# 不同产地牛大力、五指毛桃的黄曲霉毒素的含量测定

戴 洁 刘永和 孙志胜 朱丽丽 阳江市检测检验中心 广东阳江 529500

摘 要:目的:调查研究不同产地五指毛桃、牛大力中的黄曲霉毒素的含量差异,建立一套稳定可靠的研究方法。方法: 采用 HPLC 法五指毛桃、牛大力中黄曲霉素的含量。结果:来源不一样的五指毛桃、牛大力中黄曲霉毒素含量均未检出; 黄曲霉毒素的标准曲线线性相关系数为 0.999。结论:高效液相色谱方法准确可靠,可用于黄曲霉毒素的含量分析,对研究药食同源药材质量具有重要意义。

关键词: 五指毛桃; 牛大力; 黄曲霉毒素; 高效液相; 含量测定

牛大力作为广东常见药食同源中药材之一,常常用于各种美味汤肴,例如广东靓汤牛大力、五指毛桃、猪骨、红枣等食材煮成一锅靓汤。牛大力,作为历史悠久的中药材瑰宝,享有倒吊金钟、金钟根、九龙串珠等美誉,它源自蝶形花科植物——美丽崖豆藤(学名: Millettia nobilis Champ.)精心炮制的根部干品。此药材以其温和甘美的性味著称,自古以来便因其健脾养胃、强骨增力的显著效果,在民众间赢得了药食同源之宝的崇高地位。在广东民间,智慧的人们独具匠心,将牛大力与土茯苓、红小豆等天然食材巧妙配伍,或精心熬煮成粥,或慢火煲制成汤 [1-2]。

五指毛桃亦是广东地区家喻户晓的常用药材及药食同源植物,其原植物为桑科粗叶榕 Ficus hirta Vahl. 的根,分布主要以亚洲的温带与亚热带区域为主 <sup>[3]</sup>。五指毛桃,别名南芪、五爪龙、五指牛奶 <sup>[4]</sup>,鉴于其卓越的治疗效果足以与珍贵的人参相比,在岭南地域赢得了"广东人参"的美誉,这一称谓更加凸显了其独特的地位。其药性温和,口感甘甜,主要作用于人体的脾、肺、胃、大肠及肝等多个脏腑经络,展现出了增强脾胃功能、促进痰液排出、舒缓筋骨不适及促进体内湿气排出的综合药效。临床上常被医师选用,以缓解因脾虚气虚所致的浮肿现象、改善食欲不佳的状况、减轻夜间盗汗的困扰,同时对于长期肺虚咳嗽、风湿引起的疼痛不适、体内水分潴留问题、肝胆区域的湿热症状,以及因跌打造成的身体损伤等,均展现出了显著的治疗效果 <sup>[5-7]</sup>。

药食同源的中药,应当更加注重其质量安全性。黄曲霉毒素家族展现出一系列化学结构上的高度相似性,它们作为二氢呋喃香豆素类化合物的衍生物,在自然界中占据独特地位。这些毒素,作为微生物次级代谢的产物,其毒性之强令人瞩目,它们源自黄曲霉及寄生曲霉的复杂代谢过程,常常悄无声息地潜伏在温暖潮湿环境中的食品与药用植物之中,其存在往往被大众所忽视。它们的分布范围广泛,不

仅渗透于土壤的每一个角落,还深藏于动植物体内,甚至我 们日常饮食中的坚果类食品也难以幸免, 尤其是那些我们频 繁摄入的粮油作物,如花生、玉米、稻米、大豆及小麦等, 都成为了它们藏匿的温床。这些毒素在霉菌毒素家族中以其 高毒性和对人类健康的严重威胁而著称。因此,当我们深入 剖析黄曲霉毒素的分布特性及其潜在的健康风险时, 不难发 现,加强对其的防控措施,是确保食品安全、维护公众健 康不可或缺的一环。这一任务不仅要求我们在生产、加工、 储存等各个环节中严格把关,还需要提升公众对于黄曲霉毒 素危害的认识[8-12]。中国傲立于世界之巅,不仅是中药材生 产与消费的巨擘,更是全球中药材出口与销售市场的核心力 量。在国家中医药"十四五"规划这一宏伟蓝图的引领下, 中国中医药事业正以前所未有的蓬勃态势迅猛发展,其影响 力跨越国界,中药材远销至东南亚、日本、美国等遍布全球 的一百七十多个国家和地区, 赢得了国际社会的广泛认可与 重视。

随着中药材疗效在全球范围内的日益明确和广泛认可, 其安全性问题也逐渐成为了公众关注的焦点。其中,真菌毒 素作为一类潜在的外源性有害物质,悄然威胁着中药材的品 质与安全,成为不容忽视的挑战。近年来,对中药材中真菌 毒素的精准测定技术日益精进,体现了行业内外对于提升中 药材安全标准的坚定决心与不懈努力。

然而,值得注意的是,尽管进步显著,但现行监管体系中仍存在不容忽视的短板。特别是针对那些兼具食品与药品双重属性的中药材,即"药食同源"类药材,其真菌毒素检测项目的要求尚不普遍,存在监管盲区。尤为关键的是,黄曲霉毒素作为一类对人类健康构成严重威胁的霉菌毒素,其检测与防控的紧迫性尤为突出。这类毒素的潜在危害,不仅可能削弱中药材的疗效,更可能直接危害消费者的生命健康,因此,构建更为严格、全面的中药饮片质量安全管理体系势在必行。

ISSN: 2705-1366 (Online); 2737-4300 (Print)

为确保中药材行业的持续健康发展,保障国内外消费者的用药安全,人们亟需填补现有监管漏洞,将真菌毒素检测,特别是黄曲霉毒素的检测,纳入所有中药材,特别是药食同源类药材的强制性检测范畴,以科技为支撑,以法律为准绳,全方位、多角度地提升中药材的质量安全水平,让中医药这一瑰宝在传承与创新中绽放更加璀璨的光芒。

# 1 材料与方法

标准依据是《中国药典》2020 年版四部通则2351 真菌毒素测定法:第一法液相色谱法。

试验材料有牛大力,采购于湛江,批号是3579333; 采购于广西,批号是GX211001;采购于茂名,批号是20190605;五指毛桃,采购于梅州,批号是20211124; 20211028;20210625;试剂有乙腈,色谱级;甲醇,色谱级。

仪器设备是 Agilent 1260 高效液相色谱仪、AB204-N型电子天平。

对照品:

黄曲霉毒素 B1	农业部环境保护 科研监测所	批号: SB05-195-2008 2 μ g/ml
		2 p g/ III1
黄曲霉毒素 B2	农业部环境保护	批号: SB05-196-2008
	科研监测所	2 μ g/ml
黄曲霉毒素 G1	农业部环境保护	批号: SB05-197-2008
典曲每母系 UI	科研监测所	2μg/ml
黄曲霉毒素 G2	农业部环境保护	批号: SB05-198-2008
	科研监测所	2μg/ml

黄曲霉毒素(AFT)的混合对照品溶液的制备,采用移液管精确移取 AFT 混合对照品溶液(B1、B2、G1 和 G2 标示浓度均为 2µg/ml)1.0ml,放置于 20ml 量瓶中,用甲醇定容到刻度线,作为贮备溶液。分别精密配制浓度为 2ng/ml、4ng/ml、6ng/ml、8ng/ml、10ng/ml 混合对照品溶液,即为混合对照品溶液。

供试品溶液的制备参照《中国药典》2020版,四部通则2351真菌毒素测定法,黄曲霉毒素测定第一法,液相色谱法,供试品溶液制备方法制备。测定以对照品溶液为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。测定样品峰面积,从标准曲线上读出供试品中AFT的含量计算即得。

# 2 实验步骤与结果分析

色谱条件与系统适用性试验:以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以甲醇:乙腈(40:18)为流动相 A,水为流动相 B,流动相 A:流动相 B(48:52),采用柱后衍生法检测,光化学衍生法:光化学衍生器(254nm);以荧光检测器检测,激发波长=360nm(或365nm),发射波长=450nm。两个相邻色谱峰的分离度应大于1.5。结果黄曲霉毒素 B1、黄曲霉毒素 B2、黄曲霉毒素 G1 和黄曲霉毒素 G2 相邻色谱峰的分离度均大于1.5,符合要求。

线性关系: 经计算回归方程为黄曲霉毒素 G2: Y=0.962X -0.038, r=0.999 (n=6); 黄曲霉毒素 G1: Y=0.128X-0.019, r=0.999(n=6); 黄曲霉毒素 B2: Y=1.196X -0.031, r=0.999(n=6);

黄曲霉毒素 B1: Y=0. 436X-0. 051, r=0. 999 (n=6)。结果表明 样品量在  $0 \sim 10$ ng/ml 范围内与峰面积比 (F) 呈良好的线性关系,可满足测定要求。

样品检测结果:通过精密吸取供试品溶液注入液相色谱仪,结果见表 1。表一中显示所有采购的样品均未检出黄曲霉毒素。

表1样品结果

产地	批号	取样量 (g)	含量
牛大力(湛江)	3579333	15. 2118	未检出
十八八(佐江)	337 3333	15. 2014	/八型 山
牛大力 (广西)	GX211001	15. 2931	未检出
	0.7211001	15. 1149	/K1 <u>W</u> LLI
牛大力 (茂名)	20190605	15. 1833	未检出
	20130003	15. 2419	>1>.1\times 1111
五指毛桃(梅州)	20211124	15. 1713	未检出
五11日。日466 (449)日)	20211124	15. 3017	/K/W III
五指毛桃(梅州)	20211028	15. 1266	未检出
77.14 CAS (48) (17	20211020	15. 2311	714777 111
五指毛桃(梅州)	20210625	15. 0969	未检出
	20210020	15. 2495	>18-15-2 LT

### 3 讨论

在近期的一次专项检测中,针对三批次牛大力与三批 次五指毛桃进行了详尽的筛查,结果显示这些样本均未检测 出黄曲霉毒素的污染。然而, 值得注意的是, 此次检测仅是 基于市场上随机抽取的部分中药材样品,其范围虽具代表 性,但并不能全面覆盖所有药食同源的中药材品种。鉴于 药食同源中药材的广泛多样性和市场流通的复杂性, 完全实 现每一种药材的逐一检测在现实中存在巨大挑战。因此,我 们必须认识到,单次或少数批次的检测结果虽具参考价值, 但不应被视作全面反映市场状况的绝对依据。为了确保公众 健康与安全,监管部门承担着不可推卸的责任。他们应当加 强对中药材市场的日常监管与不定期抽检,运用先进的检测 技术和科学的管理手段,提高检测的覆盖面和准确性。同时, 建立健全中药材质量追溯体系,从源头上把控药材质量,防 止不合格产品流入市场。此外,加强行业自律与公众教育也 是至关重要的。中药材生产、加工、销售等各环节的企业和 个人应自觉遵守相关法律法规,确保产品质量安全。同时, 通过媒体宣传、科普讲座等方式,提高消费者对中药材质量 安全的认知度和自我保护能力,共同营造一个健康、安全、 有序的中药材市场环境。

通过采用高效液相色谱,采用柱后衍生法,光化学衍

生法检测,方法简便可靠,但操作步骤繁琐,例如在"精密量取上清液 20ml,通过免疫亲合柱,流速每分钟 3ml"这个步骤就要准确移液还要控制过柱流速,由于目前免疫亲合柱体积小,20ml上清液需要多次精密移取;过滤的速度需要控制好,约 3ml/min,过滤过快导致柱子无法完全富集,影响实验结果准确性。

黄曲霉毒素测定根据中国药典方法有三种,采用高效 液相色谱法、液质联用法和酶联免疫法,其中高效液相色谱 法与液质联用法两种检测方法,前期研究时,有进行对比。 因供试品制备方法一样的,考虑到使用成本与及仪器使用 频率,所以选择高效液相色谱法。其操作简单,使用方便, 通用性更强。

实验过程中发现流动相比例不适用本实验室,因此对流动相比例进行调整。通过调整流动相比例,发现四个峰分离度增大了。实验仪器、使用色谱柱与实验用的试剂等诸多方面影响,所以并不是所有流动相都通用,因此根据实际情况进行考察及调整。

中药饮片若未能得到及时的晾晒处理,或是储存条件 失当,比如被置于潮湿阴暗的环境中,加之开封后未能妥善 密封保存,便极易成为黄曲霉与寄生曲霉等有害微生物的温 床,进而滋生并累积这些毒素。黄曲霉毒素,以其极强的毒 性著称,其危害程度远超一般有机农药,被世界卫生组织明 确归类为一级致癌物质,对人体健康构成严重威胁。

长期过量摄入含有黄曲霉毒素的中药材,首要且直接受到侵害的便是人体的肝脏系统。这种毒素以一种极具破坏力的方式渗透进肝脏组织,悄然侵蚀着每一个肝细胞,促使它们发生脂肪变性,这一过程若持续加剧,最终可能导向肝癌,严重威胁到个体的生命基石。尤为令人担忧的是,当黄曲霉毒素的摄入量达到危险水平,引发急性中毒反应时,其影响范围将远远超出肝脏本身,脾脏、胰腺乃至其他多个重要脏器也会遭受波及,受到不同程度的伤害,其连锁反应之剧烈,后果之严重,实难估量,对人体健康构成全面而深重的威胁。

而长期低剂量地暴露于这种毒素之下,亦会造成慢性 中毒,表现为肝硬化等慢性疾病,逐渐侵蚀着人体的健康基 石。因此,对于任何疑似发生霉变的食物或中药饮片,都应 秉持着高度的警惕与责任感,坚决予以丢弃,切勿因一时疏 忽或侥幸心理,让这无形的杀手有机可乘,危害到自身及家 人的健康安全。

#### 4 结语

综上所述,本研究通过高效液相色谱法对来自不同产 地的五指毛桃和牛大力中的黄曲霉毒素含量进行了系统测 定,结果显示所有样品均未检出黄曲霉毒素,表明所采用 的检测方法准确可靠,适用于中药材中黄曲霉毒素的含量分 析。然而,这并不能代表所有药食同源中药材均未受到黄 曲霉毒素的污染,因此监管部门仍需加强对市场上中药材的 严格把控,确保中药材的质量安全。同时,中药材的储存和 加工过程也应得到足够重视,以避免因不当处理而导致的 黄曲霉毒素污染。鉴于黄曲霉毒素对人体健康的严重威胁, 应高度警惕任何疑似发生霉变的食物或中药饮片,坚决避免 其进入市场或用于临床,以保障公众的健康安全。

#### 参考文献:

- [1] 陈晨, 刘平怀, 罗宁, 等. 牛大力食用研究概况 [J]. 食品研究与开发, 2016, 37(14):168-172.
- [2] 赵震宇, 刘平怀, 马莎莎, 等. 药食同源植物牛大力的研究进展[J]. 食品科学, 2017, 38(9):293-306.
- [3] 马骥, 张宏伟. 岭南本草集锦 [M]. 北京: 科学出版社, 2010.
- [4] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区瑶药材质量标准(第一卷)[Z]. 2013.
- [5] 谭方明,朱梅,吴晓松,等.岭南道地药材五指毛桃的质量标准研究.医药导报,2018,37(S1):63-66
- [6] 陈予君,任春明,张小勇,等.高效液相色谱法测定粮食中真菌毒素的效果评价[J].粮食与食品工业,2022,29(02):62-67+72.
- [7] 郑润生,徐晖,彭苑霞,等.稀释法结合 LC-MS/MS 检测在 10 种中药材污染黄曲霉毒素高通量筛查中的应用研究 [J].中国中药杂志,2014,39(02):273-277.

# 作者简介:

戴洁(1988.10-)女,汉族,广东省阳江市人,硕士, 主管中药师,研究方向:药品质量安全研究