

真菌毒素性质及免疫原制备方法的研究进展

孙亚宁^{1,2}, 侯玉泽^{1,*}, 邓瑞广², 胡晓飞², 王磊¹, 赵丽娜¹,
职爱民², 刘庆堂², 张改平²

(1.河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471003;

2.河南省农业科学院动物免疫重点实验室, 河南 郑州 450002)

摘 要: 真菌毒素是一些真菌在生长过程中所产生的毒性很强的次级代谢产物, 通过食品或饲料危害动物和人类的健康及安全。能充分认识真菌毒素性质, 准确快速的检测真菌毒素是控制其危害的最有效手段, 现阶段酶联免疫(ELISA)检测方法已经成为真菌毒素快速检测的主要趋势, 本文对一些主要真菌毒素的性质、种类、危害以及真菌毒素的 ELISA 检测方法中重要环节——免疫原制备方法的研究做一综述。

关键词: 黄曲霉毒素; 赭曲霉毒素; 伏马菌素; 玉米赤霉烯酮; 脱氧雪腐镰刀菌烯醇; 免疫原制备方法

Current Advances in Characteristics of Fungaltxin and Preparation of Antigen

SUN Ya-ning^{1,2}, HOU Yu-ze^{1,*}, DENG Rui-guang², HU Xiao-fei², WANG Lei¹, ZHAO Li-na¹,
ZHI Ai-min², LIU Qing-tang², ZHANG Gai-ping²

(1. College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China;

2. Henan Key Laboratory for Animal Immunology, Henan Academy of Agricultural Science, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Fungaltoxins are secondary metabolites with strong toxicity during growth process of fungi. They are dangerous to human health and safety through food or feed chains. The most effective method to control its negative impact is to fully understand their characteristics for conducting accurate and rapid detection. Currently, ELISA detection method has become the major trend for rapid detection of mycotoxins. In this paper, the characteristics, classifications, harmfulness, preparation methods of immunogen and ELISA detection of fungaltoxins is reviewed.

Key words: aflatoxin; ochratoxin; fumonisin; zearalenone; deoxynivalenol; antigen preparation

中图分类号: S567.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)11-0293-05

真菌毒素(fungaltxin)是一些真菌(主要为曲霉属、青霉属及镰孢属)在生长过程中产生的, 易引起人和动物病理变化和生理变异的次级代谢产物。其毒性很高, 可通过污染谷物或采食真菌毒素污染饲料的动物的产品(如牛奶、肉和蛋)而进入食物链, 危害人类健康^[1]。目前, 最主要的真菌毒素有: 黄曲霉毒素、赭曲霉毒素、伏马菌素、玉米赤霉烯酮和一些单端孢霉烯族, 如脱氧雪腐镰刀菌烯醇等^[2]。真菌毒素的毒性主要表现为肝肾毒性、生殖毒性、免疫抑制、中枢神经系统异常、致癌、致畸、遗传毒性等。因此, 充分认识真菌毒素性质, 建立准确有效的检测食品中真菌毒素的方法对于人类健康意义重大。

1 主要的真菌毒素及理化性质

1.1 黄曲霉毒素(aflatoxin, AF)

黄曲霉毒素是一类结构类似的化合物, 其基本结构都有二呋喃环和香豆素(氧杂萜邻酮), 前者为基本毒性结构, 后者与致癌有关^[3]。AF 在紫外线下有荧光, 根据荧光颜色及其结构分别命名为 AFB₁、AFB₂、AFG₂、AFG₁、AFM₁、AFM₂ 等, 目前已分离鉴定出的有 20 余种^[4]。在紫外光下观察时, 可见到这些毒素的荧光颜色: AFB₁、AFB₂(蓝色), AFG₁(绿色), AFG₂(绿~蓝色), AFM₁(蓝~紫色), AFM₂(紫色)^[5]。黄曲霉毒素是饲料中存在最多、致突变性最强的一种霉菌毒素, 其中 AFB₁ 的毒性最强, 其毒性是氰化钾的 10 倍、砒霜

收稿日期: 2009-10-29

基金项目: 河南省基础与前沿技术研究重大项目(092300410028); “十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAK02A21)

作者简介: 孙亚宁(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品安全。E-mail: happylsht@163.com

* 通信作者: 侯玉泽(1956—), 男, 教授, 硕士, 研究方向为食品质量与安全。E-mail: houyuze@126.com

的68倍,半数致死量为0.36mg/kg体质量,被列为剧毒物质(半数致死量 $\leq 1\text{mg/kg}$ 体质量时,属于剧毒级)。AFB₁是目前已知最强的经口致癌物,被国际癌症研究机构划定为I类致癌物,是诱发原发性肝癌的主要危险因素之一。在已经发现的霉菌中可以产生AF的有黄曲霉、寄生曲霉、黑曲霉和米曲霉以及桔青霉、岛青霉等^[6]。

黄曲霉毒素纯品为无色结晶,相对分子质量为312~346,易溶于油,可大量溶解于氯仿、甲醇、乙腈、二甲基亚砷等中等极性的有机溶剂中,但不溶于石油醚、正己烷和乙醚中,微溶于水,在水中的最大溶解度只有10 $\mu\text{g/L}$ 。黄曲霉毒素的水溶液对光较敏感,加入30%的甘油,可使其稳定性大为提高。溶液的pH值对黄曲霉毒素的稳定性也有影响,一般在中性溶液中较稳定,在强酸性溶液中稍有分解,在pH9~10的碱性溶液中分解迅速,同时易被强氧化剂分解。AFB₁毒性最强,耐高温,结构式如图1所示,在268~269 $^{\circ}\text{C}$ 时才发生裂解。紫外线对低浓度黄曲霉毒素有一定的破坏性。

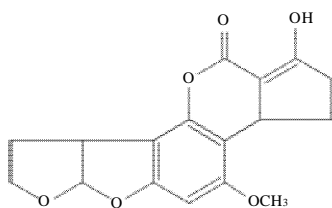


图1 黄曲霉毒素B₁结构式
Fig.1 Structure of aflatoxin B₁

1.2 赭曲霉毒素A(ochratoxin A, OTA)

赭曲霉毒素是曲霉菌属和青霉菌属的某些种产生的次级代谢产物,包括赭曲霉毒素A、B、C、D和 α 等几种结构类似的化合物。赭曲霉毒素对农作物的污染在全球范围内都比较严重,其中赭曲霉毒素A在自然界分布最广泛,毒性最强,赭曲霉毒素B次之。OTA对人类及动物健康造成了很大的威胁,它可以导致受试动物的肾萎缩,胎儿畸形、流产及死亡,并具有高度的致癌性,因此受到了全世界的广泛关注。

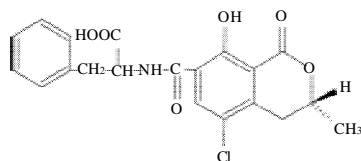


图2 赭曲霉毒素A结构式
Fig.2 Structure of ochratoxin A

OTA为无色结晶化合物,相对分子质量为403.8,分子式为C₂₀H₁₈ClNO₆,结构式见图2。OTA呈弱酸性,溶于极性溶剂与碱水中,微溶于水。在紫外线照射下呈绿色荧光,最大吸收峰为波长333nm,对热稳定,对空气和光都很敏感,尤其在潮湿环境中,短暂的光照都能使之分解,但OTA在纯乙醇溶液中可避光冷藏一年以上。

1.3 伏马菌素(fumonisin)

伏马菌素是一类主要由串珠镰刀菌(*Fusarium moniliforme*)污染玉米和玉米食品所产生的真菌毒素,由不同的多氢醇和丙三羧酸组成的结构类似的双酯化合物,到目前已经发现有11种,分别是FA₁、FA₂、FB₁、FB₂、FB₃、FB₄、FC₁、FC₂、FC₃、FC₄、FP,其中FB₁是伏马菌素的主要组成成分,占总量的70%,也是导致伏马菌素毒性作用的主要原因^[7],其次是FB₂,其他几种含量较少。FB₁与人类食管癌和肝癌的发生有着非常密切的关系,国际癌症研究中心(IARC)把它划分到2B组,即人类可能的致癌物。

FB₁相对分子质量为721,分子式为C₃₄H₅₉O₁₅N,结构式如图3所示,包括一个由20个碳组成的脂肪链及通过二个酯键连接的亲水性侧链,因此FB₁溶于水,且具有热稳定性,100 $^{\circ}\text{C}$ 蒸煮30min也不能破坏其结构^[8];伏马菌素在150 $^{\circ}\text{C}$ 的半衰期为10min,125 $^{\circ}\text{C}$ 的半衰期为38min,100 $^{\circ}\text{C}$ 的半衰期为175min,75 $^{\circ}\text{C}$ 的半衰期为8h。伏马菌素在结构上与神经鞘氨醇相似,因而伏马菌素能够特异性地干扰神经鞘脂类在体内的代谢。神经鞘氨醇是神经鞘脂类(神经鞘磷脂、神经酰氨、神经节苷脂)的化学结构骨架,神经鞘脂类生物合成的破坏将给人类以及动物的健康造成严重的危害^[9]。

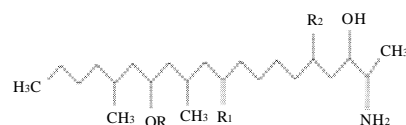


图3 伏马菌素B₁的结构式
Fig.3 Structure of fumonisin B₁

1.4 玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN)

玉米赤霉烯酮又称F-2毒素,是由禾谷镰刀菌、黄色镰刀菌、粉色镰刀菌、三线镰刀菌等真菌在玉米、谷物上生长过程中所产生的次级代谢产物,属于雷索酸内酯类甾体类同化激素^[10]。玉米赤霉烯酮有许多种衍生物,例如7-脱氢玉米赤霉烯酮、玉米赤霉烯酸、8-羟基玉米赤霉烯酮。该毒素具有雌激素活性,严重影响哺乳动物的生殖器官及其功能。该毒素不仅可以污染谷物、饲料,对动物造成毒性,而且还可以通过污染或

残留 ZEN 的肉、乳等动物源性食品进入人体, 给人的健康造成威胁^[11]。

ZEN 为白色结晶, 结构式如图 4 所示, 是一种酚的二羟基苯酸的内酯结构, 分子式为 $C_{18}H_{22}O_5$, 熔点是 $161\sim 163^\circ\text{C}$, 不溶于水、二硫化碳和四氧化碳, 溶于碱性溶液、乙醚、甲醇、苯、氯仿、二氯甲烷、乙酸乙酯和酸类, 微溶于石油醚, 其甲醇溶液在紫外光下呈明亮的绿~蓝色荧光。由于 ZEN 是一种内酯的结构, 因此在碱性环境的条件下可以将酯键打开, 当碱的浓度下降时可将键恢复。

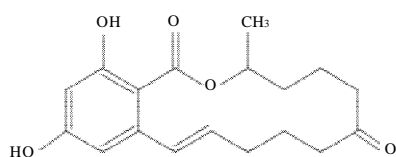


图 4 玉米赤霉烯酮结构式
Fig.4 Structure of zearalenone

1.5 脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)

镰刀菌繁殖期间产生的单菌孢霉烯族化合物(trichothecene, TCH)对小麦、大麦和玉米等主要农作物的污染已经逐渐成为一个普遍的问题, 被 TCH 污染的食物和饲料已经成为人类与动物食品中毒的重要因素之一^[12]。脱氧雪腐镰刀菌烯醇是最易检测到的 TCH, 又名呕吐毒素, 是由小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)产生的最为重要的赤霉毒素^[13-14], 主要污染小麦、大麦、玉米等谷类作物, 并进而污染粮食制品, 不仅在赤霉病发展过程中具有重要作用, 而且对人畜具有高度危害性, 可致呕吐、腹泻、发烧等急性中毒症状, 与贫血、免疫抑制、食管癌、克山病也有密切联系^[15-17]。

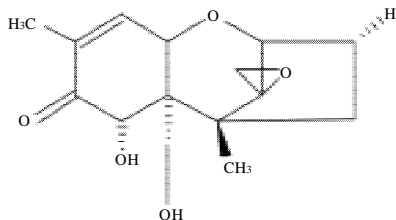


图 5 脱氧雪腐镰刀菌烯醇结构式
Fig.5 Structure of deoxynivalenol

DON 为无色针状结晶, 其结构是 3,7,15- 三羟基-12, 13- 环氧单端孢霉-9- 烯-8- 酮, 结构式如图 5 所示, 为

雪腐镰刀菌烯醇的脱氧衍生物。相对分子质量为 296.3, 分子式为 $C_{15}H_{20}O_6$, 熔点为 $151\sim 153^\circ\text{C}$ 。该化合物化学性能非常稳定, 具有较强的热抵抗力和耐酸性, 在 pH10 条件下 100°C 加热 60min 部分被破坏, 120°C 加热 30min 和 170°C 加热 15min 完全被破坏^[18]。DON 易溶于水和极性溶剂如甲醇、乙醇、乙腈、丙酮及乙酸乙酯, 但不溶于正己烷和乙醚。在有机溶剂中稳定, 乙酸乙酯和乙腈是最适合的溶剂。其溶液在实验室条件下长期储存性质不变^[19]。

2 真菌毒素免疫原制备方法

被真菌毒素污染的食物和饲料对人和动物具有严重的急慢性毒性, 人类食用 AFB₁ 污染的食品会导致急性中毒, 引起肝脏坏死出血, 慢性中毒可引起肝癌。AFB₁ 污染的饲料使畜禽生产率降低, 质量增加减慢, 间接对人类造成重大危害; FB₁ 不仅可以引起人类食道癌和肝癌, 还可以引起马脑白质软化症和猪的肺水肿综合征, 对其他畜禽及实验动物造成多种毒性作用及诱发肿瘤, 严重威胁动物的健康, 影响畜牧业的发展。因此, 研究准确快速的真菌毒素检测方法具有非常重要的意义。

现阶段真菌毒素的常用检测方法有: 生物化学方法、物理化学方法、免疫学方法等^[1]。酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)是近年来发展最快的免疫学检测方法, 由于其特异性高、敏感性强、快速方便、无需昂贵仪器设备且对样品纯度要求不高等优点, 特别适用于大批量样品的检测, 在真菌毒素快速检测领域有着极高的应用价值。ELISA 检测中关键的一步是制备具有特异性高的单克隆抗体, 而真菌毒素又都是小分子物质, 属于半抗原, 即只有反应原性, 无免疫原性, 因此需与大分子物质(如蛋白质等)结合后, 利用大分子的 T 细胞表位刺激机体才能产生抗体特异性免疫应答。因此制备好的抗原成为真菌毒素快速检测中最关键的一步。

2.1 黄曲霉毒素 B₁(AFB₁)

由于 AFB₁ 本身的性质不活泼, 不具有能和蛋白质连接的活性基团, 因此首先要通过适当的衍生化方法, 将活性基团引入 AFB₁ 中。

1977 年, Chu 等^[20]成功合成黄曲霉毒素 B₁ 人工抗原并制备出其多克隆抗体。他们采用的是甾族化合物的方法, 将活性基团引入 AFB₁ 中, 以吡啶为催化剂, 在甲醇水溶液中, 通过回流将(氨基)乙酸半盐引入 AFB₁ 中, 使其转化为 AFB₁O。AFB₁O 通过引入的羧基和载体蛋白质中的氨基等连接。

韦耀鹏等^[21]曾采用 Mannich 反应法合成了 AFB₁ 抗

原,并将此抗原免疫日本大耳兔,获得了抗 AFB₁ 的抗体。Mannich 反应法合成黄曲霉毒素 B₁ 人工抗原分两步反应,第一步:在乙醇溶液中,甲醛与载体蛋白中的胺基在盐酸催化下缩合失水,得到亚甲胺碳正离子(H₂C-NBSA);第二步:H₂C-NBSA 再与黄曲霉毒素 B₁ 上的羰基 α 位氢原子发生反应:得到 AFB₁ 与 BSA 的连接物^[22]。

Martin 等^[23]利用环氧化物法,制备了 AFB₁ 的抗原。此法通过过氧化物间氯过氧苯甲酸或环氧乙烷将黄曲霉毒素二呋喃环双键在二氯甲烷中环氧化,形成高活性的黄曲霉毒素环氧化物,室温下在有机相中与水相中的蛋白质通过不断搅拌而实现偶联。

2.2 赭曲霉毒素 A(OTA)

OTA 本身带有活泼基团——游离的羧基,利用羧基可以直接与蛋白质的氨基偶联,偶联方法一般有:混和酸酐法(MA 法)、碳二亚胺法(EDC 法)和活性酯法(NHS 法)。由于 MA 法制备包被抗原着色背景吸光度高,所以多选用后两个方法。NHS 法是 EDC 法的一种改进型,半抗原的羧基在二环己基碳化二亚胺(dicyclohexylcarbodiimide, DCC)的作用下与 NHS 的羟基缩合成酯(活性酯),在碱性条件下,活性酯不稳定,易受蛋白质中氨基的亲核攻击,最后形成稳定的肽键,从而与蛋白质结合。NHS 法既克服了用 MA 法制备包被抗原着色背景吸光度高的缺点,又可以避免 EDC 法对蛋白的直接作用,从而避免了蛋白分子间的交联。黄飏^[24]采用了 EDC 法偶联 OTA 与蛋白质,并成功制备了单克隆抗体。刘仁荣^[25]采用 NHS 法偶联,也成功制备了 OTA 单克隆抗体。陈雪岚等^[26]还报道了当 OTA 与牛血清白蛋白(BSA)的物质的量比为 20:1, OTA:NHS:DCC 的物质的量比为 1:2:4, OTA 的活化时间为 60min,偶联时间在 90min 的情况下,OTA 与 BSA 的连接比可达 9.64,OTA 的利用率可达 48.2%。

2.3 伏马菌素 B₁(FB₁)

FB₁ 上含有一个游离的氨基,利用氨基可以直接与蛋白质的羧基偶联,氨基的偶联方法常用戊二醛法和重氮化法。许金俊等^[27]采用戊二醛一步法进行免疫抗原 BSA-FB₁ 的偶联和合成,半抗原与载体的物质的量比约为 50:1。双功能试剂戊二醛的两个醛基分别与半抗原和蛋白质上的氨基形成 schiff 键,在半抗原和蛋白质间引入一个 5 碳桥。这一反应条件温和,可在 4~40℃ 及 pH6.0~8.0 范围内进行,操作亦简便,因此应用广泛。戊二醛受光照、温度和碱性的影响,可能发生自我聚合,减弱其交联能力,因此最好使用新鲜的戊二醛。

2.4 玉米赤霉烯酮(ZEN)

玉米赤霉烯酮分子上含有一个酚羟基,它与蛋白质的偶联多采取先分子改造,后偶联的方式。陈新建等^[28]采用稍加改动的 Erlanger 等法,分两步合成,先将

玉米赤霉烯酮与盐酸羧甲基羟胺反应得到半抗原即玉米赤霉烯酮-6-羧甲氧肟,其带有游离的羧基,再将半抗原与牛血清白蛋白(BSA)结合成完全抗原。Teahima 等^[29]采用将氨基引入分子中再偶联的方式进行抗原的合成,其先用亚硝酸钠将 ZEN 硝化为 5-硝基-ZEN,再与次硫酸钠反应生成 5-氨基-ZEN,再用戊二醛法与 BSA 进行偶联得到抗原。由于 ZEN 上含有酚羟基,也可以选用 1,4-丁二醇二缩水甘油醚法与蛋白质进行一步法偶联^[30]。

2.5 脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)

DON 分子上只含有羟基,所以多采用先分子改造,后偶联的方法制备抗原。王俊双等^[31]采用丁基硼酸封闭 DON 的 7,15-羟基,然后用琥珀酸酐酰化 3-羟基,制备了含有羧基的 DON 衍生物——3-半琥珀酰化-DON,再利用此衍生物采用 NHS 法与 BSA 偶联制备了完全抗原。邓舜洲等^[32]和黎芳等^[33]分别利用此方法制备了完全抗原。

3 结 语

真菌毒素不同于细菌毒素,它是小分子物质,极耐热,毒性不因通常的加热而被破坏,可引起多器官的损害,而且具有长期致病及致癌等作用。更重要的是,被真菌毒素污染的粮食在外观上是正常的,不易被人们注意,由此真菌毒素的检测就显得尤为重要。食品、饲料中真菌毒素检测常用的国家标准方法有 TLC 法、HPLC 法、ELISA 法等。前两者存在样品制备复杂、设备昂贵等问题,不便于生产上的应用。ELISA 法因其简便、快速、高灵敏度、高特异性等特点,已经普遍使用于食品真菌毒素以及其他毒物的检测。但由于待测物质在样品中含量低、免疫原性弱、存在交叉反应、干扰因素多等困难,以及 ELISA 法自身的一些缺点,如各种特异性抗体的制备难,抗体灵敏度、效价,抗原抗体最佳反应条件,抗体固相化技术等,导致不同报导中检测灵敏度的差异。而要获得较好的灵敏度必须要有好的单抗,要有好的单抗就要制备好的免疫原。随着免疫原制备、单抗纯化及检测手段的进步,ELISA 法检测真菌毒素已成为一种应用最为广泛和发展最为成熟的生物检测方法,并将继续在科研、临床医学和生产检测等领域广泛应用。

参考文献:

- [1] 周晓,谢体三,刘运龙. ELISA 技术在食品真菌毒素检测中的应用[J]. 粮食与食品工业, 2007, 14(5): 49-53.
- [2] 联合国粮食及农业组织. 2003 年全世界食品和饲料真菌毒素法规[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004.
- [3] ROSS R K, YUAN J M, YU M C, et al. Urinary aflatoxin biomarkers and risk of hepatocellular carcinoma[J]. Lancet, 1992, 339(8799): 943-946.

- [4] 吴坤. 营养与食品卫生学[M]. 5版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 224.
- [5] 居乃琥. 黄曲霉毒素[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1980.
- [6] 李新颖, 石英. 国际香辛料真菌毒素限量标准研究现状[J]. 中国调味品, 2006(12): 9-16.
- [7] THOMAS S W. Fumonisin: abiotic conversions of an environmental tumor promoter and common food contaminant[J]. *Journal of Toxicology Toxin Reviews*, 2003, 22(4): 591-616.
- [8] DUPUY J, LEBARS P, BOUDRA H, et al. Thermostability of fumonisin B₁ amycotoxin from *Fusarium moniliforme* in corn[J]. *Applied and Environment Microbiology*, 1993, 57(9): 2864-2867.
- [9] 王金昌, 王小红, 杨一兵, 等. 伏马菌素的毒害及脱毒防控技术的研究进展[J]. 江西科学, 2009, 27(1): 76-80.
- [10] 王怡净, 张立实. 玉米赤霉烯酮毒性研究进展[J]. 中国食品卫生, 2002, 14(5): 40-43.
- [11] 贾红. 玉米赤霉烯酮单克隆抗体的研制及初步应用[D]. 扬州: 扬州大学, 2005.
- [12] 邢涛译. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇的毒性、作用机理以及对动物健康的危害[J]. 养殖与饲料, 2008(11): 78-81.
- [13] 王裕中, 米勒. 中国小麦赤霉病菌优势种: 禾谷镰刀菌产毒素能力的研究[J]. 真菌学报, 1994, 13(3): 29-234.
- [14] BOTTALICO A, PERRONE G. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small grain cereals in Europe[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2002, 108(7): 611-624.
- [15] PESTKA J J, ZHOU H R, MOON Y, et al. Cellular and molecular mechanisms for immune modulation by deoxynivalenol and other trichothecenes: unraveling a paradox[J]. *Toxicology Letters*, 2004, 153(1): 61-73.
- [16] SCHOLLENBERGER M, MULLER H M, RUFLE M, et al. Survey of *Fusarium* toxins in foodstuffs of plant origin marketed in Germany[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2005, 97(3): 317-326.
- [17] ARNOLD D L. The toxicity of orally administered deoxynivalenol (vomitoxin) in rats and mice[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 1986, 24(9): 935-941.
- [18] 卫生部食品卫生监督检验所. GB/T 5009.111—2003 谷物及其制品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [19] 何敏, 王一凡, 邓衍柏. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)检测方法研究进展[J]. 中国动物检疫, 2008, 25(4): 40-43.
- [20] CHU F S, UENO I. Production of antibody against aflatoxin B₁[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1977, 33(5): 1125-1129.
- [21] 韦耀鹏, 陆善新, 顾旭辉, 等. 黄曲霉毒素 B₁ 抗原制备的新方法及抗体特性的初步研究[J]. 肿瘤防治研究, 1992, 19(2): 78-79.
- [22] 张金阳. 抗黄曲霉毒素 G₁>1 单克隆抗体的制备与特性鉴定[D]. 武汉: 湖北大学, 2008.
- [23] MARTIN C N, GARNER R C. Aflatoxin B₁-oxide generated by chemical or enzymic oxidation of aflatoxin B₁ causes guanine substitution in nucleic acids[J]. *Nature*, 1977, 267(5614): 863-865.
- [24] 黄飏. 赭曲霉毒素 A 与黄曲霉毒素 B₁ 的超微量免疫分析[D]. 无锡: 江南大学, 2006.
- [25] 刘仁荣. 赭曲霉毒素 A 无毒酶联免疫吸附分析方法的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2005.
- [26] 陈雪岚, 许杨, 吴成钢. 赭曲霉毒素 A 的酶联免疫检测 -I. 抗原的制备[J]. 卫生研究, 2002, 31(1): 53-55.
- [27] 许金俊, 陈飞, 秦爱建, 等. 抗伏马菌素 B₁ 单克隆抗体的制备与特性鉴定[J]. 细胞及分子免疫学, 2007, 23(1): 956-958.
- [28] 陈新建, 孟繁静. 玉米赤霉烯酮的放射免疫分析[J]. 植物生理学报, 1990, 16(1): 70-76.
- [29] TEAHIMA R, KAWASE M, TANAKA T, et al. Production and characterization of a specific monoclonal antibody against mycotoxin zearalenone[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1990, 38: 1618-1622.
- [30] 许文涛, 黄昆仑, 邓爱科, 等. 莱克多巴胺的抗原合成鉴定及其抗体的制备纯化[J]. 食品科学, 2005, 26(12): 29-33.
- [31] 王俊双, 袁耀萍, 孙秀兰. DCC 法制备脱氧雪腐镰刀菌烯醇人工抗原的研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(5): 118-121.
- [32] 邓舜洲, 游淑珠, 许杨. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇人工抗原的研制[J]. 食品科学, 2007, 28(2): 149-152.
- [33] 祭芳, 李华, 陈怀谷, 等. 脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)人工抗原及多克隆抗体的研制[J]. 江苏农业学报, 2008, 24(4): 419-424.