

安全监测

首批立法保护岭南中药材中真菌毒素的 LC-MS/MS 法检测^{*}

胡佳哲, 陈俏, 曹雅静, 何嘉雯, 赖宇红, 杨志业

(广东省药品检验所, 广州 510663)

摘要 **目的:** 建立了同时检测中药材中 8 种真菌毒素多残留的同位素标记-液相色谱-串联质谱分 (LC-MS/RS) 析方法。**方法:** 采用 LC-MS/MS 法对首批立法保护的 8 种岭南中药材中真菌毒素污染分析。样品经甲醇-甲酸-水溶液 (79:1:20) 提取后, 通过适当稀释和过滤, 采用 Thermo Hypersil GOLD 色谱柱分离, 0.1% 甲酸乙腈-0.1% 甲酸水为流动相, 电喷雾正负离子扫描模式, 同位素内标法定量。**结果:** 结果表明在 0.33~500 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围, 8 种真菌毒素线性关系良好, r 均大于 0.999 0; 检测下限为 0.1~5.0 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 平均回收率为 80.3%~108.8%, RSD 为 0.10%~9.6%。共检测了 108 批中药材, 检出率为 16.7%, 检出含量为 1.0~99.4 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。**结论:** LC-MS/MS 法适用于中药材中多种真菌毒素的同时检测, 首批立法保护中药材中存在一定程度的真菌毒素残留, 具有一定的健康风险, 应当引起关注。
关键词: 立法保护; 中药材; 真菌毒素; 残留; 污染; 液相色谱-串联质谱

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793 (2020) 03-0477-06

doi: 10.16155/j.0254-1793.2020.03.11

The First legislation to protect the detection of mycotoxins in Lingnan traditional Chinese medicine by LC-MS/MS^{*}

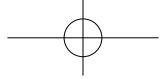
HU Jia-zhe, CHEN Qiao, CAO Ya-jing, HE Jia-wen, LAI Yu-hong, YANG Zhi-ye

(Guangdong Institute for Drug Control, Guangzhou 510663, China)

Abstract **Objective:** To establish an isotope labeling-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method for simultaneous determination of multiple residues of eight mycotoxins in traditional Chinese medicines. **Methods:** The method was used to analyze the mycotoxin contamination in the first batch of eight Lingnan traditional Chinese medicines under legislative protection. Samples were extracted by methanol-formic acid-water (79:1:20), diluted and filtered properly. The separation of 8 mycotoxins was carried out a Thermo Hypersil GOLD chromatographic column, using 0.1% formic acid acetonitrile-0.1% formic acid solution, and determined in positive and negative electro-spray ionization mode. The isotope internal standards were employed for quantification. **Results:** Under the optimized conditions, the calibration curve showed good linearity in

^{*} 广东省中医药局“广东省首批立法保护中药材真菌污染状况研究与分析”(20172028); 广东省科技厅粤港合作项目“岭南中药材质量标准及标准物质示范性研究”(2017A050506034)

第一作者 Tel: (020) 32447982; E-mail: zhe_668@163.com



ranged from $0.33 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ to $500 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ with correlation coefficients greater than 0.999 0. The limits of detection (LODs) were $0.1\text{--}5.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. The recoveries of 8 mycotoxins at three levels were in the range of 80.3%–108.8%, the relative standard deviation (RSDs) were 0.10%–9.6%. 108 batches of Chinese herbal medicines were detected, the detection rate was 16.7%, the detection content was $1.0\text{--}99.4 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. **Conclusion:** This method is suitable for simultaneous detection of mycotoxins in traditional Chinese medicines. There are some mycotoxin residues in the first batch of legislation to protect traditional Chinese medicines, which have certain health risks and should arouse attention.

Keywords: legislative protection; traditional Chinese medicines; mycotoxins; residues; contamination; HPLC–M S/MS

2016年5月31日,首批广东立法保护岭南中药材品种诞生,化橘红、广陈皮、阳春砂仁、广藿香、巴戟天、沉香、广佛手、何首乌入选,该8种中药材乃南药之精华、广东之地理标志产品。然而广东气候受海洋气候影响大,每年的降水量大,梅雨季节长,天气湿热,这使得中药材在种植、采集、贮存、加工等过程均容易污染各种真菌,从而产生多种真菌毒素,严重影响中药材的质量和用药安全。目前,粮食、食品中的真菌及其毒素污染已受到广泛重视,并提出了防控措施、法规及限量标准^[1-2],但对中药材真菌污染的系统研究尚不深入;在中药材的真菌毒素检测方面,多为单一毒素检测或者同类毒素的检测。建立同时检测多种类真菌毒素的快速准确方法,掌握岭南道地中药材中真菌毒素污染状况,为相关部门提供技术和数据支撑,已显得十分地重要和迫切。

我国对中药材中真菌毒素的研究始于上世纪九十年代,主要开展黄曲霉毒素(aflatoxins, AFs)污染检测。研究表明,中药材中真菌毒素污染较为普遍,尤其是AFs检出率很高。杨畅等^[3]检测130份中药材饮片中的黄曲霉毒素,检出43份,检出率为33%;朱筱玲^[4]研究了26味中药中的黄曲霉毒素,黄曲霉毒素 B_1 (aflatoxin B_1 , AFB $_1$)和黄曲霉毒素 B_2 (aflatoxin B_2 , AFB $_2$)最高检出含量分别为 $46.99 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $47.80 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$;国际上,Amal等^[5]在沙特阿拉伯收集的50个肉桂样品中,52%的样品污染了曲霉菌属的黄曲霉;Katere等^[6]对南非市场销售的16个中药材样本进行分析,发现15个样品被曲霉、镰刀霉、青霉污染,13个样本检出伏马毒素 B_1 (fumarine B_1 , FB $_1$);Gray等^[7]在不同来源的人参、西洋参中检出玉米赤霉烯酮(zearelenone, ZEN),其中人参中的最高检出量为 $11.7 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,西洋参中的最高检出量为 $2.6 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

近年来,针对真菌毒素的检测方法不断趋于完

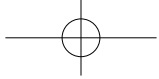
善,主要分为两类:快速筛选法和确证法。快速筛选法主要是酶联免疫法^[8]和胶体金标记技术^[9],基于免疫反应的生物感应技术和蛋白芯片技术也是近年来新兴的真菌毒素快速检测技术^[10-11];确证法包括薄层色谱扫描法(TLC)^[12-13]、高效液相色谱法(HPLC)^[14-15]、气相色谱法(GC)^[16-17],以及液相色谱质谱联用检测法(LC-MS)^[19-20]等。本文采用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)法,其结合了色谱和质谱两者的优点,具有高效、高速、高分辨、微量检测的优势,可完成定性和定量。

1 仪器与试药

LC-20ADXR 高效液相色谱仪(SHIMADZU公司);Triple Quad5500 串联三重四极杆质谱仪(ABI公司)、X1R 高速低温离心机(Thermo Fisher Scientific公司)、Milli-Q 超纯水器(Millipore公司)。

黄曲霉毒素混合标准液(AFB $_1$ 、AFB $_2$ 、AFG $_1$ 、AFG $_2$, 浓度依次为 1.07 、 0.33 、 1.06 、 $0.32 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)(SIGMA公司)、玉米赤霉烯酮(ZEN, 浓度为 $50 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)(SIGMA公司)、赭曲霉毒素A(OTA, 浓度为 $10 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)(MANHAGE公司)、伏马毒素 B_1 (FB $_1$, 浓度为 $50 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)(MANHAGE公司)、杂色曲霉毒素(ST, 浓度为 $50 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)(MANHAGE公司)、 $^{13}\text{C}_{34}$ -伏马毒素 B_1 (^{13}C -FB $_1$, 浓度为 $25.5 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)(Romer Labs公司)、 $^{13}\text{C}_{17}$ -黄曲霉毒素 B_1 (^{13}C -AFB $_1$, 浓度为 $0.503 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)(Romer Labs公司)、 $^{13}\text{C}_{20}$ -赭曲霉毒素A(^{13}C -OTA, 浓度为 $10.00 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)(Biopure公司)、 $^{13}\text{C}_{18}$ -玉米赤霉烯酮(^{13}C -ZEN, 浓度为 $25.10 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)(Biopure公司),纯度均 $\geq 99\%$ 。色谱纯甲醇、乙腈和甲酸(Merck公司)。

化橘红、广陈皮、阳春砂仁、广藿香、巴戟天、沉香、广佛手、何首乌8种中药材均购自广东省10个地市的正规药店,均经副主任中药师杨志业鉴定为正品。



2 方法

2.1 LC-MS/MS 条件

2.1.1 LC 采用 Thermo Hypersil GOLD (1.9 μm , 100 mm $\times$ 2.1 mm) 色谱柱; 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 流动相 A 为 0.1% 甲酸 - 水, 流动相 B 为 0.1% 甲酸 - 乙腈, 梯度洗脱 (0.00~1.00 min, 10%B; 1~6.00 min, 10%B $\rightarrow$ 70%B; 6~6.50 min, 70%B $\rightarrow$ 95%B; 6.50~7.50 min, 95%B $\rightarrow$ 99%B; 7.5~10.0 min, 99%B; 10.0~11.00, 99%B $\rightarrow$ 10%B);

流速 0.3 mL $\cdot$ min $^{-1}$; 进样体积 5 μL 。

2.1.2 质谱条件 采用 ESI 离子源, 正、负离子同时扫描及多反应监测 (multiple reaction monitoring, MRM); 毛细管电压 3.5 kV; 光电倍增器电压 650 V; 碰撞气为氩气; 离子源温度 115 $^{\circ}\text{C}$; 脱溶剂气温度 400 $^{\circ}\text{C}$; 脱溶剂气流量 500 L $\cdot$ h $^{-1}$; 锥孔气流量 50 L $\cdot$ h $^{-1}$ 。各成分的质谱参数见表 1。

表 1 8 种真菌毒素及 4 种同位素内标的质谱分析参数

Tab. 1 MS/MS parameters of 8 mycotoxins and 4 isotopic internal standards

化合物 (compound)	t_R/min	电离方式 (Ionization mode)	母离子 (parent) m/z	碎片离子 (daughter) m/z	去簇电压 (DP)/V	碰撞电压 (CE)/V
AFB ₁	5.57	ESI ⁺	313.0	241.1 [*] /269.1	151.6/157.6	51.6/43.3
AFB ₂	5.34	ESI ⁺	315.1	259.2 [*] /287.2	152.7/158.9	37.7/36.2
AFG ₁	5.32	ESI ⁺	329.0	243.0 [*] /215.0	45.3/55.9	36.3/45.8
AFG ₂	5.10	ESI ⁺	331.1	245.2 [*] /257.1	122.1/122.0	39.0/41.7
FB ₁	5.78	ESI ⁺	722.4	334.5 [*] /352.4	109.8/93.9	51.1/49.0
OTA	7.19	ESI ⁺	404.2	358.3 [*] /239.1	117.2/118.9	16.3/34.6
ST	7.36	ESI ⁺	325.0	310.2 [*] /281.1	93.0/130.0	34.2/47.0
ZEN	7.21	ESI ⁻	317.1	175.0 [*] /131.1	-196.8/-184.7	-30.8/-34.3
¹³ C-AFB ₁	5.55	ESI ⁺	330.2	301.1 [*] /255.2	107.1/130.0	31.0/47.0
¹³ C-FB ₁	5.76	ESI ⁺	756.6	374.4 [*] /356.3	100.0/100.0	33.0/42.0
¹³ C-OTA	7.18	ESI ⁺	424.0	250.0 [*] /232.0	117.0/117.0	25.0/37.0
¹³ C-ZEN	7.21	ESI ⁻	335.2	184.9 [*] /140.0	-56.7/-69.8	-34.2/-40.0

注 (note): * 定量离子 (quantitative ion)

2.2 溶液的配制

2.2.1 标准工作液 精密吸取黄曲霉毒素混合标准液 1.0 mL 和 FB₁、OTA、ST、ZEN 标准液各 1.0 mL, 分别置于不同的 10 mL 量瓶中, 分别用乙腈稀释至刻度, 混匀, 即得 AFB₁、AFB₂、AFG₁、AFG₂ 的浓度分别为 107、33、106、32 ng $\cdot$ mL $^{-1}$ 、FB₁ 质量浓度为 5.0 ng $\cdot$ mL $^{-1}$ 、OTA 质量浓度为 1.0 ng $\cdot$ mL $^{-1}$ 、ST 质量浓度为 5.0 ng $\cdot$ mL $^{-1}$ 的标准工作液。

2.2.2 内标溶液

分别精密吸取 ¹³C₃₄-FB₁、¹³C₂₀-OTA、¹³C₁₈-ZEN 标准液 1.0 mL 各量于同一 10 mL 量瓶中, 用乙腈稀释至刻度线, 混匀, 即得到浓度为 2.55 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ¹³C₃₄-FB₁、浓度为 1.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ¹³C₂₀-OTA 和浓度为 2.51 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ¹³C₁₈-ZEN 的不同浓度内标工作液。分别精密吸取 - 水 - 乙腈 (80:20) 上述内标工作液 ¹³C₃₄-FB₁ 1.0 mL、¹³C₂₀-OTA 1.6 mL、¹³C₁₈-ZEN 1.6 mL 标准内标工作液置于同一 10 mL 量瓶中, 用 0.2% 甲酸稀释至刻度线, 即得到含有浓度 0.4 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ¹³C₃₄-FB₁、0.1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ¹³C₂₀-OTA、0.4 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ¹³C₁₈-ZEN 混

合内标溶液 A。

2.3 样品前处理方法

精密称取 1g 中药材, 研细, 粉末过 4 号筛, 置于 10 mL 离心管中, 加入 4 mL 的甲醇 - 甲酸 - 水 (79:1:20), 震荡使粉末分散均匀, 添加 5 μL 的 ¹³C₁₇-AFB₁ 和 100 μL 的混合内标溶液 A, 涡旋混匀 2 min, 超声提取 (功率 300 W, 频率 40 kHz) 20 min, 然后在 10 000 r $\cdot$ min $^{-1}$ 转速下离心 10 min。准确移取上清液 1 mL 置于 2 mL 离心管中, 在 40 $^{\circ}\text{C}$ 下用氮气吹干, 加入甲醇 - 水 (80:20) 500 μL 复溶, 充分涡旋溶解。过 0.22 μm 滤膜, 待测。

精密称取 1 g 阴性中药材样品 (从 10 个地市抽取的中药材样品, 用本方法进行检测, 结果均为阴性的样品), 同法制备空白基质溶液。

3 结果与讨论

3.1 方法学考察

3.1.1 线性范围和检测下限 采用甲醇 - 水 (80:20) 溶液将标准溶液稀释成系列标准浓度, 即 AFB₁、AFG₁、OTA 系列浓度为 1、2、5、10、25、50、100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,

FB₁、ST、ZEN 系列浓度为 5、10、25、50、125、250、500 μg · L⁻¹, AFB₂、AFG₂ 系列浓度为 0.33、0.66、1.67、3.33、8.33、16.67、33.33 μg · L⁻¹, 将混合内标溶液 ¹³C-AFB₁、¹³C-FB₁、¹³C-OTA、¹³C-ZEN 的质量浓度分别稀释为 2.5、20、5、20 μg · L⁻¹。按“2.1”项下

实验条件分析,以质量浓度为横坐标,各成分峰面积与内标峰比值为纵坐标,进行线性回归计算,所得相关系数均大于 0.999,线性关系良好,以标准曲线最低点为参照,用特征离子信噪比 S/N ≥ 3 对应为检测下限,见表 2。

表 2 8 种真菌毒素线性范围和检测下限

Tab. 2 Linear relationship, LODs of 8 mycotoxins

化合物 (compound)	线性方程 (linear equation)	线性范围 (linear range)/(μg · L ⁻¹)	r	检测下限 (LOD)/ (μg · kg ⁻¹)
AFB ₁	Y=0.314 0X+0.050 00	1~100	0.999 9	0.1
AFB ₂	Y=0.143 0X+0.102 0	0.33~33.3	0.999 4	0.1
AFG ₁	Y=0.136 0X-0.089 00	1~100	0.999 6	0.1
AFG ₂	Y=0.094 00X+0.099 00	0.33~33.3	0.999 0	0.1
FB ₁	Y=0.042 00X-0.174 0	5~250	0.999 1	5.0
OTA	Y=0.225 0X-0.533 0	1~100	0.998 8	0.2
ST	Y=1.282X+2.013	5~250	0.999 7	0.1
ZEN	Y=0.030 00X+0.031 00	1~100	0.999 7	0.4

3.1.2 方法准确度和精密度

在优化的实验条件下,根据标准曲线范围,选择低、中、高 3 个水平的添加量,每个水平添加量分别进行 6 次平行实验,按“2.2”项下方法处理,添加 3 个浓度水平的设计,平均回收率结果和 RSD 如表 3 所示,8 种真菌毒素的回收率在 80.3%~108.8% 之间, RSD 在 0.10%~9.6% 之间,回收率及精密度结果较为理想。

表 3 8 种真菌毒素回收率及 RSD

Tab. 3 Recoveries and RSDs of 8 mycotoxins

化合物 (compound)	加入量 (added)/ (μg · L ⁻¹)	测定量 (found)/ (μg · L ⁻¹)	回收率 (recovery)/%	RSD/%
AFB ₁	5	4.93	98.5	5.4
	10	10.02	100.2	3.5
	20	18.58	92.9	0.10
AFB ₂	1.5	1.47	98.2	5.9
	3	2.98	99.4	0.70
	7.5	6.91	92.2	2.0
AFG ₁	5	4.86	97.3	4.7
	10	9.87	98.7	0.70
	20	19.2	96.0	0.20
AFG ₂	1.5	1.45	96.7	9.7
	3	2.87	95.8	6.6
	7.5	7.25	96.6	7.2
FB ₁	25	22.48	89.9	3.9
	50	40.16	80.3	2.2
	100	98.76	98.8	1.2
OTA	5	5.31	106.2	1.4
	10	9.98	99.8	0.40
	20	19.18	95.9	1.3
ST	25	27.21	108.8	5.1
	50	49.05	98.1	2.7
	100	103.22	103.2	0.90
ZEN	25	25.10	100.4	3.3
	50	46.70	93.4	1.6
	100	102.24	102.2	6.3

3.1.3 基质效应

评价基质效应的方法主要有 2 种:(1) 由 Bonfiglio 等建立的柱后进样法^[21]; (2) Matusze-wski 等提出的提取后加标法^[22]。其中(1)法是一种能够快速定性判断某种基质是否有基质效应的方法,但缺点是无法进行定量评估;(2)法通过比较加标样品基质和加标空白溶液中各种真菌毒素的响应值,不仅可以进行定性分析,而且可以定量分析出基质效应的影响值(SSE),当 SSE 值在 80%~120% 之间时,可认为基质效应对真菌毒素的检测结果影响不大。本文采用(2)法,分别用甲醇-水(80:20)和上述“2.3”项下方法制成的空白基质溶液,稀释系列标准浓度。通过内标法建立标准曲线,样品基质溶液标准曲线的斜率与空白溶剂标准曲线的斜率比即为该样品的基质效应。SSE 计算公式:

SSE= $\frac{\text{基质溶液标准曲线斜率}}{\text{空白溶液标准曲线斜率}} \times 100\%$

8 种真菌毒素的 SSE 计算结果见表 4。

从结果可见,当使用内标法进行 8 种真菌毒素的同时定量检测时,除 ST 有一定的基质增强效应外,其余 7 种真菌毒素的基质效应不明显。

3.2 样品检测

3.2.1 样品收集 在广州、深圳、珠海、佛山、中山、惠州、茂名、汕头、汕尾、云浮等 10 个地市的部分药店随机购买化橘红、广陈皮、阳春砂仁、广藿香、巴戟天、沉香、广佛手、何首乌八种中药材,共 108 批次。

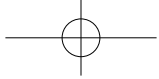


表 4 8 种真菌毒素基质标准曲线及 SSE 值

Tab. 4 Matrix standard wrve, solvent standard wrve and SSE of 8 mycotoxins

化合物 (compound)	基质标准曲线 (matrix standard curve)	空白标准曲线 (blank standard curve)	SSE/%
AFB ₁	$Y=0.331X+0.047$	$Y=0.314X+0.050$	101.5
AFB ₂	$Y=0.226X+0.035$	$Y=0.143X+0.102$	84.0
AFG ₁	$Y=0.179X-0.028$	$Y=0.136X-0.089$	99.0
AFG ₂	$Y=0.114X-0.068$	$Y=0.094X+0.099$	102.0
FB ₁	$Y=0.034X-0.051$	$Y=0.042X-0.174$	119.8
OTA	$Y=0.312X-1.473$	$Y=0.225X-0.533$	106.6
ST	$Y=0.624X+1.219$	$Y=1.282X+2.013$	163.0
ZEN	$Y=0.027X-0.013$	$Y=0.03X+0.031$	107.0

3.2.2 10 个地市抽检结果分析 各地市中药材均有检出真菌毒素,污染率范围在 12.5%~37.5%,平均污染率达到 16.67%。其中佛山的污染率最高,为 37.5%;其次是广州(17.95%)和中山(16.67%)。

3.2.3 真菌毒素检测结果分析 在 108 批样品中,有 18 批检出真菌毒素。分别是 AFB₁ 有 1 批广佛手检出, AFG₁ 有 3 批化橘红、7 批广陈皮和 1 批何首乌检出, FB₁ 有 1 批化橘红和 1 批广陈皮检出, ST 有 1 批广藿香检出, ZEN 有 1 批广陈皮、1 批广佛手和 1 批何首乌检出。

AFs 为中药材中污染最严重的真菌毒素之一,在 108 批中药材中,有 15 批被 AF 污染,污染率为 13.89%。在广佛手中检出 AFB₁ 的含量为 $2.8 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$;在广陈皮中检出大量 AFG₁,含量为 $18.2 \sim 99.4 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。由此可见,种子果实类中药材比较容易受到 AF 的污染。

在 108 份中药材中,有 2 份中药材样品被 FB₁ 污染,污染率为 1.9%,检出的中药材品种为化橘红和广陈皮,含量分别为 $23.4 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $28.4 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$;有 1 份广藿香检出 ST,含量为 $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,广藿香属于叶全草类中药材,可以看出,ST 可能较易在此类中药材中生长;有 3 批中药材样品被 ZEN 污染,污染率为 2.7%,在广陈皮中检出 ZEN 含量为 $3.2 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$;广佛手中检出 ZEN 含量为 $26.8 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$;何首乌中检出 ZEN 的含量为 $2.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,可见,ZEN 一般在果实种子类和根茎类中药材中生长残留。

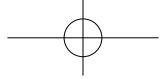
4 结论

本文建立了可同时检测多种中药材中多种真菌毒素残留的 LC-MS/MS 法,同时利用同位素内标法降低基质效应,该方法处理简单,灵敏度高,稳定性好,快速、准确,符合残留分析的要求;我们采用建立的方法对收集来的 10 个地市的 108 批首批广东立法保护

岭南中药材进行检测,结果表明平均检出率为 16.7%,受污染的中药材品种有化橘红、广陈皮、广藿香、广佛手、何首乌,检出的真菌毒素有 AFB₁、AFG₁、FB₁、ST、ZEN,检出的真菌毒素含量在 $1.0 \sim 99.4 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

参考文献

- [1] GB 29921-2013 食品安全国家标准-食品中致病菌限量[S]. 2013
GB 29921-2013 National Food Safety Standards-Limit of Pathogenic bacteria in food[S]. 2013
- [2] GB 2761-2017 食品安全国家标准-食品中真菌毒素限量[S]. 2017
GB 2761-2017 National Food Safety Standards-Mycotoxin limit in food[S]. 2017
- [3] 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
YANG C, LIU F, LI LN, *et al.* Investigation on aflatoxin pollution in Chinese herbal medicine pieces in Guizhou province in 2016[J]. Chin J Pharm, 2018, 49(7): 956
- [4] 朱筱玲. 快速液相色谱-串联质谱法测定 26 味中药中黄曲霉毒素[J]. 分析科学学报, 2018, 34(5): 673
ZHU XL. Determination of aflatoxin in 26 traditional Chinese medicines by rapid liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. J Anal Sci, 2018, 34(5): 673
- [5] ABDULAZIZ AM, JURAI FANI AL. Natural occurrence of fungi and aflatoxins of cinnamon in the Saudi Arabia[J]. Afr J Food Sci, 2011, 5(8): 460
- [6] KATERERE DR, STOECENSTROM S, THEMBO KM, *et al.* A preliminary survey of mycological and fumonisin and aflatoxin contamination of African traditional herbal medicines old in South Africa[J]. Hum Exp Toxicol, 2008, 27(11): 793
- [7] GRAY SL, LAEKEY BR, TATE PL, *et al.* Mycotoxins in root extracts of American and Asian ginseng bind to estrogen receptor α and β [J]. Exp Biol Med, 2004, 229(6): 560
- [8] 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



- CHEN JM, ZHANG XH, YANG MH, *et al.* Survey of aflatoxin detection in traditional Chinese medicine [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2006, 37(3): 463
- [9] 牟均, 潘蓓, 杨军, 等. 胶体金免疫层析法快速测定玉米和小麦中玉米赤霉烯酮 [J]. *粮食食品科技*, 2011, 19(5): 43
- MU J, PAN B, YANG J, *et al.* Rapid determination of zearalenone in maize and wheat by colloidal gold immunochromatography [J]. *Sci Technol Cereals, Oils Foods*, 2011, 19(5): 43
- [10] LIU BH, TSAO ZJ, WANG JJ, *et al.* Development of a monoclonal antibody against ochratoxin A and its application in enzyme-linked immunosorbent assay and gold nanoparticle immunochromatographic strip [J]. *Anal Chem*, 2008, 80(18): 7029
- [11] ZACHARIASOVA M, HAJŠLOVA J, KOSTELANSKA M, *et al.* Deoxynivalenol and its conjugates in beer: a critical assessment of data obtained by enzyme-linked immunosorbent assay and liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta* 2008, 625(1): 77
- [12] GB/T 5009.23-2006 食品中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 的测定 [S]. 2006
- GB/T 5009.23-2006 Determination of Aflatoxin B₁, B₂, G₁ and G₂ in Food [S]. 2006
- [13] GB 2715-2005 食品卫生标准 [S]. 2005
- GB 2715-2005 Food hygiene standards [S]. 2005
- [14] 张慧贤, 童园, 胡西洲, 等. 固相萃取-高效液相色谱-荧光检测法测定谷物中的黄曲霉毒素 B₁ [J]. *分析科学学报*, 2018, 34(5): 669
- ZHANG H X, TONG Y, HU X Z, *et al.* Determination of aflatoxin b₁ in cereals by solid phase extraction-high performance liquid chromatography-fluorescence detection [J]. *J Anal Sci*, 2018, 34(5): 669
- [15] 谢静, 杨惠莲, 冷静, 等. HPLC-柱后光化学衍生法测定 72 批舒经活血丸中黄曲霉毒素 G₂、G₁、B₂、B₁ 的含量 [J]. *药物分析杂志*, 2014, 34(3): 437
- XIE J, YANG HL, LENG J, *et al.* Determination of aflatoxin G₂, G₁, B₂ and B₁ in 72 batches of Shujing Huoxue pills by HPLC-post-column photochemical derivatization [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2014, 34(3): 437
- [16] KONG W, ZHANG X, SHEN 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
- [17] VUE YT, ZHANG XF, PAN JY, *et al.* Determination of deoxynivalenol in medicinal herbs and related products by GC-ECD and confirmation by GC-MS [J]. *Chromatographia*, 2010, 71(5): 533
- [18] 陈祥准, 李舟, 黄芙珍, 等. 液相色谱-串联质谱法测定宠物食品中赭曲霉毒素 A 和 B [J]. *分析科学学报*, 2017, 33(2): 267
- CEHN X Z, LI Z, HUANG FZ, *et al.* Determination of ochratoxin A and B in pet food by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Anal Sci*, 2017, 33(2): 267
- [19] 刘明理, 曹进, 张庆生, 等. 牛奶及乳粉中黄曲霉毒素 M₁ 的液相色谱-质谱检测比较研究 [J]. *药物分析杂志*, 2017, 37(3): 471
- LIU ML, CAO J, ZHANG QS, *et al.* Comparative study on determination of aflatoxin m₁ in milk and milk powder by high performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2017, 37(3): 471
- [20] 李宁侠, 唐招平, 马宁. 超高效液相色谱-质谱法同时检测中药酒剂中多种真菌毒素的污染水平 [J]. *现代中药研究与实践*, 2017, 31(2): 57
- LI NX, TANG ZP, MA N. Simultaneous determination of mycotoxins in traditional Chinese medicine liquor by ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Res Pract Chin Med*, 2017, 31(2): 57
- [21] BONFIGLIO R, KING RC, OLAH TV, *et al.* The effects of sample pre-paration methods on the variability of the electrospray ionization response for Medel drug compounds [J]. *Rapid Commun. Mass Spectrom*, 1999, 13(12): 1175
- [22] MATUSZEWSKI BK, CONSTANZER ML, CHAVEZ-ENG CM. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS [J]. *Anal Chem*, 2003, 75(131): 3019

(本文于 2019 年 5 月 14 日收到)