

中药材中真菌毒素的检测与脱毒研究进展

徐晓艳, 王宇, 王梦瑶, 王樱蓓, 李雪*, 杨文志*

天津中医药大学 组分中药国家重点实验室, 天津 301617

摘要: 中药材在种植、采收、贮存及加工各个环节中容易受到真菌的污染, 产生一系列有毒次生代谢产物(真菌毒素), 直接影响药材质量的安全性与有效性, 还会严重威胁人体生命健康。针对中药材中潜在的多种真菌毒素, 建立高效的净化富集与灵敏、专属的检测方法, 对提升中药质量标准、保障中药用药安全具有重要意义。通过对国内外重要真菌毒素的限量标准、中药材中真菌毒素检测使用的样品前处理方法、关键检测技术及降解脱毒方法进行综述, 并展望中药材真菌毒素研究的发展趋势, 为保障中药材的质量安全提供参考。

关键词: 真菌毒素; 中药材; 限量标准; 样品前处理; 检测技术; 降解; 黄曲霉毒素; 赭曲霉毒素; 玉米赤霉烯酮; 脱氧雪腐镰刀菌烯醇; 伏马毒素

中图分类号: R286 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)02-0657-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.02.031

Research progress on detection and detoxification of mycotoxins in Chinese medicinal materials

XU Xiaoyan, WANG Yu, WANG Mengyao, WANG Yingbei, LI Xue, YANG Wenzhi

State Key Laboratory of Component-based Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: Chinese medicinal materials (CMMs) are susceptible to the contamination by fungi during all stages of the cultivation, harvesting, storage, and processing, producing a series of toxic secondary metabolites (dubbed mycotoxins), which directly affect the clinical safety and effectiveness of CMMs and seriously threaten human health. Establishment of the efficient purification and enrichment approaches, and the sensitive and specific detection technologies targeting at the various potential mycotoxins contained in CMMs, is essential for improving the quality standards of CMMs and ensuring its safety. This review article gave a summary on the limitation standards of key mycotoxins at home and abroad, and reviewed the sample pretreatment, crucial detection and degradation detoxification methods used in the detection of mycotoxins in CMMs, and prospected the development tendency of the researches on mycotoxins from CMMs, which provides the reference for ensuring the quality and safety of CMMs.

Key words: mycotoxin; Chinese medicinal material; limitation standard; sample pretreatment; analytical technology; degradation; aflatoxin; ochratoxin; zearalenone; deoxynivalenol; fumonisin

随着我国中医药事业的不断发展, 中医药逐渐得到世界的认可。其中, 中药以其充足的资源、独特的疗效、微弱的不良反应等优势, 在保护人类健康方面具有重要作用^[1]。中药材作为中药产业的核心资源, 其质量安全已受到国内外广泛关注。中药材主要分为植物类、动物类和矿物类3类, 其中植

物类中药材占比达87%^[2]。中药材在种植、采收、贮存及加工等一系列过程中, 均可能受到真菌污染产生真菌毒素, 如苦杏仁因其富含油脂等营养物质易受到真菌污染^[3]。真菌毒素是由真菌产生的天然有毒化合物, 主要包括黄曲霉毒素类(aflatoxin, AF)、赭曲霉毒素类(ochratoxin, OT)、玉米赤霉

收稿日期: 2023-05-22

基金项目: 现代中医药海河实验室科技项目(22HHZYSS00012); 组分中药国家重点实验室资助课题(CBQM2022103)

作者简介: 徐晓艳, 博士研究生, 研究方向为真菌毒素的检测与分析。E-mail: xxy_0421@163.com

*通信作者: 李雪, 助理研究员, 从事中药药效和有毒物质发现研究。E-mail: tjdxsyx@163.com

杨文志, 研究员, 博士生导师, 从事中药质量控制研究。E-mail: wzyang0504@tjutcm.edu.cn

烯酮 (zearalenone, ZEN)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (deoxynivalenol, DON) 和伏马毒素 (fumonisin, FB) 类等^[4], 其中常见的真菌毒素见表 1 和图 1^[5]。近年来, 多项研究表明中药材容易受到 AF^[6]、OT^[7]、ZEN^[8]和 DON^[9]等真菌毒素的污染, 如何保证中药材质量安全已成为中医药行业亟需解决的重大难题。真菌毒素往往会对机体产生肝肾毒性, 具有致癌、致畸、致突变等毒害作用^[10]。为保障中药生产质量和用药安全, 建立合适的中药材中真菌毒素前处理方法、检测与脱毒技术尤为重要。本文就中药材中真菌毒素的前处理方法、检测技术及真菌毒素

的降解 3 方面进行综述, 为中药材的质量安全提供保障和参考。

1 真菌毒素的限量标准

《欧洲药典》(EP10.0) 与《英国药典》对植物药的限量标准最为严格, 规定 AFB₁ 的限量为 2.00 μg/kg, 总 AF 为 4.00 μg/kg^[11-12]。《韩国药典》规定甘草、决明子、桃仁、半夏、柏子仁、槟榔、山枣仁、远志、红花、瓜蒌仁、龟甲、木瓜、白扁豆、莲子肉、郁金、肉豆蔻、枳椇子、巴豆、苦杏仁中 AFB₁ 的限量为 10.00 μg/kg^[13]。《中国药典》2020 年版规定柏子仁、莲子、使君子、槟榔、麦芽、肉豆蔻、决明子、远志、薏苡仁、大枣、地龙、蜈蚣、水蛭、全蝎、九香虫、土鳖虫、马钱子、延胡索、陈皮、胖大海、桃仁、蜂房、酸枣仁、僵蚕 24 种中药材中 AFB₁ 限量为 5.00 μg/kg, 总 AF 为 10.00 μg/kg, 规定薏苡仁含 ZEN 不得过 500 μg/kg^[14]。国外对真菌毒素的限量标准制定较早, 但所包含的中药材种类十分有限, 目前国内对中药材限量标准体系日益完善, 控制力度与手段都将与国际接轨。不同国家和地区对中药材中真菌毒素限量标准见表 2。

2 样品前处理

样品前处理主要包括提取和净化 2 部分, 提取方法主要有高速均质提取法、振荡提取法、超声提取法、搅拌提取法等^[18], 表 3 总结了真菌毒素检测常见提取方法的特点及应用。鉴于提取方法操作简单, 在真菌毒素提取过程中应用较为成熟, 本文重点总结真菌毒素的净化方法, 通过净化达到对真菌毒素的富集, 以便定性定量分析中药材中真菌毒素

表 1 常见的真菌毒素名称及来源

Table 1 Names and sources of common mycotoxins

编号	化合物	来源
1	AFB ₁	黄曲霉、寄生曲霉
2	AFB ₂	
3	AFG ₁	
4	AFG ₂	
5	AFM ₁	
6	AFM ₂	
7	OTA	赭曲霉、炭黑曲霉、纯绿青霉
8	OTB	
9	OTC	
10	ZEN	多种镰刀菌
11	DON	禾谷镰刀菌、黄色镰刀菌
12	FB ₁	串珠镰刀菌
13	FB ₂	
14	FB ₃	

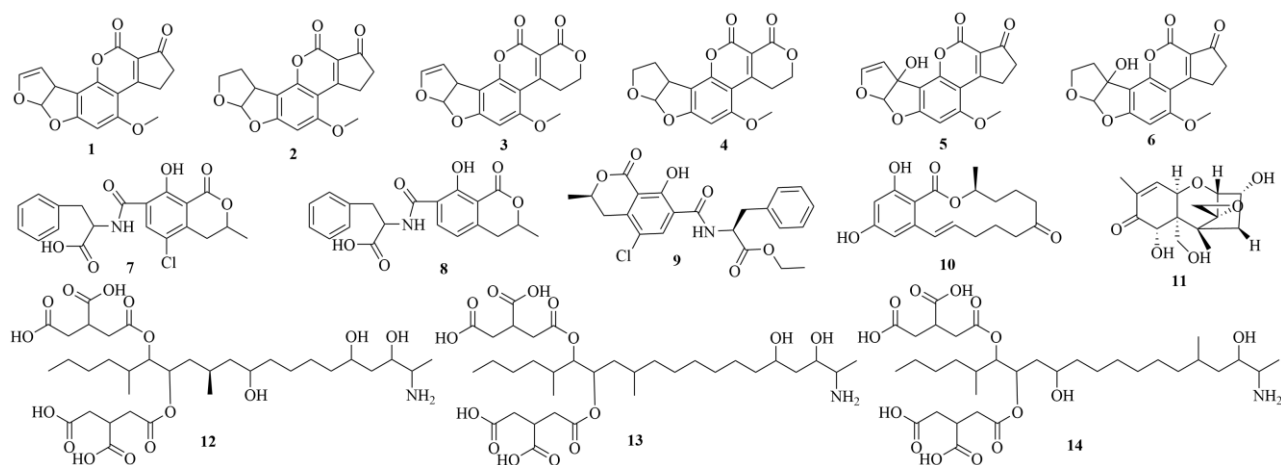


图 1 常见的真菌毒素的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of common mycotoxins

表2 不同国家药典中真菌毒素限量标准
Table 2 Limited standards of mycotoxins in pharmacopoeia of different countries

药典	限量标准/($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)				文献
	AFB ₁	AF(B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂)	OTA	ZEN	
《欧洲药典》	2	4	—	—	11
《欧盟标准》	5	10	15~80	—	12
《英国药典》	2	4	—	—	13
《韩国药典》	10	15	—	—	14
《日本药典》	—	10	—	—	15
《美国药典》	5	20	—	—	16
《中国药典》	5	10	—	500	17

表3 真菌毒素检测常用提取方法的特点及应用

Table 3 Characteristics and applications of common extraction methods for detection of mycotoxins

名称	优点	缺点	应用	文献
高速均质提取法	提取效率高, 操作简单	可能破坏分子结构	富含脂肪油的中药	18
振荡提取法	增加液体流动性、提取效率高、样品无损坏	不同基质, 中药真菌毒素提取率不同	富含生物碱的中药	18
超声提取法	操作简单, 提取效率高	破碎力较强, 杂质溶出较多	富含挥发油和蛋白质的中药	18
搅拌提取法	简单易行	耗时较长	—	18
一步提取法	操作简单, 省时省力, 成本较低	多适用于质谱分析过程	—	19

HLB SPE 柱, 建立 UHPLC-MS/MS 法, 检测莲子中 10 种真菌毒素, 为莲子的安全使用提供有效依据。Wang 等^[24]比较了基于固液萃取-SPE 法和 QuEChERS 2 种前处理方法, 建立了超快速液相色谱串联质谱法 (ultra-fast liquid chromatography tandem mass spectrometry, UFLC-MS/MS) 检测黄芪根中 21 种真菌毒素, 发现新鲜黄芪中含青霉酸, 发霉黄芪中含 OTA 和 OTB。SPE 净化法快速高效、成本低, 也应用于使君子、薏苡仁^[25-26]等中药材中真菌毒素的富集。

2.1.2 QuEChERS 法 QuEChERS 法兼具快速、简单、廉价、有效、坚固、安全等优点, 常被作为前处理方法进行中药材的净化与富集。Zhao 等^[27]基于改进的 QuEChERS 萃取和基质分散固相萃取 (matrix solid-phase dispersion, MSPD) 的样品前处理方法, 利用 UHPLC-三重四极杆串联质谱法 (UHPLC-triple quadrupole tandem mass spectrometry, UHPLC-QQQ-MS/MS) 对肉豆蔻及其相关产品共 45 批样品中的 21 种真菌毒素进行检测, 发现其中 4 批样品被 AF 污染。另外, 通过 QuEChERS 的前处理方法, 利用 UFLC-MS/MS、UHPLC-四极杆串

联离子阱复合质谱法 (UHPLC-Q-Trap-MS) 可分别检测到当归中的 AFB₁、AFG₁ 与肉豆蔻中的 AFB₁^[28-29]。基于改进的 QuEChERS 法和 UHPLC-MS/MS 同时分析地龙中 22 种真菌毒素, 并发现 FB₁ 和 FB₂, 为动物类中药材中真菌毒素的检测提供了参考借鉴^[30]。QuEChERS 法可同时提取多种真菌毒素, 尤其在食品方面应用较多, 如香菇、燕麦、谷物^[31-34]等。QuEChERS 法兼具提取与净化的效果, 可以对多种真菌毒素同时提取, 在中药材及食品等领域真菌毒素前处理方面发挥重要作用。

2.1 常规方法

2.1.1 固相萃取柱 (solid phase extraction, SPE) 净化法 SPE 净化法是目前最为常用的真菌毒素前处理方法之一。通过建立 SPE 联合超高效液相色谱-串联质谱 (ultra-high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry, UHPLC-MS/MS) 技术, 检测槟榔及其加工产品中的真菌毒素, 发现槟榔中常见的真菌毒素为 AFB₁、AFB₂、AFG₁、AFG₂ 和 AFM₁^[22]。占丽琴等^[23]基于 Poly-Sery

联离子阱复合质谱法 (UHPLC-Q-Trap-MS) 可分别检测到当归中的 AFB₁、AFG₁ 与肉豆蔻中的 AFB₁^[28-29]。基于改进的 QuEChERS 法和 UHPLC-MS/MS 同时分析地龙中 22 种真菌毒素, 并发现 FB₁ 和 FB₂, 为动物类中药材中真菌毒素的检测提供了参考借鉴^[30]。QuEChERS 法可同时提取多种真菌毒素, 尤其在食品方面应用较多, 如香菇、燕麦、谷物^[31-34]等。QuEChERS 法兼具提取与净化的效果, 可以对多种真菌毒素同时提取, 在中药材及食品等领域真菌毒素前处理方面发挥重要作用。

2.1.3 免疫亲和柱 (immunoaffinity column, IAC) 净化法 IAC 技术具有特异性强、灵敏度高的优势, 但是价格昂贵、重复利用率低, 不利于进行真菌毒素的大规模检测。目前, IAC 净化法已成功应用于“药食同源”中药材麦芽、干姜、甘草等^[35-36], 相较于根及根茎类中药材, 该法对于动物类中药材应用较少。目前已有研究基于 IAC、多重真菌毒素 IAC 与特异性 IAC 的前处理方法, 结合 HPLC 与 HPLC-MS/MS 技术检测马钱子、蝉蜕、川芎、山药、桔梗等中药材中的真菌毒素^[6,37-38]。Liu 等^[39]通过

IAC 净化处理后,建立了一种灵敏、快速的 HPLC-柱后光化学衍生-荧光检测技术(HPLC-post-column photochemical derivatization-fluorescence detection, HPLC-PCD-FLD),用于同时测定不同类型的玫瑰茄样品中的 AFs,该方法克服了玫瑰茄的高酸度和复杂成分的检测困难,为其他类型高酸度中药基质提供参考。该技术以免疫学为基础,专属性强、应用范围较广,在中药材真菌毒素的富集方面发挥着重要作用。

2.1.4 多功能净化柱(multi-functional purification column, MFC)法 MFC 是一种特殊的 SPE 柱, MFC 与 IAC 相比,无需进行活化、上样和洗脱等繁琐的步骤,处理方法更为简单快速。李海畅等^[40]采用 MFC 并建立了 UHPLC-MS/MS 法,检测中药材中的 8 种真菌毒素,结果发现 AFB₁、AFB₂ 及 ZEN 等 8 种真菌毒素的线性关系良好,加样回收率为 72.1%~92.8%。采用 Mycosep 226 MFC 对薏苡仁、人参进行前处理,采用 TC-M160 MFC 对白芍进行前处理,结合 LC-MS/MS 与 HPLC-PCD-FLD 分析技术可检测样品被污染情况^[41-42]。此外,在食品领域 MFC 的应用多于在中药材领域,如面制品、乳制品及调味酱^[43-46]等。由于 MFC 无法同时对多种真菌毒素进行净化,且回收率相对较低,故在中药材中应用较少。

2.1.5 凝胶渗透色谱(gel permeation chromatography, GPC)法 GPC 与其他前处理净化方法相比,该方法耗时耗力,且溶剂消耗量大,不利于经济节约。Zhao 等^[47]采用酸辅助液液萃取和 GPC 的前处理方法获得较高浓度的 OTA 和 OTB,结合 HPLC/紫外分光光度-质谱的检测方法对 OTA 和 OTB 进行分析,为 OTA 和 OTB 的富集和检测提供了参考,但该方法分离不完全,不适用于中药材中真菌毒素的净化。

2.2 新技术、新方法

2.2.1 MSPD MSPD 操作简单、快速廉价,常用于固体、半固体和黏性样品的处理。肉豆蔻作为香料和传统药物,易受真菌和真菌毒素的污染,通过 QuEChERS 和 MSPD 联用技术对肉豆蔻及其相关产品的前处理,应用 UHPLC-QQQ-MS/MS 法进行真菌毒素检测,发现有 4 批样品被黄曲霉污染^[27]。刘瑜等^[48]建立了 UHPLC-Q-Trap-MS 法,通过比较 QuEChERS、HLB-SPE 柱和 MLJ-1 多重基质吸附型 SPE 柱的 3 种前处理方法,最终确定 MLJ-1 多

重基质吸附型 SPE 柱法对 7 种真菌毒素的回收率较高,并用于人参、黄芪等中药材中真菌毒素的检测。采用 UHPLC-MS/MS 与磁性 SPE 吸附剂 Fe₃O₄@PDA/MIL-101(Cr) 联用技术,成功建立了甘草提取物中 5 种常见真菌毒素的分离纯化方法,揭示了复杂基质样品中真菌毒素测定的潜在应用前景^[49]。MSPD 新技术的出现,为中药材中前处理技术的开发提供了新思路,为中药材中真菌毒素的提取技术开辟了新方法。

2.2.2 分子印迹固相萃取(molecularly imprinted solid phase extract, MISPE)法 MISPE 的出现为中药材中真菌毒素前处理技术提供了新方向,目前极少发现该法用于中药材中真菌毒素的净化。通过开发目标物结构类似物槲皮素的虚拟模板,沉淀聚合法合成对 ZEN 具有特异性吸附的聚合物,可作为实际样品的检测方法^[50]。Cao 等^[51-52]建立了一种以分子印迹聚合物(molecular imprinted polymer, MIP)为选择性 SPE 吸附剂的 UHPLC-FLD 法测定生姜中 OTA 的方法,检测出 20 批生姜样品中 6 批被 OTA 污染。与 IAC 相比, MIP-SPE 在保证回收率的同时,极大节约了检测成本,该法在生姜中检测 OTA 的成功应用,为今后中药材中真菌毒素检测的前处理方法提供了发展前景。

2.2.3 免疫磁珠(immunomagnetic beads, IMBs)技术 IMBs 技术以免疫学为基础,近年来,逐渐用于真菌毒素检测的前处理过程,但在中药中应用较少^[42]。李梦华^[42]建立了 IMBs-UHPLC-FLD 相结合的方法用于山药中 AFB₁ 的检测,结果发现,有 2 批山药样品被 AFB₁ 污染,且通过 UFLC-MS/MS 验证排除假阳性干扰。此外,基于 UHPLC 法,开发 AFB₁、AFB₂、AFG₁ 和 AFG₂ 4 种 AF 的新型 IMBs 富集净化的前处理技术可用于中药材陈皮中真菌毒素的检测^[53]。IMBs 技术具有稳定性好、灵敏度高、再生性好的特点,为中药材的前处理方法开辟了新道路。

各类净化方法的特点及其应用见表 4。

3 真菌毒素的分析检测

对于建立中药材中真菌毒素的监测体系而言,准确、快速、灵敏的检测技术是保证中药材质量安全的重点。当前,液相色谱(liquid chromatography, LC)和气相色谱(gas chromatography, GC)与特定检测器耦合是获得高准确度结果常用的技术,其中, LC/FLD 是使用较为广泛的检测真菌毒素的方

表4 真菌毒素检测净化方法的特点及应用

Table 4 Characteristics and application of purification methods for detection of mycotoxins

名称	优点	缺点	应用	文献
SPE 净化法	选择性吸附杂质或待测物质	专一性差, 净化痕量真菌毒素不充分	—	18
QuEChERS 法	溶剂消耗量较低, 纯化程序较短	净化材料配比选择困难	多种真菌毒素	20
IAC 净化法	具有高度特异性, 实现目标成分准确、可靠、快速的检测	再生过程复杂, 稳定性较差, 检测成本高	食品、农产品及中药材等复杂基质中真菌毒素的痕量分析	19
MFC	操作简便	特异性有限, 回收率偏低	真菌毒素的多残留快速净化分析	19
GPC 法	自动化程度高, 净化效果好, 适合多残留检测	分离不完全, 溶剂消耗大	富含脂肪、色素等大分子的样品	19
MSPD	操作简便, 快速廉价	—	固体、半固体和黏性样品的处理	19
MISPE	高度特异性, 稳定性好, 合成成本相对较低	选择性抗体开发较难	小分子量真菌毒素	21
IMBs 技术	简单省时, 富集过程高保真, 降低检测限	中药材中应用较少	蛋白质纯化, 细胞分离, 基于磁珠的免疫测定	19

法; LC-MS 或 UHPLC-MS 是分析检测复杂基质中多类别痕量真菌毒素最有力工具之一^[54]。

3.1 常规检测

3.1.1 薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)

TLC 由于检测成本低, 对实验设备的需求较少, 有时被用于筛选中药中的真菌毒素^[55-56]。但其提取物容易含有较多杂质, 前处理过程繁琐, 专属性和灵敏度较差, 目前应用较少。钱维清等^[57]采用 TLC 法对龙胆泻肝丸等 27 个品种中成药中 AFB₁ 进行检测, 得到其最低检测浓度为 5 ng/g, 其灵敏度差且工作量大, 不适合复杂基质中成药中真菌毒素的含量测定。

3.1.2 HPLC 法 随着对数据准确性要求的不断提高, HPLC 法已逐渐成为真菌毒素分析检测的常用方法, 在当归、百合、山茱萸、五味子、薏苡仁、生姜等中药的真菌毒素检测中均有应用^[58-59]。FLD 是 HPLC 检测真菌毒素最常用的检测器, 一些不含发色团的真菌毒素或荧光较弱的毒素通常需要衍生化处理, 包括柱前和柱后衍生, 应用较多的是光化学柱后衍生法^[60]。此外, HPLC 耦合紫外检测器和蒸发光散射检测器的研究也有报道^[61]。一种基于超声波辅助固液萃取和 IAC 净化结合 HPLC-PCD-FLD 的分析方法被开发用于 13 批肉豆蔻样品中 AFB₁、AFB₂、AFG₁、AFG₂ 和 OTA 的同时测定^[59], 该法专属性和精密度良好, 检测限和定量限分别可达到 0.02~0.25、0.06~0.80 μg/kg, 为复杂基质中多种真菌毒素的同时测定提供了方法参考。虽然与 AF 和 OTA 相比, 其他真菌毒素研究较少, 但使用

HPLC-DAD/FLD 测定中药中的 DON、ZEN 和展青霉素(patulin, PAT)等也有报道^[62]。此外, 通过相应的前处理方法后 HPLC 法在基质更为复杂的中成药中也有应用, 如坤宝丸、人参归脾丸、骨折挫伤胶囊中 AF 和 OTA 的测定^[63-65]。随着 UHPLC 的快速发展, 色谱仪的分辨率和灵敏度显著提高, 分析周期明显缩短, Wen 等^[66]采用 UHPLC-FLR 仅用 10 min 就实现了生姜和其他相关样品中真菌毒素的灵敏检测。由于中药体系复杂, 分析物的保留时间可能会受样品基质的干扰导致识别不准确, 通常需要使用质谱进一步确认。HPLC/UHPLC 与 FLR 或紫外检测器在中药中进行真菌毒素分析通常需要样品前处理过程有较好的选择性, 极大缩小了其应用范围, 在同时检测多类别的真菌毒素应用方面弱于 LC-MS 法。

3.1.3 GC 法 GC 检测真菌毒素具有灵敏度高、选择性强、准确度高的优点, 通常用于分析分子结构中不含发色团, 或具有弱荧光或弱吸收的真菌毒素^[55]。Kong 等^[67]建立了 GC-电子捕获检测器的方法, 用于 89 种中药材和 10 种不同来源的相关产品中 T-2 和 HT-2 毒素的同时测定, 检测限分别为 1.88 和 0.47 ng/g, 回收率超过 85%, 相应的相对标准偏差低于 10%, 并采用 GC-MS 进行检测结果准确性的验证。该法同样适合于中药及相关产品中呕吐毒素的检测, 具有良好的重现性和准确度^[68]。但是, 大多数真菌毒素是非挥发性物质, 需要衍生化将其转化为挥发性衍生物, 操作复杂、费时, 使 GC 分析真菌毒素存在很大限制。

3.1.4 LC-MS 法 LC-MS 是最权威的检测技术^[54]。LC-MS/MS 可以同时提供目标化合物的保留时间和分子结构信息,检测快速、灵敏准确、对前处理过程要求低、适合多类别真菌毒素分析、可同时定性定量^[54]。《中国药典》2020 年版记载的毒素检测方法中,LC-MS/MS 法检测毒素种类最多,应用最广泛^[20-21,69]。LC/MS-MS 技术在多种真菌毒素同时检测方面已经有很多研究报道,如三七中的 26 种真菌毒素^[70]、瓜蒌皮中的 22 种真菌毒素^[71]、黄芪和肉豆蔻中 21 种真菌毒素^[24,27]和 6 种药食同源种子类中药中的 31 种真菌毒素^[72]的检测。需要特别关注的是基质效应可影响 LC-MS/MS 定量的准确度,当前主要通过基质匹配校准法和同位素内标检测等手段来克服中药材中复杂多样的化学成分引起的基质效应^[69,73-74],以实现中药材中真菌毒素的高通量检测。基于 LC-MS 的真菌毒素含量测定方法,通常采用 QQQ-MS 法,选择多重反应监测模式,已有研究表明采用 LC-MS/MS 进样 1 针即可实现在中药材中多达 35 种不同毒素的含量测定^[75]。此外,也可通过线性离子阱质谱实现 AFB₁、AFB₂、AFG₁、AFG₂、OTA、FB₁ 和 FB₂ 的测定^[76],但其缺点是分辨率低,通常只聚焦于检测 AF 类、FB 类、单端孢霉烯类、OT 类等常见的真菌毒素,无法实现未知化合物的检测。此外,高分辨质谱正在成为未来检测真菌毒素的强有力工具,其选择性明显增强,可同时实现靶向和非靶向分析。由于其精确的质量鉴别能力,可对复杂基质中的化合物进行定性,特别适合于新型真菌毒素、隐蔽型真菌毒素、真菌毒素的代谢物的检测等^[77-78]。近年来,随着高分辨率质谱的应用增加,在大规模筛选检测不同类型样品中的真菌毒素方面展示出巨大的潜力^[75,79-81]。

3.2 快检

中药材在种植、采收、储存和加工的各个过程中都易感染真菌毒素,因此,为了更好地监测中药材的质量,便捷快速的检测方法必不可少。这种检测方法可以在短时间内获取较为准确的结果,从而及时发现和解决中药材质量问题。目前快速筛选法主要包括酶联免疫法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、胶体金标记技术(gold immunochromatography assay, GICA)及生物传感器等。

3.2.1 ELISA 法 ELISA 是快速检测和初步定量真菌毒素的重要工具之一,《中国药典》2020 年版通

则<2351>AF 的第 3 法即为 ELISA 法。该方法适用于大批量的快速筛选,其特异性强、灵敏度高、成本相对较低,对检测设备要求不高,此外,由于抗体对抗原具有高度的特异性识别,因此样品通常不需要复杂的预处理,并且易于操作^[82]。但 ELISA 的重复性仍需提高,检测结果存在假阳性、不能准确定量。目前已建立了用于不同中药材中 AFBs 检测的 ELISA 方法,特异性识别 AFB₁^[83-84]或 AFB₁、B₂、G₁、G₂ 总量^[85-86]。南铁贵等^[87]运用 ELISA 法对经过液液萃取前处理的麦芽、酸枣仁、桃仁、薏苡仁进行检测,发现 AFB₁ 和总量与 HPLC 法一致。此外,也有采用 ELISA 法检测薏苡仁中呕吐毒素的报道^[88],检测结果与 UHPLC-MS 的相关性良好,操作更为简便。基于高通量快检的优势,ELISA 法可以从源头环节及时筛查中药中真菌毒素污染情况,常用于定性分析和前期初筛,应用前景良好^[89]。

3.2.2 GICA GICA 具有操作简便、快速、稳定性好、成本低、结果直观等优点,适用于现场快速检测^[90-92]。Zhang 等^[8]采用免疫层析试纸条对 AFB₁、ZEN、T-2 毒素等真菌毒素进行筛选,采用抗体/纳米金颗粒偶联的方法进行了 pH、单克隆抗体浓度和抗原量的优化,在检测的 30 份药品和食品样品中,2 份酸枣仁样品呈阳性,经 HPLC 法和 ELISA 法验证,检测结果一致,证实该方法可用于药品和食品贮藏场所真菌毒素的快速筛选和同时检测。GICA 法已应用于酸枣仁、莲子、薏苡仁、槟榔、决明子和远志等中药材^[93],地龙、决明子、延胡索、土鳖虫、马钱子等中药饮片^[94]和牛黄镇惊丸等中成药^[95]中,但对真菌毒素残留量的检测多集中于 AFB₁ 和 AFB₁、AFB₂、AFG₁、AFG₂ 的总量。然而,该方法在检测过程中基质对检测结果影响较大,常出现假阳性和假阴性问题,其次检测结果重复性不高。GICA 法对操作人员没有专业技能要求,无需大型仪器设备,可以在短时间内获得测试结果,检测成本较低,适用于现场快速检测大量中药材中的真菌毒素。

3.2.3 生物传感器 光学生物传感器具有专属性强、响应迅速、操作简便等优点,适用于中药材复杂基质中低丰度真菌毒素的快速检测^[96-98]。特别是新型纳米材料的应用,极大提高了检测灵敏度。Wu 等^[99]运用新型无标记荧光适配体传感器在核酸外切酶和 DNA-AgNCs 的辅助下进行 3 重循环放大用于 AFB₁ 的检测,AFB₁ 可以进行连续 3 个循环的扩

增反应,使传感器具有较低的检测限和较宽的动态检测范围,基于适配体与靶标的高效特异性结合能力,可以显著降低传统检测方法中干扰成分对检测结果的影响。然而,大多数适配体仅针对单一污染物,目前已经构建的适配体有 AFB₁、AFM₁、OTA、FB₁、ZEN^[96,100]。张楠^[101]开发了一种基于氧化石墨烯和荧光共振能量转移的“turn-on”型荧光适配体传感器,用于定量检测薏苡仁中 PAT 与 ZEN,实现了双真菌毒素高效经济的同时检测。一项高效、灵敏的比率型荧光适配体传感器用于莲子中 PAT 的检测,其检测限更为灵敏,为复杂基质中药中真菌毒素的检测提供了方法借鉴。电化学传感器具有特异性好、灵敏度高、成本低、可控性强、分析速度快、耗时短等突出优势,尤其适用于真菌毒素等小分子物质的痕量检测^[102-103]。Sun 等^[104]制备了一种用于麦芽样品中 OTA 超灵敏检测的绿色电化学免疫传感器,与其他直接或一次性电化学免疫传感器相比,所研制的免疫传感器在 0.1~1.0 ng/mL 对 OTA 的检出限(0.08 ng/mL)较低。Jia 等^[105]建立了一种基于 CdSe@CdS 量子点的无标记电化学发光适配体传感器,用于百合和大黄样品中 OTA 的快速分析,由于适配体对 OTA 的特异性识别和捕获能力,在多种干扰物质存在下电化学发光适配体传感器对 OTA 仍表现出高特异性,为食药安全评价中更多真菌毒素的检测提供了新的通用分析工具。虽然已经开发出了大量的电化学免疫传感器,但应用于中药基质的真菌毒素传感器的研究相对较少。此外,传感器的稳定性和可重复性仍有待提高;大部分电化学传感器只能检测一种毒素,还不能满足同时检测多种真菌毒素的实际需求。寻找具有更多样化和复杂性能的新型材料仍是开发电化学传感器的未来发展方向。

3.2.4 其他 随着光谱技术和电子技术的持续发展,近红外技术得到了很大程度的提高,因此将红外荧光碳量子点作为检测探针,已成为最有效的有机物质定量定性分析技术之一^[106]。毛细管电泳技术融合了 HPLC 和常规电泳的优点,具有快速、自动、有效分析复杂成分的优点。李铭慧等^[107]建立了在线现场扩增堆积毛细管区带电泳方法,并将该方法应用于薏苡仁中 OTA 和桔霉素的分析检测。流体微球技术具有所需样品容量小、分析时间短、检测成本低,并可同时检测多种物质等优点,适合于现场中药材的快速筛查^[108]。一种基于间接竞争原理的流式

微球技术成功应用于麦芽中 OTA 的检测,该法简便、快速、灵敏、可靠^[108]。此外,基于纳米粒子生物条形码技术的 AFB₁ 痕量分析方法成功应用于决明子、远志、柏子仁 3 种不同的中药材中,检出限可达到 1×10^{-8} ng/mL,可能是未来 AFB₁ 检测的有力方法^[109]。电子鼻通过评估真菌次生代谢产物的理化性质,基于固态传感器检测污染样品释放的挥发性成分。每种样品都能产生独特的“指纹”,以其味道和香味为特征,对特征气味的检测可以提供有关样品所产生代谢物类别的初步信息^[110-111]。

4 真菌毒素的降解

真菌毒素种类繁多,且与生命健康密切相关,因此降低真菌毒素的残留量至关重要。目前,国内外学者在真菌毒素降解方面作了大量研究,降解方法主要分为物理、化学和生物降解 3 大类。

4.1 物理降解

物理降解法主要是通过改变外部环境条件或利用物理射线对真菌毒素进行降解,常见的物理降解方法包括高温降解法、吸附法和辐射法等。真菌毒素具有热稳定性,需通过较高的温度处理才能破坏其分子结构。高温加热可降解大部分真菌毒素,但同时中药材中的蛋白质、氨基酸等也会被破坏^[112],因此其应用范围狭小。吸附法是目前应用最广泛的方法,其原理是利用吸附剂(如纳米制品、蒙脱石或活性炭等)与真菌毒素结合形成稳定的化合物,从而达到降解真菌毒素的目的。吸附剂对于真菌毒素的吸附主要依靠氢键、离子键等^[113],活性炭因比表面积大且价格低廉被广泛应用。吸附法对样品几乎没有影响,是一种绿色安全的手段。辐射法是通过 γ 射线、电子束及紫外线照射,破坏真菌毒素的化学结构,进而达到降解的目的。该法操作简便,可应用于大规模生产。Nurtjahja 等^[114]通过射线辐照发现肉豆蔻中 AFB₁ 含量降低,黄曲霉菌群总数下降。辐射法是最有潜力的降解手段之一,但是在大规模生产中需考虑成本问题。

4.2 化学降解

化学降解法是通过添加化学试剂破坏真菌毒素的分子结构,进而降解为毒性低的物质。常见的化学降解法包括有机酸降解、氨化降解、臭氧降解。有机酸可与真菌毒素发生化学反应从而降低毒性,降解能力强,但是有机酸残留可能会损害人类及动物的生命健康,并且效率低。氨化降解主要是利用氨水反应或氨气熏蒸等方式使真菌毒素的分子结构

发生转变,从而降低毒性^[115]。该法降解效果良好,是最先进、经济可行的方法,可用于实际工业生产,但是对环境有一定的影响。臭氧具有很强的氧化能力,可以氧化真菌毒素并产生无毒的产物;该法由于绿色环保而倍受青睐,但是臭氧具有微毒性,大规模应用会受到限制,并且制备成本较高。

4.3 生物降解

微生物的细胞壁可以吸附真菌毒素形成复合

体,进而使毒素的生物利用度降低。微生物吸附法具有特异性强、环保和高效的优点,是当前研究热点。微生物法降解真菌毒素已经逐渐成熟,多种微生物具有显著降解作用,如枯草芽孢杆菌、干酪乳杆菌等^[116]。此法不易对环境造成污染,是一种绿色安全的降解手段,随着生物技术的进步,该方法可有效地控制真菌毒素的污染。

中药材中真菌毒素检测分析研究策略见图2。

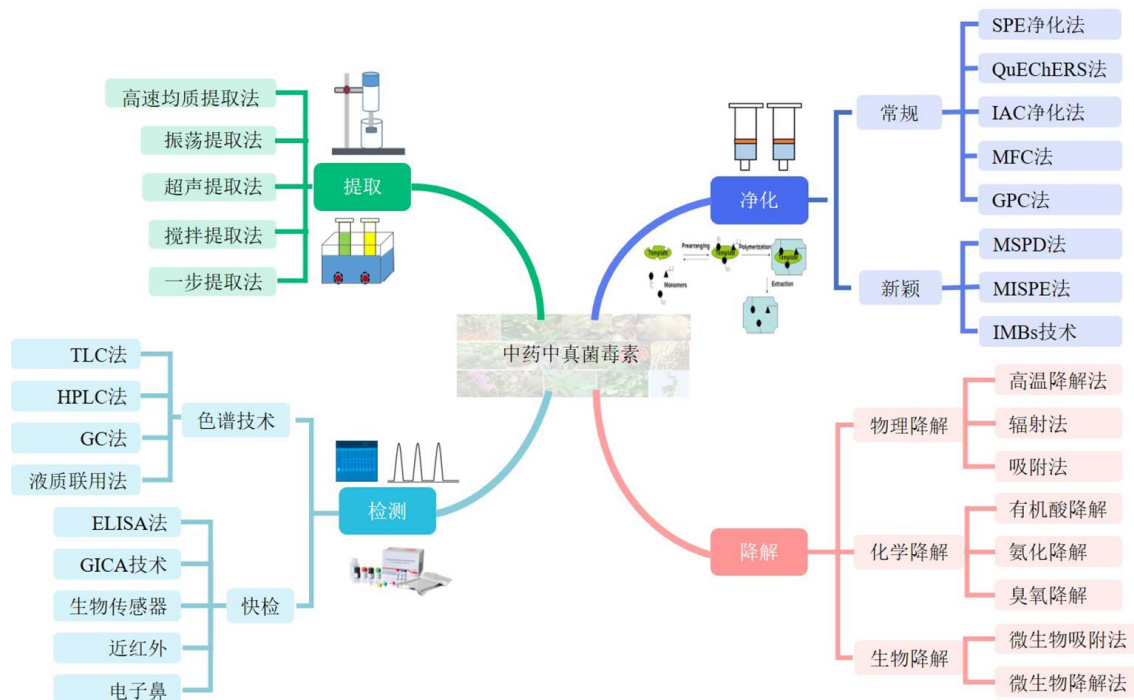


图2 中药材中真菌毒素检测分析研究策略

Fig. 2 Research strategy for detection and analysis of mycotoxins in Chinese medicinal materials

5 结语与展望

真菌毒素种类多、毒性强、分布广,可通过各种渠道污染中药材、食品及农作物,严重威胁生命健康,因此有必要建立特异性强、灵敏度高、简便快捷的检测方法及长效监测机制。本文重点综述了真菌毒素的前处理、检测及降解脱毒方法。对于复杂样品的前处理技术,传统的提取净化方法逐步被取代,多种净化技术联合应用是目前的研究热点,未来真菌毒素的前处理技术应该朝着自动化与高通量分析的方向发展。随着分子生物学、免疫学及电子科学的发展,真菌毒素的检测方法也不断发展,传统的仪器分析技术虽然具有灵敏度高、准确度高的优点,但仍存在一些问题,如不能即时检测、样品前处理复杂繁琐及对仪器操作人员要求高等。快检虽然能够实现大量样品的快速筛查,但是其准确性

需进一步提高,开发更加灵敏准确的检测技术已经成为新的挑战与趋势。建立真菌毒素广谱筛查技术可对真菌毒素进行初步筛查,能够实现真菌毒素的污染预警,只有早期检测到中药材中的真菌毒素并控制干预,才能保障人民的生命健康。对于真菌毒素的降解,与物理和化学降解方法相比,生物降解法更加安全高效、绿色环保,是未来研究的方向。中药材中真菌毒素的快速、准确测定及降解是保证中药有效性和安全性的关键,也是推动中药现代化和国际化的重要保障。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Liu C M, Qin J A, Dou X W, et al. Extrinsic harmful residues in Chinese herbal medicines: Types, detection, and safety evaluation [J]. *Chin Herb Med*, 2018, 10(2):

- 117-136.
- [2] 费毅琴, 肖凌, 汪波, 等. 37种植物类药材中重金属和有害元素残留分析及风险评估 [J]. 药物分析杂志, 2021, 41(6): 1000-1008.
- [3] 郭梦月, 于景盛, 姜汶君, 等. 基于 DNA 宏条形码技术的中药材苦杏仁表面真菌多样性研究 [J]. 药学学报, 2021, 56(8): 2295-2301.
- [4] Qin L, Jiang J Y, Zhang L, *et al.* Occurrence and analysis of mycotoxins in domestic Chinese herbal medicines [J]. *Mycology*, 2020, 11(2): 126-146.
- [5] 沈燕, 仲建锋, 黄亚威, 等. 植物类中药材生产过程中质量安全研究进展 [J]. 江苏农业学报, 2022, 38(1): 268-277.
- [6] Zhao D T, Gao Y J, Zhang W J, *et al.* Development a multi-immunoaffinity column LC-MS-MS method for comprehensive investigation of mycotoxins contamination and co-occurrence in traditional Chinese medicinal materials [J]. *J Chromatogr B*, 2021, 1178: 122730.
- [7] Toman J, Ostry V, Grosse Y, *et al.* Occurrence of ochratoxin A in *Astragalus propinquus* root and its transfer to decoction [J]. *Mycotoxin Res*, 2018, 34(3): 223-227.
- [8] Zhang J Y, Li X J, Xie J H, *et al.* Rapid and simultaneous detection of aflatoxin B₁, zearalenone, and T-2 toxin in medicinal and edible food using gold immunochromatographic test strip [J]. *Foods*, 2023, 12(3): 633.
- [9] 黄馨雨. 同时检测谷物及中药材中伏马毒素 B₁ 和脱氧雪腐镰刀菌烯醇免疫层析方法的研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2019.
- [10] 朱斌, 马双成, 林瑞超. 天然药物及产品真菌毒素研究概况 [J]. 中国药事, 2009, 23(11): 1126-1132.
- [11] European pharmacopoeia. 10.0 [S]. 2019: 311-313, 316-317.
- [12] European Union. Commission Regulation (EU) No Commission regulation (EC) No. 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (Text with EEA relevance) [J]. *Official Journal of the European Union*, 2010(L364): 5-24.
- [13] British Pharmacopoeia [S]. 2017.
- [14] Korean Pharmacopoeia [S]. 2012: 1673-1675.
- [15] The Japanese Pharmacopoeia [S]. 2021: 2370-2371.
- [16] The US Pharmacopoeia [S]. 2021: 8.
- [17] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 11.
- [18] 董姣姣, 范妙璇, 陈炼明, 等. 中药饮片真菌毒素前处理方法进展 [J]. 世界中医药, 2018, 13(12): 3239-3245.
- [19] 陈瑞鹏, 孙云凤, 霍冰洋, 等. 真菌毒素多重检测技术研究进展 [J]. 食品科学, 2021, 42(17): 267-274.
- [20] Lu Q, Qin J A, Fu Y W, *et al.* Modified mycotoxins in foodstuffs, animal feed, and herbal medicine: A systematic review on global occurrence, transformation mechanism and analysis methods [J]. *Trac Trends Anal Chem*, 2020, 133: 116088.
- [21] Zhang L, Dou X W, Zhang C, *et al.* A review of current methods for analysis of mycotoxins in herbal medicines [J]. *Toxins*, 2018, 10(2): 65.
- [22] Liang H Y, Hou Q Y, Zhou Y K, *et al.* Centrifugation-assisted solid-phase extraction coupled with UPLC-MS/MS for the determination of mycotoxins in ARECAE Semen and its processed products [J]. *Toxins*, 2022, 14(11): 742.
- [23] 占丽琴, 彭玲娜, 马杰, 等. UHPLC-MS/MS 测定莲子中 10 种真菌毒素 [J]. 药品评价, 2022, 19(17): 1031-1035.
- [24] Wang Y D, Zhang C, Zhang L, *et al.* A comprehensive strategy for screening and exploring multi-class mycotoxins contamination status in *Astragali Radix* [J]. *Microchem J*, 2020, 158: 105294.
- [25] 许莉, 黄晓婧, 罗霄, 等. 使君子中 22 种真菌毒素 UHPLC-MS/MS 同步检测与风险评估 [J]. 时珍国医国药, 2021, 32(4): 984-987.
- [26] Wu Y, Ye J, Xuan Z H, *et al.* Development and validation of a rapid and efficient method for simultaneous determination of mycotoxins in coix seed using one-step extraction and UHPLC-HRMS [J]. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2021, 38(1): 148-159.
- [27] Zhao X S, Liu D, Zhang L, *et al.* Development and optimization of a method based on QuEChERS-dSPE followed by UPLC-MS/MS for the simultaneous determination of 21 mycotoxins in nutmeg and related products [J]. *Microchem J*, 2021, 168: 106499.
- [28] Liu Q T, Kong W J, Guo W Y, *et al.* Multi-class mycotoxins analysis in *Angelica sinensis* by ultra fast liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2015, 988: 175-181.
- [29] 刘瑜, 于丽, 姜玲玲, 等. 液质联用法筛查药食同源中药中多种真菌毒素 [J]. 食品工业, 2022, 43(5): 322-325.
- [30] Zhang S S, Lu J W, Wang S M, *et al.* Multi-mycotoxins analysis in *Pheretima* using ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry based on a modified QuEChERS method [J]. *J Chromatogr B*, 2016,

- 1035: 31-41.
- [31] Han Z, Feng Z H, Shi W, *et al.* A quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe sample pretreatment and liquid chromatography with tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantification of 33 mycotoxins in *Lentinula edodes* [J]. *J Sep Science*, 2014, 37(15): 1957-1966.
- [32] De Colli L, Elliott C, Finnan J, *et al.* Determination of 42 mycotoxins in OATs using a mechanically assisted QuEChERS sample preparation and UHPLC-MS/MS detection [J]. *J Chromatogr B*, 2020, 1150: 122187.
- [33] Kim H, Baek E J, Shin B G, *et al.* In-house validation of an efficient and rapid procedure for the simultaneous determination and monitoring of 23 mycotoxins in grains in Korea [J]. *Toxins*, 2022, 14(7): 457.
- [34] Pizzutti I R, de Kok A, Scholten J, *et al.* Development, optimization and validation of a multimethod for the determination of 36 mycotoxins in wines by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2014, 129: 352-363.
- [35] 刘溪. 免疫亲和柱再生及其在中药中赭曲霉毒素和黄曲霉毒素检测时的重复使用研究 [D]. 锦州: 锦州医科大学, 2019.
- [36] Liao X F, Jia B Y, Sun C N, *et al.* Reuse of regenerated immunoaffinity column for excellent clean-up and low-cost detection of trace aflatoxins in malt [J]. *Microchem J*, 2020, 157: 105007.
- [37] 秦晋钰, 魏嘉波. HPLC法测定22种中药材中的黄曲霉毒素 [J]. 广州化工, 2021, 49(9): 113-115.
- [38] Sun S J, Yao K, Zhao S J, *et al.* Determination of aflatoxin and zearalenone analogs in edible and medicinal herbs using a group-specific immunoaffinity column coupled to ultra-high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2018, 1092: 228-236.
- [39] Liu X F, Ying G Y, Sun C N, *et al.* Development of an ultrasonication-assisted extraction based HPLC with a fluorescence method for sensitive determination of aflatoxins in highly acidic *Hibiscus sabdariffa* [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 284.
- [40] 李海畅, 李磊. 多功能净化柱-UPLC/MS/MS法测定中药材中8种真菌毒素 [J]. 微量元素与健康研究, 2018, 35(6): 60-61.
- [41] 郑荣, 王少敏, 简龙海, 等. 薏苡仁中7种真菌毒素的液相色谱-串联质谱测定法 [J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(2): 318-320.
- [42] 李梦华. 中药及其相关产品中多种真菌毒素同步检测研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2016.
- [43] 孙卫明, 王权帅. 多功能净化柱-超高效液相色谱-串联质谱法测定挂面、方便面中4种真菌毒素 [J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31(6): 662-665.
- [44] 农蕊瑜, 赵丽, 申颖, 等. 多功能净化柱净化-超高效液相色谱串联质谱法检测云南所售部分面条及面条制品中的6种真菌毒素 [J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(22): 7533-7539.
- [45] Xing Y N, Ouyang Q F, Wang S K, *et al.* Simultaneous determination of aflatoxins B₁, B₂, G₁, G₂, and M₁ in dairy products by high-performance liquid chromatography/fluorescence [J]. *New J Chem*, 2017, 41(18): 9840-9846.
- [46] 蒋孟圆, 陈俊秀, 农蕊瑜, 等. 市售调味酱中5种真菌毒素的测定 [J]. 中国调味品, 2022, 47(3): 160-163.
- [47] Zhao Z Y, Liu N, Yang L C, *et al.* A new preparative method for simultaneous purification of ochratoxin A and ochratoxin B from wheat culture inoculated with *Aspergillus ochraceus* [J]. *World Mycotoxin J*, 2016, 9(1): 31-40.
- [48] 刘瑜, 房建美, 胡姝, 等. 液相色谱-四极杆串联离子阱复合质谱法检测中药材中7种真菌毒素 [J]. 福建分析测试, 2022, 31(2): 1-4.
- [49] Tang Z T, Han Q R, Yu G, *et al.* Fe₃O₄@PDA/MIL-101(Cr) as magnetic solid-phase extraction sorbent for mycotoxins in licorice prior to ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis [J]. *Food Sci Nutr*, 2022, 10(7): 2224-2235.
- [50] 王慧格, 许鹏飞, 李媛媛, 等. 槲皮素分子印迹聚合物的制备及应用 [A] // 河南省化学学会2020年学术年会论文摘要集 [C]. 许昌: 河南省化学学会, 2020: 204.
- [51] Cao J L, Zhou S J, Kong W J, *et al.* Molecularly imprinted polymer-based solid phase clean-up for analysis of ochratoxin A in ginger and LC-MS/MS confirmation [J]. *Food Control*, 2013, 33(2): 337-343.
- [52] 曹纪亮. 中药鸦胆子和生姜中黄曲霉毒素和赭曲霉毒素A的检测研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2013.
- [53] 邢言言, 佟玲, 陈楠, 等. 免疫磁珠富集净化-超高效液相色谱法同时测定陈皮中4种黄曲霉毒素 [J]. 色谱, 2015, 33(12): 1320-1326.
- [54] De Girolamo A, Lippolis V, Pascale M. Overview of recent liquid chromatography mass spectrometry-based methods for natural toxins detection in food products [J]. *Toxins*, 2022, 14(5): 328.
- [55] 徐一达, 袁晓, 王海鸣, 等. 色谱法检测真菌毒素的研究进展 [J]. 粮油食品科技, 2018, 26(6): 54-61.
- [56] Stroka J, Anklam E. Development of a simplified densitometer for the determination of aflatoxins by thin-layer chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2000,

- 904(2): 263-268.
- [57] 钱维清, 潘维芳. 中成药中黄曲霉毒素 B₁ 含量测定方法的探讨 [J]. 中国药品标准, 2000, 1(4): 59-61.
- [58] Wang N, Duan C F, Li S H, *et al.* Aqueous extraction followed by dispersive solid phase extraction with *in situ* derivatization for the determination of aflatoxins in traditional Chinese medicines [J]. *J Chromatogr A*, 2020, 1618: 460894.
- [59] Kong W J, Liu S Y, Qiu F, *et al.* Simultaneous multi-mycotoxin determination in nutmeg by ultrasound-assisted solid-liquid extraction and immunoaffinity column clean-up coupled with liquid chromatography and on-line post-column photochemical derivatization-fluorescence detection [J]. *Analyst*, 2013, 138(9): 2729-2739.
- [60] 胡佳哲, 赖宇红, 陈浩桢. 中药材中常见真菌毒素污染状况及分析方法研究进展 [J]. 海峡药学, 2019, 31(1): 1-5.
- [61] Wang W H, Zhang Q, Ma F, *et al.* Simultaneous determination of aflatoxins, fumonisin B₁, T-2 and cyclopiazonic acid in agri-products by immunomagnetic solid-phase extraction coupled with UHPLC-MS/MS [J]. *Food Chem*, 2022, 378: 132020.
- [62] Pi J J, Jin P Y, Zhou S Y, *et al.* Combination of ultrasonic-assisted aqueous two-phase extraction with solidifying organic drop-dispersive liquid-liquid microextraction for simultaneous determination of nine mycotoxins in medicinal and edible foods by HPLC with In-series DAD and FLD [J]. *Food Anal Meth*, 2022, 15(2): 428-439.
- [63] 丁琳, 刘新, 龚宇, 等. 骨折挫伤胶囊中黄曲霉毒素的测定 [J]. 西北药学杂志, 2023, 38(3): 44-48.
- [64] 叶林链, 王少敏, 周恒, 等. 高效液相荧光光谱法测定坤宝丸中赭曲霉毒素 A [J]. 中成药, 2022, 44(4): 1264-1266.
- [65] 李正刚, 谢秋红, 邵大志, 等. 高效液相色谱-荧光检测法同时测定人参归脾丸中 4 种黄曲霉毒素 [J]. 中国卫生工程学, 2022, 21(5): 714-716.
- [66] Wen J, Kong W J, Hu Y C, *et al.* Multi-mycotoxins analysis in ginger and related products by UHPLC-FLR detection and LC-MS/MS confirmation [J]. *Food Control*, 2014, 43: 82-87.
- [67] Kong W J, Zhang X F, Shen H H, *et al.* Validation of a gas chromatography-electron capture detection of T-2 and HT-2 toxins in Chinese herbal medicines and related products after immunoaffinity column clean-up and pre-column derivatization [J]. *Food Chem*, 2012, 132(1): 574-581.
- [68] Yue Y T, Zhang X F, Pan J Y, *et al.* Determination of deoxynivalenol in medicinal herbs and related products by GC-ECD and confirmation by GC-MS [J]. *Chroma*, 2010, 71(5): 533-538.
- [69] Zhao X S, Liu D, Yang X Q, *et al.* Detection of seven *Alternaria* toxins in edible and medicinal herbs using ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem X*, 2022, 13: 100186.
- [70] 王少敏, 杜春晓, 刘贤贤, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定三七中 26 种真菌毒素 [J]. 世界中医药, 2019, 14(4): 798-804.
- [71] 王少敏, 黄晓静, 毛丹, 等. QuEChERS-超高效液相色谱串联质谱法同时测定中药瓜蒌皮中 22 种真菌毒素 [J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(22): 5843-5850.
- [72] Lu Q, Ruan H N, Sun X Q, *et al.* Contamination status and health risk assessment of 31 mycotoxins in six edible and medicinal plants using a novel green defatting and depigmenting pretreatment coupled with LC-MS/MS [J]. *LWT*, 2022, 161: 113401.
- [73] Xing L J, Zou L J, Luo R F, *et al.* Determination of five *Alternaria* toxins in wolfberry using modified QuEChERS and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2020, 311: 125975.
- [74] 王莎, 孔维军, 杨美华. 同位素内标-超高效液相色谱串联质谱法检测麦芽中 11 种真菌毒素 [J]. 药学学报, 2016, 51(1): 110-115.
- [75] Han Z, Ren Y P, Zhu J F, *et al.* Multianalysis of 35 mycotoxins in traditional Chinese medicines by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with accelerated solvent extraction [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(33): 8233-8247.
- [76] Liu Q T, Xiao C B, Liu H M, *et al.* Sensitive assessment of multi-class mycotoxins residue in *Atractylodis rhizoma* [J]. *Ind Crop Prod*, 2019, 127: 1-10.
- [77] Ndiaye S, Zhang M H, Fall M, *et al.* Current review of mycotoxin biodegradation and bioadsorption: Microorganisms, mechanisms, and main important applications [J]. *Toxins*, 2022, 14(11): 729.
- [78] Tan H X, Zhou H Y, Guo T, *et al.* Recent advances on formation, transformation, occurrence, and analytical strategy of modified mycotoxins in cereals and their products [J]. *Food Chem*, 2023, 405: 134752.
- [79] Díaz R, Ibáñez M, Sancho J V, *et al.* Target and non-target screening strategies for organic contaminants, residues and illicit substances in food, environmental and human biological samples by UHPLC-QTOF-MS [J]. *Anal*

- Methods*, 2012, 4(1): 196-209.
- [80] Huang Q W, Guo W B, Zhao X Y, *et al.* Universal screening of 200 mycotoxins and their variations in stored cereals in Shanghai, China by UHPLC-Q-TOF MS [J]. *Food Chem*, 2022, 387: 132869.
- [81] Tan H G, Sun F F, Abdallah M F, *et al.* Background ions into exclusion list: A new strategy to enhance the efficiency of DDA data collection for high-throughput screening of chemical contaminations in food [J]. *Food Chem*, 2022, 385: 132669.
- [82] 柯颖, 徐昕怡, 洪小栩. ELISA 法检测中药材及中药饮片真菌毒素的探讨 [J]. 中国合理用药探索, 2020, 17(4): 17-21.
- [83] 杨东顺, 王莉丽, 马芙蓉, 等. 酶联免疫吸附法测定云南铁皮石斛中黄曲霉毒素 B₁ [J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(19): 7052-7056.
- [84] Wang C J, Zhang L, Luo J Y, *et al.* Development of a sensitive indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay for high-throughput detection and risk assessment of aflatoxin B₁ in animal-derived medicines [J]. *Toxicon*, 2021, 197: 99-105.
- [85] 周颖琴, 熊瑛, 吴慷青. 酶联免疫吸附法测定药食同源中药饮片黄曲霉毒素的研究 [J]. 现代食品, 2022, 28(18): 163-168.
- [86] 刘蕊, 赵新悦, 毛雯雯, 等. ELISA 法快速检测中药材黄曲霉毒素总量 [J]. 中成药, 2020, 42(9): 2376-2381.
- [87] 南铁贵, 洪小栩, 徐昕怡, 等. 中药黄曲霉毒素测定酶联免疫吸附法的研制 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(17): 4158-4162.
- [88] 刘云翔, 周荣荣, 詹志来, 等. 薏苡仁中呕吐毒素酶联免疫检测方法的建立 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(24): 6581-6586.
- [89] 单利楠. 五种典型中药材中黄曲霉毒素的污染状况检测及赭曲霉毒素免疫试纸条的制备和简单应用 [D]. 吉林: 吉林农业大学, 2019.
- [90] 公爱娟, 刘春娟, 辛杰, 等. 酶联吸附免疫法和胶体金免疫色谱技术在中药黄曲霉毒素检测中的应用进展 [J]. 中草药, 2018, 49(9): 2195-2202.
- [91] Hu S R, Dou X W, Zhang L, *et al.* Rapid detection of aflatoxin B₁ in medicinal materials of radix and rhizome by gold immunochromatographic assay [J]. *Toxicon*, 2018, 150: 144-150.
- [92] 李耀磊, 刘丽娜, 姚云, 等. 基于胶体金免疫层析技术对中药材中黄曲霉毒素 B₁ 的定量检测研究 [J]. 中国药理学杂志, 2019, 54(17): 1432-1437.
- [93] 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.
- [94] 范妙璇, 傅欣彤, 陈奕菲, 等. 三线定量胶体金免疫亲和试纸法定量中药饮片中黄曲霉毒素 B₁ 及 B₁、B₂、G₁、G₂ 总量的研究 [J]. 中草药, 2021, 52(17): 5275-5286.
- [95] 刘雅丹, 李静, 张聿梅, 等. 牛黄镇惊丸中黄曲霉毒素残留检测方法研究 [J]. 药学研究, 2021, 40(3): 160-163.
- [96] 俞静, 姚志豪, 何开雨, 等. 基于纳米材料的光学生物传感器在中药真菌毒素检测中的应用 [J]. 分析化学, 2023, 51(4): 472-488.
- [97] Kaur M, Gaba J, Singh K, *et al.* Recent advances in recognition receptors for electrochemical biosensing of mycotoxins—A review [J]. *Biosensors*, 2023, 13(3): 391.
- [98] 关凯仪, 黄仁堂, 张磊, 等. 高灵敏光学和电化学适配体传感器在真菌毒素快速检测中的研究进展 [J]. 分析试验室, 2022, 41(2): 212-224.
- [99] Wu H, Wang H Y, Wu J, *et al.* A novel fluorescent aptasensor based on exonuclease-assisted triple recycling amplification for sensitive and label-free detection of aflatoxin B₁ [J]. *J Hazard Mater*, 2021, 415: 125584.
- [100] 刘颖达, 刘海媛, 苏娜, 等. 免疫分析技术在检测真菌毒素中的研究进展 [J/OL]. 中国食品卫生杂志, (2022-12-15) [2023-05-15]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3156.r.20221211.2137.002.html>.
- [101] 张楠. 基于核酸适配体的中药中真菌毒素生化传感检测方法开发 [D]. 天津: 天津中医药大学, 2022.
- [102] Sun C N, Liao X F, Jia B Y, *et al.* Development of a ZnCdS@ZnS quantum dots-based label-free electrochemiluminescence immunosensor for sensitive determination of aflatoxin B₁ in lotus seed [J]. *Microchim Acta*, 2020, 187(4): 236.
- [103] Jia M X, Liao X F, Fang L, *et al.* Recent advances on immunosensors for mycotoxins in foods and other commodities [J]. *Trac Trends Anal Chem*, 2021, 136: 116193.
- [104] Sun C N, Liao X F, Huang P X, *et al.* A self-assembled electrochemical immunosensor for ultra-sensitive detection of ochratoxin A in medicinal and edible malt [J]. *Food Chem*, 2020, 315: 126289.
- [105] Jia M X, Jia B Y, Liao X F, *et al.* A CdSe@CdS quantum dots based electrochemiluminescence aptasensor for sensitive detection of ochratoxin A [J]. *Chemosphere*, 2022, 287: 131994.
- [106] 蒋彩云, 杨全新, 张梦雨, 等. 中药真菌毒素检测方法研究进展 [J]. 江苏调味副食品, 2021, 38(3): 1-5.
- [107] 李铭慧, 张丽君, 李莎. 毛细管电泳法检测薏苡仁和红曲米中真菌毒素 [J]. 食品科技, 2021, 46(2): 335-340.
- [108] Xiao C B, Liu Q T, Dou X W, *et al.* Rapid detection of

- ochratoxin A in malt by cytometric bead array based on indirect competition principle [J]. *Chin J Anal Chem*, 2016, 44(4): 625-632.
- [109] Yu Y Y, Chen Y Y, Gao X, *et al.* Nanoparticle based bio-bar code technology for trace analysis of aflatoxin B₁ in Chinese herbs [J]. *J Food Drug Anal*, 2018, 26(2): 815-822.
- [110] 王玲玲, 周跃华, 李计萍, 等. 关于中药新药用饮片炮制研究的思考 [J]. *中草药*, 2021, 52(1): 9-13.
- [111] 杨瑞琦. 基于电子鼻的易霉变中药质量快速评价: 以肉豆蔻为例 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.
- [112] 王燕, 刘绪平, 章红, 等. 中药中黄曲霉毒素检测与脱毒技术研究进展 [J]. *药品评价*, 2022, 19(14): 892-896.
- [113] 夏超笃, 艾琴, 湛穗璋, 等. 霉菌毒素吸附剂在动物饲料中应用的研究进展 [J]. *畜牧与饲料科学*, 2017, 38(4): 27-31.
- [114] Nurtjahja K, Dharmaputra O S, Rahayu W P, *et al.* Gamma irradiation of *Aspergillus flavus* strains associated with Indonesian nutmeg (*Myristica fragrans*) [J]. *Food Sci Biotechnol*, 2017, 26(6): 1755-1761.
- [115] 宋承钢, 王彦多, 杨健, 等. 黄曲霉毒素脱毒研究进展 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(12): 3945-3957.
- [116] Huang W W, Chang J A, Wang P, *et al.* Effect of the combined compound probiotics with mycotoxin-degradation enzyme on detoxifying aflatoxin B₁ and zearalenone [J]. *J Toxicol Sci*, 2018, 43(6): 377-385.

[责任编辑 赵慧亮]