

标和规范的量化检测手段。同时根据中药炒炭炮制技术的共性特点,研制改进专用标准化生产设备,使其参数量化可控、质量稳定。根本性地改变目前炒炭炮制品生产及质量控制落后的状况,从而提高饮片质量,保证炮制品的临床疗效。

参考文献:

- [1] 崔 箭. 炭药源流论 [J]. 辽宁中医杂志, 2004, 31(10): 816-817.
- [2] 吕景山, 王 平, 倪淑琴, 等. 试论炭药的临床应用 [J]. 中医药研究, 1994, 3: 58.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2005.
- [4] 孙爱国. 中药炭概述 [J]. 甘肃中医, 2004, 17(12): 42-43.
- [5] 宋庆珍. 炭药炮制方法之管见—炭炭 [J]. 辽宁中医杂志, 2005, 32(2): 147.
- [6] 藤茜华, 苑 敏, 芮代莉. 电烘法制备石榴皮炭初步研究 [J]. 时珍国医国药, 1999, 10(8): 585.
- [7] 晏春洲. 蒲黄炭炮制方法改进 [J]. 时珍国医国药, 2000, 11(11): 993.
- [8] 黄 坤, 张陈炎, 李胜蓉, 等. 巴豆制炭方法技术的源流和创新 [J]. 时珍国医国药, 2005, 16(9): 878-879.
- [9] 王 琦, 卢长庆. 地榆炒炭的组织结构及化学变化 [J]. 中药通报, 1988, 13(9): 18.
- [10] 孔令东, 丁安伟, 盛瑞才. 血余炭炮制工艺研究 [J]. 中药材, 1995, 18(8): 396-397.
- [11] 盛瑞才, 丁安伟, 向 谊. 五种中药炒炭前后微量元素的含量研究 [J]. 南京中医药大学学报, 1995, 11(2): 96-97.
- [12] 陈美燕. 槐米炒炭前后鞣质含量的比较 [J]. 淮海医药, 2006, 24(3): 247-248.
- [13] 杨梓锦, 刘国华, 石继连, 等. 炒炭对虎杖中蒽醌及鞣质类成分的影响 [J]. 中医药学报, 2004, 32(6): 31-33.
- [14] 丁安伟, 吴玉兰, 盛瑞才, 等. 茜草炭炮制工艺及质量标准研究 [J]. 山西中医, 1999, 15(3): 36-39.
- [15] 丁安伟, 吴丽文. 茅根炭炮制工艺及质量标准研究 [J]. 南京中医药大学学报, 1997, 13(1): 21-24.
- [16] Ishida H. Studies on antihemorrhagic substances in herbs classified as hemostatics in Chinese medicine. V. On the antihemorrhagic principle in *Sophora japonica* L. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, (2): 857-860.
- [17] Ishida H. Studies on antihemorrhagic substances in herbs classified as hemostatics in traditional Chinese medicine. I. On the antihemorrhagic principle in *Sophora japonica* L. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1989, (6): 1616-1618.
- [18] 包贝华, 杨建平, 张 丽, 等. 分光光度法测定芥穗炭中总黄酮的含量 [J]. 南京中医药大学学报, 2004, 20(2): 124-125.
- [19] 邢金侠. 二草五炭汤治疗崩漏125例 [J]. 陕西中医, 2005, 26(10): 1012-1013.
- [20] 崔 箭, 唐 丽, 蓝 蓉, 等. 蒙药阿给炭治疗支气管扩张咯血临床观察 [J]. 中央民族大学学报: 自然科学版, 2006, 15(2): 149-152.
- [21] 漆生权. 三炭汤合归脾汤治疗过敏性紫癜23例疗效观察 [J]. 甘肃中医, 2005, 18(1): 19.
- [22] 吴祖政. 佩药“并交炭”治疗鼻出血的体会 [J]. 中国民族医药杂志, 2004(S1): 35.
- [23] 张裕然. 654-2及姜炭治疗冻疮10例 [J]. 中间民间疗法, 2000, 8(6): 43.
- [24] 高祖梅, 薛菊兰, 张 玲. 马齿苋炭外敷治疗Ⅲ期压疮效果观察 [J]. 护理学杂志: 外科版, 2005, 20(4): 24-25.
- [25] 杨小秀, 邱晓红. 三炭散治疗婴幼儿腹泻60例 [J]. 中国中西医结合脾胃杂志, 1999, 7(1): 51.
- [26] 严可寅. 复方地榆炭膏治疗烫伤320例 [J]. 浙江中医杂志, 2000, 35(2): 66.
- [27] 殷立敢. 丝瓜络炭治疗乳痈 [J]. 湖北中医杂志, 2000, 22(11): 40.

镰刀菌毒素分析方法研究进展

吴剑威^{1,2}, 杨美华^{1*}, 高微微¹, 赵润怀²

(1. 中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100094; 2. 中国药材集团公司科技研发中心, 北京 100094)

摘 要: 镰刀菌毒素是镰刀菌属中多种真菌所产生的次生代谢产物, 在自然界中分布极为广泛, 是自然产生的最危险的食品污染物, 对人畜健康危害十分严重。为此, 各国都制定了标准的检测方法和严格的限量标准。现就其检测方法研究进展进行综述, 并对其在中药材中的应用前景进行了展望。

关键词: 镰刀菌毒素; 中药材; 分析方法

中图分类号: R286.01

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)04-0634-05

Advances in studies on analytical methods used for *Fusarium* toxins

WU Jian-wei^{1,2}, YANG Mei-hua¹, GAO Wei-wei¹, ZHAO Run-huai²

(1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100094, China; 2. Technology Development Center, China National Group Corporation of Traditional & Herbal Medicine, Beijing 100094, China)

Key words: *Fusarium* toxins; traditional Chinese medicinal material; analytical methods

收稿日期: 2007-10-26

基金项目: 中国医学科学院药用植物研究所中央级公益性科研院所基本科研业务专项(YZ-1-20)

作者简介: 吴剑威(1982—), 男, 中国医学科学院药用植物研究所硕士在读研究生, 主要从事中药材质量标准的研究及新药开发研究。

Tel: (010)62899730

* 通讯作者 杨美华 Tel&Fax: (010)62899730 E-mail: yangmeihua15@hotmail.com

镰刀菌在自然界分布广泛,寄生或腐生。它是人类发现的最重要的植物病原菌之一,可侵染多种作物(粮食作物、油料作物、经济作物、药用植物及观赏植物),造成植物萎焉、根腐、穗腐等各种类型的腐烂病,导致严重的减产,从而造成重大的经济损失。镰刀菌毒素是镰刀菌属(*Fusarium* Link)中多种真菌所产生的次生代谢产物^[1],是自然产生的最危险的食物污染物之一,对人畜健康危害十分严重。它不但可以引起人畜急、慢性中毒,还具有致癌、致畸、致突变的潜在危害,而且还与某些地方性疾病的发生有密切关系,如我国林县的食管癌,地方性大骨节病和克山病等,均在一定程度上被怀疑与当地居民长期食用被微量镰刀菌毒素污染的自产粮食有关^[2]。近年来,镰刀菌毒素对人类健康的深远影响越来越引起人们的注意,尤其是在许多人类肿瘤高发地区的粮食中曾多次检出过镰刀菌,使人们越来越关注镰刀菌及其毒素的致癌危险性。目前已将镰刀菌毒素问题同黄曲霉毒素一样,被看作是自然发生的最危险的食物污染物,列入当前国际最重要的研究课题之一^[3~6]。

镰刀菌毒素中研究较为深入的主要集中在对人类危害较大的几种,一般同时具有毒性强和污染频率高的特点,其中主要为单端孢霉烯族化合物和玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN, F-2)。单端孢霉烯族化合物中主要有脱氧雪腐镰刀菌烯醇(呕吐毒素, deoxynivalenol, DON)、雪腐镰刀菌烯醇(nivalenol, NIV)、T-2毒素等^[7~9]。镰刀菌毒素不仅在食品、农产品中普遍存在,根和根茎类中药材也极易受到镰刀菌的侵染,从而被镰刀菌毒素污染。本文就镰刀菌毒素检测方法研究进展进行综述,并对其在中药材中的应用前景进行了展望,以期对中药材中镰刀菌毒素的分析提供参考。

1 样品前处理

1.1 液-液萃取法:是利用溶质在溶液中的溶解度的不同,通过使用不同溶液进行萃取的一种方法。由于样品中的镰刀菌毒素一般量较少,因此使用该方法对镰刀菌毒素进行提取受到实验回收率不高等因素的限制,国内外采用此方法的报道不多。Weingüertner等^[10]采用此法提取了小麦样品中NIV、DON、T-2毒素。Bagnaris等^[11]对美国官方分析化学家学会(Association of Official Analytical Chemists, AOAC)报道的液-液萃取镰刀菌毒素的方法进行了改进,样品由50 g减为30 g,而且在滤过前离心,有效解决了滤过速度较慢和乳化问题;加入饱和氯化钠溶液,防止了杂质干扰,使净化效果更好;对ZEN进行检测,其灵敏度为10 ng/g。

1.2 固相萃取法:固相萃取为近年发展起来的一种微量样品处理技术。多种物质如硅胶、氧化铝、活性炭、C₁₈、C₈、弗罗里硅土、凝胶等均可作为固定相。因所选用的填料不同,提取、净化后的回收率也不相同。一般来说,使用硅胶、弗罗里硅土、氧化铝等作为固定相时回收率较低。Kotal等^[12]采用凝胶作为柱填料,采用固相萃取法对谷物样品进行前处理,并测定了其中NIV、DON、T-2毒素,结果回收率较高,为76%~100%,最低检测限为40~200 mg/kg。此外,Radová等^[13]也采用固相萃取柱对小麦样品进行前处理,并对NIV、

DON、T-2毒素进行了分析。

强阴离子交换柱也是固相萃取柱的一种,交换柱常用填料为永久键合季胺基团的硅胶。在对伏马毒素的分析研究中,使用强阴离子交换柱进行样品前处理的报道较多^[14~16]。应用强阴离子交换柱,在前处理过程中应当注意的是过柱时样品提取液的pH值一般应大于5.8,并且体积流量应控制在1 mL/min以下,另外含有水解的伏马毒素样品不能使用强阴离子交换柱对其进行前处理。

1.3 超临界流体萃取法:超临界流体萃取法与传统方法相比不需要使用大量的有潜在危险的有机溶剂,只需使用无毒的CO₂。超临界CO₂萃取能实现提取与净化同步,由于液相与CO₂气体的集流动态转换提高了速率与效率,因此超临界CO₂萃取是一种萃取非极性物质的快速提取方法。不过,超临界CO₂萃取同样受到回收率不高等因素的限制。Josephs等^[17]通过对实验条件的优化摸索,采用该法对受到NIV、DON、T-2毒素污染的小麦样品进行前处理,回收率为(53.0±3.2)%。

1.4 免疫亲和色谱法:在分析研究镰刀菌毒素方面,免疫亲和色谱法是应用较为广泛的一种样品前处理方法。利用亲和色谱柱净化镰刀菌毒素的效果很大程度上依赖于制备出的单克隆抗体的特异性。抗体的亲和力对回收抗原也有很大的影响。一方面,需要较高亲和力的抗体从复杂的基质中有效回收抗原;另一方面,抗体可能由于亲和力过高而致使回收困难,因此选择恰当亲和力的抗体是保证实验顺利进行较为关键的一步。

张鹏等^[18]采用免疫亲和色谱法与固相萃取法对谷物样品进行前处理,结合高效液相法对DON进行检测,并比较了两种方法的前处理效果。结果表明两种前处理方法均能满足检验标准的要求,方法灵敏准确、简单快捷,最低检测限均为0.1 mg/kg。其中,采用免疫亲和色谱法的回收率略高一些,为80.0%~95.0%;而采用固相萃取法的回收率为82.5%~88.0%。相比较而言,免疫亲和色谱法选择性较好、抗干扰能力较强;固相萃取法的通用性较好,只要选择适当的固相填料,应用该方法也能取得较好的前处理效果。

2 分析方法

2.1 薄层色谱法:是最早建立的一种检测方法,具有简便、经济、对设备和检验人员要求不高等特点。随着高效薄层色谱法以及薄层扫描仪的应用,薄层色谱法的分离效率和精确度都得到提高,是目前较为常用的方法之一。对于DON的测定,薄层色谱法是我国国家标准推荐检测方法之一。

Malone等^[19]对小麦、大麦、玉米等8种样品中的DON的量进行了分析研究。采用乙腈-水提取,样品经固相萃取法净化,进行TLC后再用AlCl₃衍生,用荧光检测仪检测,最低检测限可达100 ng/g。罗雪云等^[20]应用薄层色谱法对小麦、玉米、饼干样品中ZEN的量进行了分析研究,采用液-液萃取法进行样品前处理,最低检测限为0.03 μg,回收率为82.6%~98.0%。

2.2 酶联免疫分析法:该法是20世纪中期出现的一种以标

记免疫技术为基础的分析方法,与HPLC法、分光光度法等相比,由于酶联免疫分析法可以制成商品化的检测试剂盒,所以应用酶联免疫分析法样品前处理相对简单,消耗较少溶剂,检测时间较短以及可以现场在线检测等。其缺点在于有出现假阳性的可能。对于测定DON,酶联免疫分析法与薄层色谱法均是我国国家标准推荐的标准检测方法。

Liu等^[21]应用酶联免疫法对ZEN及其2种衍生物进行了分析测定,最低检测限为1~50 ng/mL。Bennett等^[22]应用酶联免疫法对玉米、小麦以及动物饲料中ZEN的量进行了分析研究,最低检测限为500 ng/g。

郭云昌等^[23]在国内首次建立了以单克隆抗体为基础的直接竞争酶免疫分析法检测伏马毒素B₁。应用此法对新疆、安徽、黑龙江、哈尔滨四省市玉米样品中的伏马毒素B₁进行了测定,结果表明156份样品中有34份检出伏马毒素B₁,阳性率为21.79%,平均量为12.04 μg/g。此外,宫慧芝等^[24]也应用酶联免疫法对伏马毒素B₁进行了分析研究,并证实其建立的分析方法与DON、ZEN、T-2毒素均无交叉反应。最低检出质量浓度为5 μg/L,回收率为71.89%~112.95%。

T-2毒素相对分子质量较小,本身无免疫原性,因此只有其与载体蛋白结合之后,才具有免疫原性。金涌等^[25]用T-2毒素免疫家兔,获得了抗T-2毒素的多克隆抗体,运用该抗体建立了检测玉米中T-2毒素的间接竞争性酶联免疫吸附测定法。最低检测限为 1×10^{-8} 。

2.3 气相色谱分析法:气相色谱法具有高选择性、高分离效能、高灵敏度等优点。气相色谱仪可与电子捕获检测器、火焰离子化检测器等联用达到检测的目的。

陈必芳等^[26]建立了饲料中DON、T-2毒素以及ZEN3种镰刀菌毒素的气相色谱检测法,最低检出限为50 ng,回收率在80%以上。宋扬等^[27]采用气相色谱法,以N-七氟丁酰咪唑为衍生化试剂,对DON、T-2毒素等5种镰刀菌毒素进行了分析测定。结果DON最低检测限为 1×10^{-11} g, T-2毒素最低检测限为 1×10^{-10} g。N-七氟丁酰咪唑为进口试剂,价格昂贵。李楠等^[7]以常用试剂三氟醋酸酐为衍生化试剂,用气相色谱分析研究了DON、ZEN、T-2毒素等4种镰刀菌毒素,取得了良好的效果。DON、T-2毒素最低检测限为 1×10^{-9} g, ZEN最低检测限为 1.5×10^{-8} g。梁颖等^[28]在分析镰刀菌毒素的同时,还对其衍生化试剂及衍生条件进行了比较研究。采用七氟丁酰咪唑、三甲基硅烷咪唑-双三甲基硅基乙酰胺-三甲基硅烷(3:3:2)两种衍生试剂进行测定前衍生化。结果发现:氟化衍生后检测灵敏度较高,而硅烷化衍生不需加热,在室温下即可完成,且生成物稳定。在实际分析应用时,应根据具体检测要求以及实验设备等因素选择相应的衍生化试剂。

2.4 高效液相色谱法:HPLC具有灵敏度、选择性、准确度和精密度高等优点,近年来越来越广泛地被应用于分析测定中。美国的官方分析化学家学会以及德国农业调查与研究部署协会分析DON的标准方法即是采用HPLC法。

Saeger等^[29]利用HPLC法测定动物饲料中ZEN及其衍

生物,在样品前处理时比较了酶联免疫色谱法与固相萃取法两种方法对结果的影响。结果发现,前处理采用酶联免疫色谱法的回收率为89%~110%,变异系数较小;而采用固相萃取法进行前处理的回收率较差,且待检物较易受到萃取柱载体的影响。

自1990年Shephard等^[30]首次把邻苯二甲醛用作伏马毒素的高效液相色谱荧光衍生化试剂以来,邻苯二甲醛得到了广泛的应用。林维宜等^[31]采用免疫亲和色谱法对样品进行前处理,使用邻苯二甲醛作为衍生化试剂测定了酱油中伏马毒素B₁、B₂的量。伏马毒素B₁、B₂回收率分别为84.6%~89.2%、60.3%~69.5%,最低检测限分别为0.01、0.02 mg/kg。

2.5 气相色谱-质谱联用分析法与液相色谱-质谱联用分析法:两种方法不仅具备气相色谱或液相色谱的检测灵敏度高、选择性好等优点,并且还可以定性、定量检测同时进行,对于初级监测呈阳性反应的样品进行在线确证,其优势十分明显。

Schwadorf等^[32]采用气质联用法对粮食样品中DON、NIV、T-2毒素进行了分析。最低检测限为1~5 μg/kg,回收率为78%~89%。Schollenberger等^[33]应用气质联用法对谷物及诸如面包、面条等谷类制品中NIV、DON、T-2毒素进行了分析,同时还采用液相色谱-质谱联用分析法对ZEN进行了测定。样品前处理采用固相萃取法,最低检测限为2~12 μg/kg。

Mateo等^[34]建立了对NIV、DON、ZEN、伏马毒素、T-2毒素5种镰刀菌毒素分析的液相色谱-质谱联用分析法。样品前处理采用免疫亲和色谱法和C₁₈柱固相萃取法。Zollner等^[35]采用液相色谱-质谱联用分析法对啤酒样品中ZEN及其两种衍生物进行了分析,最低检测限为0.07~0.15 μg/L,回收率在100%左右。

刘承兰等^[36]采用液相色谱-质谱法测定了玉米和芦笋中的伏马毒素B₁、B₂的量。样品前处理采用固相萃取法,最低检测限为80 pg,回收率为78.3%~104.9%。

2.6 其他分析方法:毛细管电泳技术是以毛细管为分离通道、以高压直流电场为驱动力,根据样品中各组分之间迁移速度和分配行为上的差异而实现分离的一类分离技术,目前毛细管电泳技术可以和多种检测器联合使用,如紫外检测器、激光诱导荧光检测器、二极管阵列检测器以及电化学检测器等。Holcomb等^[37]应用毛细管电泳分析法对动物饲料中伏马毒素进行了分析。样品前处理采用固相萃取法,9-苄基甲基-氟甲酸酯作为检测前的衍生化试剂,最低检测限为 0.5×10^{-6} ,在 2×10^{-6} ~ 2×10^{-5} 添加量时回收率大于87%。

Maragos等^[38,39]通过研究发现:可以应用荧光极性免疫分析法对小麦样品中的DON进行测定。这种方法与竞争性酶联免疫分析法有相似之处,但也有明显的不同:不涉及酶学反应中包被物的分离,不需游离标记物,不需等待酶产生有色产物,荧光团的荧光强度沿水平和垂直两个方向测定,受溶液影响小。该方法与高效液相色谱法具有很好的一致性,但其灵敏度强烈依赖于从样品与示踪物混合到荧光极性

测定之间的时间长短。结果表明,采用此法测定小麦中DON的量,会使结果偏高,且对分析样品的种类具有选择性。

此外,Petterson等^[40]以被大刀镰孢 *Fusarium culmorum* (W. G. Smith) Sacc. 感染的小麦的系列稀释样品作校准溶液,采用近红外光谱分析法测定小麦样品中DON的量。

3 在中药材中应用前景展望

由于镰刀菌毒素在自然界分布极为广泛,是自然发生的最危险的食品污染物之一,对人畜健康危害十分严重,为此,各国都制定了严格的限量标准。例如ZEN的限量标准,澳大利亚规定黑麦中不得超过60 $\mu\text{g}/\text{kg}$;巴西规定玉米中不得超过0.2 mg/kg ;法国规定食用谷物中不得超过0.2 mg/kg ;罗马尼亚规定所有食品中不得超过30 $\mu\text{g}/\text{kg}$;俄罗斯规定米、小麦、面粉、坚果、植物油中不得超过1 mg/kg ^[41]。前苏联已提出T-2毒素国家的食品卫生限量标准为0.1 mg/kg ^[42]。我国谷物中DON的限量标准为 $\leq 1 \text{ mg}/\text{kg}$ ^[43]。

国内外对镰刀菌毒素的分析方法和限量标准只限于食品、农产品以及饲料中,对中药材中镰刀菌毒素的分析,目前还是空白。由于镰刀菌为土壤习居菌,根和根茎类中药材极易受到镰刀菌的侵染。据报道,镰刀菌是导致白术、黄芪、三七、葛根等药材根腐病的主要原因^[44~47]。目前,已从人参、西洋参、三七、柴胡、山豆根、荆芥、芍药、黄芪等10余种药用植物中分离得到30余株镰孢属真菌,主要为致病菌和根际菌,这些菌株寄生或寄生在药用植物植株上,其中主要包括产生单端孢霉烯族类毒素的菌株。因此,很有必要对中药材,尤其是易受镰刀菌侵染的根和根茎类药材,参考上述国内外镰刀菌毒素的检测方法和限量标准,建立全面的、系统的中药中镰刀菌毒素的检测技术标准。

目前国内外有关镰刀菌毒素的检测方法主要针对粮食、农产品和饲料,由于中药材中次生代谢产物复杂多样,加之镰刀菌毒素在中药材中微量、甚至痕量,因此,中药材中样品的前处理是需要解决的关键问题之一。此外,中药材中复杂的次生代谢产物是否干扰镰刀菌毒素的测定,哪类化学成分干扰哪种镰刀菌毒素的测定,这是需要解决的关键问题之二。可参考上述国内外镰刀菌毒素的样品前处理和分析方法,如固相萃取以及免疫亲和柱色谱对样品进行前处理,寻找最适宜的样品前处理方法,以消除药材中其他化学成分的干扰,富集镰刀菌毒素。采用柱前衍生-气相色谱或高效液相色谱;气相色谱-质谱联用以及液相色谱-质谱联用等现代分析技术对中药材中镰刀菌毒素进行分析,寻找快速、准确、最佳的镰刀菌毒素定量方法,为今后建立全面的、系统的中药中镰刀菌毒素的检测技术标准奠定坚实的基础。

4 结语

随着中药国际化进程日益加速,中药安全不仅事关病人的健康,而且成为影响中药能否实现国际化的关键问题之一。中药中真菌污染问题仍然是危害公众健康的重要因素或潜在威胁,严重影响人们的用药安全。

中药从田间生长到采集后不及时干燥或贮存不当或在制备和加工过程中处理不善,可能污染各种真菌,真菌污染

所导致的最危险因素是产生真菌毒素(mycotoxin)。尽管国家在“十五”期间对中药中黄曲霉毒素检测方法的研究给予了初步的支持,但对中药中易受污染的有害真菌以及其他重要的对人类有害的真菌毒素,如赭曲霉毒素、镰刀菌毒素等均未涉及。因此,为了搞清中药中易污染的有害真菌,应尽快地对中药中易污染的有害真菌进行了分离、鉴定,尤其是在中药的采收期和储藏期,以便采取相应措施避免减少有害真菌的污染。同时,建立各种重要有害真菌毒素检测方法,包括快速分子检测方法和准确的定量方法,制订其合理的限量标准,以完善我国中药安全控制标准体系,提高我国在中药安全国际标准制定中的地位,保证中药的安全有效。

参考文献:

- [1] 章红,李季伦,罗毅. 镰刀菌毒素与某些疾病的关系[J]. 环境科学, 1993, 15(1): 65.
- [2] 彭双清,罗毅,杨进生,等. 镰刀菌毒素的系统提取分离分析及其毒理学研究[J]. 医学研究通讯, 2000, 29(1): 25.
- [3] 关贵民. 镰刀菌毒素的遗传毒性[J]. 国外医学卫生学分册, 1990, 17(2): 92.
- [4] 吴志远,张帆,夏求洁. 食管癌高发区镰刀菌毒素的动物致癌性[J]. 中国肿瘤学杂志, 1997, 19(2): 156.
- [5] 李斌,郭红卫. 镰刀菌毒素DON、NIV的细胞毒性和致突变、致畸、致癌研究进展[J]. 癌变·畸变·突变, 1999, 11(4): 206.
- [6] 李群伟,李晓梅,侯海峰. 粮食中DON含量与手骨关节炎严重程度关系的研究[J]. 中国地方病防治杂志, 2005, 20(6): 333.
- [7] 李楠,李莉,朱彤霞. 4种镰刀菌毒素的气相色谱系统检测方法[J]. 环境科学, 1993, 14(3): 73.
- [8] 胡绪英,王令春,曹金鸿. 谷物中脱氧雪腐镰刀菌烯醇和雪腐镰刀菌烯醇的气相色谱分析[J]. 环境化学, 1989, 8(4): 1.
- [9] 郑铁松,钟文辉. 柱前衍生-HPLC法测定食品中伏马菌素[J]. 分析检测, 2004, 25(10): 133.
- [10] Weingartner J, Krska R, Praznik W, et al. Use of Mycosep multifunctional clean-up columns for the determination of trichothecenes in wheat by electron-capture gas chromatography[J]. Fresenius J Anal Chem, 1997, 357(8): 1206.
- [11] Bagnaris R W, Gaul J A, Ware G M. Liquid chromatographic determination of zearalenone and zearalenol in animal feeds and grains, using fluorescence detection[J]. J Assoc Off Anal Chem, 1986, 69(5): 894.
- [12] Kotal F, Holadová K, Hajslová J, et al. Determination of trichothecenes in cereals[J]. J Chromatogr A, 1999, 830(1): 219.
- [13] Radová Z, Holadová K, Hajslová J. Comparison of two clean-up principles for determination of trichothecenes in grain extract[J]. J Chromatogr A, 1998, 829(1-2): 259.
- [14] Shephard G S. Worldwide survey of fumonisin contamination of corn and corn-based products[J]. J AOAC Int, 1996, 79(3): 671.
- [15] Shephard G S. Chromatographic determination of the fumonisin mycotoxins[J]. J Chromatogr A, 1998, 815(1): 31.
- [16] Bennet G A, Richard J L. Liquid chromatographic method for analysis of the naphthalene dicarboxaldehyde derivative of fumonisins[J]. J AOAC Int, 1994, 77(3): 501.
- [17] Josephs R D, Krska R, Grasserbauer M, et al. Determination of trichothecene mycotoxins in wheat by use of supercritical fluid extraction and high-performance liquid chromatography with diode array detection or gas chromatography with electron capture detection[J]. J Chromatogr A, 1998, 795(2): 297.
- [18] 张鹏,张艺兵,鲍蕾,等. 出入境粮谷中呕吐毒素检测方法的研究[J]. 检验检疫科学, 2003, 13(2): 8.

- [19] Malone B R, Humphrey C W, Romer T R, *et al.* One-step solid-phase extraction cleanup and fluorometric analysis of deoxynivalenol in grains [J]. *J AOAC Int*, 1998, 81(2): 448.
- [20] 罗雪云, 胡霞, 李玉伟. 小麦、小麦制品中玉米赤霉烯酮的薄层色谱法测定 [J]. 卫生研究, 1993, 22(2): 112.
- [21] Liu M T, Ram B P, Hart L P, *et al.* Indirect enzyme-linked immunosorbent assay for mycotoxin zearalenone [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1985, 50(2): 332.
- [22] Bennett G A, Nelsen T C, Miller B M. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of zearalenone in corn, wheat, and pig feed, collaborative study [J]. *J AOAC Int*, 1995, 77(6): 1500.
- [23] 郭云昌, 刘秀梅, 刘江. 伏马毒素B₁免疫检测方法的研究 [J]. 卫生研究, 1999, 28(4): 238.
- [24] 宫慧芝, 计融, 杨军, 等. 伏马毒素B₁免疫学检测方法的建立 [J]. 中国公共卫生, 2006, 22(7): 840.
- [25] 金涌, 李文汉. 霉菌毒素T-2 Toxin酶联免疫吸附测定方法 [J]. 延边大学农学报, 2000, 22(2): 118.
- [26] 陈必芳, 李兰. 饲料中镰刀菌毒素DON, T-2和ZEN气相色谱测定方法研究 [J]. 中国饲料, 1995, 12(10): 32.
- [27] 宋扬, 刘可夫, 温兆霞, 等. 5种镰刀菌毒素的电子捕获气相色谱分析 [J]. 青岛医学院学报, 1996, 32(1): 47.
- [28] 梁颖, 张春晖, 刘邻渭. 气质联用测定DON和NIV及其衍生方法的比较研究 [J]. 分析科学学报, 2006, 22(2): 205.
- [29] Saeger S D, Sibanda L, Peteghem C V. Analysis of zearalenone and α -zearalenol in animal feed using high-performance liquid chromatography [J]. *Anal Chim Acta*, 2003, 487(2-8): 137.
- [30] Shephard G S, Sydenham E W, Thiel P G, *et al.* Quantitative determination of fumonisins B₁ and B₂ high performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *J Liq Chromatogr*, 1990, 13: 2077.
- [31] 林维宜, 田苗, 隋凯. 单克隆免疫亲和柱-高效液相色谱法测定酱油中伏马毒素B₁、B₂ [J]. 中国调味品, 2001, (1): 28.
- [32] Schwadork K, Müller H M. Determination of trichothecenes in cereals by gas chromatography with ion trap detection [J]. *Chromatographia*, 1991, 32(3-4): 137.
- [33] Schollenberger M, Suchy S, Jara H T, *et al.* A survey of *Fusarium* toxins in cereal-based foods marketed in an area of southwest Germany [J]. *Mycopathologia*, 1999, 147(1): 49.
- [34] Mateo J J, Mateo R, Hinojo M J, *et al.* Liquid chromatographic determination of toxigenic secondary metabolites produced by *Fusarium* strains [J]. *J Chromatogr A*, 2002, 955(2): 245.
- [35] Zollner P, Berner D, Jodlbauer J, *et al.* Determination of zearalenone and its metabolites α - and β -zearalenol in beer samples by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2000, 738(2): 233.
- [36] 刘承兰, 许文娜, Andreas K, 等. 液相色谱-电喷雾串联质谱法测定食品中的伏马毒素 [J]. 分析化学, 2005, 33(11): 1619.
- [37] Holcomb M, Thompson H C. Analysis of fumonisin B₁ in rodent feed by CE with fluorescence detection of the FMOC derivative [J]. *J Capillary Electrophor*, 1996, 3(4): 205.
- [38] Maragos C M, Plattner P D. Rapid fluorescence polarization in immunoassay for the mycotoxin deoxynivalenol in wheat [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(7): 1827.
- [39] Maragos C M, Jolley M E, Nasir M S. Fluorescence polarization as a tool for the determination of deoxynivalenol in wheat [J]. *Food Addit Contam*, 2002, 19(4): 400.
- [40] Petterson H, Aberg L. Near infrared spectroscopy for determination of mycotoxins in cereals [J]. *Food Control*, 2003, 14(4): 229.
- [41] 田苗, 林维宜. 单克隆免疫亲和柱-高效液相色谱法测定玉米中的玉米赤霉烯酮 [J]. 冷饮与速冻食品工业, 2003, 9(2): 27.
- [42] 李军, 许辉, 隋凯, 等. 免疫亲和柱净化/柱前衍生化-高效液相色谱荧光检测法测定粮谷中的T-2毒素 [J]. 色谱, 2006, 24(3): 256.
- [43] 魏润莲, 王竹天. 谷物中脱氧雪腐镰刀菌烯醇和雪腐镰刀菌烯醇的气相色谱测定 [J]. 卫生研究, 1996, 25(4): 242.
- [44] 臧少先, 安信伯, 石丽军, 等. 白术根腐病症状类型及病原鉴定 [J]. 河北农业大学学报, 2005, 28(3): 73.
- [45] 林兰稳, 李兆雄, 何熊威, 等. 粉葛根腐病的病原鉴定 [J]. 生态环境, 2003, 12(4): 516.
- [46] 邓成贵. 黄芪根腐病病原鉴定研究初报 [J]. 中药材, 2005, 28(2): 85.
- [47] 缪清, 李世东, 刘杏忠, 等. 三七根腐病病原研究 [J]. 中国农业科学, 2006, 39(7): 1371.

葫芦巴碱的生物分布与药理作用

姜华¹, 尹浩², 赵余庆^{2*}

(1. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110032; 2. 沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016)

葫芦巴碱(trigonelline)是广泛存在于动植物中的生理活性物质^[1],也是人体内的代谢产物^[2]。葫芦巴碱熔点为218℃,分子式C₇H₈NO₂,相对分子质量为137.4,化学名为N-甲基烟酸内酯或N-甲基烟酸内盐,溶于水、甲醇、乙醇等极性溶剂中。由于其分子中同时存在带正负电荷的基团,所以是两性的季胺生物碱。由于其具有降血糖、抗肿瘤、降血脂等药理活性,一直为国内外学者所关注。现就其生物分布和药理作用等方面进行综述,为全面了解和开发利用葫芦巴碱提供参考。

1 生物分布

最早记载的葫芦巴碱发现于葫芦巴 *Trigonella foenum-graecum* L. 的种子中^[3],之后又在很多种植物的种子、根^[4]和豌豆中被发现^[5]。现已研究表明葫芦巴碱广泛分布于双子叶亚纲植物^[6]、海洋生物^[7]和哺乳、节肢、脊索、软体及腔肠动物门的3个亚纲(珊瑚纲、水螅纲、水母纲)中。葫芦巴碱还被发现存在于各种鱼类的不同器官中^[8](表1)。此外,葫芦巴碱还是人体内烟酸和色氨酸的代谢产物。

收稿日期:2007-06-05

基金项目:辽宁省中小企业技术创新基金资助项目(2004-32)

*通讯作者 赵余庆 Tel:(024)23986522 E-mail:zyq4885@126.com