

远志加工过程中黄曲霉毒素和污染真菌的分析研究

张西梅¹, 毕艳孟¹, 张继培¹, 王玉龙², 张 玮², 雷振宏², 高微微^{1*}

1. 中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193

2. 山西振东道地药材开发有限公司, 山西 长治 047100

摘要: 目的 研究远志加工过程中 4 种黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ (AFB₁、ATB₂、AFG₁、AFG₂) 的污染情况以及污染真菌的类群及变化, 分析黄曲霉毒素的主要污染途径。方法 对远志采收、加工过程的 21 份样品, 利用免疫亲和柱-HPLC 柱后光化学衍生法测定黄曲霉毒素含量, 通过稀释平板法分离污染真菌, 结合形态学和分子生物学特征对菌株进行鉴定。结果 有 15 份远志样品检出黄曲霉毒素, 但均未超出《中国药典》2015 年版中 AFB₁、黄曲霉毒素总量的限量标准, 阳性样品分布在每个生产环节。新采收的远志根上真菌总数在堆放发汗后升高, 新鲜去木质心的远志筒上真菌总数达到 2.0×10^8 CFU/g 以上, 晾晒干燥后有所降低; 直接干燥的远志棍上真菌总数在加工过程中变化不大; 真菌总数与药材水活度呈显著正相关。分离鉴定的 209 株真菌归属到 5 个属, 青霉属 *Penicillium* 为所有加工环节样品上的优势属, 堆放发汗过程中枝孢属 *Cladosporium* 和镰刀菌属 *Fusarium* 数量明显增加, 加工后的晾晒过程曲霉属 *Aspergillus* 真菌明显增加。获得的 1 株寄生曲霉 *Aspergillus parasiticus* 可以产 AFB₁、AFB₂、AFG₁ 和 AFG₂。结论 田间生产和采后加工都有可能造成远志黄曲霉毒素污染, 青霉菌大量污染有可能带来的毒素问题需要引起重视。

关键词: 远志; 黄曲霉毒素 B₁; 黄曲霉毒素 B₂; 黄曲霉毒素 G₁; 黄曲霉毒素 G₂; 黄曲霉毒素; 真菌类群; 寄生曲霉

中图分类号: R282.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)10-2851-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.010.028

Investigation of aflatoxins and toxigenic fungi contamination during post-harvest processing of *Polygalae Radix*

ZHANG Xi-mei¹, BI Yan-meng¹, ZHANG Ji-pei¹, WANG Yu-long², ZHANG Wei², LEI Zhen-hong², GAO Wei-wei¹

1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

2. Shanxi Zhendong Genuine Medicinal Materials Development Co., Ltd., Changzhi 047100, China

Abstract: **Objective** To investigate aflatoxins contamination B₁、B₂、G₁、G₂ (AFB₁、ATB₂、AFG₁、AFG₂), toxigenic fungi species and potential contamination sources of *Polygalae Radix* during post-harvest processing, and analyze the main ways of aflatoxins contamination. **Methods** Twenty-one *Polygalae Radix* samples were collected from multiple steps during the post-harvest processing in this study. Aflatoxin levels in these samples were determined by immunoaffinity column and HPLC coupled with post-column photochemical derivatization. Dilution-plate method was applied for the fungi isolation followed by strain identification based on morphological characterization and molecular approaches. **Results** Aflatoxins were detected in 15 samples, but none of them exceeded the limit set by Chinese Pharmacopoeia. The fungal counts increased significantly from newly harvested samples to post-sweating, and the counts further increased to the maximum (2×10^8 CFU/g) after xylem-removing, then decreased after drying. In contrast, fungal counts of samples dried directly after harvesting did not change much throughout the processing. There was a significant positive correlation between fungal counts and water activity (Aw). A total of 209 fungal belonged to five genera were identified from the samples, and *Penicillium* was the predominant genus. *Cladosporium* and *Fusarium* were increased after sweating, and then *Aspergillus* increased after xylem-removing and drying. One *A. parasiticus* strain was confirmed to be able to produce AFB₁, AFB₂, AFG₁, and AFG₂. **Conclusion** Aflatoxins contamination happened in both field production and post-harvest processing of

收稿日期: 2019-11-20

基金项目: 国家中药标准化项目 (ZYBZH-Y-JIN-34); 国家自然科学基金资助项目 (81274071)

作者简介: 张西梅, 博士研究生, 主要从事中药材病害研究。E-mail: zhangximei2008@163.com

*通信作者 高微微, 博士生导师, 研究员, 主要从事中药资源生态研究。Tel: (010)57833423 E-mail: wwgao411@163.com

Polygalae Radix. Especially, the contamination of *Penicillium* spp. should be paid more attention.

Key words: *Polygalae Radix*; AFB₁; ATB₂; AFG₁; AFG₂; aflatoxins; fungi community; *Aspergillus parasiticus*

远志药材 *Polygalae Radix* 为远志科植物远志 *Polygala tenuifolia* Willd. 或卵叶远志 *Polygala sibirica* L. 的干燥根, 主产地为山西和陕西, 具有安神、益智、祛痰、消肿、降血糖和增强免疫等作用^[1], 其安神功效可用于保健食品的研发^[2]。近年来中药材黄曲霉毒素(aflatoxins)污染问题逐渐受到重视,《中国药典》2015 年版^[3]首次对远志药材及饮片增加了黄曲霉毒素的检查项目, 规定黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁) 不得超过 5 μg/kg; 黄曲霉毒素总量 (AFB₁、AFB₂、AFG₁、AFG₂ 之和) 不得超过 10 μg/kg。2017—2018 年全国药品质量专项抽检公告^[4]的 21 批远志样品中, 黄曲霉毒素不合格率高达 90.5%; 2018 年发表的有关远志黄曲霉毒素污染调查的 5 篇文献^[5-9]中, 合计 55 批远志中有 22 批样品检出黄曲霉毒素, 11 批样品超出《中国药典》2015 年版标准, AFB₁ 最高检出量达到 118.1 μg/kg, 严重影响远志药材的品质与安全, 远志黄曲霉毒素的污染问题已不容忽视。

黄曲霉毒素主要由黄曲霉 *Aspergillus flavus* Link 和寄生曲霉 *Aspergillus Parasiticus* Speare 产生, 这 2 种曲霉广泛存在于土壤和空气中, 有可能在药材种植、采收、加工及贮藏的任一环节感染药材, 从而造成黄曲霉毒素污染。目前市场流通的远志药材主要包含远志筒、远志棍 2 种规格^[10]; 远志筒的加工包括净选 (除去杂质与泥土)、晾晒至皮部稍皱、密封堆放发汗、揉搓抽去木心、干燥等多个步骤; 远志棍一般由较细的远志根直接晾晒而成。苏晶等^[11]对远志产地进行实地考察, 发现远志表皮破损的部位, 肉眼可见霉菌, 认为产地加工过程 (去木心) 增加了感染黄曲霉的风险。然而, 迄今对远志生产加工过程中主要产毒菌及毒素的变化并不明确。鉴于此, 本实验通过对远志从采收到加工过程中黄曲霉毒素的污染量进行测定, 同时观察污染真菌的群落组成及数量的动态变化, 并对产毒菌进行分离鉴定, 以期揭示远志黄曲霉毒素污染的来源及途径, 为科学制定黄曲霉毒素污染防控措施奠定基础。

1 材料与仪器

1.1 材料

供试远志样品为 2016 年 12 月—2017 年 12 月收集自山西省运城市闻喜县加工远志筒基地, 产地为山西运城、陕西榆林。共收集样品 21 份, 包括新

采挖的远志根 4 份, 堆放发汗的远志根 5 份, 揉搓抽去木质心的新加工远志筒 6 份, 晾晒 4~15 d 的远志筒 2 份, 远志根 2 份, 晾晒干燥的非药用部位芦头和远志筋 (木质心) 各 1 份, 每份样品采集 50~100 g, 用无菌密封袋独立密封, 放置 4 °C 冰箱保存, 于 15 d 内完成污染菌的分离; 所有样品由中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所张本刚研究员鉴定为远志 *Polygala tenuifolia* Willd., 具体信息见表 1。样品经 50 °C 干燥至恒定质量后进行检测。

表 1 样品信息

Table 1 Information of samples

编号	产地	部位	加工过程
CS-1	山西运城	远志根	自然采收
CS-2	山西运城	远志根	自然采收
CS-3	陕西榆林	远志根	自然采收
CS-4	陕西榆林	远志根	自然采收
DF-1	山西运城	远志根	堆放发汗
DF-2	山西运城	远志根	堆放发汗
DF-3	陕西榆林	远志根	堆放发汗
DF-4	陕西榆林	远志根	堆放发汗
DF-5	陕西榆林	远志根	堆放发汗
QX-1	山西运城	远志筒	去木质心
QX-2	山西运城	远志筒	去木质心
QX-3	山西运城	远志筒	去木质心
QX-4	陕西榆林	远志筒	去木质心
QX-5	陕西榆林	远志筒	去木质心
QX-6	陕西榆林	远志筒	去木质心
GZt-1	山西运城	远志筒	晾晒干燥
GZt-2	山西运城	远志筒	晾晒干燥
GZg-1	山西运城	远志棍	晾晒干燥
GZg-2	陕西榆林	远志棍	晾晒干燥
GZl-1	山西运城	非药用部位	晾晒干燥
GZj-1	山西运城	非药用部位	晾晒干燥

1.2 仪器

DHG-9140A 型电热恒温鼓风干燥箱 (上海一恒科学仪器有限公司); HD-6 型智能水分活度测量仪 (无锡市华科仪器仪表有限公司); LC-20ADXR 液相色谱仪 (日本岛津公司); 5500QTRAP 质谱仪 (AB Sciex 公司, 美国); ZWY-240 型恒温培养振荡器 (上海智城分析仪器制造有限公司); 微生物螺旋接种仪 (Interscience 公司, 法国)。

2 方法

2.1 含水量及水活度测定

取 5 g 远志样品, 参照《中国药典》2015 年版水分测定法第二法测定不同样品的含水量 (通则 0832)^[3]; 用智能水分活度测量仪测定样品的水活度。

2.2 黄曲霉毒素测定

远志样品中 AFB₁、AFB₂、AFG₁、AFG₂ 的测定参照《中国药典》2015 年版黄曲霉毒素测定法第一法（通则 2351）进行^[3]。污染菌产毒能力测定先用查氏酵母浸出液培养基（CYA）和酵母蔗糖培养基（YES）对分离到的黄曲霉和寄生曲霉菌株进行培养，25 °C 培养 7 d 后，采用 Samson^[12]的方法进行黄曲霉毒素的提取。采用高效液相色谱-串联质谱联用法（LC-20ADXR 液相色谱仪，日本岛津公司；5500QTRAP 质谱仪，美国 AB Sciex 公司），参照 Chen^[13] 的方法测定 AFB₁、AFB₂、AFG₁ 和 AFG₂。液相色谱条件：色谱柱为 Zorbax Elipse C₁₈ 反相柱（50 mm×2.1 mm，1.8 μm）；流动相为 0.1% 甲酸乙腈（A）和 0.1% 甲酸+5 mmol/L 乙酸铵水溶液（B），梯度洗脱，0.01~1.00 min，30% B；1.00~5.50 min，30%~80% B；5.50~7.00 min，80% B；7.00~8.00 min，80%~30% B；8.00~9.00 min，30% B。体积流量 0.2 mL/min，柱温 30 °C，进样量 1 μL。质谱条件：正离子模式，电喷雾离子源（ESI）；扫描方式为多反应监测（MRM）；电喷雾电压 5 500 V；离子源温度 550 °C。色谱图见图 1。

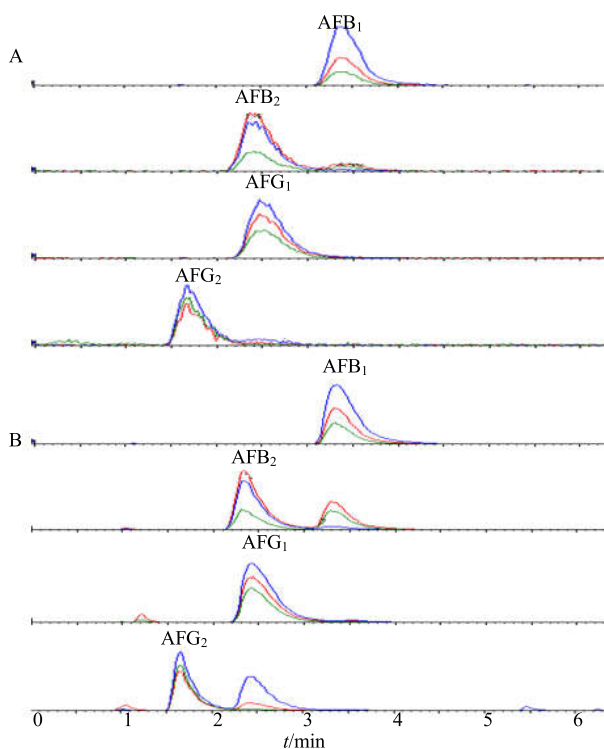


图 1 对照品 (A) 和阳性菌株 (B) 的 MRM 色谱图
Fig. 1 UPLC-MS/MS chromatography of AFs standard (A) and positive strain (B) by MRM mode

2.3 污染真菌的分离

所有远志样品经稀释平板法进行污染菌分离。每份远志样品去除泥土及杂质充分混匀后随机称取 3 g，加入含 27 mL 无菌水的离心管中，置于 25 °C 恒温培养振荡器 150 r/min 震荡 30 min，静置 5 min，取上清液，利用微生物螺旋接种仪依次梯度稀释后，接种在含氯霉素 0.1 g/L 和四环素 0.1 g/L 的 DG-18 培养基上，每个质量浓度重复 5 皿。25 °C 培养 7 d 后，选择单皿菌落在 10~60 个的培养皿计数菌落数，并通过菌丝先端或单孢分离纯化。

2.4 污染真菌的鉴定

形态鉴定采用标准培养条件下的菌落特征为参考，曲霉属 *Aspergillus* 和青霉属 *Penicillium* 采用 CYA、麦芽浸粉琼脂培养基（MEA）2 种培养基。25 °C 培养 7 d 后观察菌落的培养性状及显微特征，参考《中国真菌志》及相关的文献报道^[14-15] 对其进行鉴定。

分子生物学鉴定采用 CTAB 植物组织 DNA 提取试剂盒（北京博迈德基因技术有限公司）进行菌丝和孢子的收集及基因组 DNA 的提取，曲霉属、青霉属真菌采用 β -tubulin^[12]，其他属采用 ITS 序列^[16] 进行序列扩增。PCR 产物由北京天一辉远生物公司进行序列测定。测定的 β -tubulin 和 ITS 序列通过 NCBI 网站的 BLAST 程序比对，根据序列的相似性获得菌株的分类地位。

2.5 数据分析

数据与分析图采用 Microsoft Excel 2010 软件进行处理与绘制，采用 SPSS 20.0 软件进行 Pearson 相关性分析。

3 结果与分析

3.1 黄曲霉毒素污染情况

收集到 21 份样品中，有 15 份检出黄曲霉毒素，污染样品分布在每个环节。新鲜采收的远志根黄曲霉毒素检出率为 75%，堆放发汗后略有降低（60%），去木质心后远志筒黄曲霉毒素检出率有所升高（83.3%），晾晒干燥后远志筒、远志棍黄曲霉毒素检出率均达到 100%，非药用部位无黄曲霉毒素检出（表 2）。

11 份样品（52%）检出 B 族黄曲霉毒素，13 份样品（62%）检出 G 族黄曲霉毒素，其中的 9 份（43%）为 B 族和 G 族均有检出。除非药用部位外，AFB₁ 和 AFG₁ 在所有生产环节均有检出，检出量分别为 0.37~2.52 μg/kg 和 0.40~3.58 μg/kg，AFG₁

表 2 不同加工过程远志黄曲霉毒素污染情况

Table 2 Aflatoxins contamination during processing of *Polygalae Radix*

编号	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)				总量
	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	
CS-1	—	0.10	—	0.22	0.32
CS-2	—	—	0.97	—	0.97
CS-3	0.48	—	—	—	0.48
CS-4	—	—	—	—	—
DF-1	—	—	0.60	—	0.60
DF-2	—	—	—	—	—
DF-3	0.45	—	1.05	—	1.50
DF-4	—	—	0.40	—	0.40
DF-5	—	—	—	—	—
QX-1	0.67	1.15	0.42	—	2.24
QX-2	—	—	—	—	—
QX-3	—	—	0.70	—	0.70
QX-4	1.49	—	0.72	—	2.21
QX-5	1.32	—	1.21	—	2.53
QX-6	0.51	—	—	—	0.51
GZt-1	0.66	—	1.08	—	1.74
GZt-2	0.42	—	0.79	—	1.21
GZg-1	2.52	—	3.58	—	6.10
GZg-2	0.37	—	1.48	—	1.85
GZl-1	—	—	—	—	—
GZj-1	—	—	—	—	—

的检出量普遍高于 AFB₁。所有黄曲霉毒素阳性样品均未超出《中国药典》2015 年版 AFB₁ 和黄曲霉毒素总量限量标准 (表 2)。

3.2 真菌总数的动态变化

远志自新采收至成品中均分离到真菌, 真菌污染率为 100%, 所有样品上的真菌总数均大于 1.0×10^4 CFU/g, 真菌总数在 $4.35 \times 10^4 \sim 2.36 \times 10^8$ CFU/g。

新采收远志根含水量为 41.20%、水活度为 0.61, 此时真菌总数较低; 经过堆放发汗后含水量基本保持不变、但水活度升至 0.79, 说明根细胞中的水分渗出导致游离水有所增加, 真菌总数随之升高; 新加工的远志筒水活度仍保持较高水平, 真菌开始繁殖, 此时真菌总数达到最大值; 经过晾晒干燥之后的远志筒, 含水量和水活度均明显下降, 真菌的生长繁殖受到抑制, 总数明显下降 (表 3)。

相关性计算结果表明, 药材水活度与含水量及真菌总数呈显著正相关 ($P < 0.05$); AFB₁ 及 AFG₁ 检出量之间呈正相关 ($P < 0.05$), 但与药材水活度、含水量及真菌总数均无显著相关性 (表 4)。

表 3 不同加工过程中远志上真菌总数

Table 3 Fungal counts during processing of *Polygalae Radix*

相应样品-加工过程	测定样品数	含水量/%	水活度	真菌总数/($\times 10^4$ CFU·g ⁻¹)
远志根-采收	4	41.20±8.86	0.61±0.06	32.51±29.62
远志根-堆放发汗	5	40.80±6.63	0.79±0.07	3 647.48±5 602.45
远志筒-去木质心	6	33.56±7.96	0.78±0.08	23 568.14±27 265.53
远志筒-晾晒干燥	2	18.56±3.54	0.65±0.03	3 440.18±4 857.86
远志棍-晾晒干燥	2	4.83±1.05	0.50±0.02	12.12±12.26
非药用部位-晾晒干燥	2	3.02±0.03	0.47±0.06	4.35±1.41

表 4 远志水活度、AFB₁、AFG₁ 含量和真菌总数之间的相关性分析Table 4 Correlation analysis between Aw, AFB₁, AFG₁, and fungal counts of *Polygalae Radix*

指标	真菌总数	AFB ₁	AFG ₁	含水量	水活度
真菌总数	1.000				
AFB ₁	0.282	1.000			
AFG ₁	0.077	0.786*	1.000		
含水量	0.360	-0.269	-0.362	1.000	
水活度	0.695*	-0.061	-0.171	0.681*	1.000

*Pearson 相关性为显著相关 ($P < 0.05$)

*Pearson correlation was significant ($P < 0.05$)

3.3 不同加工过程中远志污染菌群分析

扩增出的青霉属真菌的 β -tubulin 基因片段长度在 450~480 bp, 与 GenBank 中相应青霉属菌株的序列一致性均在 98%以上, 曲霉属真菌的 β -tubulin 片段长度在 400~530 bp, 与 GenBank 中相应曲霉属菌株序列的一致性为 99%~100%; 其他属真菌扩增的 ITS 序列片段长度 540~570 bp, 与 GenBank 中相应的真菌属序列一致性为 100%。

从各加工过程的样品上共分离得到 209 株真菌, 经鉴定分别归于 5 个属, 其中青霉属分离频率最高 (图 2)。

采收环节样品上分离的菌株数为 17 株, 包含 3

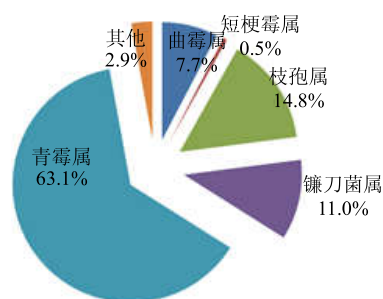


图 2 远志污染菌在属水平上的分离频率

Fig. 2 Isolation frequencies of fungi on *Polygalae Radix* at genera level

个属真菌，青霉属比例最高（65%），其他 2 属分别为枝孢属 *Cladosporium*（23%）和镰刀菌属 *Fusarium*（12%）；堆放发汗后污染真菌数量上升到 77 株，枝孢属（29%）和镰刀菌属（26%）比例有所上升；之后去木质心环节的远志筒上菌株数为 45 株，青霉属成为绝对优势属（98%）；晾晒干燥的成品远志筒、远志棍上菌株数量有所降低，分别为 15 株和 35 株，曲霉属开始被检出，所占比例分别为 7% 和 20%，其优势属仍为青霉属。

3.4 曲霉属真菌种类及产毒菌株

共分离获得 16 株曲霉属真菌，分属于 8 个种，其中潜在黄曲霉毒素产毒菌黄曲霉 2 株，分别来源于远志筒和远志棍，寄生曲霉 2 株，来源于芦头。经检测仅有 1 株寄生曲霉 *Aspergillus parasiticus* 有产毒能力，在 CYA 和 YES 培养基上 AFB₁ 产量为 $(8\ 061.2 \pm 1\ 606.8)\ \mu\text{g/kg}$ ，AFB₂ 产量为 $(496.8 \pm 82.6)\ \mu\text{g/kg}$ ，AFG₁ 产量为 $(4\ 388.2 \pm 634.7)\ \mu\text{g/kg}$ ，AFG₂ 产量为 $(267.5 \pm 28.6)\ \mu\text{g/kg}$ 。

4 讨论

远志黄曲霉毒素污染问题在 2000 年开始有报道^[17]，至《中国药典》2015 年版规定了远志上黄曲霉毒素的限量之后，文献及调查数据大量积累，但污染来源及途径一直不清楚。本研究通过对远志采收、加工过程中黄曲霉毒素调研，发现各个环节均有黄曲霉毒素检出，表明田间生产和采后加工都有可能造成远志黄曲霉毒素污染。

远志加工过程中真菌总数在堆放发汗后明显增加，是由于药材水活度增加，相对封闭造成环境湿度加大，也为霉菌的繁殖提供了条件，但菌量上升的并不是产黄曲霉毒素的曲霉属真菌，此时检测到的黄曲霉毒素应该来源于田间生产过程。去木质心时，远志根的木质部与韧皮部剥离，造成韧皮部细

胞损伤，破坏了根的防御屏障，也会导致真菌增加繁殖^[11]，真菌总数达到高峰；晾晒之后，水活度的下降导致部分真菌死亡，从而数量下降。水活度代表基质中自由水的量，是微生物生长繁殖能利用的水分，是食品安全控制和质量控制的重要指标^[18]。本课题组的研究结果证实药材水活度变化与真菌总数呈正相关，然而与黄曲霉毒素的积累量并无显著相关性，水活度虽然是产毒菌产生毒素的必要条件，但在产毒菌数量较少或受其他菌群的干扰的情况下，相关性往往难以体现，而真菌总数代表的是样品上所有菌的数量，与产毒菌的多少和产生毒素之间缺乏直接关联。

许多研究表明中药材及饮片普遍受到青霉属、曲霉属、枝孢属、镰刀菌属、毛霉属 *Mucor* 等多种微生物的污染^[19-21]。实验室前期从市场来源的远志药材上也分离到青霉属和曲霉属真菌^[8]。通过对不同生产过程远志真菌群落分析，本课题组发现新采收的远志根上真菌种类最多，是由于根表携带菌包括土壤习居菌（如镰刀菌属、青霉属）及空气真菌（如枝孢属）；堆放发汗有利于枝孢属和镰刀菌属真菌的增殖；晾晒后药材水活度下降，产孢量丰富的曲霉属真菌开始检出。首次发现青霉属在远志整个生产过程中一直是优势属。前期在对药材市场上的远志药材进行调研时也发现来自广西玉林 12 月份的样品中存在大量青霉属真菌^[8]。

黄曲霉和寄生曲霉均存在产毒菌株和不产毒菌株^[19,22-23]。本课题组获得的 2 株黄曲霉菌株均为非产毒菌，获得的 2 株寄生曲霉仅有 1 株产毒，且毒素检出样品与产毒菌株不能一一对应，情况分为以下 2 种：一是药材上有黄曲霉毒素检出，但并未分离到产毒菌，原因可能是样品数及分离到的曲霉属真菌较少，没有分离到；另外，所采用的稀释平板法只能分离到活菌株，分离时产毒菌已经失活，但之前产生的毒素却非常稳定。二是黄曲霉毒素未检出，却分离到了产毒菌，可能是由于样品上菌株分离时，污染产毒真菌的时间较短，毒素还未产生。受分离时间、样品数量的限制，这种毒素检出与产毒菌株不对应的情况非常常见，在咖啡豆^[24]、干蘑菇^[25]、饲料^[26]和中药材中^[8]都有报道。

调查结果为远志上黄曲霉毒素的污染途径的确定及制定合理的防控措施提供了一定的参考。采收后的远志根加工前的净制对于减少黄曲霉毒素污染至关重要，远志筒加工应尽量缩短加工时间，目前依靠

人工手工加工的方法耗时较长,研制实用的加工机械是提高加工效率防控污染的有效途径。有关远志黄曲霉毒素污染的来源、污染菌的生活史、产毒菌与非产毒菌之间的相互作用还有很多盲点需要阐明,通过进一步对远志—污染菌的生理生态学研究,将有助于建立更加有效的和有针对性的防控技术。本实验对远志上黄曲霉毒素及污染真菌的研究仅为初步的调查结果,样本数量有限,进一步扩大样本量并对产毒菌的产毒特性开展研究是今后需要深入的工作。

参考文献

- [1] 傅 晶, 张东明, 陈若芸. 远志属植物的皂苷类成分及其药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2005, 36(1): 144-146.
- [2] 刘艳骄, 刘征宇. 睡眠食物与保健食品中调整睡眠产品研发概述 [J]. 世界睡眠医学杂志, 2018, 5(9): 997-1002.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [4] 国家食品药品监督管理总局. <http://samr.cfda.gov.cn/WS01/CL0001/2017-08-18>.
- [5] 李细芬, 毛雯雯, 张雅琴, 等. 6 种中药材黄曲霉毒素 B1 快速检测方法研究 [J]. 中国现代中药, 2018, 20(8): 968-974.
- [6] 杨 畅, 刘 帆, 李莉娜, 等. 贵州省 2016 年中药材饮片中黄曲霉毒素污染调查 [J]. 中国医药工业杂志, 2018, 49(7): 956-961.
- [7] 蒋孟圆, 胡 琳, 杨青松, 等. 18 批中药材中黄曲霉毒素的检测分析 [J]. 环境化学, 2018, 37(10): 2326-2328.
- [8] Su C Y, Hu Y J, Gao D, *et al.* Occurrence of toxigenic fungi and mycotoxins on root herbs from Chinese markets [J]. *J Food Protect*, 2018, 81(5): 754-761.
- [9] Chien M Y, Yang C M, Huang C M, *et al.* Investigation of aflatoxins contamination in herbal materia medica in a Taiwan pharmaceutical factory [J]. *J Food Drug Anal*, 2018, 26(3): 1154-1159.
- [10] 张福生, 陈彤垚, 王丹丹, 等. 远志药材商品规格等级与品质的关联性研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(12): 2538-2547.
- [11] 苏 晶, 陶慕珂, 陈晓虎, 等. 远志质量问题及中药材产地加工探讨 [J]. 中国药事, 2018, 32(11): 1467-1572.
- [12] Samson R A, Peterson S W, Frisvad J C, *et al.* New species in *Aspergillus* section *Terrei* [J]. *Stud Mycol*, 2011, 69(1): 39-55.
- [13] Chen A J, Jiao X L, Hu Y J, *et al.* Mycobiota and mycotoxins in traditional medicinal seeds from China [J]. *Toxins*, 2015, 7(10): 3858-3875.
- [14] Pitt J I. *The Genus Penicillium and Its Teleomorphic States Eupenicillium and Talaromyces* [M]. London: Academic Press, 1979.
- [15] Raper K B. *The Genus Aspergillus* [M]. New York: New York Academic Press, 1965.
- [16] White T J, Bruns T, Lee S, *et al.* *Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics, PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* [M]. San Diego: Academic Press, 1990.
- [17] 梁月秋, 黄荣芳. 中药污染黄曲霉毒素 B₁ 检测分析 [J]. 中国现代应用药学, 2000, 17(3): 224-226.
- [18] 张 滕, 刘 峰, 邹明强, 等. 水活度用于食品质量与安全控制的研究进展 [J]. 食品研究与开发, 2014(3): 122-126.
- [19] 陈 娟, 高微微, 唐 丹, 等. 赭曲霉毒素 A 污染的 7 种根类药材中污染真菌的分析 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(20): 2647-2651.
- [20] 王文丽, 徐 晖, 陈慧芝, 等. 15 种中药材表面污染真菌的分离与分子鉴定 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(12): 1910-1914.
- [21] 李闽真, 马群飞, 傅武胜. 市售中药材霉菌污染情况和优势种群分布的研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(17): 3351-3353.
- [22] Hua S S T, Palumbo J D, Parfitt D E, *et al.* Development of a droplet digital PCR assay for population analysis of aflatoxigenic and atoxigenic *Aspergillus flavus* mixtures in soil [J]. *Mycotoxin Res*, 2018, 34(3): 187-194.
- [23] Mamo F T, Shang B, Selvaraj J N, *et al.* Isolation and characterization of *Aspergillus flavus* strains in China [J]. *J Microbiol*, 2018, 56(2): 119-127.
- [24] Culliao A G, Barcelo J M. Fungal and mycotoxin contamination of coffee beans in Benguet province, Philippines [J]. *Food Addit Contam A*, 2015, 32(2): 250-260.
- [25] Ezekiel C N, Sulyok M, Frisvad J C, *et al.* Fungal and mycotoxin assessment of dried edible mushroom in Nigeria [J]. *Int J Food Microbiol*, 2013, 162(3): 231-236.
- [26] Greco M, Pardo A, Pose G. Mycotoxigenic fungi and natural co-occurrence of mycotoxins in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) feeds [J]. *Toxins*, 2015, 7(11): 4595-4609.