

研究报告

广陈皮外源真菌的组成及产毒真菌分析

陈旭玉¹, 刘小敏¹, 赵祥升¹, 杨美华^{*1,2}

- 1 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所海南分所 海南省南药资源保护与开发重点实验室, 海口 570311
- 2 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所 中草药物质基础与资源利用教育部重点实验室 濒危药材繁育国家工程实验室, 北京 100193

陈旭玉, 刘小敏, 赵祥升, 杨美华. 广陈皮外源真菌的组成及产毒真菌分析[J]. 微生物学通报, 2022, 49(3): 1076-1083

Chen Xuyu, Liu Xiaomin, Zhao Xiangsheng, Yang Meihua. Toxin-producing fungi and exogenous fungi on *Citri reticulatae pericarpium*[J]. Microbiology China, 2022, 49(3): 1076-1083

摘要:【背景】广陈皮为药食同源中药材, 在高温、高湿且贮存不当的条件下容易发霉, 从而产生毒素, 严重威胁陈皮的质量安全。【目的】分析广陈皮表面外源真菌的组成及其产生毒素的真菌。【方法】采用平板稀释法分离广陈皮表面外源真菌, 利用分生孢子形态特征及 DNA 序列分析进行真菌鉴定, 采用高效液相色谱-三重串联四极杆质谱联用技术对青霉属和曲霉属进行产毒检测。【结果】从广陈皮表面分离外源真菌共 132 株, 鉴定为子囊菌亚门(*Ascomycota*, 98.48%)和毛霉菌亚门(*Mucoromycota*, 1.52%), 包括散囊菌纲(*Eurotiomycetes*, 95.45%)、座囊菌纲(*Dothideomycetes*, 3.03%)和毛霉纲(*Mucoromycetes*, 1.52%)。分离活动曲霉属(*Aspergillus* spp.)菌株共 77 株, 为广陈皮药材外源真菌的优势菌, 青霉属(*Penicillium* spp.)次之。毒素检测筛选出 1 株产毒真菌, 鉴定为黄曲霉(*Aspergillus flavus*) JXCP1-3。该菌株产生黄曲霉毒素 B₁ (aflatoxin B₁, AFB₁), 浓度为 1.52 ng/mL。【结论】全面分析广陈皮表面的外源真菌及产毒真菌, 为广陈皮表面产毒真菌的防控提供依据。

关键词: 广陈皮; 外源真菌; 黄曲霉; 黄曲霉毒素

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程重大协同创新项目(2017-I2M-1-013)

Supported by: Major Collaborative Innovation of Medical and Health Science and Technology Innovation Project of Chinese Academy of Medical Sciences (2017-I2M-1-013)

***Corresponding author:** E-mail: yangmeihua15@hotmail.com

Received: 2021-07-23; **Accepted:** 2021-09-13; **Published online:** 2021-10-18

Toxin-producing fungi and exogenous fungi on *Citri reticulatae pericarpium*

CHEN Xuyu¹, LIU Xiaomin¹, ZHAO Xiangsheng¹, YANG Meihua^{*1,2}

¹ Hainan Provincial Key Laboratory of Resources Conservation and Development of Southern Medicine, Hainan Branch of the Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Haikou 570311, Hainan, China

² National Engineering Laboratory for Breeding of Endangered Medicinal Materials, Key Laboratory of Bioactive Substances and Resources Utilization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

Abstract: [Background] *Citri reticulatae pericarpium* is a widely used Chinese medicinal material with both medical and edible values. The growing of fungi and the production of mycotoxins by fungi during storage at proper humidity and temperature pose a threat to the quality and safety of *Citri reticulatae pericarpium*. [Objective] In order to analyze the composition of exogenous fungi and the toxin-producing fungi on *Citri reticulatae pericarpium*. [Methods] The exogenous fungi were isolated by plate dilution method and identified based on the morphological characteristics and sequence analysis. The toxin-producing fungi were detected by ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem quadrupole mass spectrometry (UPLC-MS/MS). [Results] A total of 132 strains of exogenous fungi were isolated from *Citri reticulatae pericarpium*. They were identified to belong to *Ascomycota* (98.48%) and *Mucoromycota* (1.52%), including *Eurotiomycetes* (95.45%), *Dothideomycetes* (3.03%) and *Mucoromycetes* (1.52%). Seventy-seven strains belonged to *Aspergillus* spp., which was dominant on *Citri reticulatae pericarpium*, followed by *Penicillium* spp. The strains of *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. were detected by UPLC-MS/MS. One strain of toxin-producing fungi was screened out and identified as *A. flavus* JXCP1-3, which can produce 1.52 ng/mL aflatoxin B₁. [Conclusion] We comprehensively analyzed the exogenous fungi and toxin-producing fungi on the surface of *Citri reticulatae pericarpium*, which provided a basis for the prevention and control of the toxin-producing fungi.

Keywords: *Citri reticulatae pericarpium*; exogenous fungi; *Aspergillus flavus*; aflatoxins

陈皮为芸香科植物橘(*Citrus reticulata blanco*)及其栽培变种的干燥成熟果皮^[1], 具有理气健脾、燥湿化痰之功效^[2]。2010 版《中国药典》^[2]—部规定陈皮、胖大海和桃仁等中药材需检测黄曲霉毒素, 其中黄曲霉毒素 B₁ (aflatoxin B₁, AFB₁)的限量为 5 μg/kg, 黄曲霉毒素(B₁、B₂、G₁、G₂)总限量为 10 μg/kg^[3]。李延生等^[4]用酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒定量检测

到陈皮中含有黄曲霉毒素 B₁, 含量为 106 ng/g。郑荣等^[5]报道陈皮保存不当极易出现黄曲霉毒素, 在检测的 107 份陈皮中有 36.45%检测到黄曲霉毒素。由此可知, 部分陈皮存在真菌毒素的污染, 因此分析陈皮中外源污染真菌及产生毒素的真菌, 对防控陈皮遭受外源真菌污染非常重要。

黄曲霉毒素(aflatoxin)被世界卫生组织(World Health Organization, WHO)癌症研究机

构划定为 I 型致癌物^[6]，主要由黄曲霉 (*Aspergillus flavus*) 及寄生曲霉 (*Aspergillus parasiticus*) 产生，是一种毒性极强的真菌次级代谢产物^[7-8]，常引起肝毒性、肾毒性、致癌等毒性，黄曲霉毒素一旦被污染很难通过物理或者化学手段去除，直接威胁到消费者的生命健康^[9-10]。陈皮为常用中药材，在储存过程中易发霉，因此有必要分析陈皮外源污染真菌的种类及产毒真菌。目前陈皮药材上的主要污染真菌组成及产毒素真菌尚不清楚，本研究通过分离鉴定陈皮中药材上的外源真菌的组成及产生毒素真菌，以期建立广陈皮真菌毒素污染的防治提供依据和借鉴。

1 材料与方法

1.1 供试样品

陈皮药材收集于河北安国中药材专业市场、广西玉林中药材市场、江西樟树中药材市场、甘肃陇西中药材市场、重庆市解放路中药材市场和云南昆明菊花园中药材市场，由中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所海南分所朱平研究员定为广陈皮，为茶枝柑的干燥果皮。

1.2 主要试剂和仪器及培养基

2×PCR Master Mix、DL2000 DNA Marker 和核酸染料，北京全式金生物技术股份有限公司。OMEGA Fungal DNA Kit，上海索莱宝生物科技有限公司；PCR 仪、凝胶成像仪，Bio-Rad 公司；光学显微镜，Nikon 公司；高效液相色谱-三重串联四极杆质谱，Waters 公司；多功能净化柱，青岛普瑞邦生物工程有限公司。

麦芽培养基(malt extract agar, MEA) (g/L): 麦芽粉 20.0, 葡萄糖 20.0, 蛋白胨 1.0, 琼脂粉 17.0。

1.3 陈皮表面外源真菌的分离和纯化

采用平板稀释分离法对陈皮表面外源真菌进行分离，采用单孢纯化分离法对青霉属和曲霉属进行纯化，其他属从边缘挑取菌丝进行纯化。将纯化后的菌株在 4 °C 和 -70 °C 保存^[11]。

1.4 外源真菌的鉴定

将纯化的菌株在 MEA 培养基上 25 °C 培养 7 d，收集真菌菌丝，采用 OMEGA Fungal DNA Kit 进行总 DNA 提取，青霉属和曲霉属真菌采用 β -tubulin 引物(Bt2a 和 Bt2b)扩增(表 1)。PCR 反应体系(25 μ L): DNA 模板(10 μ mol/L) 1 μ L, 2×PCR Master Mix 12.5 μ L, 正、反向引物(10 μ mol/L)各 1 μ L, ddH₂O 9.5 μ L。PCR 反应条件: 94 °C 5 min; 94 °C 40 s, 55 °C 40 s, 72 °C 1min, 35 个循环; 72 °C 10 min。其他真菌采用 rDNA ITS 引物(ITS1 和 ITS4)进行 PCR 扩增(表 1)，PCR 反应体系(25 μ L): DNA 模板(10 μ mol/L) 1 μ L, 2×PCR Master Mix 12.5 μ L, 正、反向引物(10 μ mol/L)各 1 μ L, ddH₂O 9.5 μ L。PCR 反应条件: 94 °C 5min; 94 °C 1 min, 50 °C 1 min, 72 °C 1 min, 30 个循环; 72 °C 7 min。所获得的 PCR 产物由生工生物工程(上海)股份有限公司测序，获得的序列通过 NCBI BLAST 软件与 GenBank 核酸数据(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>)进行 BLAST 比对^[12]。

1.5 产毒真菌菌株检测

将真菌菌丝于 MEA 液体培养基中 25 °C、120 r/min 培养 7 d，其菌液采用多功能净化柱处理，然后通过 0.22 μ m 的滤膜，最后进样。

表 1 PCR 引物信息

Table 1 Information of the primers used for PCR

引物名称	引物序列
Primer name	Primer sequence (5'→3')
Bt2a	GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC
Bt2b	ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC
ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC

UPLC-MS/MS 条件: 色谱柱: BEH C18 (100 mm×2.1 mm×1.7 μm), 柱温: 35 °C; 流动相: 2 mmol/L 乙酸铵水溶液(A)-甲醇(B, 含 0.1%甲酸), 梯度洗脱: 0 min: 25% B; 2 min: 45% B; 10 min: 90% B; 12 min: 90% B; 12.1 min: 25% B, 流速 0.3 mL/min, 进样量 2 μL。质谱条件: 离子源为电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI), 正离子模式, 多反应离子监测(multiple reaction monitoring, MRM)扫描, 毛细管电压 2.5 kV; 离子源温度 150 °C; 去溶剂温度 350 °C, 目标物的质谱条件具体参见文献[12-13]。

2 结果与分析

2.1 广陈皮外源污染真菌的组成

从甘肃陇西中药材市场购买的广陈皮分离到 27 株外源真菌, 其中黄曲霉 2 株、塔宾曲霉(*A. tubingensis*) 5 株、橘青霉(*P. citrinum*) 6 株、篮状菌属(*Talaromyces purpureogenus*)真菌 10 株和枝孢霉属(*Cladosporium* sp.)真菌 4 株。重庆中药材市场购买的广陈皮分离了 33 株外源真菌, 其中棘孢曲霉(*A. aculeatus*) 5 株, 塔宾曲霉 20 株、烟曲霉(*A. fumigatus*) 7 株、青霉属 1 株, 以塔宾曲霉为优势菌。江西樟树中药材市场购买广陈皮共分离了 29 株真菌, 其中黄曲霉 8 株、烟曲霉 4 株、棘孢曲霉 5 株、橘青霉 12 株, 以橘青霉为优势菌。广西玉林中药材市场购买的广陈皮共分离了 27 株真菌, 其中寄生曲霉(*A. parasiticus*) 6 株、杂色曲霉(*A. versicolor*) 4 株, 青霉属 13 株、篮状菌属(*Talaromyces* sp.) 2 株和 *T. funiculosus* 2 株, 以青霉属真菌为优势菌。云南中药材市场购买的广陈皮分离了 10 株真菌, 其中黄曲霉 5 株、棘孢曲霉 2 株和篮状菌属 3 株。从河北安国中药材专业市场购买的广陈皮分离了 6 株外源真

菌, 其中黄曲霉 2 株、塔宾曲霉 1 株、棘孢曲霉 1 株和根霉(*Rhizopus microsporus*) 2 株(表 2)。说明不同地区收集的广陈皮表面污染真菌数量及种类存在差异, 其优势种群有差别。

在 6 个地区广陈皮的表面共获得 132 株外源真菌, 主要由子囊菌亚门(*Ascomycota*, 98.48%)和毛霉菌亚门(*Mucoromycota*, 1.52%)组成, 子囊菌亚门为陈皮外源真菌的优势菌。132 株外源真菌共鉴定为 3 个纲, 包括散囊菌纲(*Eurotiomycetes*, 95.45%)、座囊菌纲(*Dothideomycetes*, 3.03%)和毛霉纲(*Mucoromycetes*, 1.52%)。所有菌株共鉴定为 5 个属, 包括曲霉属(*Aspergillus* spp.)、青霉属(*Penicillium* spp.)、篮状菌属(*Talaromyces* spp.)、枝孢霉属(*Cladosporium* spp.)和根霉属(*Rhizopus* spp.)。曲霉属共 77 株, 青霉属 32 株, 篮状菌属 17 株, 枝孢霉属 4 株, 根霉属 2 株, 说明曲霉属为广陈皮外源真菌的优势种群, 青霉属次之。

广陈皮分离的 77 株曲霉属中, 塔宾曲霉 26 株, 黄曲霉 17 株, 棘孢曲霉 13 株, 烟曲霉 11 株, 寄生曲霉 6 株, 杂色曲霉 4 株, 说明曲霉属中主要是以塔宾曲霉为主。广陈皮表面分离的 32 株青霉属中, 橘青霉 18 株, 未鉴定到种的青霉菌 14 株, 青霉属以橘青霉为主(表 2)。

2.2 产毒真菌的检测

将塔宾曲霉、黄曲霉、棘孢曲霉、烟曲霉、寄生曲霉、杂色曲霉、橘青霉和其他青霉菌真菌进行毒素的测定, 发现其中 1 株黄曲霉 JXCP1-3 产生毒素, 其他菌株均未检测到毒素的产生。图 1A 为 UPLC-MS/MS 检测到黄曲霉毒素标准品的 AFB₁、AFB₂、AFG₁ 和 AFG₂ 峰图。黄曲霉 JXCP1-3 主要产生黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁), 未检测到黄曲霉毒素 AFB₂、AFG₁ 和 AFG₂ (图 1B)。

表2 广陈皮外源污染真菌的分离和鉴定

Table 2 Isolation and identification of exogenous fungi from *Citri reticulatae pericarpium*

地区 Region	门 Phylum	真菌种类 Species	株数 Strains	曲霉属 <i>Aspergillus</i>	青霉属 <i>Penicillium</i>	篮状菌属 <i>Talaromyces</i>	枝孢霉属 <i>Cladosporium</i>	根霉属 <i>Rhizopus</i>	合计 Total
甘肃 Gansu, China	<i>Ascomycota</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	2	√					27
	<i>Ascomycota</i>	<i>Aspergillus tubingensis</i>	5	√					
	<i>Ascomycota</i>	<i>Penicillium citrinum</i>	6		√				
	<i>Ascomycota</i>	<i>Talaromyces purpureogenus</i>	10			√			
	<i>Ascomycota</i>	<i>Cladosporium</i>	4				√		
重庆 Chongqing, China	<i>Ascomycota</i>	<i>Aspergillus aculeatus</i>	5	√					33
	<i>Ascomycota</i>	<i>Aspergillus tubingensis</i>	20	√					
	<i>Ascomycota</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	7	√					
	<i>Ascomycota</i>	<i>Penicillium</i>	1		√				
江西 Jiangxi, China	<i>Ascomycota</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	8	√					29
	<i>Ascomycota</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	4	√					
	<i>Ascomycota</i>	<i>Aspergillus aculeatus</i>	5	√					
	<i>Ascomycota</i>	<i>Penicillium citrinum</i>	12		√				
	<i>Ascomycota</i>	<i>Aspergillus parasiticus</i>	6	√					
广西 Guangxi, China	<i>Ascomycota</i>	<i>Aspergillus versicolor</i>	4	√					27
	<i>Ascomycota</i>	<i>Penicillium</i>	13		√				
	<i>Ascomycota</i>	<i>Talaromyces</i>	2			√			
	<i>Ascomycota</i>	<i>Talaromyces funiculosus</i>	2			√			
	<i>Ascomycota</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	5	√					
云南 Yunnan, China	<i>Ascomycota</i>	<i>Aspergillus aculeatus</i>	2	√					10
	<i>Ascomycota</i>	<i>Talaromyces</i> sp.	3			√			
	<i>Ascomycota</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	5	√					
河北 Hebei, China	<i>Ascomycota</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	2	√					6
	<i>Ascomycota</i>	<i>Aspergillus tubingensis</i>	1	√					
	<i>Ascomycota</i>	<i>Aspergillus aculeatus</i>	1	√					
	<i>Mucoromycota</i>	<i>Rhizopus microsporus</i>	2					√	
合计 Total				77	32	17	4	2	132

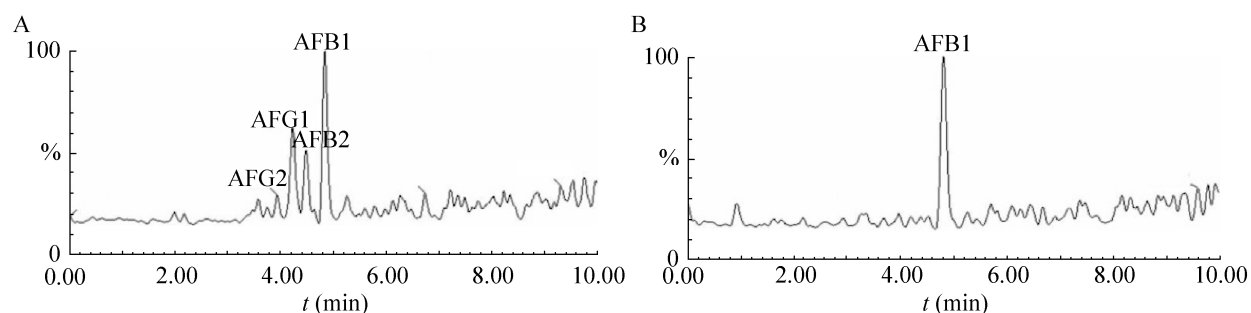


图1 标准品及黄曲霉 UPLC-MS/MS MRM 色谱图 A: 标准品 AFB₁、AFB₂、AFG₁ 和 AFG₂ 的 MRM 色谱图; B: 黄曲霉 JXCP1-3 产生黄曲霉毒素 B₁ 的 MRM 色谱图

Figure 1 UPLC-MS/MS MRM chromatogram of standard concentration and *Aspergillus flavus*. A: MRM chromatogram of AFB₁, AFB₂, AFG₁ and AFG₂ standard concentration; B: MRM chromatogram of AFB₁ of *A. flavus* JXCP1-3.

2.3 黄曲霉毒素含量的测定

真菌在 MEA 液体培养基培养 7 d 后, 收集产生毒素真菌的菌液, 经过多功能净化柱处理后, 通过 0.22 μm 的有机滤膜进样。检测结果表明, 黄曲霉 JXCP1-3 产生黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁), 浓度为 1.52 ng/mL, 未检测到 AFB₂、AFG₁ 和 AFG₂。说明此次收集的广陈皮样品从表面分离的外源真菌会产生黄曲霉毒素 B₁。

3 讨论与结论

从广陈皮表面分离的外源真菌中, 门水平上, 子囊菌亚门为广陈皮的优势菌。属水平上, 曲霉属为广陈皮外源真菌的优势种群, 青霉属次之。陈旭玉等^[12]从药材党参中分离外源真菌, 党参药材外源菌以曲霉属为主, 青霉属次之, 说明广陈皮和党参分离的外源真菌的优势种群主要以曲霉属为主, 青霉属次之。蔡飞^[11]分析甘草样品中的外源污染菌发现, 曲霉、青霉是霉变甘草的主要污染菌。说明曲霉属和青霉属常为中药材外源真菌的主要类群。Guo 等^[14]通过高通量测序分析酸枣仁中的外源菌, 门水平上, 子囊菌亚门为酸枣仁的优势菌, 属水平上曲霉属为优势属。Jiang 等^[15]通过高通量测序

分析检测肉豆蔻外源污染菌, 曲霉属为肉豆蔻外源菌的优势属。由此可知, 稀释分离法和高通量测序分析检测的中药材外源污染菌, 曲霉属为中药材外源菌的优势种群。

广陈皮中检测到的曲霉属包括黄曲霉、塔宾曲霉、棘孢曲霉、寄生曲霉、杂色曲霉和烟曲霉。黄曲霉、寄生曲霉是曲霉属中产生黄曲霉毒素的常见真菌, 其产生的黄曲霉毒素及其衍生物有 20 多种, 其中在自然界分布最广的是黄曲霉毒素 AFB₁、AFB₂、AFG₁ 和 AFG₂ 等 4 种。文中分离的 77 株曲霉属中, 6 株寄生曲霉和其他属曲霉均未检测到毒素, 17 株黄曲霉中, 有 1 株产生黄曲霉毒素 AFB₁, 而 AFB₂、AFG₁ 和 AFG₂ 均未检测到。说明不是所有的曲霉属都产生毒素, 不是所有的黄曲霉和寄生曲霉都会产生毒素。从江西樟树中药材市场收集的广陈皮表面检测到产生毒素的黄曲霉, 其他地区收集的广陈皮表面分离的真菌未检测到产生毒素的真菌, 说明不同贮藏条件下的广陈皮表面的真菌是否产生毒素及其产生毒素的类型是不同的。黄曲霉是一种常见的腐生菌, 潮湿或者储存不当易发生霉变, 建议尽量贮存于干燥处, 避免外源真菌的污染而发生霉变, 影响

广陈皮的质量。

陈皮中检测黄曲霉毒素的方法主要有免疫亲和柱高效液相色谱法、酶联免疫吸附法和高效液相色谱柱后衍生法等。如杨畅等^[16]采用免疫亲和柱高效液相色谱法检测到陈皮、大枣等果皮、果实上存在低水平的类黄曲霉毒素污染。王帆等^[17]采用免疫亲和柱高效液相色谱法测定 23 个不同来源的陈皮中的黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁ 和 G₂ 的含量, 结果从陈皮中检测到黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁ 和 G₂ 的含量分别在 0–6.20、0–3.34、0–54.80 和 0–20.13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间。李延生等^[4]采用酶联免疫吸附法检测中药材和中成药的黄曲霉毒素 B₁, 含量为 106 ng/g。王娅玲等^[18]采用高效液相色谱柱后衍生法测定陈皮等 4 种中药材的黄曲霉中的黄曲霉毒素, 陈皮检出率为 15%, 陈皮中主要检出的是黄曲霉毒素 G₁。李友平等^[19]采用柱后光化学衍生-HPLC 法检测药材中黄曲霉毒素, 其中陈皮中检测到黄曲霉毒素 G₂ 含量为 1.01 ng/g。可见用多种方法均能在陈皮中检测到黄曲霉毒素。陈皮中存在不同程度的污染, 主要污染物为黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁ 和 G₂。但关于哪种类型真菌产生黄曲霉毒素未见报道, 本文采用高效液相色谱-三重串联四极杆质谱联用技术检测广陈皮表面真菌的代谢物, 发现一株黄曲霉产生黄曲霉毒素 B₁, 说明此次检测的广陈皮存在黄曲霉毒素 B₁ 污染的风险, 未检测到黄曲霉毒素 B₂、G₁ 和 G₂, 说明此次检测的样品中不存在或未分离到产生黄曲霉毒素 B₂、G₁ 和 G₂ 的菌株。

近年来随着人们对中药使用量的不断增加, 中药材上的真菌污染问题越来越引起人们的高度重视。本文分析及检测广陈皮上的外源污染真菌发现, 分析的广陈皮样品含有黄曲霉毒素的风险。宋美芳等^[20-21]对云南地区三七、草果和绞股蓝上真菌污染做了初步分析, 发现

云南地区三七存在橘青霉毒素污染的风险, 草果存在黄曲霉毒素污染的风险, 绞股蓝存在黄曲霉毒素、胶蓝菌素、伏马菌素及赭曲霉毒素的风险。说明不同的药材存在不同类型毒素污染的风险, 有的存在单一毒素污染风险, 有的存在复合毒素污染风险, 为了保证中药材的质量, 可采取干燥或真空包装等措施, 尽量避免外源真菌的污染。

REFERENCES

- [1] 杨洋, 蒋林, 郑国栋, 林乐维, 陈金龙, 周雯. 道地药材广陈皮的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中药材, 2011, 34(2): 191-195
Yang Y, Jiang L, Zheng GD, Lin LW, Chen JL, Zhou W. HPLC fingerprint of *Citri reticulatae pericarpium* from Guangdong province[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2011, 34(2): 191-195 (in Chinese)
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典-二部: 2010 年版 分辑号: 二部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010
State Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the people's Republic of China (Volume II)[M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2010 (in Chinese)
- [3] 张志海, 王彩云, 杨天鸣, 周继兵, 黄耀兵. 陈皮的化学成分及药理作用研究进展[J]. 西北药学杂志, 2005, 20(1): 47-48
Zhang ZH, Wang CY, Yang TM, Zhou JB, Huang YB. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Citri reticulatae pericarpium*[J]. Northwest Pharmaceutical Journal, 2005, 20(1): 47-48 (in Chinese)
- [4] 李延生, 陈建民. ELISA 试剂盒定量检测中药材和中成药的黄曲霉毒素 B₁[J]. 中草药, 2000, 31(8): 586-587
Li YS, Chen JM. Determination of aflatoxin B₁ in traditional Chinese medicine by ELISA[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2000, 31(8): 586-587 (in Chinese)
- [5] 郑荣, 毛丹, 王少敏, 王柯, 季申. 11 种中药材中黄曲霉毒素 G₂、G₁、B₂、B₁ 的 HPLC 法测定[J]. 中国医药工业杂志, 2010, 41(5): 368-372
Zheng R, Mao D, Wang SM, Wang K, Ji S. Determination of aflatoxin G₂, G₁, B₂, B₁ in eleven kinds of Chinese herbs by HPLC[J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2010, 41(5): 368-372 (in Chinese)

- [6] 赵连华. 陈皮中黄曲霉毒素的累积对其质量影响的研究[D]. 长春: 吉林农业大学硕士学位论文, 2015
Zhao LH. Accumulation of aflatoxins and its effect on the internal quality of *Citri reticulatae pericarpium*[D]. Changchun: Master's Thesis of Jilin Agricultural University, 2015 (in Chinese)
- [7] Wu D, He JR, Jiang YM, Yang B. Quality analysis of *Polygala tenuifolia* root by ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2015, 23(1): 144-151
- [8] Adebo OA, Njobeh PB, Sidu S, Adebisi JA, Mavumengwana V. Aflatoxin B1 degradation by culture and lysate of a *Pontibacter* specie[J]. Food Control, 2017, 80: 99-103
- [9] 黄晓静, 王少敏, 毛丹, 苗水, 季申. 曲霉属真菌毒素的毒性研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(5): 1679-1687
Huang XJ, Wang SM, Mao D, Miao S, Ji S. Research progress on toxicity of *Aspergillus mycotoxins*[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2017, 8(5): 1679-1687 (in Chinese)
- [10] 邢福国, 李旭, 张晨曦. 黄曲霉毒素的产生机制及污染防控策略[J]. 食品科学技术学报, 2021, 39(1): 13-26, 64
Xing FG, Li X, Zhang CX. Biosynthesis mechanisms and control strategies of aflatoxin[J]. Journal of Food Science and Technology, 2021, 39(1): 13-26, 64 (in Chinese)
- [11] 蔡飞. 中药材甘草上污染真菌类群分析[D]. 兰州: 兰州理工大学硕士学位论文, 2010
Cai F. The analysis of fungi associated with mouldy medicinal materials of *Glycyrrhiza uralensis*[D]. Lanzhou: Master's Thesis of Lanzhou University of Technology, 2010 (in Chinese)
- [12] 陈旭玉, 赵祥升, 刘小敏, 杨美华. 党参外源污染真菌的组成及其产毒特性[J]. 西南农业学报, 2021, 34(1): 66-70
Chen XY, Zhao XS, Liu XM, Yang MH. Composition and toxin-producing characteristics of exogenous contaminated fungi from *Codonopsis pilosula*[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2021, 34(1): 66-70 (in Chinese)
- [13] 赵祥升. “药食同源”南药 – 益智中外源性污染物检测及防霉变储藏规范研究[D]. 北京: 北京协和医学院博士学位论文, 2016
Zhao XS. Detection of ectogenic contaminants in medical and edible *Alpinia oxyphylla* and establishment of its storage specification for preventing mildew[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of Peking Union Medical College, 2016 (in Chinese)
- [14] Guo MY, Jiang WJ, Luo JY, Yang MH, Pang XH. Analysis of the fungal community in *Ziziphi Spinosa* Semen through high-throughput sequencing[J]. Toxins, 2018, 10(12): 494
- [15] Jiang WJ, Guo MY, Yang MH, Mantri N, Chen XY, Pang XH. High-throughput analysis of fungal communities in *Myristicae Semen*[J]. LWT, 2020, 128: 109499
- [16] 杨畅, 刘帆, 李莉娜, 刘春花, 王爱民. 贵州省2016年中药材饮片黄曲霉毒素污染调查[J]. 中国医药工业杂志, 2018, 49(7): 956-961
Yang C, Liu F, Li LN, Liu CH, Wang AM. Pollution investigation of aflatoxins in traditional Chinese medicines from Guizhou province in 2016[J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2018, 49(7): 956-961 (in Chinese)
- [17] 王帆, 乙引, 杨占南, 罗世琼, 余正文, 叶俊. 陈皮中黄曲霉毒素测定及其安全评价[J]. 广东农业科学, 2012, 39(3): 84-86
Wang F, Yi Y, Yang ZN, Luo SQ, Yu ZW, Ye J. Determination of aflatoxin from *Citrus reticulata* Blanco and its safety evaluation[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2012, 39(3): 84-86 (in Chinese)
- [18] 王娅玲, 李维峰, 刘宝, 刘香, 何维红. 高效液相色谱柱后衍生法测定中药材中的黄曲霉毒素[J]. 云南化工, 2014, 41(1): 42-44
Wang YL, Li WF, Liu B, Liu X, He WH. Determination of aflatoxins in 4 kinds of traditional Chinese medicines in Puer downtown areas by HPLC with post-column derivatization[J]. Yunnan Chemical Technology, 2014, 41(1): 42-44 (in Chinese)
- [19] 李友平, 黄艳伟, 刘彬彬, 尚庆坤. 柱后光化学衍生-HPLC法检测药材中黄曲霉毒素[J]. 分子科学学报, 2014, 30(3): 226-231
Li YP, Huang YW, Liu BB, Shang QK. Determination of aflatoxin in traditional Chinese medicinal materials by post-column photochemical derivatization-HPLC[J]. Journal of Molecular Science, 2014, 30(3): 226-231 (in Chinese)
- [20] 宋美芳, 陈娟, 李学兰, 唐德英, 孙炳达, 高微微. 云南地区三七和草果上真菌污染的初步分析[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(12): 1734-1737
Song MF, Chen J, Li XL, Tang DY, Sun BD, Gao WW. Primary investigation of contaminating fungi on *Panax notoginseng* and *Amomum tsaoko* in Yunnan[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2012, 37(12): 1734-1737 (in Chinese)
- [21] 宋美芳, 陈娟, 李学兰, 唐德英, 孙炳达, 高微微. 云南地区绞股蓝上真菌污染的初步分析[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(8): 2016-2017
Song MF, Chen J, Li XL, Tang DY, Sun BD, Gao WW. Preliminary analysis on fungal contamination of *Gynostemma pentaphyllum* in Yunnan[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2012, 23(8): 2016-2017 (in Chinese)