

## 中药资源与大健康产业发展专题

## 响应面分析用于槟榔储藏条件考察的研究

刘洪美<sup>1</sup> 孔维军<sup>1</sup> 胡一晨<sup>1</sup> 杨美华<sup>1,2</sup>

(1 北京协和医学院中国医学科学院药用植物研究所,北京,100193; 2 北京协和医学院中国医学科学院药用植物研究所海南分所,万宁,571533)

**摘要** 探寻 *A. flavus* 菌株在槟榔原药材中生长及产黄曲霉毒素 (AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> 和 AFG<sub>2</sub>) 的规律, 分析槟榔药材的最佳储藏条件。采用响应面分析法 (Response Surface Analysis, RSA) 结合 Central composite 设计, 通过测定染菌后的槟榔中水分含量及总黄曲霉毒素的变化, 考察温度 (Temp, 20 ~ 40 °C) 和湿度 (Hum, 80% ~ 95%) 两个环境因子对药材上 *A. flavus* 菌株产毒的影响, 分析该菌株的最适产毒条件。结果发现, 储藏后的槟榔水分含量发生了显著的增加; 当湿度范围为 90% ~ 95%, 温度高于 25 °C 时, *A. flavus* 菌株在槟榔中生长较快并产生大量黄曲霉毒素。研究表明, 当储存条件为湿度小于 90%, 温度低于 25 °C, 槟榔药材在储藏过程中不易霉变产毒, 为槟榔储藏规范的制定及降低真菌毒素污染的概率提供了较好的依据。

**关键词** 槟榔; *A. flavus* 菌株; 黄曲霉毒素; 响应面分析; 储藏

## Application of Response Surface Analysis in the Investigation of Storage Condition of Areca catechu

Liu Hongmei<sup>1</sup>, Kong Weijun<sup>1</sup>, Hu Yicheng<sup>1</sup>, Yang Meihua<sup>1,2</sup>

(1 Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100193, China; 2 Hainan Branch Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Wanning 571533, China)

**Abstract** The paper was to explore the law of growth of *A. flavus* and production of aflatoxins (AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> and AFG<sub>2</sub>) in raw Areca catechu and to study the optimal storage conditions of Areca catechu. Two environmental factors including temperature (temp, 20 ~ 40 °C) and humidity (Hum, 80% ~ 95%) were investigated on the impact of the production of aflatoxins by *A. flavus* in medicinal herbs. The change of moisture content and the content of total aflatoxins after storage was tested through response surface analysis (RSA) combined with Central composite design, in order to analyze the environmental condition of the least aflatoxins production. The results showed that the moisture content of Areca catechu was significantly enhanced after storage. When the humidity was in range of 90% ~ 95% and temperature was higher than 25 °C, *A. flavus* grew quickly and produced large amounts of aflatoxins on Areca catechu. The study showed that Areca catechu was not easy to mildew and produce toxins in environment with humidity less than 90%, temperature below 25 °C. The result provided reference for establishing the optimal storage condition and for minimizing the possibility of aflatoxins contamination.

**Key Words** Areca catechu; *Aspergillus flavus*; Aflatoxins; Response surface analysis; Storage

中图分类号: R917 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2015.08.001

槟榔 *Areca catechu* Linn. 为棕榈科槟榔属植物, 主产于我国海南岛、台湾、云南河口及西双版纳热带雨林, 广西、广东及福建仅有少量的分布<sup>[1-3]</sup>。槟榔含有多种人体所需的营养元素和有益物质, 同时也含有槟榔碱、鞣质和油脂等多种药理活性成分<sup>[3-5]</sup>。当前对槟榔的利用主要有药用和食用两种方式。药

用槟榔位居我国四大南药 (槟榔、益智、砂仁、巴戟天) 之首, 其种子、果皮、花等均可入药, 在临床上常用于驱虫消积, 主治人体肠道寄生虫、食积腹痛、水肿胀满等<sup>[6-7]</sup>。而在东南亚、南太平洋诸岛及周边地区, 包括我国的台湾、海南、湖南等省, 嚼食槟榔已成了重要的习俗。目前, 槟榔已成为仅次于尼古丁、乙

基金项目: 十二五国家科技重大专项重大新药创制“中药质量安全检测和风险控制技术平台”(编号: 2014ZX09304307-002); 海南省重大科技项目“南药、黎药产业化关键技术研究”分课题“道地南药益智、槟榔产业化关键技术研究”(编号: ZDZX2013008)

作者简介: 刘洪美 (1989—), 女, 山东临沂, 博士研究生, 研究方向: 药物分析, E-mail: hong-mei-163-com@163.com

通信作者: 杨美华 (1964—), 女, 江西南昌, 博士研究生, 研究员, 研究方向: 中药质量分析和安全性研究, 电话: (010) 57833277. E-mail: yang-meihua15@hotmail.com

醇和咖啡因的世界第四大嗜好物品<sup>[8]</sup>。然而,槟榔属于热带植物,性喜高温,其生长环境雨量充沛、空气潮湿,温度和湿度均非常适合霉菌生长及真菌毒素的产生<sup>[9-11]</sup>。如果存放或储存不适当,槟榔易发生霉变而污染黄曲霉毒素,对药材质量和使用者的身体健康和生命安全造成潜在威胁。因此,防止真菌污染和真菌毒素的产生是保障槟榔质量的最关键问题。

黄曲霉毒素(Aflatoxins, AFs)是由真菌黄曲霉 *Aspergillus flavus* Link 和寄生曲霉 *A. parasiticus* Speare 等产生的一类有毒次生代谢产物,依据其产生的衍生物化学结构的不同分为 20 余种,其中最主要有 AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub> 和 AFG<sub>2</sub> 4 种<sup>[12]</sup>,发现于 1960 年。在各类真菌毒素中,AF 是最常见的一类,其毒性为氰化钾的 10 倍,砒霜的 68 倍<sup>[13]</sup>。大量资料证实,AF 对人及动物的肝脏组织有很强的毒害作用,严重时可导致肝癌,甚至死亡<sup>[14]</sup>。1993 年世界卫生组织癌症研究机构(IARC),将其中毒性较大且与人类生活密切相关易污染谷物和粮食的 AFB<sub>1</sub> 定为第一类致癌物<sup>[15]</sup>。AF 不仅易对粮食和饲料造成污染,在以植物为基源的中药中也同样可检测出 AF。张雪辉<sup>[16]</sup>检测了当归、党参、黄芪等 30 余种中药材,发现杏仁、秦艽、生建曲、生麦芽和前胡中均含有 AF。Yang 等<sup>[17]</sup>检测了 19 种中药,其中有 3 种含有 AF,有的质量分数甚至高达 28 μg · kg<sup>-1</sup>。Wen 等<sup>[18]</sup>对生姜及其相关产品中 4 种黄曲霉毒素进行了检测,其中,5 批生姜产品含有 AFB<sub>1</sub>。刘书宇等<sup>[19]</sup>检测了 20 批莲子样品,有 14 批样品的黄曲霉毒素的检测结果呈阳性,其中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 的污染水平为 0.40 ~ 586 μg · kg<sup>-1</sup>,黄曲霉毒素总量(B<sub>1</sub> + B<sub>2</sub> + G<sub>1</sub> + G<sub>2</sub>)的污染水平为 0.40 ~ 586 μg · kg<sup>-1</sup>,并且 5 批样品中 AF 总量超过了《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)对中药材中 AF 总量的限量标准,6 批样品中 AFB<sub>1</sub> 的含量超出了《中国药典》对中药材中 AFB<sub>1</sub> 的限量标准。然而,目前对毒素产生菌的产毒机制和产毒条件缺乏相关了解,缺少可用于指导防控实践的理论依据。

本研究以 AFs 的主要产毒菌株 *Asp. flavus* 3.4410 为模型菌株,将槟榔药材浸染该菌株后进行储藏,采用响应面分析(Response Surface Analysis, RSA)法结合 Central Composite 设计,设定槟榔储藏的不同温度和湿度条件,研究该菌株在药材上的生长及产毒情况。并采用超高效液相色谱串联质谱法(UFLC-ESI-MS/MS 法)<sup>[20]</sup>对储藏后的槟榔药材

中 4 种黄曲霉毒素(AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> 和 AFG<sub>2</sub>)进行测定,分析黄曲霉毒素的产生与储藏环境的温度和湿度条件的关系,探讨槟榔不易霉变产毒的环境条件,为其最佳储藏规范的制定及降低真菌毒素污染的概率提供理论及数据支持依据。

## 1 材料与方法

1.1 供试菌株及培养基 黄曲霉菌株冻干粉(*Aspergillus flavus*, CGMCC 3.4410)购买于中国普通微生物菌种保藏管理中心。察氏培养基,购自北京奥博星生物技术有限责任公司。

1.2 仪器和材料 LC-30AT 超高效液相色谱仪(日本岛津公司);QTRAP<sup>®</sup> 质谱仪(AB SCIEX 公司);KQ-500 超声仪(昆山市超声仪器有限公司);MJX 智能型霉菌培养箱(宁波江南一仪器厂);电热恒温鼓风干燥箱(北京利康达圣科技发展有限公司);黄曲霉毒素 G<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、B<sub>2</sub> 和 B<sub>1</sub> 混合标准品溶液(黄曲霉毒素 G<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>1</sub> 浓度分别为 0.5、2.0、0.5、2.0 μg · mL<sup>-1</sup>,新加坡 Pribolab 公司),4 种黄曲霉毒素的结构见图 1;槟榔药材购自河北安国药材市场,经中国医学科学院药用植物研究所林余霖教授鉴定;甲醇和乙腈(色谱纯,美国 Honeywell 公司);娃哈哈饮用纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司),吐温-20(分析纯,西陇化工股份有限公司)。

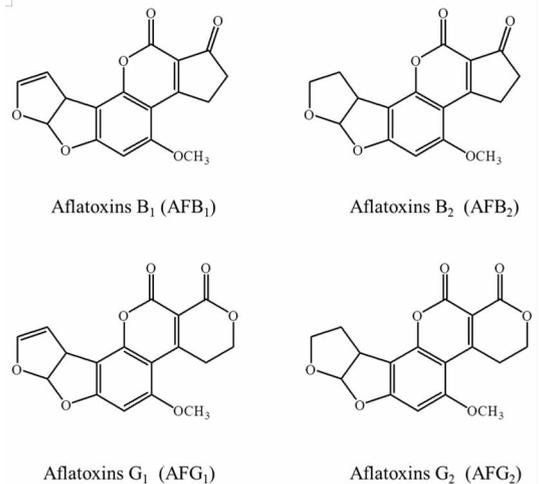


图 1 四种黄曲霉毒素的结构图

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 *A. flavus* 菌株的培养

1.3.1.1 *A. flavus* 菌株的复苏 将 *A. flavus* (3,4410) 冻干菌种管外壁用 75% 乙醇棉擦净,待干。点燃酒精灯,将菌种管的封口一端在火焰上烧灼红热,用灭菌毛细滴管吸取适量无菌水,滴在灼热的菌种管封口一端,使骤冷而炸裂;然后在火焰旁,用灭菌后的镊子将炸裂的管口打开,另取 1 支灭菌毛细

滴管,在火焰旁吸取液体察氏培养基少许,加至菌种管底部,充分搅动溶解,随即吸出管内菌液,接种至PDA斜面培养基内,编号标记后移入恒温培养箱,28℃,培养7 d。

1.3.1.2 孢子混悬液的制备 *A. flavus* 菌株复苏后接种于察氏培养基,待孢子萌发后,加入适量无菌的1%吐温-20溶液,用无菌接种环将琼脂表面的孢子轻轻刮下,将悬浮液置于已灭菌的

三角瓶(内置无菌玻璃球),充分振摇。然后用灭菌脱脂棉过滤,并用1%吐温-20溶液清洗滤渣2~3次,得孢子悬浮液。继续将悬浮液稀释,并吸取适量的稀释液小心置于血球计数板(25×16)的计数室内,盖上盖玻片,静置5 min,在显微镜下计数。调节浓度至 $10^6$  CUF·mL<sup>-1</sup>(CUF:Colony Unit Forming,菌落数),得浓度为 $10^6$ 孢子/mL的*A. flavus*(CG-MCC 3.4410)孢子混悬液。

1.3.2 色谱和质谱条件 色谱柱为SHISEIDO Capcell core C<sub>18</sub>(50 mm×2.1 mm,2.7 μm)柱;流动相为乙腈含0.1%甲酸(A相)-0.1%甲酸水(B相),梯度洗脱程序如下:0—1.5 min,A相从15%升至20%;1.5—8.0 min,A相从20%升至95%,8.0—10.0 min,A相保持90%;10.01—12 min,A相瞬间回到15%的起始浓度并保持2 min。柱温:30℃;进样量:2 μL;流速:0.30 mL·min<sup>-1</sup>。

以三重四级杆质谱仪作为检测器,检测方式为多反应监测(MRM),正离子模式。电喷雾离子源(ESI),源温度为550℃,离子喷雾电压为5500 V;气帘气(CUR)为35 psi;雾化气(GS<sub>1</sub>)为55 psi;辅助加热气(GS<sub>2</sub>)为55 psi;碰撞气(CAD)为Medium。各真菌毒素的监测离子对(m/z)和其他详细参数见表1。

表1 4种黄曲霉毒素的UFLC-ESI-MS/MS检测参数

Analyte	Retention time(min)	Precursor ion(m/z)	Molecular ion	Product ions <sup>a</sup> (m/z)	DP <sup>b</sup>	EP <sup>b</sup>	CE <sup>b</sup>	CXP <sup>b</sup>
AFG <sub>2</sub>	3.94	331.1	[M+H] <sup>+</sup>	257.1(Q)	100	10	38	13
				245.0(q)	100	10	32	13
AFG <sub>1</sub>	4.42	329.1	[M+H] <sup>+</sup>	243.0(Q)	70	10	35	13
				311.2(q)	70	10	28	13
AFB <sub>2</sub>	4.33	315.1	[M+H] <sup>+</sup>	287.0(Q)	90	10	34	13
				259.0(q)	90	10	38	13
AFB <sub>1</sub>	4.80	313.1	[M+H] <sup>+</sup>	285.1(Q)	100	10	30	13
				241.0(q)	100	10	37	13

注:<sup>a</sup> Product ions;(Q) transition used for quantification,(q) transition employed to confirm;<sup>b</sup> Declustering Potential(DP), Entrance Potential(EP), Collision Energy(CE) and Collision Cell Exit Potential(CXP). All expressed in V。

1.3.3 样品制备 精密称取2.00 g 槟榔样品粉末,精确至0.01 g,置于10 mL离心管中,精密加入5 mL

甲醇-水(80:20,v/v),涡旋3 min后,12 000 r/min离心5 min,准确吸取2.5 mL上清液,然后加入甲醇-水(50:50,v/v)定容至5 mL,过0.22 μm有机滤膜,转入进样瓶,进样2.0 μL。按“1.3.2”项下条件进行检测。

1.3.4 基质校正的标准曲线的建立 选取不含真菌毒素的槟榔作为空白样品,按1.3.3样品制备方法制备空白基质溶液,添加不同量的黄曲霉毒素G<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>和B<sub>1</sub>混合标准品溶液,配制成一系列浓度的混合对照品溶液(AFG<sub>1</sub>、AFB<sub>1</sub>的质量浓度为0.5,1,2,5,10,20,40,50 ng/mL;AFG<sub>2</sub>、AFB<sub>2</sub>的质量浓度为0.125,0.25,0.5,1.25,2.5,5,10,12.5 ng/mL),分别进样2 μL,记录峰面积,以待测化合物色谱峰峰面积(Y)为纵坐标,进样浓度(X,ng·mL<sup>-1</sup>)进行线性回归,计算得到回归方程。

1.3.5 Design-Expert 实验设计 采用Design-Expert V8.0.6软件结合Central Composite设计,同时考察温度和湿度两个环境因子对槟榔储藏的影响,因素水平设计见表2。

将槟榔样品按“1.3.3”项处理,然后按“1.3.2”项下色谱和质谱条件进行检测,确定槟榔样品为阴性(即不含AFs)。每个培养皿里选取约50 g 槟榔平铺于培养板底部,紫外(265 nm)照射灭菌1h后准确加入1.0 mL浓度为 $10^6$ 孢子/mL的*A. flavus*(CGM-CC 3.4410)孢子悬液。然后将样品按表2设置的条件,置于霉菌培养箱中培养10 d,定时观察霉菌生长情况。10 d后取出,将培养皿置于超净台中紫外灭菌1h后取出槟榔药材收集于自封袋中,备用。

表2 Central Composite 设计对温度和湿度的设置表

Tests	Factor 1 A:Tem	Factor 2 B:Hum
1	22.93	82.20
2	37.07	82.20
3	22.93	92.80
4	37.07	92.80
5	20.00	87.50
6	40.00	87.50
7	30.00	80.00
8	30.00	95.00
9	30.00	87.50
10	30.00	87.50
11	30.00	87.50
12	30.00	87.50
13	30.00	87.50

1.3.6 水分的测定 按照《中国药典》(2010版一部)附录IX H水分测定法第一法(烘干法),对槟榔原药材和培养后的槟榔药材进行水分的测定,记录

槟榔药材培养后水分含量的变化。

1.3.7 样品前处理及 AFs 测定 将培养后的槟榔药材,按“1.3.3”项对样品进行处理,然后按“1.3.2”项下色谱和质谱条件对 AFs (AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub> 和 AFG<sub>2</sub>) 进行检测,依据“1.3.4”建立的基质校正的标准曲线计算不同条件下培养后的槟榔药材中 AFs 的总量。

### 2 结果与讨论

2.1 响应面法研究 *A. flavus* 菌株产毒情况 将 *A. flavus* (CGMCC 3.4410) 孢子接种于槟榔药材表面,在表 2 设计的条件下进行培养,观察 *A. flavus* 菌株在槟榔药材上的生长情况。在温度 30 °C、湿度 95% 条件下培养 0、6 和 10 d 后, *A. flavus* 生长情况,如图 2 所示。结果可见,培养 10 d 后,药材逐渐转变成墨绿色,同时丰富的菌丝将槟榔样品紧紧包裹,表明 *A. flavus* 孢子在槟榔基质中迅速的生长繁殖。

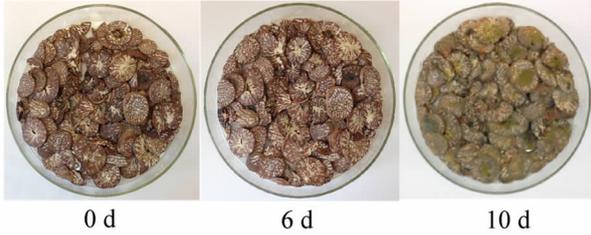


图 2 *A. flavus* 菌株接种并在温度 30 °C、湿度 95% 条件下培养 0、6 和 10 d 后的槟榔药材图

2.2 储藏期间槟榔水分变化 如图 3 所示,不同储藏条件下培养后的槟榔药材水分含量较室温下储藏的原药材都有明显的增加,且受温度和湿度两个因素的综合影响。相同温度条件下,培养过程中湿度高者水分含量高;相同湿度条件下,培养过程中温度高者水分含量较低,原因可能为高温使槟榔中水分挥发,但湿度对药材中水分含量变化的影响更为显著。而据文献报道<sup>[21-22]</sup>,水分含量是影响真菌生长及产毒的最关键因素之一,因此,建议将槟榔储藏 in 较低的湿度中,降低药材水分含量,从而抑制真菌的生长及产毒。

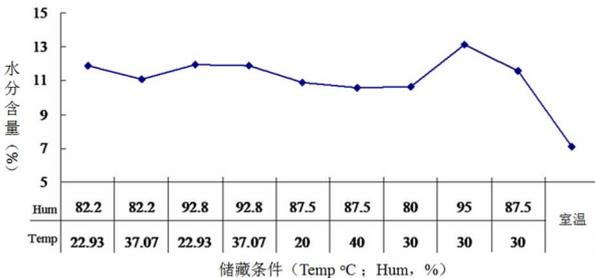


图 3 不同储藏环境中槟榔水分含量的变化

2.3 基质校正的回归方程 各黄曲霉毒素的浓度

与峰面积呈现良好的线性,回归方程及相关系数如下: AFB<sub>1</sub>:  $y = 0.00401x + 0.00385$ , 相关系数为 0.9932; AFB<sub>2</sub>:  $y = 0.00282x + 0.00307$ , 相关系数为 0.9980; AFG<sub>1</sub>:  $y = 0.00221x + 0.00154$ , 相关系数为 0.9971; AFG<sub>2</sub>:  $y = 0.000763x + 0.000585$ , 相关系数为 0.9971, 其中,  $y$ : 浓度 (ng · mL<sup>-1</sup>);  $x$ : 峰面积。

2.4 不同储藏环境下 *A. flavus* 菌株与总黄曲霉毒素的量间关系 将培养并收集的槟榔样品按“1.3.2”项下色谱和质谱条件对 AFs (AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub> 和 AFG<sub>2</sub>) 进行检测,依据建立的基质校正的回归方程计算不同条件下 AFs 的总量。以测得的黄曲霉毒素总量为 Response 值,绘制响应面曲线和等高线图,如图 4。结果可见,湿度对 *A. flavus* 菌株产生黄曲霉毒素的影响大于温度,当湿度范围为 90% ~ 95%,温度高于 25 °C 时, *A. flavus* 菌株在槟榔中生长较快并产生大量黄曲霉毒素。在相同湿度条件下,储藏温度越低,药材中黄曲霉毒素含量越低;而温度越高, *A. flavus* 菌株产生黄曲霉毒素所需的湿度条件越低。因此,我们建议槟榔药材的储存条件为湿度小于 90%,温度低于 25 °C。

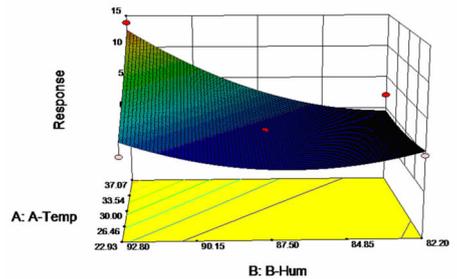


图 4 不同储藏环境的响应面曲线图和等高线图

### 3 小结

真菌毒素污染问题是中药储藏过程中一个亟需解决的问题,通过控制储藏环境条件来控制产毒菌的生长和产毒是一个高效易行的方法。本研究表明,槟榔中 *A. flavus* 菌株的生长和产毒受环境中的温度和湿度的双重影响,而湿度对 *A. flavus* 菌株生长产毒的影响较温度大。较低的温度和湿度可显著降低 AFs 的含量。本研究所用的响应面法是目前较为先进的实验设计及分析方法,实验测定及数据分析表明,应用该方法研究真菌产毒条件是科学可行的,为控制真菌毒素造成的中药材污染提供了一个新的思路。

#### 参考文献

[1] 牟肖男,杨文强,王文婧,等. 槟榔的化学成分[J]. 暨南大学学报: 自然科学与医学版, 2014, 35(1): 56-60.

- 2009,161(2):105-121.
- [25]王彦涵,张寿州,高建平,等.从叶绿体 DNA rbcL 序列分析探讨五味子科的系统发育[J].复旦学报:自然科学版,2003,42(4):550-554.
- [26]Smith A C. The families Illiciaceae and Schisandraceae[J]. Sargentia,1947,7:1-224.
- [27]Nakai T. Flora sylvatica koreana[M]. Japan: Forest Experimental Station,1933:89-127.
- [28]孙成仁.五味子科植物花粉形态及其系统学意义[J].植物分类学报,2000,38(5):437-445.
- [29]孙成仁.五味子科植物种子表面微形态及其系统学意义[J].植物分类学报,2002,40(2):97-109.
- [30]Saunders R M K. Monograph of Schisandra (Schisandraceae)[J]. Systematic Botany Monographs,2000,58:1-137.
- [31]林祁,杨志荣.五味子属(五味子科)分类系统的初步修订[J].植物研究,2007,27(1):6-15.
- [32]杨志荣,林祁,刘长江,等.五味子属种子形态及其分类学意义[J].云南植物研究,2002,24(5):627-637.
- [33]文香英,林祁,曾庆文,等.中国五味子属植物叶表皮研究[J].生命科学研究,2000,4(1):41-47.
- [34]Saunders R M K. Monograph of Kadsura (Schisandraceae)[J]. Systematic Botany Monographs,1998,54:1-106.
- [35]林祁.南五味子属(五味子科)一些种类的分类学订正[J].植物研究,2002,22(4):399-411.

(2015-06-29 收稿 责任编辑:洪志强)

(上接第 1132 页)

- [2]Lim DY, Kim IS. Arecoline inhibits catechuolamine release from perfused rat adrenal gland[J]. Acta Pharmacologica Sinica,2006,27:71-79.
- [3]中华本草(第八册)[M].上海:上海科学技术出版社,1994,23:439-446.
- [4]Chavan Y and Singhal RS. Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bioactives from arecanut (Areca catechuL.) and optimization study using response surface methodology[J]. Innov Food Sci and Emerg, 2013,17:106-113.
- [5]Bhandare AM, Kshirsagar AD, Vyawahare NS, et al. Potential analgesic, anti-inflammatory and antioxidant activities of hydroalcoholic extract of Areca catechu L. nut[J]. Food Chem Toxicol,2010,48:3412-3417.
- [6]国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S].北京:中国医药科技出版社,2010:342-343.
- [7]Huang PL, Chi CW, Liu TY. Effects of Areca catechuL. containing procyanidins on cyclooxygenase-2 expression in vitro and in vivo[J]. Food Chem Toxicol,2010,48:306-313.
- [8]郑锦星,李忠海,袁列江,等.槟榔生理效应研究进展[J].食品科技,2006,9:302-305.
- [9]刘峰良,赵志辉,谢晶.谷物中真菌毒素的研究进展[J].广东农业科学,2012,39(19):115-119.
- [10]蔡静平,黄淑霞,张晓云,等.仪器法快速检测储粮霉菌的可靠性研究[J].粮食储藏,2003,2(4):33-36.
- [11]李瑶瑶,杨相政,李喜宏.不同贮藏条件对槟榔品质的影响[J].中国果菜,2014,34(2):15-17.
- [12]Devreese M, De Baere S, De Backer P, et al. Quantitative determination of several toxicological important mycotoxins in pig plasma using multi-mycotoxin and analyte-specific high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric methods[J]. J Chromatogr B,2012,988:175-181.
- [13]李峻媛,万丽,杨美华.真菌毒素限量标准及其在中药中的研究进展[J].中草药,2011,42(3):602-609.
- [14]宫春波,姜连芳,张永翠.黄曲霉毒素在食品中的危害及去除方法[J].食品研究与开发,2004,25(1):120-123.
- [15]陈丽星.真菌毒素研究进展[J].河北工业科技,2006,23(2):124-126.
- [16]张雪辉.中药中黄曲霉毒素检测方法研究及模式识别在中药领域的应用[D].北京:中国协和医科大学,2004.
- [17]Yang MH, Chen JM, Zhang XH. Immunoaffinity column clean-up and liquid chromatography with post-column derivatization for analysis of aflatoxins in traditional Chinese medicine[J]. Chromatographia,2005,62(8-9):499-504.
- [18]Wen J, Kong WJ, Hu YC, 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.
- [19]刘书宇,仇峰,杨美华.免疫亲和柱净化-在线柱后光化学衍生 HPLC-FLD 检测莲子中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> 及其液质确证[J].中国中药杂志,2012,37(3):305-309.
- [20]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.
- [21]Mylona K, Sulyok M and Magan N. Relationship between environmental factors, dry matter loss and mycotoxin levels in stored wheat and maize infected with Fusarium species[J]. Food Addit Contam, 2012,29(7):1118-1128.
- [22]Khalesi M and Khatib N. The effects of different ecophysiological factors on ochratoxin A production[J]. Environ Toxicol and Phar, 2011,32:113-121.

(2015-06-29 收稿 责任编辑:洪志强)