

参考文献:

[1] 何晓凤,王露露,张 晶. 基于色度学原理的颜色分析方法在药物研究领域的应用概况[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(9): 1471-1475.

[2] 刘 杰,徐 佳,杨瑶琨,等. 基于色度分析原理的防风有效成分含量与颜色值相关性研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2015, 29(2): 20-25.

[3] 宿 莹,李 翟,侯晓琳,等. 基于色差原理分析龙胆有效成分含量与颜色的相关性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(13): 151-156.

[4] 张魄珊. 基于机器视觉的枸杞外观品质检测与评级方法研究[D]. 兰州: 兰州理工大学, 2017.

[5] 赵 炎,张乃建,王若兰. 霉变玉米真菌毒素含量与图像颜色特征参数之间的相关性研究[J]. 粮食与饲料工业, 2015, 12(12): 21-26.

[6] 胡 静,唐小慧,饶桦静,等. 西红花色泽与化学成分含量的相关性分析[J]. 中药材, 2018, 41(8): 1918-1922.

[7] 李 倩,艾青青,兰志琼,等. 基于现代色度原理研究大黄蒽醌类成分含量与其颜色的相关性[J]. 中药材, 2019, 42(1): 62-65.

[8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版一部

[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 148.

[9] 文 静,王 建,陈 念,等. 安息香对永久性大脑中动脉栓塞大鼠模型的保护作用及其机制研究[J]. 中国药理学通报, 2016, 32(12): 1683-1687.

[10] 雷 玲,王 强,白筱璐,等. 安息香的抗炎解热作用研究[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(2): 110-111.

[11] Lee S J, Lee J, Song S, *et al.* Glycoprotein isolated from *Styrax japonica* Siebold *et al* Zuccarini inhibits oxidative and pro-inflammatory responses in HCT116 colonic epithelial cells and dextran sulfate sodium-treated ICR mice[J]. *Food Chem Toxicol*, 2016, 87: 12-22.

[12] 张 璐. 安息香对雌鼠生理周期、生殖激素和在体子宫平滑肌的影响机制研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2015.

[13] 胡 攀. 基于苯甲酸松柏酯的安息香质量及药代动力学初步研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2016.

[14] 胡 攀,文冰杰,李瑞煜,等. 安息香中苯甲酸松柏酯的含量测定[J]. 成都中医药大学学报, 2016, 39(1): 3-5.

[15] Burger P, Casale A, Kerdudo A, *et al.* New insights in the chemical composition of benzoin balsams [J]. *Food Chem*, 2016, 210: 613-622.

[16] 谢宗万. 实用中药材经验鉴别[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 22.

ELISA 法快速检测中药材黄曲霉毒素总量

刘 蕊^{1,2}, 赵新悦^{1,2}, 毛雯雯², 王亚冬², 冯 红², 张东浩^{1*}, 张兰兰^{2*}
(1. 河北大学药学院, 河北 保定 071028; 2. 数字本草检测科技有限公司, 天津 300400)

摘要: **目的** 建立 ELISA 法快速检测中药材黄曲霉毒素总量。**方法** 建立间接竞争 ELISA 法并对该方法进行封闭液、包被液、包被方式、竞争反应时间、显色时间、离子强度优化; 对 6 种中药材前处理优化, 检测 6 种中药材黄曲霉毒素总量; 并采用 HPLC 法测定 6 种中药材中黄曲霉毒素总量, 并对 ELISA 法进行验证。**结果** 优化后黄曲霉毒素总量在 6.25~10 ng/L 范围内线性关系良好 ($r=0.990\ 2$)。6 种中药材平均回收率 94.5%~109.0%, RSD 5.11%~14.56%。ELISA 检测结果与 HPLC 法一致。**结论** 该方法操作简单、快速, 可用于快速检测黄曲霉毒素总量。

关键词: 中药材; 黄曲霉毒素总量; ELISA; HPLC

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2020)09-2376-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.09.025

Rapid detection of total aflatoxin in traditional herbal medicines by ELISA

LIU Rui^{1,2}, ZHAO Xin-yue^{1,2}, MAO Wen-wen², WANG Ya-dong², FENG Hong², ZHANG Dong-hao^{1*}, ZHANG Lan-lan^{2*}

收稿日期: 2019-09-16
基金项目: 国家中医药现代化研究重点专项 (2017YFC1700806)
作者简介: 刘 蕊 (1991—), 女, 硕士生, 从事药材质量研究。Tel: 18649213394, E-mail: 1218097070@qq.com
*通信作者: 张东浩 (1978—), 男, 博士, 教授, 从事药物制剂研究。Tel: 18730225330, E-mail: donghaozhang1@163.com
张兰兰 (1977—), 女, 博士, 高级研究员, 从事药材质量研究。Tel: 13821941492, E-mail: zhangll2@tasly.com

(1. College of Pharmacy, Hebei University, Baoding 071028, China; 2. Digital Materia Medica Festing Technology Company Ltd, Tianjin 300400, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish a rapid ELISA method for the determination of total aflatoxin in traditional herbal medicines. **METHODS** An indirect competitive ELISA method was established, which optimized blocking solution, coating solution, coating method, competitive reaction time, coloration time and ionic strength. The pretreatment of six traditional herbal medicines were optimized, and the determination of total aflatoxin was detected by ELISA method. The aflatoxins total of six traditional herbal medicines was detected by HPLC method to verify ELISA method. **RESULTS** Total aflatoxin showed good linear relationships within 6.25–10 ng/L ($r = 0.990\ 2$). The average recoveries of six traditional herbal medicines were 94.5%–109.0% with the RSDs of 5.11%–14.56%. The results of ELISA were consistent with the results of HPLC. **CONCLUSION** This simple and rapid method can be used for the determination of total aflatoxin in traditional herbal medicines.

KEY WORDS: traditional herbal medicine; total aflatoxin; ELISA; HPLC

随着中医药的发展，中药材的安全问题也越来越被人们关注。对于部分种子类、果实类、动物类及少数根茎类药材，由于在加工、贮藏过程中易产生霉变，极易被黄曲霉毒素污染。2010 年版《中国药典》规定了酸枣仁、僵蚕、胖大海、陈皮、桃仁共 5 种药材黄曲霉毒素的限度标准；2015 年版《中国药典》，进一步对决明子、远志等 14 种易受黄曲霉毒素污染的药材和饮片增加了检查项目和限度标准。随着国家标准对安全指标控制的加强，黄曲霉毒素的检测方法得到了广泛研究^[1-7]。

2015 年版《中国药典》共收录 2 种黄曲霉毒素测定方法，一种为高效液相色谱-柱后衍生法，采用荧光检测器；当测定结果超出限度时，需采用第二种，即高效液相色谱串联质谱方法进行确认^[8]。这 2 种检测方法具有特异性强、定量准确等优点，但所需仪器昂贵、样品处理过程繁琐、试剂及对照品毒性强、污染大，并且需要专业的技术人员才能实现检测。对于中药材的采收、加工、流通、仓储等环节，无法满足快速检测的需求。因此需要开发简单、便捷、即时、准确、高效、节能的快速检测技术方法用于中药材安全控制。

ELISA 快速检测方法即将黄曲霉毒素的抗原或抗体吸附在固相载体表面，使酶标记的抗原抗体反应在固相表面进行的技术。该方法具有操作简单、费用少、样品量少等优点，已在食品、饲料检测中广泛应用。王彤颖等^[9]利用 ELISA 法测定金银花、胖大海、远志的黄曲霉毒素 B1 的含有量，其检测结果与 HPLC 检测结果基本一致。林方芬等^[2]通过 ELISA 检测方法检测 30 种中药饮片中的黄曲霉毒素 B1 的含有量。虽然黄曲霉毒素 B1 有少量 ELISA 检测方法报道，但尚未见黄曲霉毒素总量 ELISA 检测

方法的研究报道。

本研究建立中药材的黄曲霉毒素总量 ELISA 检测方法并对麦芽、酸枣仁、柏子仁、桃仁、远志、决明子等 6 种中药材黄曲霉毒素总量的前处理方法进行探讨，以期 ELISA 检测方法能够运用到更多中药材的黄曲霉毒素检测中。

1 材料

EPOCH 型酶标仪（美国博腾公司）；U3000 型高效液相色谱仪、U3000 型荧光检测器（美国赛默飞世尔公司）。黄曲霉毒素总量抗原（深圳霖次方生物科技有限公司）；黄曲霉毒素总量抗体（哈尔滨进万康生物科技有限公司）；黄曲霉毒素总量对照品（青岛普瑞邦生物工程有限公司）；山羊抗小鼠 IgG-HRP（北京康为世纪生物科技有限公司）；TMB（北京索莱宝科技有限公司）；黄曲霉毒素总量免疫亲和柱（青岛普瑞邦生物工程有限公司）。甲醇（天津康科德化学试剂公司）；磷酸盐缓冲液（PBS）、碳酸盐缓冲液（CBS）（实验室自制）；水为超纯水。

酸枣仁、桃仁、麦芽、远志、决明子、柏子仁样品，均购买自河北安国市场，经数字本草检测科技有限公司张兰兰研究员鉴定为正品。

2 方法

2.1 间接竞争 ELISA 方法建立 参考文献 [10] 方法，用 CBS 将抗原 1：8 000 稀释，每孔 100 μL 包被在聚苯乙烯酶标板上，37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 h，用 PBST 洗板 5 次；以每孔 100 μL 0.5% 脱脂奶粉 37 $^{\circ}\text{C}$ 封闭 1 h，用 PBST 洗板 3 次；每孔依次加入 40 μL 经 PBS 稀释的不同浓度的黄曲霉毒素总量（AFs）对照品溶液和 60 μL 适当浓度的酶标抗原，37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h，用 PBST 洗涤 3 次；以每孔 100 μL

加入山羊抗小鼠 IgG-HRP（用 PBS 1：10 000 稀释），37 ℃ 孵育 1 h，PBST 洗板 3 次；每孔加入 100 μL TMB 溶液，37 ℃ 孵育 30 min，用酶标仪测定 450 nm 吸光值，建立间接竞争酶免疫分析法。抑制率 = $(A_{\text{阳性对照孔}} - A_{\text{阴性对照孔}} / A_{\text{阳性对照孔}}) \times 100\%$ 。

2.2 间接竞争 ELISA 方法学考察

2.2.1 ELISA 条件优化 包被液选择，CBS、PBS、Tris-HCl、醋酸盐缓冲液稀释包被原进行抑制实验；封闭液选择，选择 1% BSA、0.5% 脱脂奶粉、1% 酪蛋白作为封闭液进行封闭，进行抑制实验；包被方式优化，分别选择 37 ℃ 孵育 1、2、3 h 和 4 ℃ 过夜方式作为包被方式，进行抑制实验；竞争反应时间选择，分别选择竞争时间为 30 min、1 h、2 h 做为竞争反应时间，进行抑制性实验；显色时间选择，分别选择显色时间为 10、20、30、40 min 为显色反应时间，进行抑制性实验；离子强度选择，分别制备含有 0.1、0.05、0.01、0.005 mol/L PBS，调 pH 至 7.4，以此稀释黄曲霉毒素总量对照品溶液和抗体进行抑制实验。

2.2.2 线性关系考察 以 PBS 配制 200 ng/L 黄曲霉毒素总量为母液，2 倍逐级稀释到 6.25 ng/L，以黄曲霉毒素总量质量浓度对数值为横坐标（X），抑制率为纵坐标（Y）进行回归。

2.2.3 精密度试验 制备 100、80、60、40、20、10 ng/L 黄曲霉毒素总量对照品溶液，间接竞争 ELISA 方法检测其抑制率，每个孔 3 个平行，比较每孔差异，计算 RSD 值。连续 3 d 检测 6 个质量浓度的抑制率，比较每孔差异，计算 RSD 值。

2.2.4 特异性试验 将不同浓度的呕吐毒素、赭曲霉毒素 A、伏马菌素 B1、玉米赤霉烯酮用 PBS 稀释到不同质量浓度用于替代黄曲霉毒素总量对照品溶液，应用间接 ELISA 法测定其线性关系，计算出 50% 抑制浓度（IC₅₀），并计算交叉反应率。

2.2.5 样品处理

2.2.5.1 麦芽 称取 1 g 麦芽样品，于 5 mL 70% 甲醇溶液中，超声 5 min，离心（5 000 r/min）5 min，滤过，吸取 1 mL 续滤液溶于 9 mL PBS 中，混匀。

2.2.5.2 酸枣仁、柏子仁、桃仁 称取 1 g 酸枣仁、柏子仁、桃仁样品，于 12 mL 70% 甲醇溶液中，超声 5 min，离心（5 000 r/min）5 min，滤过，取上清 400 μL 于蒸发皿中，置水浴上挥干，再加 4 mL 水复溶，得样品检测液。

2.2.5.3 远志、决明子 称取 1 g 未检测出黄曲

霉毒素总量的远志、决明子样品，于 12 mL 70% 甲醇溶液中，超声 5 min，离心（5 000 r/min）5 min，滤过，取 3 mL 过免疫亲和柱，3 mL 上样，3 mL 水洗，1 mL 甲醇洗脱。取 100 μL 洗脱液挥干，加 5 mL 水中复溶，得样品液。

2.2.6 加样回收率试验 分别空白样品基质中，添加黄曲霉毒素总量对照品溶液，制成含黄曲霉毒素 4、2、1 ng/g 的样品，用优化后的 ELISA 方法进行检测。

2.3 ELISA 检测结果与 HPLC 法比较

2.3.1 样品制备 ELISA 方法供试品溶液按“2.2.5”项下方法制备；HPLC 法供试品溶液制备参考 2015 年版《中国药典》方法。

2.3.2 检测方法 ELISA 方法为“2.2.1”项下优化后的检测方法，计算其抑制率代入回归方程，计算黄曲霉毒素总量残留量。HPLC 方法参照文献[11]方法，色谱条件稍有改动，C₁₈ 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；FLD 荧光检测器，激发波长 360 nm，发射波长 440 nm；流动相甲醇-水（45：55）；体积流量 1.0 mL/min；柱温 45 ℃；进样量 20 μL。

3 结果与分析

3.1 ELISA 方法优化 在其他条件一致的情况下，通过改变反应体系中某一条件，如包被温度、离子强度、pH 等，采用间接竞争 ELISA 方法，测定标准曲线并比较 IC₅₀ 值、A₀ 值，优化后的结果见表 1。根据优化后的条件，黄曲霉毒素总量回归方程为 $Y = 22.603 \ln(X) - 22.606$ ， $r = 0.9902$ ，在 6.25~100 ng/L 范围内线性关系良好；以抑制率达到 50% 的所对应的黄曲霉毒素总量值为灵敏度，灵敏度为 24.83 ng/L，以抑制率达到 10% 的所对应的黄曲霉毒素总量值为检出限，检出限为 4.23 ng/L。

表 1 间接竞争 ELISA 测定黄曲霉毒素总量的优化条件
Tab. 1 Optimization conditions for determination of total aflatoxin by indirect competition ELISA

参数	优化值	参数	优化值
包被液	CBS	竞争反应时间	1 h
封闭液	脱脂奶粉	显色时间	30 min
包被方式	37 ℃, 2 h	离子强度	0.05 mol/L

3.2 精密度试验 板内 6 个浓度的 RSD 为 1.2%~7.0%。板间变异系数 RSD 为 4.1%~11.8%。可以看出 10 ng/L 的标准点波动较大，可能是由于该点接近标准曲线的检测下限，但这种波动并不影响标准曲线稳定性。一般试剂盒的批间检测变异系数在

5%~15%是可以接受的,即仪器精密度良好。

3.3 特异性试验 由表2可知,AFB1与AFB2、AFG1、AFG2的交叉反应率在40%以上,因此该方法为检测黄曲霉毒素总量的方法,玉米赤霉烯酮、赭曲霉毒素A、呕吐毒素、伏马毒素B交叉反应率小于0.01%,表明该抗体特异性好。

表2 不同结构类似物交叉反应结果

Tab.2 Results of Cross-reaction with other mycotoxins

成分	IC ₅₀ /(ng·L ⁻¹)	交叉反应率/%
AFB1	504.37	100
AFB2	469.76	115
AFG1	1 159.26	46.7
AFG1	1 314.63	41.1
玉米赤霉烯酮	>10 ⁴	<0.01
赭曲霉毒素A	>10 ⁴	<0.01
呕吐毒素	>10 ⁴	<0.01
伏马毒素B	>10 ⁴	<0.01

3.4 样品处理 本研究以样品空白提取液和0.05 MPBS溶液作为标准品系数溶液绘制标准曲线,对不同样品基质对标准曲线的影响进行考察,图1显示,按“2.2.5”项下处理的方法与PBS稀释标准曲线基本一致。麦芽、酸枣仁、柏子仁、桃仁4种中药材通过样品稀释可消除基质效应,但远志和决明子药材经过甲醇提取后色素较重,对黄曲霉毒素总量标准曲线干扰较大,提取液经免疫亲和柱净化后,消除了色素影响。酸枣仁、柏子仁、桃仁按麦芽方法处理后也出现对标准曲线干扰的现象,加大

稀释倍数后,消除了这3种药材基质对黄曲霉毒素总量标准曲线的干扰,见图2。

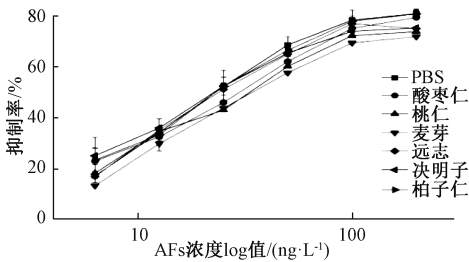


图1 样品与PBS标准曲线

Fig.1 Standard curve of samples and PBS

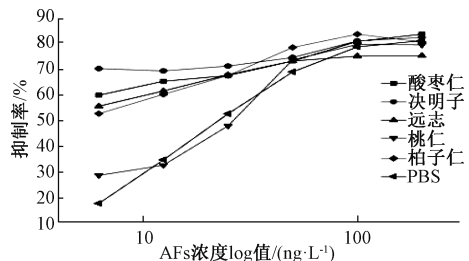


图2 麦芽处理法样品与PBS标准曲线

Fig.2 Standard curve of *Hordei Fructus Germinatus*-treated samples and PBS

3.5 加样回收率试验 6种药材黄曲霉毒素的加样回收率结果见表3,其中麦芽的检出限为0.2 μg/kg,桃仁、酸枣仁、柏子仁的检出限为0.5 μg/kg,决明子、远志的检出限为0.8 μg/kg。这6种药材的平均加样回收率为94.5%~109.5%。

表3 各成分加样回收率试验结果 (n=3)

Tab.3 Results of recovery tests for various constituents (n=3)

成分	取样量/g	原有量/ng	加入量/ng	测得量/ng	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
麦芽	1.003	0	1.0	0.99	99.0	105.9	8.08
	1.008	0	2.0	2.31	115.5		
	1.005	0	4.0	4.13	103.3		
酸枣仁	1.008	0	1.0	1.14	114.0	109.0	5.11
	1.022	0	2.0	2.06	103.0		
	1.005	0	4.0	4.40	110.0		
桃仁	1.012	0	1.0	1.14	114.0	106.1	13.31
	1.002	0	2.0	2.29	114.5		
	1.006	0	4.0	3.59	89.8		
柏子仁	1.003	0	1.0	1.08	108.0	102.8	12.68
	1.008	0	2.0	2.25	112.5		
	1.010	0	4.0	3.52	88.0		
远志	1.008	0	1.0	1.09	109.0	100.1	8.21
	1.009	0	2.0	1.97	98.5		
	1.010	0	4.0	3.71	92.8		
决明子	1.001	0	1.0	0.95	95.0	94.5	14.56
	1.006	0	2.0	2.16	108.0		
	1.008	0	4.0	3.22	80.5		

3.6 ELISA 检测结果与 HPLC 法比较 收集麦芽 13 批, 酸枣仁 10 批, 柏子仁、决明子各 7 批, 桃仁 8 批, 远志 15 批, 共计 60 批, 同时用 ELISA 方法和 HPLC 法检测黄曲霉毒素。检测结果见表 4, 偏差在1 ng/g以上的有 3 个, 分别为 b002、y001、y003。产生偏差的原因可能是样品的黄曲霉毒素含

有量已经超过本研究建立的标准曲线范围。但通过皮尔森相关系数计算间接 ELISA 与 HPLC 结果的匹配度为 0.998, 表明本研究建立的间接 ELISA 法测定结果与 HPLC 法一致。60 种中药材中检出率最高的为柏子仁, 检出率为 100%, 酸枣仁、桃仁次之, 检出率均为 50%。

表 4 60 批样品 2 种方法检测结果 (ng/g, $\bar{x}\pm s$, $n=3$)
Tab. 4 Results of sixty batches of samples by two methods (ng/g, $\bar{x}\pm s$, $n=3$)

成分	编号	ELISA	HPLC	偏差	成分	编号	ELISA	HPLC	偏差
麦芽	m001	—	—	—	桃仁	t001	—	—	—
	m002	0.37±0.026	0.3	0.07		t002	—	—	—
	m003	0.23±0.023	0.2	0.03		t003	0.62±0.056	0.7	0.08
	m004	—	—	—		t004	—	—	—
	m005	—	—	—		t005	0.18±0.047	0.2	0.02
	m006	—	—	—		t006	0.27±0.051	0.2	0.07
	m007	—	—	—		t007	0.88±0.027	0.8	0.08
	m008	—	—	—		t008	—	—	—
	m009	—	—	—	远志	y001	22.15±0.046	24	1.85
	m010	—	—	—		y002	0.84±0.013	0.8	0.04
	m011	—	—	—		y003	32.16±0.037	36	3.84
酸枣仁	m013	0.27±0.004 1	0.2	0.07		y005	—	—	—
	s001	0.46±0.015	0.4	0.06		y006	2.59±0.057	2	0.59
	s002	0.50±0.035	0.4	0.1		y007	—	—	—
	s003	0.48±0.000 7	0.5	0.02		y008	—	—	—
	s004	—	—	—		y009	—	—	—
	s005	14.20±0.011	14	0.2		y010	—	—	—
	s006	—	—	—		y011	—	—	—
	s007	—	—	—		y012	—	—	—
	s008	—	—	—		y013	—	—	—
	s009	—	—	—		y014	8.18±0.012	8	0.18
柏子仁	s010	16.80±0.026	17	0.2		y015	—	—	—
	b001	4.83±0.033	4	0.83	决明子	j001	—	—	—
	b002	28.28±0.051	66	37.32		j002	—	—	—
	b003	0.27±0.051	0.2	0.07		j003	—	—	—
	b004	2.02±0.045	2	0.02		j005	2.65±0.028	2	0.65
	b005	13.12±0.045	13	0.12		j006	—	—	—
	b006	9.66±0.009 8	10	0.34		j007	—	—	—
	b007	1.34±0.014	1	0.34		j008	4.63±0.029	4	0.063

注:“—”表示未检出。

4 讨论

随着免疫分析方法的发展, ELISA 在中药材检测方面得到广泛研究^[12]。本实验通过优化封闭液、包被液、包被方式、竞争反应时间、显色时间、离子强度因素, 建立间接竞争 ELISA 法并完成其方法学研究。该方法检测结果与 HPLC 法相吻合。

对数字本草检测科技有限公司 2017 至 2019 年上半年接检黄曲霉毒素残留量测定样品及文献[11-14] 报道分析, 选择检出率最高的 6 种中药材进行 ELISA 快速检测方法的摸索。由于 6 种中药材的作用基质不同, 因此采用了不同的处理方法消

除基质对 ELISA 方法的影响。

麦芽的基质影响较小, 通过甲醇溶液提取、离心、PBS 稀释即可消除。酸枣仁、桃仁、柏子仁基质的影响次之, 通过蒸干甲醇提取液, 除掉有机溶剂, 再用水复溶的方式可消除。决明子、远志由于甲醇溶液提取后, 色素较重, 仅用蒸干甲醇提取液的方式不能消除基质的影响, 因此采用免疫亲和柱进行基质净化。出现不同品种用不同提取方式提取的原因可能为 ELISA 法在竞争反应阶段由于中药材基质不同影响了样品和竞争抗原的竞争; 中药材经甲醇溶液提取后, 提取颜色不一, 在竞争反应阶

段部分色素聚集到酶标板上，影响了最终的显色反应。

综上，本研究建立了 6 种中药材黄曲霉毒素总量间接 ELISA 法，该方法与 HPLC 法相比具有样品前处理简单、样品量少、检测时间快、经济无污染等特点^[15]。本研究建立《中国药典》中规定的 6 种中药材黄曲霉毒素快速检测测试方法，简化了中药材黄曲霉毒素检测过程，降低了检测成本，提高了检测效率；同时为中药材黄曲霉毒素检测提供了新方法，以期为中药材快速检测提供新思路，由此可以开发出更多的中药材快速检测产品，满足中药材多元化检测需求。

参考文献：

[1] 马双成, 金红宇, 刘丽娜, 等. 中药中外源性有害物质残留风险控制初探 [J]. 中国药学杂志, 2015, 50 (2): 99-103.

[2] 林方芬, 郑志勇, 黄 剑, 等. 中药饮片 中黄曲霉毒素 B₁ 含量的快速测定研究 [J]. 江苏中医药, 2016, 48 (12): 65-66; 69.

[3] 赵祥升, 应光耀, 魏建和, 等. 中药中黄曲霉毒素 B₁ 污染概况 [J]. 中国药物警戒, 2018, 15 (10): 608-616; 622.

[4] Kong W J, Xie T T, Li J Y, *et al.* Analysis of fumonisins B1 and B2 in spices and aromatic and medicinal herbs by HPLC-FLD with on-line post-column derivatization and positive confirmation by LC-MS/MS [J]. *The Analyst*, 2012, 137 (13): 3166-3174.

[5] 冯 莉. 薄层色谱法检测玉米中黄曲霉毒素 B1 [J]. 现代畜牧科技, 2018, 44 (8): 24-25.

[6] 付成平, 欧阳华学, 刘 瑜. 柱前衍生化高效液相色谱法测定中草药提取物中的黄曲霉毒素 B1 [J]. 西南农业学报, 2009, 22 (2): 522-524.

[7] Zhang X, He K, Fang Y, *et al.* Dual flow immunochromatographic assay for rapid and simultaneous quantitative detection of ochratoxin A and zearalenone in corn, wheat, and feed samples [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2018, 19 (11): 871-883.

[8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 22-422.

[9] 王彤颖, 陈媛媛, 高 璇, 等. 中药材中黄曲霉毒素 B1 免疫学快速检测方法研究 [J]. 现代医药卫生, 2017, 33 (2): 177-179.

[10] 于风平, 胡昌勤. 间接 ELISA 法测定刺五加注射液中的过敏性杂质 [J]. 中成药, 2013, 35 (2): 312-315.

[11] 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.

[12] 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.

[13] 谢 昕, 李红艳. 免疫亲和柱净化-光化学柱后衍生-高效液相色谱法测定柏子仁中的黄曲霉毒素 [J]. 理化检验 (化学分册), 2016, 52 (5): 541-544.

[14] 王 莎. 易霉变中药材的储藏规范研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2016.

[15] 苏 歆, 屈会化, 赵 琰, 等. 基于黄芩苷单克隆抗体的 ELISA 快速检测方法的建立 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33 (6): 946-949.