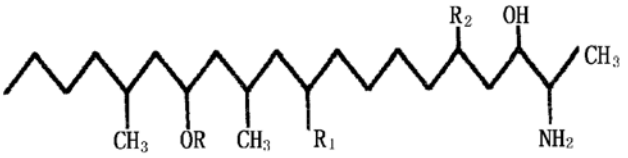
伏马菌素的研究进展(综述)

江　涛　罗雪云　计　融　卫生部食品卫生监督检验所　(100021)

1　概述

伏马菌素是80年代末期发现的一种由串珠镰刀菌(*Fusauium moniliform Sheld*)产生的霉菌毒素。1988年Marasas[1]主持的霉菌毒素及实验性癌症研究组(Programme on Mycotoxin and Experimental Carcinogenesis,PROMEC)在南非Transkei食管癌高发区进行流行病学调查时,发现食用被串珠镰刀菌污染的玉米可能是引起食管癌的主要原因。他们采集食管癌高发区和低发区被真菌污染的玉米进行培养,发现食管癌高发区玉米被串珠镰刀菌污染显著高于低发区($P < 0.01$)。在此基础上,1988年Gelderblom[2]等从串珠镰刀菌菌株的产毒培养物中分离出一组新的水溶性代谢产物,命名为伏马菌素(Fumonisins FBs),1989年Laurent[3]等从伏马菌素中分离出两种结构相似的有毒物质,分别被命名为伏马菌素B_1(FB_1),和伏马菌素B_2(FB_2)。伏马菌素是一组相关的极性代谢产物,它的分子结构式如下:[4]



R=COCH(COOH)CH_2COOH

FB_1: R_1=OH　　R_2=OH
FB_2: R_1=OH　　R_2=H
FB_3: R_1=H　　R_2=OH
FB_4: R_1=H　　R_2=H

伏马菌素的生产主要是通过生物合成的方法,将串株镰刀菌在25℃或20℃的条件下进行培养,在活动生长期(第二周后)开始产生FB_1,经过4～6周,达到生长静止期。在此期间,FB_1持续增长,13周后FB_1的浓度开始下降。Kraus[5]等认为通过化学合成得到的伏马菌素对细胞具有更强的毒性。

2　毒性

1988年Marasas[6]等给马静脉注射FB_1,剂量为每日0.125 mg/kg BW,观察到马在第八天出现明显的神经中毒症状,表现为精神紧张、淡漠、偏向一侧的蹒跚、震颤、共济失调、行动迟缓、下唇和舌轻度瘫痪,不能饮食等症状,第十天出现强直性痉挛。病理解剖发现脑部重度水肿,延髓髓质有早发的、两侧对称的斑点样坏死,脑白质软化改变,证实伏马菌素可以诱发马脑白质软化症(equine leucoencephalomalacia,ELEM)。

1992年Wilson[7]和Wang[8]等分别观察FB_1对小狗的毒性作用,发现FB_1不仅可导致肝细胞损伤、脑部白质软化直至死亡,还可造成肝、肺、肾中游离的神经鞘胺醇(sphingosine)水平升高。1994年Chatterjce[9]等用FB_1提取物观察其对小鸡巨噬细胞的影响。结果表明,FB_1可引起小鸡巨噬细胞数量减少和功能损伤,导致免疫应答降低,从而增加了传染易感性和FB_1诱发癌症的危险性。1995年Bondy[10]等观察FB_1对雄性SD大鼠的毒性作用,结果发现试验组大鼠的体重、食物摄取量和排泄物产生量均明显下降,肾、肝、脾和胸腺的绝对重量显著下降,相对脑重量增加,但肾、脾的相对重量未受影响。结论认为对于SD大鼠,肝脏和肾脏是FB_1损坏的主要靶器官。而Marasas[11]等对雄性BDIX大鼠的终生慢性毒性实验表明,饲料中含8%串珠镰刀菌MRC 826产毒培养物可引起肝脏损伤并诱发肝胆管肿瘤。

Fincham[12]等在低脂肪碳水化合物类饲料中加入小于等于0.5%的串珠镰刀菌MRC 826的产毒培养物,引起灵长类动物血浆中致动脉粥样硬化样的脂肪改变,表现为血浆中纤维蛋白质含量增多和血液凝集因子Ⅶ活性增高,使患动脉粥样硬化的危险性增高。

3　对人类的影响

PROMEC研究组对南非Transkei食管癌高发地

区进行流行病学调查时，发现食用被串珠镰刀菌污染的玉米可能是引起食管癌的主要原因。在南非的很多农村地区，主要的饮食是玉米，因此怀疑在这一地区种植的玉米很可能被某些真菌污染，特别是串株镰刀菌，它是污染玉米的优势菌并且发生率很高。因此PROMEC研究组把串株镰刀菌及其产生的真菌毒素作为调查食道癌高发区的主要研究对象。其结果表明，在食管癌高发区伏马菌素的污染水平与低发区的污染水平有显著的不同，高发区伏马菌素污染水平是低发区的2倍多。1994年Yoshizawa[13]等从我国食管癌高发区林县和低发区上丘县共采集47份玉米试样，从这些试样中分离出伏马菌素B_1和B_2，阳性试样中，林县试样FB_1和FB_2的平均污染水平分别为872 ng/g和448 ng/g。上丘县试样FB_1和FB_2的平均污染水平分别为890 ng/g和330 ng/g。伏马菌素在林县的污染率为48%，而在上丘县的污染率为25%。可以看出伏马菌素在两县的污染水平基本相同，但污染率林县为上丘县的两倍，同时在林县采集的试样中还经常伴有单端孢霉烯族化合物(*trichothecenes*)的污染。Chu[14]等从林县采集了31份玉米试样，16份霉变试样中的FB_1为18～155 mg/kg，平均74 mg/kg。15份肉眼未见霉变的试样中FB_1含量为20～60 mg/kg，平均35.5 mg/kg。从调查结果分析，可以认为伏马菌素可能与食管癌有关系，但目前还没有关于伏马菌素可以诱发包括灵长类动物在内的实验动物食管癌的报道。目前，对于伏马菌素可诱发食管癌，人们有不同的解释[15]；有的认为是伏马菌素与其它真菌毒素协同作用，诱发食管癌；有的认为，在食管癌高发区，还存在其它一些饮食习惯(例如喜好饮酒等)，这些饮食习惯可以作为辅助因素，促使伏马菌素诱发食管癌；还有的认为可能还存在其它毒素，可以诱发食管癌。另外，由于伏马菌素可引起灵长类动物血浆中致动脉粥样硬化的脂肪改变，因此使人类患动脉粥样硬化的危险性增高。

4 污染状况及控制措施

FB_1污染粮食作物的情况比较严重，从意大利、阿根廷、巴西、加拿大、法国和西班牙等地的玉米中分离到数种镰刀菌，从其产毒培养物中均可分离出伏马菌素。表中列出部分国家玉米中FB_1的污染状况。

由表可见，伏马菌素对玉米及玉米制品的污染情况比较严重，而且在世界范围内普遍存在。

当前，有两种方法可以减少真菌毒素在食物链中的含量——预防和去毒。预防是指选育可以抵抗真菌污染的农作物的新品系。另外，发展农业技术，控制农作物在生长、收获和储存过程中真菌的污染。例如：农作物轮植，晒干谷物，建造结构简单却有效的种子储存设备都可减少真菌的污染。Park[16]等报道，在氨水存在和较高的温度下，FB_1可减少80%。

5 检测方法

伏马菌素被发现后，引起世界各国广泛的重视，相继建立了各种检测方法。目前检测食品中伏马菌素的方法主要有薄层层析法(TLC)，高压液相色谱法(HPLC)、酶联免疫吸附试验检测法(ELISA)和毛细管电泳法(Cspillary electrophoresis)等方法。

各国玉米FB_1的污染状况[15]

国　家	采集试样数 检出数/总数	污染水平(1) μg/kg
阿根廷	16/17	2000
巴　西	20/21	38500
贝　宁	9/11	2310
加拿大	1/2	50
中　国	5/20	1732
埃　及	2/2	2380
法　国	95/100	50000
匈牙利	36/56	334000
意大利	全部	5310
日　本	14/17	2600
韩　国	5/12	1327
秘　鲁	12/24	4600
波　兰	2/7	30
南　非	10/10	1890
西班牙	8/50	80
瑞　士	44/120	790
美　国	25/26	1048
葡萄牙	23/24	2530

注：(1)　最高浓度

1991年Cawood[17]等用硅胶G板，经三氯甲烷：甲醇：水：醋酸(55：36：8：1)和三氯甲烷：水：醋酸(6：3：1)两种展开剂展开后，用甲氧基苯甲醛或水合三酮氢茚作显色剂，在120℃的条件下显色，分离FB_1和FB_2。FB_1的R_f值分别为0.23和0.15，FB_2的R_f

值分别为 0.30 和 0.2。Rottinghaus[18]等采用反相 C_{18}薄层板，展开剂为乙氰:1% KCL 溶液(1:9)，顺序喷显色剂 0.1 mol/L 硼酸钠缓冲液、荧光胺和 0.01 mol/L硼酸等，在紫外灯下观察，FB_1 和 FB_2 均呈明亮的黄绿色光斑，R_f 值分别为 0.5 和 0.1。该方法玉米试样的检出限为 0.1 mg/kg，回收率大于 80%。

1992 年 Sydenhann[19]等建立了检测玉米等谷物中伏马菌素的高压液相色谱法。玉米等农作物用含水的甲醇萃取，然后用反相色谱柱在高压液相上分离，使用甲醇/磷酸盐缓冲液洗脱，在 250 nm 左右处产生吸收峰。检出限大于 10 mg/kg。Shephard[20]等建立的反相高压液相色谱法可检测血浆和尿样中的 FB_1，其步骤是首先用固相阴离子交换柱净化，再用邻－磷苯二醛衍生化，然后用反相色谱柱在高压液相上分离，最后用荧光检测法检测，该方法检出限为 50 μg/L，回收率高于 85%。

1992 年 Azcona－Olivera[21,22]等建立了应用单克隆抗体和多克隆抗体的 ELISA 方法检测食品中的伏马菌素。多克隆抗体的制备采用霍乱毒素作为半抗原 FB_1 的载体蛋白和佐剂，用 7.5 mg 剂量的 FB_1－霍乱毒素连接物通过腹腔、皮下和静脉注入小鼠体内，15 d 可产生 FB_1 的抗体。建立间接竞争的酶联免疫检测方法检测食物中的 FB_1，检测限为 100 ng/mL。同年他们又建立了应用单克隆抗体酶联免疫技术检测食物中的 FB_1。用 FB_1－霍乱毒素结合物免疫小鼠脾淋巴细胞，NS－1 骨髓瘤细胞进行融合，用直接竞争的酶联免疫方法检测食物中的 FB_1，该方法的检测限为 50 ng/mL，平均回收率为 103%。因此应用 ELISA 方法检测食物中的伏马菌素具有很高的灵敏度。

总之，在众多的真菌毒素中，伏马菌素被认为是对人、畜健康威胁较严重的真菌毒素之一，它普遍存在于玉米中，可能与人类的食管癌有关。它可引起马脑白质软化症(ELEM)，猪肺水肿症候群(PPE)、并具有致癌活性，同时许多动物实验证明它可引起实验动物的肝、肾损伤。因此其在食品卫生领域中越来越受到人们的重视，对串珠镰刀菌及其产毒物的深入研究，将有利于减轻它们对人类健康的威胁，保障人类的健康。

6 参考文献

1 Marasas W E O, Jaskiewicz K, Venter F S, et al. Fusarium moniliforme contamination of maize in oesophageal cancer areas in Transkei. S Afr Med J, 1988 74:110～114

2 Gelderblom W C A, Marasas W F O. Cancer promoting potential of different strains of Fusarium moniliforme in a short term cancer initiation promotion assay carcinogenesis, 1988, 9:1405～1409

3 Laurent D, Platzer N, Kohler F, et al. Macrofusin and micromonilin: two new mycotoxins isolated from corn infested by Fusarium moniliforme. Microbiol Aliment Nutr, 1989, 7:9～16

4 Bezuidenhout S C, Gelderblom W C A, Gorst－allman R M M, et al. Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from fusarium moniliforme. J Chem Soc Chem Commun, 1988, (11):743～745

5 Kraus G A, Applegate J M, Reynolds D. Synthesis of analogues of fumonisin B_1. J Aguec Food Chem, 1992, 40:2331～2332

6 Marasas W F O, Kellerman T S, Gelderblom W C A, et al. Leukoenciphalomalacia in a horse induced by fumonisin B1 isolated from Fusarium moniliforme. Onderstepoort J Vet Res, 1988, 55:197～203

7 Wilson T M, Ross P F, Owens D L, et al. Experimental reproduction of ELEM. A study to determine the minimum toxic dose in ponies. Mycopathologia, 1992, 117:115～120

8 Wang E, Ross E, Wilson T M, et al. Increases in serum sphingosine and spinganine and decreases in complex sphingolipids in ponies fiven feed containing fumonisins, mycotoxins produced by Fusarium moniliforme. J Nutr, 1992, 122:1706～1716.

9 Chatterjee D, Mukherjee S K. Contamination of Indian maize with fumonisin B_1 and its effects on chicken macrophage. Lett Appl Microbiol, 1994, 18:251～253

10 Bondy G, Suzuki C, Barker M. Toxicity of fumonisin B_1 administered intraperitoneally to male Sprague－Dawley rats. Food Chem Toxicol, 1995, 33:653～654

11 Marasas W F O, Kriek N P J, Fincham J E, et al. Primary liver cancer and oesophageal basal cell hyperplasia in rats caused by Fusarium moniliforme. Int J Cancer, 1984, 34:383～384

12 Fincham J E, Marasas W F O, Taljaard J J E, et al. Atherogenic effects in a nonhuman primate of Fusarium moniliforme cultures added to carbohydrate diet. Atherosclerosis, 1992, 94:13～25

13 Yoshizawa J, Yamashita A, Luo Y. Fumonisin occurrence in corn from high and low risk areas for human

[下接第 37 页]