

农产品中棉酚的检测技术研究进展

李凌慧, 魏月*, 吕佼, 杨舒妍, 马晶军*

(河北农业大学理工学院, 河北沧州 061100)

摘要:棉酚是一种有毒化合物,棉籽、棉籽油、棉籽粕等农产品中含有棉酚,在畜禽饲料中添加脱毒不完全的棉籽粕作为蛋白源,可能使棉酚在动物体内蓄积并通过食物链的作用对人体健康造成潜在危害,因此,包括鸡蛋、牛奶等在内的农产品中也可能含有棉酚。本文结合棉酚毒性总结了检测农产品中棉酚含量的方法,得出高效液相色谱串联质谱技术为检测农产品中棉酚含量较适宜的方法,以期建立更高效、绿色、快速、准确的检测方法提供参考。

关键词:棉酚,农产品,检测方法,研究进展

Research Progress of Gossypol Content in Agricultural Products

LI Ling-hui, WEI Yue*, LV Jiao, YANG Shu-yan, MA Jing-jun*

(Institute of Science and Technology, Agricultural University of Hebei, Cangzhou 061100, China)

Abstract: Gossypol is a toxic chemical compound which may exist in agricultural products like cottonseed, cottonseed oil, cottonseed meal and so on, the addition of virus-free cottonseed meal which is incomplete as a protein source in animal feed may cause gossypol accumulation in animals and cause potential harm to human health through food chain. Therefore, gossypol, including eggs and milk, may also contain gossypol. Combined with gossypol toxicity, the method of detection of gossypol content in agricultural products was summarized in this paper, and the molecular imprinting technique was advised after analyzing and concluding, so as to provide references for establishing a more efficient, green, fast and accurate detection method.

Key words: gossypol; agriculture products; detection method; research progress

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2018)17-0347-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2018.17.058

引文格式: 李凌慧, 魏月, 吕佼, 等. 农产品中棉酚的检测技术研究进展[J]. 食品工业科技, 2018, 39(17): 347-351.

棉酚是一种淡黄色的化合物,主要存在于棉花植物的根、茎、叶和种子内,植株的不同部位所含棉酚含量为0.04%~1.3%^[1],棉籽仁中棉酚含量最高,大约为0.3~20 g/kg^[2-3]。自然界中,棉酚主要以游离棉酚和结合棉酚形式存在^[4],游离棉酚具有一定毒性,结合棉酚是游离棉酚与氨基酸、小肽等分子结合后形成的不具毒性的衍生化合物^[5],通常不会对人体健康造成危害,生成的棉酚衍生物还具有改善糖尿病、抗生育、抗氧化活性、抗肿瘤及作为抗肿瘤药物、抗癌等医用价值^[6-10]。棉籽粕作为质优价廉的动物饲料蛋白源之一^[11-12],被畜禽大量摄入时,其中含有的游离棉酚会使畜禽出现食欲减退,呼吸困难,受精率下降等症状^[13],并通过食物链的作用,蓄积在肉、蛋、奶等食物中,间接威胁人类健康。例如,雏鸭的饲料中游离棉酚含量达到320 mg/kg就会导致棉酚在雏鸭体内蓄积,损伤肝脏并且破坏代谢系统的正常运行^[14]。2013年10月台湾大统长基食品公司被查出造假“黑心油”事件,其中粗制棉籽油高达

5828.62 t,长期食用这种油的人就会出现棉酚中毒的症状^[15]。

外国学者在检测农产品中棉酚是否存在及其含量方面的研究较少,大多都研究棉酚及其衍生物在医学领域的应用,这可能与中西方饮食文化差异有关。随着我国对农产品中棉酚危害认识不断加深,先后提出并修订了GB 13078-2017^[16]和GB 2716-2005^[17]两个国家标准,检测棉酚的技术也在不断发展,本文主要概述电化学分析技术、光谱分析技术、色谱分析技术和分子印迹技术的定量分析方法在农产品中棉酚含量检测领域的研究进展,为后期农产品中棉酚的定量分析研究提供一定的参考。

1 电化学分析法

电化学分析是仪器分析的重要组成部分之一。电化学分析法是根据物质在溶液中的电导、电势等电化学性质而建立的一类分析方法,电化学分析具有仪器设备简单、测量范围宽、操作方便等优点,便于与自动化技术联用容易实现自动化,易于微型化,

收稿日期: 2017-12-27

作者简介: 李凌慧(1997-),女,在读本科生,研究方向:食品加工与安全, E-mail: lilinghui6@126.com。

*通讯作者: 魏月(1989-),女,硕士,助教,研究方向:食品加工与安全, E-mail: weiyueyue@sina.com。

马晶军(1971-),男,硕士,教授,研究方向:分析化学, E-mail: majingjun@hebau.edu.cn。

基金项目: 河北农业大学引进博士专项(ZD201710)。

适于现场测量,在食品质量安全检测中被广泛应用^[18-20]。

1.1 极谱法

极谱法通过测定电解过程中所得到的极化电极的电流-电位(或电位-时间)曲线来确定溶液中被测物质浓度的一类电化学分析方法。极谱法是使用滴汞电极或其他表面能够周期性更新的液体电极为极化电极,分为控制电位极谱法和控制电流极谱法两大类。1922年,捷克化学家J.海洛夫斯基建立了极谱法^[21],早在1984年,姜永等^[22]介绍了极谱法测定棉酚的方法,通过改进测定条件,使实验结果的灵敏度更高。极谱法可用来测定大多数金属离子、阴离子(如 F^- 、 Cl^- 、 I^-)和有机化合物,在生物化学方面也有广泛的应用,具有适用范围广、精确度高、灵敏度高的特点^[23],但极谱法使用汞电极会产生汞蒸气,危害人体健康,实验室应注意通风,所以此方法很少用于棉酚的定量分析。

1.2 库仑法

库仑分析法是以测量电解过程中被测物质在电极上发生电化学反应所消耗的电量来进行定量分析的一种电化学分析法,分为控制电位库仑分析法和恒电流库仑滴定法。1985年,姜永等^[24]建立了TLC—溴库仑法测定棉籽中棉酚的方法,结果表明库仑法可以消除棉酚类似物的干扰,可用于棉酚样品及其制剂的测定。但是库仑分析法具有一定局限性,必须保证电极反应专一,电流效率100%才可以使用此方法。以上两种电化学分析法因具有各自的局限性,目前不再被用于棉酚的检测,但随着电子技术的发展,这可能为研究出新型电子检测技术提供依据。

2 光谱分析法

光谱分析方法是基于物质与辐射作用时,测量由物质内部发生的能级跃迁而产生的发射、吸收或散射辐射的波长和强度,以此来鉴别物质及确定它的化学组成和相对含量的方法^[25],光谱法分为吸收光谱法和发射光谱法两类。定量研究棉酚在农产品中的含量大多采用原子吸收法、近红外光谱分析法和紫外可见分光光度法。

2.1 原子吸收法

原子吸收光谱法是具有待测元素特征波长的光通过试样原子蒸气时,被测元素的基态原子所吸收,然后利用光被吸收的程度来测定被测元素含量的方法。原子吸收法更适合于定量分析,它是利用待测元素所产生的基态原子对其特征谱线的吸收程度来进行定量分析的,原子吸收法灵敏度高、精密度高、选择性好、干扰少并且应用范围广。董仕林等^[26]应用原子吸收法测定棉籽油中游离棉酚,方法的检出限为100 $\mu\text{g}/\text{kg}$,平均回收率为99.8%,仪器的相对标准偏差为4.2%~6.8%。这种方法检测农产品中棉酚,精确度不高,稳定性相对较差,难以检测痕量棉酚,且仪器占地面积大、消耗材料贵。

2.2 近红外光谱法

近红外光谱分析技术被誉为化学分析领域的

“巨人”,现如今发展迅速,在光谱分析技术中占有很重要的地位^[27],通过扫描样品的近红外光谱,可以得到样品中有机分子含氢基团的特征信息,而且利用近红外光谱技术分析样品具有方便、快速、高效、准确和成本较低,不破坏样品,不消耗化学试剂,不污染环境等优点。Cheng Li等^[28]使用近红外光谱联合蒙特卡罗无信息变量消除法与非线性多元校正相的方法联合可以快速、准确的定量分析棉籽中棉酚含量,预测均方根误差(RMSEP)为0.0422,决定系数(R^2)为0.9331,残差预测偏差(RPD)为3.8374。由于棉酚在近红外区的吸收系数小,因此,红外光谱法对农产品中的痕量棉酚进行定量分析应用较少。

2.3 紫外可见分光光度法

紫外—可见分光光度计可以对物质的组成、含量和结构进行分析、测定和推断,应用广泛,不仅可以进行定量分析,还可以利用吸收峰的特性进行定性分析和简单的结构分析,灵敏度高、准确度高、选择性好、操作方便、分析速度快、应用范围广。1988年,张绍衡等^[29]建立了紫外分光光度计测定棉籽油中的游离棉酚的方法,此方法的检出限为5000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。这种方法虽然操作简单,但样品处理复杂,易受杂质干扰,棉籽油样品易乳化,使检测值偏高。田秀芸等^[30]在此基础上改进了前处理方法,用 $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 作为破乳剂以消除乳化现象,分析的准确度与精密度均符合定量分析的要求。2017年,Daminato B等^[31]建立了一种快速、简便的检测棉籽粕中棉酚含量的方法,基于流动注射分析系统,在660 nm下进行分光光度检测,实现了对棉籽粕固体样品的直接分析。紫外分光光度法对样品纯度要求高,待测样品中含有杂质或检测基质复杂的样品时会产生较大的偏差,灵敏度不高。

3 色谱分析法

色谱分析法是利用物质的物理性质进行分离和分析的检测方法,被广泛应用于环境、材料、食品等各个科学领域,用于多组分复杂混合物的分离分析,具有速度快、效率高、选择性高和应用范围广的特点。用于检测农产品中棉酚含量的色谱分析法主要有高效薄层色谱法、高效液相色谱法和超高效液相色谱串联质谱法三种。

3.1 高效薄层色谱法

高效薄层色谱法与普通薄层色谱法相比具有分辨率高、分析时间短和检出灵敏度高的优点,因操作简单方便被应用于许多物质的检测。沈静等^[32]用高效薄层色谱法测定棉籽油中游离棉酚含量,结果表明棉酚对照品溶液在8~128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内与峰面积呈良好的线性关系,平均回收率为91.5%~100.2%。结果表明薄层扫描法测定棉籽油中游离棉酚含量,方法准确、简单、可行。此方法具有使用方便、快速、再现性好等优点,但是对生物高分子分离效果不好,结果准确可靠但精确度不高,难以实现痕量棉酚的检测。

3.2 高效液相色谱法

高效液相色谱法(HPLC)是在气相色谱和经典

液相色谱的基础上发展起来的,液相色谱分离系统由固定相和流动相组成。HPLC 具有高选择性、灵敏度高、分析速度快、重复性好、应用范围广等优点,已成为现代分析技术的重要手段之一。李东雨等^[33] HPLC 内标法检测牛乳中游离棉酚的方法,以甘草次酸为内标物,检出限为 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$, RSD 小于 2%,平均加标回收率为 102.3%~103.0%,该实验对乌鲁木齐市各散装牛乳点样品进行检测,未检出游离棉酚。宣岩芳等^[34] 用 HPLC 法检测鸡蛋中游离棉酚和总棉酚的含量,在 0.1~50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内线性关系良好,加标回收率为 89.6%~91.7%,相对标准偏差为 1.10%~4.06% ($n=6$),检出限为 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。Karishma R 等^[35] 使用 HPLC 对不同棉花品种棉籽中棉酚含量进行测定,并成功检测出棉籽中游离棉酚和总棉酚的含量。姚军等^[36] 建立了家兔血浆中棉酚的 HPLC 测定方法,平均加标回收率为 95.7%~96.3%,检出限为 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$,采用丙酮-乙腈-正庚烷-磷酸盐溶液提取家兔血浆中游离棉酚,为生物体内棉酚的测定提供了可靠的分析方法。虽然 HPLC 的分析成本较高,但是它可以通过优化流动相的组成实现多组分分析物的分离,并实现对痕量棉酚的检测,仪器的灵敏度、精密度均高于高效薄层色谱法。

3.3 液相色谱-串联质谱法

以超高效液相色谱 (UPLC)、高效液相色谱 (HPLC) 或液相色谱 (LC) 作为分离系统,串联质谱 (MS/MS) 作为检测系统的液相色谱和质谱联用技术在药物分析、食品分析和环境分析等许多领域得到了广泛的应用。液相色谱和质谱联用技术利用色谱对复杂样品的高分离能力,与质谱或光学仪器的高选择性、高灵敏度的特点,将分离技术与目标物分子结构信息相结合的方式成功地应用于痕量棉酚的定性、定量分析工作中。Zhang W^[37] 等用高效液相色谱串联质谱 HPLC-MS/MS 外标法定量检测食用油中棉酚含量,定量限为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$,加标回收率为 87.4%~100%,稳定性高,相对标准偏差为 3.9%~12.2%,实验结果准确可靠,稳定性好。袁洁等^[38] 等用 LC-MS/MS 法测鸡肝中棉酚旋光异构体,线性范围为 0.1603~8.015 $\mu\text{g}/\text{mL}$,检出限为 1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$,回收率在 80.1%~115.0% 之间,相对标准偏差小于 11%,验证了此方法的高灵敏度和精密度。施琦贻^[39] 建立了 HPLC-ESI-MS/MS 技术检测鲜蛋黄中的棉酚残留,线性范围为 1~100 ng/mL ,加标回收率在 85%~100% 之间,对标准偏差 ($n=6$) 小于 10%,精密度相对较好。姚军等^[40] 建立了高效液相色谱串联质谱 (HPLC-MS) 检测棉籽仁中左旋和右旋棉酚含量的方法,以 (R)-(-)-2-氨基-1-丙醇为手性拆分试剂进行柱前衍生化反应,左旋和右旋棉酚的检出限分别为 2.52、3.41 $\mu\text{g}/\text{kg}$,平均加标回收率为 99.4%~103.0%。LC-MS/MS 检测方法具有灵敏度高,分析时间短的优点,但是仪器价格和日常维护费用昂贵,分析成本较高,限制了此方法检测农产品中棉酚含量的推广使用。

3.4 高效毛细管电泳法

高效毛细管电泳法 (HPCE) 是依据样品中各组分之间淌度和分配行为上的差异而实现分离分析的液相分离方法。郭玉娟等^[41] 建立了高效毛细管电泳法检测棉籽油中游离棉酚含量的方法,线性范围为 10~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$,平均回收率为 99.4%~100.2%,精密度 RSD 为 1.2%,检出限为 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。该方法精密度较好、检出限低、准确度高,适用于棉籽油中游离棉酚含量的检测。

4 分子印迹技术

分子印迹技术作为一种新的分析检测技术,可以满足快速检测的要求,且灵敏性高、成本低,具有预定性、特异识别性和广泛实用性的特点。2014 年,赵晨等^[42] 设计了具有 PMAA/SiO₂ 结构的表面分子印迹聚合物来检测棉酚,使用色谱分析的方法对制备的印 PMAA/SiO₂ 迹聚合物的容量因子进行了检测,并与高效液相色谱串联紫外检测器 (HPLC-UV) 的容量因子进行了比较,得出 MIP-PMAA/SiO₂ 对棉酚检测的效果要优于 HPLC-UV。为了减小棉酚的检测周期,降低检测成本,Chen Z 等^[3] 提出了一种新型压电分子印迹传感器,对棉酚和其相似物进行检测,最低检测限 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$,结果表明压电型分子印迹传感器具有的特异性和灵敏性。分子印迹技术检测成本低,检出限低,使用压电型分子印迹传感器是极具潜力的测定农产品中棉酚含量的方法。

5 结论与展望

综上所述,本文从电化学分析技术、光谱分析技术、色谱技术、分子印迹技术等方面阐述了定量分析农产品中棉酚含量的检测技术及特点,并对部分检测方法的检出限进行比较,见表 1。由表 1 可知,高效液相色谱法、高效液相色谱串联质谱技术的检出限相对较低,检测样品的样品基质不同也可能对结果有一定影响,高效液相色谱和高效液相色谱串联质谱技术检出限低、精密度高,联合分子印迹技术的压电型分子印迹传感器检测棉酚的成本低较。上世纪 80 年代有人尝试使用电化学分析法检测棉酚,这种方法的检测结果与现在先进检测技术的检测结果相比并不理想,但目前电子技术发展迅速,这可能为研究出用于检测农产品中棉酚的最佳电子技术提供参考。

农产品中棉酚的检测技术发展较快,应根据农产品样品的本质属性与实验条件,选择较为合适的检测方法对毒性棉酚进行提取与测定。未来可以将新型前处理技术应用到复杂基质的农产品的样品中,例如石墨烯吸附法、QuEChERS 提取法、悬浮固化微萃取等低填料、低溶剂量量的前处理方法等,并结合快速、高效、准确的检测技术,以实现痕量棉酚的检测。近年来,随着科技的进步与创新,农产品中棉酚的检测技术也在不断更新,试剂盒也已成为快速检验化合物的生物学方法,为棉酚的快速检测方法提供了新方向。因此,建立更加准确、高效、绿色的分析方法仍然是农产品中棉酚含量检测领域的一个重要发展趋势。

表1 不同检测方法检测棉酚的检出限

Table 1 Detection limit of gossypol by different detection methods

检测方法	检测样品	检测物质	检出限(μg/kg)	参考文献
原子吸收法	棉籽油	棉酚	100	[26]
紫外分光光度计法	棉籽油	棉酚	5000	[29]
高效液相色谱法	牛奶	棉酚	4	[33]
高效液相色谱法	鸡蛋	棉酚	200	[34]
高效液相色谱法	家兔血浆	棉酚	200	[36]
高效液相色谱串联质谱	鸡肝	棉酚旋光异构体	1.2	[38]
高效液相色谱串联质谱	棉籽仁	左旋棉酚	2.52	[40]
高效液相色谱串联质谱	棉籽仁	右旋棉酚	3.41	[40]
高效液相色谱串联质谱	大鼠血浆	棉酚	2.56	[43]
高效毛细管电泳法	棉籽油	棉酚	1000	[41]

参考文献

[1] Kreml C, Heidelfischer H M, Jiménezalemán G H, et al. Gossypol toxicity and detoxification in *Helicoverpa armigera* and *Heliothis virescens*[J]. *Insect Biochemistry & Molecular Biology*, 2016, 78:69-77.

[2] Fonseca N B, Gadelha I C, Oloris S C, et al. Effectiveness of albumin - conjugated gossypol as an immunogen to prevent gossypol - associated acute hepatotoxicity in rats. [J]. *Food & Chemical Toxicology*, 2013, 56(2):149-153.

[3] Zhao C, Wu D. Rapid detection assay for the molecular imprinting of gossypol using a two - layer PMAA/SiO₂, bulk structure with a piezoelectric imprinting sensor [J]. *Sensors & Actuators B Chemical*, 2013, 181:104-113.

[4] Fusari P, Rovellini P. Gossypol in cottonseed product quantification by HPLC - MS/MS [J]. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 2012, 89(2):75-81.

[5] 曾秋凤, 柏鹏. 棉酚在肉禽体内的毒性和残留及其营养对策的研究进展[J]. *动物营养学报*, 2013, 25(5):917-922.

[6] Chen G, Wang R, Chen H, et al. Gossypol ameliorates liver fibrosis in diabetic rats induced by high-fat diet and streptozocin [J]. *Life Sciences*, 2016, 149:58-64.

[7] Elsharaky A S, Newairy A A, Elguindy N M, et al. Spermatotoxicity, biochemical changes and histological alteration induced by gossypol in testicular and hepatic tissues of male rats. [J]. *Food & Chemical Toxicology an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 2010, 48(12):3354.

[8] Ionov M, Gordiyenko N V, Zukowska I, et al. Stability and antioxidant activity of gossypol derivative immobilized on N - polyvinylpyrrolidone [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2012, 51(5):908.

[9] Zeng Y, Ma J, Xu L, et al. Natural product gossypol and its derivatives in precision cancer medicine [J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2017, 24.

[10] Xiong J, Li J, Yang Q, et al. Gossypol has anti-cancer effects by dual-targeting MDM2 and VEGF in human breast cancer [J]. *Breast Cancer Research Bcr*, 2017, 19(1):27.

[11] Myat T S, Tetsuka M. Gossypol inhibits LH - induced steroidogenesis in bovine theca cells[J]. *Animal Science Journal*,

2016, 88(1):63-71.

[12] Nayefi M, Salari S, Sari M, et al. Treatment by gamma or electron radiation decreases cell wall and gossypol content of cottonseed meal [J]. *Radiation Physics & Chemistry*, 2014, 99(2):23-25.

[13] Aoyama K. Determination of gossypol in feeds by HPLC[J]. *Shokuhinseigaku Zasshi Journal of the Food Hygienic Society of Japan*, 2008, 49(4):303.

[14] Zhu Y W, Pan Z Y, Qin J F, et al. Relative toxicity of dietary free gossypol concentration in ducklings from 1 to 21 d of age [J]. *Animal Feed Science & Technology*, 2017, 228:32-38.

[15] 杨伟华, 王延琴, 周大云, 等. 棉酚的毒副作用检测方法及其脱毒技术研究[J]. *农产品质量与安全*, 2014(5):61-65.

[16] GB 13078-2017 饲料卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.

[17] GB 2716-2005 食用植物油卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.

[18] 张媛媛, 吕双双, 李书国. 电化学分析法快速测定粮油食品中的总植物甾醇含量 [J]. *现代食品科技*, 2015(5):297-302.

[19] 冯亚净, 张志业, 李书国. 电化学分析法快速测定烧烤类食品中的苯并(a)芘[J]. *食品科学*, 2017, 38(16):205-209.

[20] 王玉春, 刘赵荣, 弓巧娟. 电化学分析法对食品包装材料中双酚 A 的检测[J]. *食品科学*, 2010, 31(20):303-306.

[21] 赵东江, 马松艳. 电化学分析法在食品安全检测中的应用[J]. *绥化学院学报*, 2016(2):141-144.

[22] 姜永, 周同惠. 棉酚的极谱研究[J]. *药科学报*, 1984(3):37-43.

[23] 李茜, 关亚飞, 丁城, 等. 莲原花青素与金属离子配合率的测定[J]. *食品科技*, 2017(10):264-269.

[24] 姜永, 周同惠. 棉籽中棉酚的库伦测定[J]. *分析化学*, 1985(7):60-63.

[25] 刘崇华. 光谱分析仪器使用与维护[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010.

[26] 董仕林, 洪加敏. 应用原子吸收法测定游离棉酚[J]. *中国公共卫生*, 1993, 9(8):366-366.

[27] Qi X, Han J G, Li M L. Survey of the development of near-infrared spectroscopy instruments [J]. *Spectroscopy & Spectral Analysis*, 2007, 27(27):2022-2026.

[28] Li C, Zhao T, Li C, et al. Determination of gossypol content in cottonseeds by near infrared spectroscopy based on Monte Carlo uninformative variable elimination and nonlinear calibration methods[J]. Food Chemistry, 2017, 221: 990.

[29] 张绍衡, 刘铁兵, 李健. 用紫外分光光度法对棉籽油中棉酚定量测定的研究[J]. 郑州轻工业学院学报: 自然科学版, 1988(2): 14-19.

[30] 田秀芸, 易建国, 徐世江, 等. 紫外分光光度法测定游离棉酚的改进[J]. 疾病预防控制中心通报, 2003, 18(4): 91-91.

[31] Daminato B, Kamogawa M Y, Melchert W R, et al. An Environmental Friendly Flow-Injection Procedure for On Line Extraction and Spectrophotometric Determination of Gossypol in Cottonseed Meal [J]. J Braz Chem Soc, 2017, 28 (11): 2094-2099.

[32] 沈静, 阳胜, 于红, 等. 高效薄层色谱法测定棉籽油中游离棉酚含量[J]. 光谱实验室, 2011, 28(1): 235-238.

[33] 李东雨, 张亚刚, 孙莲, 等. 牛乳中游离棉酚及其旋光异构体含量高效液相色谱法测定[J]. 食品科技, 2016(7): 305-309.

[34] 宣岩芳, 白冰, 饶钦雄. 高效液相色谱法测定鸡蛋中棉酚的含量[J]. 上海农业学报, 2015(4): 46-49.

[35] Krishna M. Determination of Total Gossypol and Free Gossypol Content in different varieties of Bt and Non Bt Cotton seed extracts by High-Performance Liquid Chromatography

(上接第 341 页)

antifungal activities of black and green Kombucha teas[J]. Journal of Food Biochemistry, 2011, 37(2): 231-236.

[77] Ali S A, Shivanna G B. Physico-chemical characteristics of russian tea fungus: Kombucha [J]. International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences, 2017, 9(4): 161-166.

[78] Battikh H, Bakhrouf A, Ammar E. Antimicrobial effect of

(上接第 346 页)

cyathane diterpenoids from the medicinal fungus *Cyathus africanus* [J]. Fitoterapia, 2013, 84: 22-31.

[39] 朱芳, 莫金垣, 蔡沛祥. Nafion 修饰铂电极电化学还原法测定溶液中的一氧化氮[J]. 分析实验室, 1999, 18(4): 6-9.

[40] Archer S. Measurement of nitric oxide in biological models [J]. The FASEB Journal, 1993, 7(2): 349-360.

[41] Malinski T, Taha Z. Nitric oxide release from a single cell measured in situ by a porphyrinic-based microsensor[J]. Nature, 1992, 358(6388): 676-678.

[42] Fangkrathok N, Junlatat J, Sripanidkulchai B. *In vivo* and *in vitro* anti-inflammatory activity of *Lentinus polychrous* extract [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2013, 147(3): 631-637.

[43] Jedinak A, Dudhgaonkar S, Wu Q-L, et al. Antiinflammatory activity of edible oyster mushroom is mediated through the inhibition of NF κ B and AP1 signaling[J]. Nutrition Journal, 2011, 10: 1-10.

[44] Engvall E, Jonsson K, Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay. II. Quantitative assay of protein antigen, immunoglobulin g, by means of enzyme-labelled antigen and

(HPLC) [J]. Research Journal of Biotechnology, 2016, 11(2): 70-74.

[36] 姚军, 栾姝, 于红, 等. 高效液相色谱法测定家兔血浆中棉酚含量[J]. 分析实验室, 2010, 29(7): 23-25.

[37] Zhang W, Huang C, Xie W, et al. Determination of gossypol in edible vegetable oil with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2014, 32(6): 582-585.

[38] 袁洁, 周晨忱, 姚军. LC-MS/MS 法测定新疆市场鸡肝中棉酚旋光异构体[J]. 分析实验室, 2016(11): 1250-1253.

[39] 施琦璐. 液质联用法测定鲜蛋黄中的棉酚[J]. 现代食品科技, 2012, 28(5): 598-600.

[40] 姚军, 何晓文, 李新霞, 等. 高效液相色谱-质谱法测定棉籽仁中左旋和右旋棉酚含量[J]. 食品工业科技, 2013, 34(19): 277-280.

[41] 郭玉娟, 迪里木拉提·毛里明, 任丽君, 等. 高效毛细管电泳法检测棉籽油中游离棉酚的含量[J]. 新疆医科大学学报, 2017, 40(8): 1074-1076.

[42] 赵晨, 贾光锋, 陆文总, 等. 表面分子印迹法制备棉酚印迹聚合物及其性能检测[J]. 科学技术与工程, 2014, 14(16): 88-93.

[43] 袁洁, 任丽君, 李东雨, 等. UPLC-MS/MS 法测定游离棉酚及其代谢产物棉酚酮在大鼠体内的组织分布[J]. 新疆医科大学学报, 2017, 40(11): 1458-1461.

Kombucha analogues [J]. LWT-Food Science and Technology, 2012, 47(1): 71-77.

[79] 谢俊杰, 余世望. 培养条件对红茶菌生长及抗菌作用的影响[J]. 食品工业科技, 2000, 21(3): 21-23.

[80] 蒋立文. 红茶菌优势微生物的分离、鉴定及抗菌机理的研究[D]. 湖南农业大学, 2007.

antibody-coated tubes [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1971, 251(3): 427.

[45] Overbergh L, Giulietti A, Valckx D, et al. The use of real-time reverse transcriptase PCR for the quantification of cytokine gene expression [J]. Biomolecular Techniques, 2003, 14: 33-43.

[46] Wang X, Hu D, Zhang L, et al. Gomisins A inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in N9 microglia via blocking the NF- κ B/MAPKs pathway [J]. Food and chemical toxicology: An international journal published for the British Industrial Biological Research Association, 2014, 63: 119-127.

[47] Neto A G, Costa J M, Belati C C, et al. Analgesic and anti-inflammatory activity of a crude root extract of *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen [J]. J Ethnopharmacol, 2005, 96(1-2): 87-91.

[48] Sanchez-Mateo C C, Bonkanka C X, Hernandez-Perez M, et al. Evaluation of the analgesic and topical anti-inflammatory effects of *Hypericum reflexum* L. fil [J]. J Ethnopharmacol, 2006, 107(1): 1-6.