

富含色素类中药材中黄曲霉毒素的高效液相色谱- 荧光检测方法研究

杨贵芝¹, 刘晓霞², 邹建宏³, 傅武胜^{1,4,5*}, 肖晶⁶, 方勤美^{7*}

- (1. 福建中医药大学药学院, 福州 350122; 2. 柘荣县食品药品监督管理局, 柘荣 352100;
3. 第二炮兵总医院, 北京 100088; 4. 福建省人兽共患病研究重点实验室, 福建省疾病预防控制中心,
福州 350001; 5. 福建医科大学药学院和公共卫生学院(省疾控中心教学基地), 福州 350002;
6. 国家食品安全风险评估中心, 北京 100021; 7. 福建省农科院生物技术研究所, 福州 350003

摘要: **目的** 采用免疫亲和净化手段和高效液相色谱(HPLC)检测技术, 建立富含色素类中药材中黄曲霉毒素(AFT)的测定方法, 为中药材中 AFT 的检测和污染调查提供技术支持。 **方法** 中药材样品经过高速粉碎均匀后, 粉末状样品经 80%甲醇水高速均质提取, 提取液以磷酸盐缓冲液(PBS)稀释后, 用免疫亲和柱(IAC)净化, 以含吐温-20 的 PBS 淋洗柱子后, 用甲醇洗脱 AFT, 洗脱液经三氟乙酸衍生后用 HPLC 分析, C₁₈ 反相色谱柱分离, 用荧光检测器(FLD)测定, 外标法定量。 **结果** 黄曲霉毒素 G₁、B₁、G₂ 和 B₂ 的最低检出限(LOD, S/N = 3)分别为 0.1、0.02、0.05 和 0.05 μg/kg; 以不含 AFT、色素含量较高的枳实、绞股蓝、枇杷叶、鱼腥草和乌梅为基质, 进行加标回收试验, 加标水平为 6.0 ~ 24 μg/kg(以 AFT 总量计), AFT 的平均回收率在 62.3% ~ 115%之间, RSD 在 0.92% ~ 15.9%之间(n = 3)。 **结论** IAC 净化技术和 HPLC-FLD 相结合, 用于 4 种 AFT 的检测可取得较为满意的结果, 方法的准确度高、精密性好, 各项指标均满足欧盟对食品中 AFT 检测的要求, 方法可满足色素含量较高的中药材中 4 种黄曲霉毒素(AFT)的测定。

关键词: 中药材; 黄曲霉毒素; 免疫亲和柱; 高效液相色谱法; 荧光检测器

Determination of aflatoxins in some traditional Chinese medicine rich in pigments by high performance liquid chromatography- fluorescence

YANG Gui-Zhi¹, LIU Xiao-Xia², ZOU Jian-Hong³, FU Wu-Sheng^{1,4,5*}, XIAO Jing⁶, FANG Qin-Mei^{7*}

- (1. College of Pharmaceutical Science, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China;
2. Inspection and Supervision Administration of Zherong, Zherong 352100, China; 3. The Second Artillery General Hospital, PLA, Beijing 100088, China; 4. Fujian Provincial Key Laboratory of Zoonosis, Center for Disease Control and Prevention, Fuzhou 350001, China; 5. College of Pharmaceutical Science, Fujian Medical University, Fuzhou 350002, China;
6. Chinese National food Safety Risk Assessment Center, Beijing 100021, China; 7. Biotechnology Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, China)

基金项目: 福建省科技计划重点项目和(2008Y0029)、福建省科技厅公益科研项目(2011R1021-2)

Fund: Supported by the Key Program on Science and Technology of Fujian Province (2008Y0029) and Program Beneficial to the Public's Welfare of Fujian Province (2011R1021-2)

*通讯作者: 傅武胜, 博士, 主任技师, 主要研究方向为食品化学污染物与风险评估。E-mail: fwsfqm@126.com。

方勤美, 博士, 副研究员, 主要研究方向为动物养殖安全, E-mail: fangqm@126.com

*Corresponding author: FU Wu-Sheng, Chief Technician, Fujian Center for Disease Control and Prevention, No.76, Jintai Road, Gulou District, Fuzhou 350001, China. E-mail: fwsfqm@126.com

FANG Qin-Mei, Associate Professor, Institute of Biotechnology Research, Fujian Academy of Agricultural Sciences, No.247, Wusi Road, Jin'an District, Fuzhou 350003, China. E-mail: fangqm@126.com

ABSTRACT: Objective To develop a method for quantifying the levels of aflatoxins (AFTs) in the traditional Chinese medicines (TCM) rich in pigments and provide the technical support for AFTs detection and contamination controlling in TCM. **Method** The powdered sample was extracted with 80% (v/v) methanol in water by homogeneous extraction at high speed. The diluted extract was cleaned up by the commercial immunoaffinity column (IAC) containing antibody specific to AFT. The phosphate buffer containing 0.1% Tween-20 was used to remove the interfering compounds and then methanol was used to elute AFT. The derivatized eluent of methanol was separated on C₁₈ column (4.6 mm×150 mm, 3.0 μm) and detected by fluorescence detector (FLD). **Results** The limits of detection (LOD, S/N=3) were in the range of 0.02 ~ 0.1 μg/kg for four kinds of aflatoxins. The average recoveries varied from 62.3% to 115% when AFT was spiked to 5 kinds of TCM matrices at total levels ranged from 6.0 to 24 μg/kg. And the relative standard deviation (RSD) (n=3) was in the range of 0.92% and 15.9%. **Conclusion** The satisfactory result was obtained by HPLC-FLD coupled with IAC column. The developed procedure can be used for the quantification of AFT in TCM rich in pigments.

KEY WORDS: traditional Chinese medicine; aflaoxins; immunoaffinity column; high performance liquid chromatography; fluorescence detector

1 引言

黄曲霉毒素(AFT)主要是由黄曲霉(*Asperillus flavus*)和寄生曲霉(*A. parasiticus*)产生的次生代谢产物,是目前已知作用最强的基因毒性物质之一,其急性毒性为氰化钾的10倍,为砒霜的68倍^[1]。AFT主要引起肝癌,还可诱发肺癌、结肠癌、胃癌和肾肿瘤等^[2,3],黄曲霉毒素(AFB₁)被国际癌症研究机构(IARC)确定为A类致癌物。由于AFT不溶于水,并且耐热性很高,加热到280℃才能发生裂解破坏,一般的水洗、加热炮制等对其含量影响不大,因此中药材霉变污染后,产生的黄曲霉毒素将很难消除^[4]。中药材AFT污染不仅会对人们的健康产生巨大的危害,还会对中药材进出口贸易产生影响^[5,6]。2010年版中国药典已经规定,桃仁、胖大海、陈皮、僵蚕等中药材中AFB₁的限量为5.0 μg/kg,4种AFT的总限量为10 μg/kg。建立简便、可行的检测技术是鉴别、控制中药材黄曲霉毒素污染首先需要面对的问题。生物样品中AFT的检测方法主要有薄层色谱法(TLC)^[7]、酶联免疫吸附法(ELISA)^[8-10]、高效液相色谱法(HPLC)^[11-19]和液相色谱/质谱法(LC/MS/MS)^[20,21]等。TLC和ELISA法有各自的缺点,不利于植物药材中AFT的精确定量分析。LC/MS/MS可确证,并且检出限较低,已被用于多种中药材和中成药AFT的定量测定^[13,20-27],但仪器较为昂贵,尤其存在明显的基质

效应,用于不同中药材样品时对测定结果的影响较大,通常需要制备基质匹配标准曲线加以校正,因此其大规模的应用受到一定影响。HPLC法有柱前衍生^[19,20]和柱后光化学衍生与电化学衍生^[28,29]等多种衍生化方法。HPLC的荧光检测器(FLD)灵敏度高,定量结果准确,结合免疫亲和柱(IAC)净化,甚至可作为确证性方法,已广泛用于人参、干姜、松果菊等植物药和淀粉类药食两用中药材中AFT和赭曲霉毒素A的检测^[13,20,21,28,29],仍然是AFT测定的经典方法。对于生物样品的前处理方法,采用商品化IAC柱净化已极为普遍^[20,23-29],但由于中药材药用部位多样,基质成分复杂,可能含有与AFT结构相似的化学成分,因此将IAC净化法用于植物药时,仍应对方法的实用性和可靠性加以验证和确认。本文针对色素含量较高的枳实、绞股蓝、枇杷叶、鱼腥草和乌梅等5种中药材,开发了基于IAC净化的HPLC-FLD检测技术,为开展污染调查提供了良好的技术手段。

2 材料与amp;方法

2.1 仪器与amp;设备

LC-20AD型高效液相色谱仪(配RF-10AXL荧光检测器,日本Shimadzu公司)、Lambda12型紫外可见分光光度计(Perkin-Elmer公司)、DFY-80型摇摆式高速万能粉碎机(浙江温岭市林大机械公司)、CP225D型电子天平(德国Sartorius公司)、YP202N

型电子天平(上海精密科学仪器有限公司)、JZ-II均质器(天津四方电器设备厂)、Direct-Q型超纯水机(Millipore公司)、N-EVAPTM111吹氮浓缩仪(Organomation Associates公司)、DGX-9143BC型电热恒温鼓风干燥箱、Microfuge® 18型离心机(美国Beckman公司)、KQ-500B型和KQ3200型数控超声波清洗器、G-560E漩涡混合器、Mediwax12型固相萃取装置、精密移液器(1 mL、200 μ L、100 μ L,法国Gilson公司)。

2.2 试剂与材料

2.2.1 试剂

甲醇、氯化钠(分析纯)、吐温-20(化学纯)均来自中国国药集团上海化学试剂公司;甲醇、乙腈均为色谱纯(美国Fisher公司);磷酸盐缓冲液(PBS, pH为7.4,美国Sigma公司)、正己烷(色谱纯,天津市光复精细化工研究所)、三氟乙酸(色谱纯, Tedia公司)、0.1%吐温20-PBS溶液(取1 mL吐温-20,加入PBS并定容至1000 mL)。黄曲霉毒素B₁、B₂、G₁和G₂标准品(各1 mg)购自美国Sigma公司。

AFT标准储备液的配制:分别加入少量乙腈于盛有1 mg黄曲霉毒素B₁、B₂、G₁和G₂标准品的玻璃瓶中,用乙腈反复多次洗涤内容物,将洗涤液分别移入对应的100 mL棕色容量瓶中,加乙腈定容至100 mL,超声10 min,再涡旋混合20 s,得到浓度约为10 μ g/mL的标准储备液。在最大吸收波长下,测定吸光值,根据吸光系数,计算4种黄曲霉毒素的浓度^[19]。

2.2.2 材料

黄曲霉毒素免疫亲和柱(1 mL/支,美国Vicom公司,由北京中检维康公司提供);定性滤纸(直径15 cm,杭州特种纸业公司)和玻璃微纤维滤纸(直径110 mm,Whatman公司)。干燥的中药材(枳实、绞股蓝、枇杷叶、鱼腥草和乌梅)购于福州市各大连锁药店、超市和福建省部分中药材产地。用高速粉碎机将500 g左右的中药材粉碎药材1~2 min,至细粉末状,直至全部通过40目的不锈钢筛网,供AFT提取、分析用。

2.3 标准曲线的建立

2.3.1 标准溶液配制

混合标准液的配制:用移液器吸取1~2 mL的各种AFT标准储备液于同一棕色容量瓶(100 mL)中,用

乙腈定容至100 mL,超声10 min,再涡旋混合20 s后,得到混合标准溶液,其中AFB₁和AFG₁的浓度为200 ng/mL,AFB₂和AFG₂的浓度为100 ng/mL。标准使用液由混合标准液用乙腈稀释20倍而得到,AFB₁和AFG₁的浓度为10 ng/mL,AFB₂和AFG₂的浓度为5.0 ng/mL。

2.3.2 标准曲线的绘制

于5 mL玻璃试管中,精确吸取一定量的标准使用液,加入少量乙腈,配成体积为1 mL的标准系列溶液,涡旋混合20 s,AFB₁和AFG₁的浓度分别10、5.0、2.5、1.25、0.625 μ g/L,AFB₂和AFG₂的浓度分别为5.0、2.5、1.25、0.625、0.313 μ g/L。参考文献方法^[19],进行柱前衍生,简述如下:标准溶液在60 $^{\circ}$ C水浴下用氮气吹干,加入200 μ L正己烷和100 μ L三氟乙酸,盖紧试管塞子,涡旋混匀20 s后,在40 $^{\circ}$ C下衍生15 min。反应结束后,用氮气吹干溶液,准确加入1 mL 15%乙腈充分溶解,以10000r/min的转速离心5 min,取上清液进行HPLC分析(见2.3.3)。将AF衍生物的峰面积(Y)对AFT的浓度(X, ng/mL)作线性回归,得到标准曲线。

2.3.3 液相色谱分析条件

色谱柱:Symmetry[®]C₁₈(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m, Waters公司);柱温:30 $^{\circ}$ C;流速:1.0 mL/min;荧光检测器:激发波长360 nm,发射波长440 nm;进样量:20 μ L;流动相:乙腈和水,梯度洗脱条件:0~6 min,乙腈比例由15%增至17%,第6至8 min时乙腈增至25%,保持5 min直至第13 min,在第13~14 min时,乙腈由25%降低至15%,保持5 min。

2.4 样品制备和AFT测定

2.4.1 样品的提取和净化

提取:准确称取粉碎均匀的样品25.0 g,加入5 g NaCl和100 mL 80%甲醇水溶液,以10000 r/min的转速均质2 min,提取液用定性滤纸过滤。取10 mL滤液加40 mL PBS溶液稀释(注:对酸性强的乌梅等中药材,需要先调节提取液pH至6~7,方法是加入饱和NaOH溶液20滴左右,再测试pH值),用玻璃微纤维滤纸过滤,收集滤液供IAC净化。

IAC净化:取10 mL滤液倒入连接有储液管的IAC柱上,调节阀门,使液体以1~2滴/s的流速通过IAC柱,待接近流尽后,加入10 mL含0.1%吐温-20的PBS缓冲液淋洗柱子。淋洗结束后,用注射器吸取10 mL空气排除残余的溶液。在IAC柱下端接好试

管, 用 1.5 mL 甲醇洗脱, 收集洗脱液, 再用注射器挤入 10 mL 空气使柱里残余的洗脱液流下并被收集。

三氟乙酸(TFA)衍生: 甲醇洗脱液在 60 °C 水浴下氮气吹干, 按照 2.3.2 步骤衍生, 然后准确加入 1 mL 15%乙腈 - 水溶解残渣, 充分涡旋, 以 10000 r/min 转速离心 5 min, 取上清液进行 HPLC 分析。

2.4.2 测定

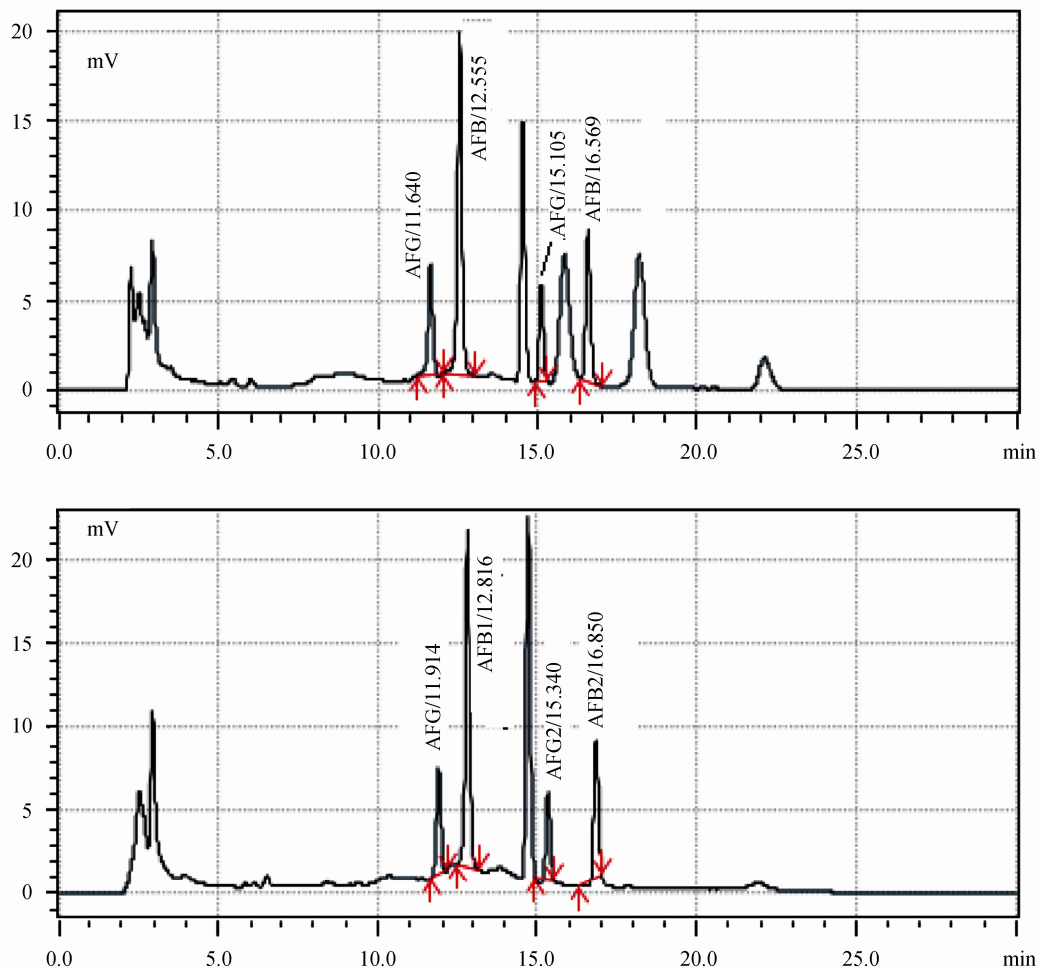
HPLC 分析条件同 2.3.3。如所测溶液浓度超过标准曲线线性范围最高浓度点, 应将样品溶液稀释后再测定。如 AFT 浓度(或质量)超过 IAC 柱的最大亲和容量, 则应适当减少取样量或将提取液增加稀释倍数后, 重新用另一支 IAC 制备新的样品溶液, 再衍生进行 HPLC 测定。

3 结果与讨论

3.1 样品净化条件的优化

3.1.1 淋洗液

采用文献方法^[20]试验时发现, 枇杷叶、鱼腥草等叶类或全草入药的中药材以及一些皮类、果实类中药材的提取液色素干扰较为严重, 以超纯水淋洗时, 只能去除少量色素, 大量的色素则被后续的甲醇洗脱液所洗脱出来, 导致 HPLC - 荧光检测时干扰较为严重(见图 1), 且容易污染色谱柱, 也不利于 IAC 柱的回收再使用。对绞股蓝样品, 尝试了不同种类的淋洗剂, 发现 PBS 中添加少量吐温-20 时, 可增加淋洗剂对色素的淋洗能力, 吐温-20 含量为 0.1%时, 柱子中



左: 超纯水; 右: 0.1%TW20-PBS

图 1 不同淋洗剂下绞股蓝样品提取液的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of *Gynostemma* extract sample under different eluant

残留的杂质最少,同时 AFT 的加标回收率也较理想,在 64.2%~93.6%之间,这说明该淋洗液既能较好地去除杂质干扰,又能保证被亲和的 AFT 基本不被淋洗下来。

3.1.2 提取液 pH 对回收率的影响

IAC 对待净化液的 pH 要求较高,当 $\text{pH} < 4$ 或 > 8 时目标物的回收率会降低^[16]。乌梅提取液酸性较强 ($\text{pH} \approx 3$),即使加入磷酸盐缓冲液,也难以起到缓冲作用,导致 IAC 柱无法对 AFT 起到亲和的作用,加标回收样品基本上检测不到 AFT 色谱峰。因此对于乌梅样品,必须先调节提取溶液的 pH 值,即取一定量的提取液,加入 20 滴饱和 NaOH 溶液,将 pH 调至 6~7,再加入 PBS 缓冲液稀释后上 IAC 柱、洗脱,可获得理想结果。采用该方法对乌梅进行加标回收试验,AFT 的回收率在 80.8%~97.8%之间,RSD 在 3.12%~6.50%,符合要求。

3.2 方法学指标的考察

3.2.1 最低检出限

将 AFT 标准使用液适当稀释后制得一系列不同浓度的标准溶液,TFA 衍生后进样分析,以信噪比 ($S/N=3$)作为最低检出限。黄曲霉毒素 AFG₁、AFB₁、AFG₂ 和 AFB₂ 的最低检测限分别为 0.1、0.02、0.05 和 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。即使以目前最严格的欧盟限量标准 AFB₁ $< 2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 衡量,方法也能满足目前国际上越来越严格的黄曲霉毒素限量的检测要求。

3.2.2 标准曲线的建立

以 AFT 标准溶液的色谱峰峰面积(Y)对其浓度(X)作回归,结果在 0.625~10 ng/mL 范围内(对于 AFG₂ 和 AFB₂,则为 0.313~5 ng/mL),呈现良好的线性(见表 1)。按照样品前处理步骤,取样 25 g 计算,进入 IAC 柱的样品为 0.5 g,因此相当于可检测的浓度水

平为 1.25~20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (对于 AFG₂ 和 AFB₂,则为 0.625~10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。

3.2.3 准确度

采用所建立的 IAC-HPLC 法对不含 AFT 的枳实、绞股蓝、枇杷叶、鱼腥草和乌梅等色素含量较高的 5 种中药材做 3 个水平(重复次数 $n=3$)的加标回收试验。水平 1 的总 AFT 为 24 $\mu\text{g}/\text{kg}$,其中 AFB₁、AFG₁ 均为 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$,AFB₂、AFG₂ 均为 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$;水平 2 的总 AFT 为 12 $\mu\text{g}/\text{kg}$,其中 AFB₁、AFG₁ 均为 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$,AFB₂、AFG₂ 均为 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$;水平 3 的总 AFT 为 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$,其中 AFB₁、AFG₁ 均为 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$,AFB₂、AFG₂ 均为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。回收率结果见表 2,在上述加标水平下,AFT 的加标回收率在 62.3%~115%之间,总体上满足要求。

3.2.4 精密度

准确量取标准使用液 0.5 mL,经 TFA 衍生后连续进样 6 次,4 种黄曲霉毒素峰面积的日内稳定性(RSD)为 1.59%~4.93%,说明仪器的精密度良好。衍生物于低温下放置,日间重复测定 6 次,日间稳定性(RSD)为 2.75%~6.48%,说明衍生物基本稳定。在上述浓度(见 3.2.3)下,进行中药材样品的加标回收试验,重复次数 n 为 3,结果 RSD 在 0.92%~15.9%之间,说明所建立的方法具有较好的重复性和再现性。

4 结 论

建立了色素含量较高的 5 种中药材黄曲霉毒素(AFT)的免疫亲和柱净化-液相色谱荧光检测方法,AFT 的最低检测限与文献报道的 LC/MS/MS 法基本一致。进行 3 个浓度水平的加标回收试验,AFT 的加标回收率在 62.3%~115%之间,RSD 在 0.92%~15.9%之间,说明准确度和精密度均较为理想。

表 1 黄曲霉毒素的线性范围

Table 1 The linear range and regression equation of aflatoxins

黄曲霉毒素	回归方程	相关系数 r	线性范围(ng/mL)				
AFG ₁	$Y = 18800X + 496.92$	0.9998					
AFB ₁	$Y = 50594X + 3206.5$	1	0.625	1.25	2.5	5.0	10
AFG ₂	$Y = 27781X + 487.56$	1					
AFB ₂	$Y = 47007X + 570.22$	1	0.313	0.625	1.25	2.5	5.0

表2 某些中药材基质中 AFT 的加标回收和精密度试验结果($n=3$)
Table 2 Results of spiked recoveries and relative standard deviation (RSD) of AFT in some matrices of traditional Chinese medicines ($n=3$)

中药材名称	加标水平	AFG ₁		AFB ₁		AFG ₂		AFB ₂	
		回收率 %	RSD %	回收率 %	RSD %	回收率 %	RSD %	回收率 %	RSD %
枳实	水平1	82.5	4.38	89.1	2.75	92.8	2.56	100	2.68
	水平2	69.8	5.16	80.3	4.90	87.2	1.43	103	1.43
	水平3	72.8	4.31	82.6	3.57	92.1	3.27	115	5.47
绞股蓝	水平1	90.6	5.07	78.8	2.54	85.9	3.88	62.3	1.93
	水平2	90.9	0.92	93.6	0.94	86.3	0.92	64.2	1.04
	水平3	91.0	3.16	109	12.9	84.0	2.08	66.8	4.34
枇杷叶	水平1	66.1	11.8	69.3	15.0	65.3	9.04	82.8	11.4
	水平2	69.0	4.05	81.2	1.48	85.7	9.39	90.4	5.23
	水平3	67.2	7.97	87.4	8.77	83.1	8.72	83.7	15.9
鱼腥草	水平1	87.2	9.28	99.1	4.83	84.4	7.24	96.3	4.23
	水平2	86.1	8.33	103	5.92	83.9	9.12	94.1	4.90
	水平3	87.1	9.87	110	9.76	77.0	4.55	92.3	5.85
乌梅	水平1	64.2	4.54	90.4	6.80	71.6	5.71	104	13.5
	水平2	83.1	4.82	91.1	3.12	80.8	4.13	97.8	6.50
	水平3	63.4	4.11	90.8	8.01	64.7	7.20	77.7	13.1

免疫亲和柱净化效果理想,操作简便快速,易于掌握,重复性和再现性好。采用柱前衍生方式达到了较好的目的,对于未配备光化学衍生装置或 LC/MS/MS 仪器的实验室更具有很好的应用价值,值得进一步推广用于各种中药材中黄曲霉毒素(AFT)的检测。

参考文献

- [1] 欧阳佩,徐新军. 中药中黄曲霉毒素分析方法进展[J]. 现代食品与药品杂志, 2007, 17(3): 12-16.
Ou YP, Xu XJ. Review of aflatoxin analysis in traditional Chinese medicine [J]. J Mod Food Pharm, 2007, 17(3): 12-16.
- [2] 杨丰利,汤蕾妍,何宝祥. 黄曲霉毒素脱毒方法的研究进展[J]. 广西畜牧兽医, 2006, 22(5): 233-235.
Yang FL, Tang LY, He BX. Research progress of detoxification method of aflatoxins [J]. Guangxi J Anim Husb Vet Med, 2006, 22(5): 233-235.
- [3] 赵飞,焦彦朝,连宾,等. 黄曲霉毒素检测方法的研究进展[J]. 贵州农业科学, 2006, 34(5): 123-126.
Zhao F, Jiao YZ, Lian B, et al. Research progress in the analytical methods of aflatoxins [J]. Guizhou Agric Sci, 2006, 34(5): 123-126.
- [4] 陈建民,张雪辉,杨美华,等. 中药中黄曲霉毒素检测概况[J]. 中草药, 2006, 37(3): 463-465.
Chen JM, Zhang XH, Yang MH, et al. A survey of determination of aflatoxin in Chinese materia medica [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2006, 37(3): 463-465.
- [5] 金红宇,戴博,田金改,等. 中药中外源性有害残留物的控制[J]. 中国药事, 2007, 21(12): 1013-1018.
Jin HY, Dai B, Tian J G, et al. Control of extrinsic harmful residues in traditional Chinese medicine [J]. Chin Pharm Aff, 2007, 21(12): 1013-1018.
- [6] 薛健,刘东静,陈士林,等. 中药外源污染物研究现状与分析[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2008, 10(1): 91-96.
Xue J, Liu DJ, Chen S L, et al. A review on research and analysis of the foreign pollutants in the traditional Chinese medicine [J]. World Sci Technol-Mod Tradit Chin Med Mater Med, 2008, 10(1): 91-96.
- [7] Moses Olusola Efuntoye. Mycotoxins of fungal strains from stored herbal plants and mycotoxin contents of Nigerian crude herbal drugs [J]. Mycopathologia, 1999, 147: 43-48.
- [8] 刘鹏,杜平华,苏德模. 18批中成药黄曲霉毒素的检测[J]. 中国中药杂志, 2004, 24(5): 287-288.
Liu P, Du PH, Su DM. Detection of aflatoxin in 18 groups of

- Chinese patent drug [J]. *China J Chin Mater Med*, 2004, 24(5): 287-288.
- [9] 张振凌, 陈红, 石延帮. 不同牛膝饮片黄曲霉毒素 B₁ 含量比较和限度的确定[J]. *中成药*, 2005, 27(5): 612-614.
Zhang ZL, Chen H, Shi YB. Comparison of aflatoxin B₁ content in different achyranthes yinbian and determination of limit [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2005, 27(5): 612-614.
- [10] Reddy SV, Mayi DK, Reddy MU, *et al.* Aflatoxins B₁ in different grades of chillies (*Capsicum annum* L.) in India as determined by indirect competitive-ELISA [J]. *Food Addit Contam*, 2001, 18: 553-558.
- [11] 郑荣, 毛丹, 王柯, 等. HPLC 法测定中药中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 含量[J]. *药物分析杂志*, 2005, 25(6): 610-613.
Zheng R, Mao D, Wang K, *et al.* HPLC determination of aflatoxin in traditional Chinese medicine [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2005, 25(6): 610-613.
- [12] 张雪辉, 陈建民. 高效液相色谱法与荧光光度法检测中药材中黄曲霉毒素的比较[J]. *药学学报*, 2004, 39(12): 997-1000.
Zhang XH, Cheng JM. Comparison between the post-column derivatization with bromine by HPLC and the fluorometric analysis for determination of aflatoxins in medicinal herbs and plant extracts [J]. *Acta Pharm Sin*, 2004, 39(12): 997-1000
- [13] Trucksess M, Weaver C, Oles C, *et al.* Use of multitoxin immunoaffinity columns for determination of aflatoxins and ochratoxin A in Ginseng and Ginger [J]. *J AOAC Int*, 2007, 90(4): 1042-1049.
- [14] Trucksess M, Weaver C, Oles C, *et al.* Determination of aflatoxins B₁, B₂, G₁, and G₂ and Ochratoxin A in ginseng and ginger by multitoxin immunoaffinity column cleanup and liquid chromatographic quantitation: Collaborative study [J]. *J AOAC Int*, 2008, 91(3): 511-523
- [15] Ali N, Hashim NH, Saad B, *et al.* Evaluation of a method to determine the natural occurrence of aflatoxins in commercial traditional herbal medicines from Malaysia and Indonesia [J]. *Food Chem Toxicol*, 2005, 43: 1763-1772.
- [16] Ip SP, Che CT. Determination of aflatoxins in Chinese medicinal herbs by high performance liquid chromatography using immunoaffinity column clean up improvement of recovery [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1135: 241-244.
- [17] Tassaneeyakul W, Razzazi-Fazeli E, Porasup hatana S, *et al.* Contamination of aflatoxins in herbal medicinal products in Thailand [J]. *Mycopathologia*, 2004, 158: 239-244.
- [18] Katerere DR, Stockenström S, Thembo KM, *et al.* A preliminary survey of mycological and fumonisin and aflatoxin contamination of African traditional herbal medicines sold in South Africa [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2008, 27: 793-798.
- [19] 国家标准 GB/T5009.23-2006《食品中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁ 和 G₂ 的测定》[S].
Chinese National Standard of Food GB/T5009.23-2006 Determination of aflatoxin B₁, B₂, G₁ and G₂ in foods [S].
- [20] 傅武胜, 刘晓霞, 邱文倩, 等. 淀粉、糖类药材黄曲霉毒素的高效液相色谱-荧光检测方法研究[J]. *海峡预防医学杂志*, 2010, 16(6): 1-6.
Fu WS, Liu XX, Qiu WQ, *et al.* Determination of aflatoxin in traditional chinese herbal medicine rich in starch or sugar by HPLC [J]. *Strait J Prev Med*, 2010, 16(6): 1-6.
- [21] Ventura M, G'omez A, Anaya I, *et al.* Determination of aflatoxins B₁, G₁, B₂ and G₂ in medicinal herbs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1048: 25-29.
- [22] Sewram V, Shephard SG, Van Der Merwe L, *et al.* Mycotoxin contamination of dietary and medicinal wild plants in the eastern cape province of south Africa [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54: 5688-5693
- [23] 韩深, 刘莹, 吕美玲, 等. 免疫亲和萃取-超高效液相色谱-串联质谱法分离测定中成药及中药材中的 5 种黄曲霉毒素[J]. *色谱*, 2011, 29(7): 613-617.
Han S, Liu Y, LV ML, *et al.* Determination of five aflatoxins in Chinese patent medicines and medicinal herbs by immunoaffinity extraction coupled with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromat*, 2011, 29(7): 613-617.
- [24] 葛宝坤, 赵孔祥, 王伟, 等. 免疫亲和柱净化-液相色谱-串联质谱法测定中药材中的 14 种真菌毒素[J]. *色谱*, 2011, 29(6): 495-500.
Ge BK, Zhao KX, Wang W, *et al.* Determination of 14 mycotoxins in Chinese herbs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with immunoaffinity purification [J]. *Chin J Chromat*, 2011, 29(6): 495-500.
- [25] 郑润生, 徐晖, 王文丽, 等. 苦杏仁中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 的液质联用检测分析[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(20): 3534-3538.
Zheng RS, Xu H, Wang WL, *et al.* Determination of aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂ in Armeniaceae Semen Amarum by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *China J Chin Mater Med*, 2013, 38(20): 3534-3538
- [26] 杨小丽, 仇峰, 韦日伟, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定地龙中 4 个黄曲霉毒素[J]. *药物分析杂志*, 2012, 32(4): 627-630
Yang XL, Qiu F, Wei RW, *et al.* HPLC - MS /MS simultaneous determination of aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ in Pheretima [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2012, 32(4): 627-630

- [27] 栗建明, 李纯, 顾利红, 等. 快速液相色谱 - 串联质谱法测定果实类药材中的黄曲霉毒素[J]. 中国药学杂志, 2012, 47(1): 65-68

Li JM, Li C, Gu LH, *et al.* Determination of aflatoxins in fruit traditional chinese medicines by rapid-resolution liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Chin Pharm J*, 2012, 47(1): 65-68

- [28] 刘丽娜, 王莹, 金红宇, 等. HPLC 法测定虫草发酵粉中黄曲霉毒素残留量[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(7): 1256-1259

Liu LN, Wang Y, Jin HY, *et al.* HPLC residual determination of aflatoxins in a fermented cordyceps powder [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2011, 31(7): 1256-1259

- [29] 郝爱鱼, 赵丽元, 刘英慧, 等. HPLC 法测定中药饮片黄曲霉毒素残留量的假阳性研究[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(3): 458-464

Hao AY, Zhao LY, Liu YH, *et al.* False positive research on HPLC determining aflatoxin residues in Chinese herbal pieces [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2013, 33(3): 458-464

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



杨贵芝, 硕士研究生。
E-mail: ygz0906@126.com



傅武胜, 博士, 主任技师, 主要研究方向为食品化学污染物与风险评估。
E-mail: fwsfqm@126.com



方勤美, 博士, 副研究员, 主要研究方向为动物养殖安全。
E-mail: fangqm@126.com