醇的限量标准分别为 60 μg/kg 和 1 000 μg/kg。

虽然高粱、大米等传统食醋酿造原料受到上述真菌毒素的污染会带来潜在的危害^[24-26],但大多数食醋生产企业对原料有严格的质量控制,目前并没有直接证据表明食醋中含有这些真菌毒素。

1.2 传统食醋中真菌毒素的预防

传统食醋真菌毒素污染主要有两种途径:一种为外源性污染,主要是原料在田间或储存过程中受到真菌污染而产生相关毒素,并进一步带入终端产品中;另一种为内源性毒素,主要由污染微生物在发酵过程中产生^[4]。

对于预防外源性真菌毒素污染的措施主要是保障传统食醋发酵用原料的质量安全:食醋生产企业要注意采购原料的质量安全分析与检测,禁用真菌毒素含量超标的原料。霉变原料中通常含有大量的真菌毒素,要做到不使用霉变原料。原料在储存过程中要采取防霉变和黄变的措施,如通风、干燥等。“曲”是酿造食醋的重要原料,“曲”的质量影响食醋的质量安全,制“曲”生产不规范可能导致真菌毒素的大量积累并带入到食醋中,因此有必要规范食醋用“曲”的生产,包括优化并控制制“曲”温度、湿度、发酵时间及通风情况等,规范酿造用“曲”的保存条件。此外,选用真菌毒素生物合成途径缺陷的霉菌制“曲”,能够有效地减少制“曲”过程中真菌毒素的生成和积累^[7]。

对于预防内源性真菌毒素污染的措施主要是规范食醋发酵过程,保障生产环境清洁卫生,优化发酵菌群等。已有生产企业采用低温酒精发酵的方法,不仅能够改善食醋风味,还能有效避开霉菌等真菌毒素产生的最适温度区间。选育具有降解真菌毒素的优良菌株,以预防和控制真菌毒素的代谢和积累,如已

有利用枯草芽胞杆菌和青枯菌消除黄曲霉毒素的相关报道^[27]。此外,有研究^[28]表明在高强度(24 mW/cm²)的紫外光条件下,脱氧雪腐镰刀菌烯醇等真菌毒素的含量迅速减少。

2 有害胺(氨)类

2.1 有害胺(氨)类的危害

在食醋等传统发酵食品生产过程中,由于含氮化合物的不完全代谢而生成的胺(氨)类物质是影响传统发酵食品安全的重要因素,其中以生物胺(biogenic amine, BA)和氨基甲酸乙酯(ethyl carbamate, EC)最具代表性^[29-30]。传统食醋中的有害胺(氨)类能在食醋发酵过程中自然生成,其中生物胺主要在食醋的酒精发酵阶段生成,氨基甲酸乙酯在食醋的酒精发酵和醋酸发酵阶段都能产生^[29-30]。

2.1.1 生物胺

生物胺是一类具有生物活性的、含氨基的低分子质量有机化合物的总称,常在发酵食品中发现,并且偶尔可以高浓度积累。发酵食品中的生物胺主要由微生物产生的氨基酸脱羧酶作用于氨基酸生成,如组胺、酪胺、尸胺、腐胺、色胺、 β -苯乙胺、精胺和亚精胺等^[31]。

(1) 生物胺的危害

生物胺可以参与荷尔蒙、核苷酸、蛋白质等的合成,适量摄入能够促进生长、增强代谢活性和清除自由基等,但是过量摄入则会引起头疼、心悸、呕吐和腹泻等症状^[30]。生物胺的热稳定性很强,一旦形成很难被烹饪、冷冻或其他加工方式破坏^[32]。目前暂未有明确的关于食醋中生物胺的限量标准,但一些国家和地区根据部分食品的特性给出了生物胺的限量标准,如欧盟规定除酒类外食品中组胺含量不得超过100 mg/kg,酪胺含量不得超过800 mg/kg^[33]。由于乙醇会加强生物胺的毒性,因此生物胺在酒类中的限量标准要严于普通食品,如澳大利亚和瑞士规定葡萄酒中的组胺含量不得高于10 mg/L,法国规定不得高于8 mg/L,荷兰规定不得高于3.5 mg/L,德国规定不得高于2 mg/L^[33]。此外,美国食品药品监督管理局对酪胺和苯乙胺的安全阈值给出的建议参考上限分别为800 mg/(kg·d)和30 mg/(kg·d)^[33]。我国在GB 5009.208—2016《食品安全国家标准·食品中生物胺的测定》^[34]中规定了生物胺在酒类、醋、酱油中的检测方法,但目前暂未明确生物胺在食醋中的限量

标准。

(2) 传统食醋中生物胺的产生途径

虽然在所分析的传统食醋或醋饮料样品中,生物胺的含量普遍低于国际上传统发酵食品中生物胺的限量标准,但仍有部分生物胺含量偏高。2017年,李志军^[35]曾对中国传统调味品中的生物胺进行检测,发现腐胺、尸胺、组胺和酪胺的含量变化幅度较大,分别为0~291.6、0~254.16、0~187.95、0~176.27 mg/L。2015年,黄祖新^[36]对某传统食醋中生物胺含量进行了分析,发现其中的生物胺主要是腐胺和尸胺,质量浓度分别为139.32 mg/L和100.10 mg/L,其次是酪胺(37.12 mg/L)和组胺(24.47 mg/L)。

传统食醋中生物胺的主要来源是氨基酸的脱羧反应,因此生物胺的形成一般需要3个前提条件:存在游离氨基酸,存在产氨基酸脱羧酶的微生物,有氨基酸脱羧酶发挥活性的条件^[30]。传统食醋的发酵过程包括酒精发酵和醋酸发酵等阶段,其中酒精发酵阶段,由于醪液中富含氨基酸类化合物,并且发酵条件有利于微生物合成氨基酸脱羧酶,因此更有利于生物胺的生成,生物胺在酒精发酵中期达到最大值,随后出现下降或波动^[37]。氨基酸转化成生物胺可以使pH上升,从而有利于微生物在酸性环境中生存,因此,传统食醋发酵过程微生物生成生物胺可能是其抵制酸性环境的应激反应^[30]。在醋酸发酵阶段,由于醋醅的酸度快速升高,许多产氨基酸脱羧酶的微生物不能在醋醅中生长和代谢,并且生物胺可能会被其他耐酸微生物分解,因此醋酸发酵和陈酿阶段生物胺呈现下降趋势^[29]。2014年,邓朝霞^[29]通过比较某品牌食醋中生物胺浓度随陈酿时间的变化发现,随陈酿时间延长生物胺呈降低的趋势,陈酿1月、2月、3月、6月和12月的产品中生物胺平均质量浓度分别为85.12、52.92、38.08、16.80、22.98 mg/L。

2.1.2 氨基甲酸乙酯

氨基甲酸乙酯又名尿烷,可由尿素、瓜氨酸等前体物质与乙醇反应生成,在多种发酵食品,如黄酒、葡萄酒、食醋、酱油中均被发现^[38]。2014年,陈达炜等^[39]对市售的22份食醋样品检测发现,食醋中氨基甲酸乙酯的检出率为60%,平均值为24.5 μ g/kg。2016年,唐双双等^[40]对20份市售食醋的检测结果显示,氨基甲酸乙酯含量为21.18~73.57 μ g/kg。

(1) 氨基甲酸乙酯的危害

氨基甲酸乙酯具有一定的神经毒性、强烈的肺毒性、胃毒性和较强的致癌性,可从肠道和皮肤被快速

吸收,长期摄入会显著增加各种癌症的发病率^[41]。2017年10月,世界卫生组织国际癌症研究机构公布的致癌物清单中,氨基甲酸酯被列为2A类致癌物。加拿大规定了酒类产品中氨基甲酸酯的限值,其中佐餐葡萄酒的限量为30 μg/L;美国规定佐餐葡萄酒中氨基甲酸酯限量为15 μg/L,餐后甜葡萄酒的限量为60 μg/L^[42]。我国在国家标准GB 5009.223—2014《食品安全国家标准·食品中氨基甲酸酯的测定》^[43]中规定了氨基甲酸酯的检测方法(适用于啤酒、葡萄酒、黄酒、白酒等酒类以及酱油中氨基甲酸酯含量的测定),但目前并没有明确食醋中氨基甲酸酯检测方法和限量标准。

(2) 传统食醋中的氨基甲酸酯的产生途径

氨基甲酸酯可由氨基酸、尿素、瓜氨酸、N-氨基甲酰基复合物等前体物质与乙醇反应得来,此反应可在传统食醋的发酵和储藏的过程中自发进行^[44]。由于传统食醋中氨基甲酸酯含量相对较低且没有关于传统食醋中氨基甲酸酯直接引起疾病的相关报道,所以传统食醋中氨基甲酸酯的关注较少^[30]。我国传统食醋发酵过程中氨基酸组成丰富,乙醇含量较高,并且发酵过程微生物群落组成复杂,可能潜在氨基甲酸酯的危害^[40]。在酒精发酵阶段,酵母菌是优势菌群,酿酒酵母能够代谢精氨酸产生尿素,随后以尿素和乙醇反应生成氨基甲酸酯;在醋酸发酵阶段,乳酸菌是优势菌群,乳酸菌可以通过精氨酸-脱亚胺酶途径生成瓜氨酸,随后以瓜氨酸和乙醇反应也能生成氨基甲酸酯^[45]。氨基甲酸酯在发酵过程的生成和累积可能对消费者的健康产生潜在危害。

2.2 传统食醋中有害胺(氨)类的预防

2.2.1 传统食醋中生物胺的预防

生物胺的生成主要是微生物产生的氨基酸脱羧酶作用的结果,其在传统食醋中的生成,需要有产生氨基酸脱羧酶的微生物以及保证其活性的条件^[30],因此传统食醋发酵过程中影响微生物生长以及酶发挥生物催化作用的因素都会对生物胺的积累产生影响,如发酵的温度、酸度、盐度等。正常情况下,传统食醋中生物胺的含量是较低的,但是当发酵过程受到污染,产氨基酸脱羧酶的微生物成为发酵菌群中的优势微生物,就有可能引起生物胺的过量积累^[46]。预防传统食醋中生物胺的过量积累主要考虑以下措施:(1)通过选育应用氨基酸脱羧酶缺陷的微生物用于传统食醋发酵,避免生物胺的积累;(2)一些微生物(如芽胞杆菌属、乳杆菌属、片球菌属等)可以产生生物

胺氧化酶,这些酶能够通过脱氨作用降解生物胺,在氧气存在下生成NH₃和H₂O₂,可以选育适合传统食醋发酵条件并且产生生物胺氧化酶的微生物用于发酵过程,以降解过高的生物胺;(3)有研究^[32]表明氧气能够抑制生物胺的积累,因此传统食醋醋酸发酵阶段翻醅工艺的合理控制也能够起到减少生物胺积累的效果。

2.2.2 传统食醋中氨基甲酸酯的预防

传统食醋中氨基甲酸酯一方面与微生物代谢产生的精氨酸、尿素等有关,另一方面还与发酵及陈酿条件有关。预防传统食醋中的氨基甲酸酯主要考虑以下措施:(1)传统食醋的发酵条件,如光照、pH、氧气等都会影响氨基甲酸酯的形成,在发酵过程中降低温度、pH及添加适量的磷酸氢二钾作为补充剂,能够明显降低氨基甲酸酯浓度^[45];(2)选育低产精氨酸和尿素的菌株,如培育缺乏精氨酸酶的酵母,减少精氨酸生成,或者增加尿素代谢相关酶基因的表达,降低尿素的形成,从而减少氨基甲酸酯的形成和积累^[41];(3)食醋中氨基甲酸酯的含量随着陈酿时间逐渐降低,适当延长陈酿时间是减少食醋中氨基甲酸酯含量的最经济有效的方法^[45]。

3 致病性微生物

3.1 致病性微生物的危害

传统食醋中含有较高浓度的乙酸等有机酸,乙酸可以通过改变蛋白构型,扰乱多肽链的折叠方式,造成蛋白变性并导致细菌死亡,使得绝大多数致病性微生物不能生长繁殖^[47]。但一些芽胞杆菌属的细菌生成的芽孢结构致密,较难被破坏,一旦条件适宜即可迅速大量繁殖^[48-49],如蜡样芽胞杆菌(*Bacillus cereus*)等。

3.1.1 蜡样芽胞杆菌

(1) 蜡样芽胞杆菌的危害

蜡样芽胞杆菌属于芽胞杆菌属(*Bacillus*),是一种兼性好氧的革兰氏阳性菌,主要分布于土壤和污水中,能够形成内生孢子以克服极端的环境。蜡样芽胞杆菌是一种极易引起食物中毒的食源性致病菌,在10~45℃、pH为2~11的环境下都可以生长繁殖^[50]。蜡样芽胞杆菌能够产生两种性质不同的肠毒素,即腹泻毒素和呕吐毒素,从而引起两种不同类型的食物中毒症状^[51]。一种是腹泻毒素导致的腹泻综合症,与4种不同的热不稳定性肠毒素有关。另一种是由热稳

定的呕吐毒素引起的呕吐综合征^[50-51]。此外,蜡样芽胞杆菌也出现过引起肝功能衰竭而导致死亡的案例^[52]。蜡样芽胞杆菌在食品中常被检测到,许多国家对蜡样芽胞杆菌在食品中的限量都有明确的规定,多数以 10^3 g^{-1} 或 10^3 mL^{-1} 为临界值^[53]。我国相关食品的标准中对蜡样芽胞杆菌并没有明确的残留限量界定,对该菌的要求是按照进食污染菌量 $> 10^5 \text{ g}^{-1}$ 或 10^5 mL^{-1} 时,就可能发生食物中毒的标准进行检测及监管控制^[53]。

(2) 传统食醋中的蜡样芽胞杆菌

蜡样芽胞杆菌属在食醋酸性条件下其营养细胞会发生一系列的应激反应来适应酸性环境,并且还可以形成具有结构致密的芽胞,在食醋中保存下来^[54]。王祝健等^[55]在醋醅中分离出了蜡样芽胞杆菌,表明传统食醋发酵过程中可能存在蜡样芽胞杆菌的污染。2002年,张淑伟等^[47]对比了不同食醋对蜡样芽胞杆菌的抑制效果,蜡样芽胞杆菌在不同品牌的食醋中培养 72 h 后存活率均接近 100%。虽然食醋对大多数微生物均有抑制效果,但蜡样芽胞杆菌形成的芽孢较难被破坏,一旦条件适宜即可大量繁殖,因此蜡样芽胞杆菌等耐酸且产芽孢的致病性微生物应该是传统食醋预防的重点^[51-52]。

3.1.2 其他致病性微生物

传统食醋因含有较高含量的乙酸等有机酸而具有很强的杀菌能力,但是在酸度较低的食醋中仍可能存活^[48-49]致病性微生物。王祝健等^[55]在醋醅中分离出了大肠杆菌。2015年,马志春^[56]研究了不同浓度米醋对食品中常见致病菌的抑制效果,其中金黄色葡萄球菌和沙门氏菌在 $3.8 \text{ g}/100 \text{ mL}$ 的米醋中分别能够存活 20 min 以上和 40 min 以上,有些沙门氏菌、志贺氏菌能在总酸度 $3.0 \text{ g}/100 \text{ mL}$ 的米醋中存活 6 h 之久,当米醋浓度被稀释 1 倍后对这些细菌的抑制作用显著减弱,稀释到原浓度的 25% 时,已经没有明显的抑制作用了。

我国在 GB 2719—2003《食品安全国家标准·食醋卫生标准》^[57]中规定每 100 mL 的样品中大肠菌群的检出量要小于 3 MPN,金黄色葡萄球菌、沙门氏菌和志贺氏菌则在食醋中不得检出。因此,市场上合格的食醋产品出现这些微生物污染的可能性较低。

3.2 传统食醋中致病性微生物的预防

3.2.1 传统食醋中致病性微生物的污染途径

近年来,得益于高通量测序、分子生态学等技术

水平的不断提升,为全面解析传统食醋酿造过程微生物群落组成奠定了基础,分析结果不仅有助于深入解析传统食醋酿造机理,也检测到了多种潜在的致病微生物,为进一步提高食醋产品质量安全提供了依据^[1,55,58-60]。

利用宏基因组学分析方法对传统食醋酿造微生物进行分析发现,发酵过程共有 151 个属的细菌,202 个属的真菌,特别是检测到了肠球菌属、埃希氏菌属和芽胞杆菌属等,这些微生物可能属于条件致病微生物^[58-60]。随着发酵的进行,酸度不断增加,醋酸菌的浓度逐渐增加,蜡样芽胞杆菌、大肠杆菌、粪肠球菌和金黄色葡萄球菌等微生物的浓度逐渐降低甚至消失,但仍需要注意避免致病微生物迁移至食醋产品中^[55,58-60]。

传统食醋中的致病性微生物造成污染并带来潜在危害的主要方式有:生产用水受到污染,使生水中的致病菌带入到发酵过程中;传统食醋发酵环境控制不严格,导致微生物污染;食醋灭菌不彻底,致使部分致病菌在食醋中存活。

3.2.2 传统食醋中致病性微生物的预防

传统食醋中通常含有较高浓度的乙酸等有机酸,能够抑制致病性微生物的生长繁殖,但传统食醋开放式的发酵工艺、复杂的发酵体系和较长的生产周期给发酵过程控制和产品质量的控制带来挑战。对于预防传统食醋中的致病性微生物重点应注意:

(1) 原料的质量安全直接影响食醋产品的质量,做好生产用原料的灭菌和检测工作,防止受致病性微生物污染的原料进入到传统食醋酿造过程。传统食醋酿造用“曲”作为一个复杂的混合体系含有丰富的营养物质和多样的微生物,要注意食醋用“曲”的质量,避免使用质量不达标或者受到污染的“曲”。

(2) 开放式的生产特点使得传统食醋发酵过程中特别容易受到环境微生物的污染,应注意车间清洁卫生,定期进行生产容器、管道的检测和灭菌,规范存储和灌装过程管理,防止渗漏生水,预防外源微生物污染。

(3) 常用的煮沸法、巴氏杀菌、高温瞬时灭菌法不一定能杀死所有的微生物,特别是一些能够产生芽孢和荚膜的细菌,应注意检测食醋产品的杀菌效果,必要时进行多次杀菌^[61]。

(4) 某些污染微生物对常见的防腐剂如苯甲酸钠等不敏感,因此开发新型的复合防腐剂可能会取得

更好的效果,如以壳聚糖季铵盐和 ϵ -聚赖氨酸以1:1的比例复合时,有很好的抑制蜡样芽胞杆菌的效果^[62]。

4 结 语

作为人们日常饮食中不可缺少的调味品,传统食醋由于其特有的风味和口感,深受消费者喜爱。随着食醋企业生产技术的不断提升,传统食醋的安全性在不断的提高,但是从原料到产品的各个环节依然存在着一些潜在的危害,包括真菌毒素、有害胺(氨)类、致病性微生物等。希望食醋生产企业和政府监管部门加强产品的检测,增加传统食醋科研力度,针对以上问题开展研究,从根本上促进传统食醋行业的健康发展。

参考文献:

- [1] Nie Z, Zheng Y, Xie S, et al. Unraveling the correlation between microbiota succession and metabolite changes in traditional Shanxi aged vinegar[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 9240.
- [2] Zheng Y, Mou J, Niu J, et al. Succession sequence of lactic acid bacteria driven by environmental factors and substrates throughout the brewing process of Shanxi aged vinegar[J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2018, 102(6): 2645–2658.
- [3] 张思思, 陆继伟, 王少敏, 等. 国内外检测真菌毒素的标准及前处理研究进展[J]. *中国卫生检验杂志*, 2017(8): 1206–1209.
- [4] 朱文优. 大曲中赭曲霉毒素 A 及其产生微生物的分布特征研究[D]. 无锡: 江南大学, 2017.
- [5] Tola M, Kebede B. Occurrence, importance and control of mycotoxins: A review[J]. *Cogent Food & Agriculture*, 2016, 2(1): 1191103.
- [6] Sarma U P, Bhetaria P J, Devi P, et al. Aflatoxins: Implications on health[J]. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2017, 32(2): 124–133.
- [7] Kumar P, Mahato D K, Kamle M, et al. Aflatoxins: A global concern for food safety, human health and their management[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 7: 2170.
- [8] Zhao M, Wang P, Guo Y, et al. Detection of aflatoxin B₁ in food samples based on target-responsive aptamer-cross-linked hydrogel using a handheld pH meter as readout[J]. *Talanta*, 2018, 176: 34–39.
- [9] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 2761—2017 食品安全国家标准·食品中真菌毒素限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [10] Hu Y, Dun Y, Li S, et al. Changes in microbial community during fermentation of high-temperature *Daqu* used in the production of Chinese *Baiyunbian* liquor[J]. *Journal of the Institute of Brewing*, 2017, 123(4): 594–599.
- [11] 孙剑秋, 刘雯雯, 臧威, 等. 酱香型白酒酒醅中霉菌群落组成与功能酶活性[J]. *中国食品学报*, 2013, 13(8): 239–246.
- [12] 曹泽虹, 苗敬芝, 董玉玮, 等. 徐州市市售酱油、食用醋及啤酒中黄曲霉毒素的检测[J]. *粮油加工*, 2010(2): 88–90.
- [13] Buiklimke T R, Wu F. Ochratoxin A and human health risk: A review of the evidence[J]. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 2015, 55(13): 1860–1869.
- [14] Huffman J, Gerber R, Du L. Recent advancements in the biosynthetic mechanisms for polyketide-derived mycotoxins[J]. *Biopolymers*, 2010, 93(9): 764–776.
- [15] Sharma P, Manderville R A, Wetmore S D. Structural and energetic characterization of the major DNA adduct formed from the food mutagen ochratoxin a in the *NarI* hotspot sequence: Influence of adduct ionization on the conformational preferences and implications for the NER propensity[J]. *Nucleic Acids Research*, 2014, 42(18): 11831–11845.
- [16] Ahn S, Lee S, Lee J, et al. Accurate determination of ochratoxin A in Korean fermented soybean paste by isotope dilution-liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2016, 190: 368–373.
- [17] Markaki P, Delpont-Binet C, Grosso F, et al. Determination of ochratoxin A in red wine and vinegar by immunoaffinity high-pressure liquid chromatography[J]. *Journal of Food Protection*, 2001, 64(4): 533–537.
- [18] André E K, Ali A. Ochratoxin A: General overview and actual molecular status[J]. *Toxins*, 2010, 2(4): 461–493.
- [19] Zhu W, Nie Y, Xu Y. The incidence and distribution of ochratoxin A in *Daqu*, a Chinese traditional fermentation starter[J]. *Food Control*, 2017, 78: 222–229.
- [20] 熊凯华. 粮食中脱氧雪腐镰刀菌烯醇和玉米赤霉烯酮的污染调查及降解毒素微生物的筛选[D]. 南昌: 南昌大学, 2010.
- [21] Metzler M, Pfeiffer E, Hildebrand A, et al. Zearalenone

- and its metabolites as endocrine disrupting chemicals[J]. *World Mycotoxin Journal*, 2010, 3(4): 385–401.
- [22] 檀丽萍. 玉米及玉米制品中伏马菌素的检测与去除[D]. 北京:北京林业大学, 2008.
- [23] 史建荣, 刘馨, 仇剑波, 等. 小麦中镰刀菌毒素、脱氧雪腐镰刀菌烯醇污染现状与防控研究进展[J]. *中国农业科学*, 2014, 47(18): 3641–3654.
- [24] Zheng X W, Yan Z, Nout M J, et al. Characterization of the microbial community in different types of *Daqu* samples as revealed by 16S rRNA and 26S rRNA gene clone libraries[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2015, 31(1): 199–208.
- [25] Li P, Lin W, Liu X, et al. Environmental factors affecting microbiota dynamics during traditional solid-state fermentation of Chinese *Daqu* starter[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1237.
- [26] Xing L, Shi R, Wu J. Analysis of *Daqu* produced in different seasons[J]. *Journal of the Institute of Brewing*, 2016, 122(3): 397–402.
- [27] Palumbo J D, Baker J L, Mahoney N E. Isolation of bacterial antagonists of *Aspergillus flavus* from almonds[J]. *Microbial Ecology*, 2006, 52(1): 45–52.
- [28] 付杨, 李洪军, 贺稚非, 等. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇研究进展[J]. *食品科学*, 2011, 32(21): 289–292.
- [29] 邓朝霞. 永春老醋发酵过程中有机酸和生物胺变化分析及其细菌菌群结构分析[D]. 福州:福建师范大学, 2014.
- [30] 周景文, 堵国成, 陈坚. 发酵食品有害氨(胺)类代谢物: 形成机制和消除策略[J]. *中国食品学报*, 2011, 11(9): 8–25.
- [31] Lee K G. Analysis and risk assessment of ethyl carbamate in various fermented foods[J]. *European Food Research & Technology*, 2013, 236(5): 891–898.
- [32] Gardini F, Özogul Y, Suzzi G, et al. Technological factors affecting biogenic amine content in foods: A review[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1218.
- [33] Guo Y, Yang Y, Peng Q, et al. Biogenic amines in wine: A review[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2015, 50(7): 1523–1532.
- [34] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 5009.208—2016 食品安全国家标准·食品中生物胺的测定[S]. 北京:中国标准出版社, 2016.
- [35] 李志军. 食品中生物胺及其产生菌株检测方法研究[D]. 青岛:中国海洋大学, 2007.
- [36] 黄祖新. 高效液相色谱法测定福建红曲醋的生物胺[J]. *福建分析测试*, 2015(4): 43–47.
- [37] 张无疾, 夏小乐, 张斌, 等. 黄酒前酵中生物胺生成规律的研究[J]. *现代食品科技*, 2015, 31(10): 269–274.
- [38] Zhang B, Kong L Q, Cao Y, et al. Metaproteomic characterisation of a Shaoxing rice wine “wheat *Qu*” extract[J]. *Food Chemistry*, 2012, 134(1): 387–391.
- [39] 陈达炜, 苗虹, 赵云峰. 分散固相萃取/气相色谱-质谱法测定酱油及食醋中氨基甲酸乙酯[J]. *分析测试学报*, 2014, 33(1): 108–111.
- [40] 唐双双, 王伟岗. GC-MS/MS 测定镇江香醋中的氨基甲酸乙酯[J]. *中国酿造*, 2016, 35(8): 159–162.
- [41] Gowd V, Su H, Karlovsky P, et al. Ethyl carbamate: An emerging food and environmental toxicant[J]. *Food Chemistry*, 2018, 248: 312–321.
- [42] 黄祖新, 李欣, 邓剑清. 福建红曲黄酒中氨基甲酸乙酯的风险评估[J]. *酿酒科技*, 2017(7): 58–61.
- [43] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 5009.223—2014 食品安全国家标准·食品中氨基甲酸乙酯的测定[S]. 北京:中国标准出版社, 2014.
- [44] 吴世嘉, 王洪新. 发酵食品中氨基甲酸乙酯的研究进展[J]. *化学与生物工程*, 2009, 26(9): 15–19.
- [45] Jiao Z, Dong Y, Chen Q. Ethyl carbamate in fermented beverages: Presence, analytical chemistry, formation mechanism, and mitigation proposals[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety*, 2014, 13(4): 611–626.
- [46] Bäumlisberger M, Moelleken U, König H, et al. The potential of the yeast *Debaryomyces hansenii* H525 to degrade biogenic amines in food[J]. *Microorganisms*, 2015, 3(4): 839–850.
- [47] 张淑伟, 孔德荣, 白传记. 肠道致病菌在食醋中存活时间的观察[J]. *食品与药品*, 2002(4): 37–38.
- [48] Yagnik D, Serafin V, Shah A J. Antimicrobial activity of apple cider vinegar against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*; downregulating cytokine and microbial protein expression[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 1732.
- [49] Bakir S, Devcioglu D, Kayacan S, et al. Investigating the antioxidant and antimicrobial activities of different vinegars[J]. *European Food Research & Technology*, 2017, 243(12): 2083–2094.
- [50] 陆湘华, 崔昌, 王远萍, 等. 蜡样芽胞杆菌食物中毒的研究进展[J]. *传染病信息*, 2015(4): 251–254.

- Technology, 2001, 212(2): 203–207.
- [29] Wu S, Liu Y, Yan Q, et al. Gene cloning, functional expression and characterisation of a novel glycogen branching enzyme from *Rhizomucor miehei* and its application in wheat breadmaking[J]. Food Chemistry, 2014, 159(13): 85–94.
- [30] 詹冬玲,任玉雪,闵伟红,等. 面包老化机理及其分析技术的研究进展[J]. 食品工业科技, 2013, 34(23): 353–355.
- [31] 王强. 复配酶制剂在面包抗老化方面的应用研究[D]. 厦门:集美大学, 2014.
- [32] Bárcenas M E, Haros M, Rosell C M. An approach to studying the effect of different bread improvers on the staling of pre-baked frozen bread[J]. European Food Research & Technology, 2003, 218(1): 56–61.
- [33] Gujral H S, Haros M, Rosell C M. Improving the texture and delaying staling in rice flour chapati with hydrocolloids and α -amylase[J]. Journal of Food Engineering, 2004, 65(1): 89–94.

责任编辑:郎婧

(上接第8页)

- [51] Zhu K, Hölzel C S, Cui Y, et al. Probiotic *Bacillus cereus* strains, a potential risk for public health in China[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 718.
- [52] Mols M, Abee T. *Bacillus cereus* responses to acid stress[J]. Environmental Microbiology, 2011, 13(11): 2835–2843.
- [53] 乔玲. 酱腌菜中蜡样芽胞杆菌的检测与分析[J]. 中国酿造, 2015, 34(4): 154–156.
- [54] Kotiranta A, Lounatmaa K, Haapasalo M. Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections[J]. Microbes & Infection, 2000, 2(2): 189–198.
- [55] 王祝健,马海乐,崔恒林. 醋醅中细菌菌株的分离鉴定及系统学分析[J]. 中国食品学报, 2011, 11(6): 170–176.
- [56] 马志春. 食醋中醋酸对食品指标微生物的作用研究[J]. 食品安全导刊, 2015(16): 30–32.
- [57] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB 2719—2003 食醋卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [58] 王宗敏. 镇江香醋醋酸发酵阶段菌群结构变化与风味物质组成之间的相关性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2016.
- [59] 吕艳歌,马海乐,李云亮,等. 山西老陈醋产酸菌的分离鉴定及系统学分析[J]. 中国食品学报, 2013, 13(12): 163–171.
- [60] 李沙. 传统岐山醋醋酸固态发酵过程中细菌群落动态演变与风味物质形成规律的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2016.
- [61] Wang Z M, Lu Z M, Yu Y J, et al. Batch-to-batch uniformity of bacterial community succession and flavor formation in the fermentation of Zhenjiang aromatic vinegar[J]. Food Microbiology, 2015, 50: 64–69.
- [62] 李南薇,刘佳,刘锐,等. 32种食品添加剂对蜡样芽胞杆菌的协同抑菌作用[J]. 中国食品学报, 2015, 15(2): 138–142.

责任编辑:郎婧