

间接竞争酶联免疫分析用于薏苡仁中杂色曲霉毒素的快速检测研究

黄惠强^{a,b,c}, 黄雨心^{a,b,c}, 廖梦瑶^{a,b,c}, 林懿^{a,b,c}, 王淑美^{a,b,c}, 王峰^{*a,b,c}, 张磊^{*a,b,c}
(广东药科大学 a. 中药学院, b. 国家中医药管理局中药数字化质量评价技术重点研究室,
c. 广东省中药质量工程技术研究中心, 广东 广州 510006)

摘要: 杂色曲霉毒素 (Sterigmatocystin, ST) 是一种主要由杂色曲霉和构巢曲霉等真菌产生的次级代谢产物, 其结构与黄曲霉毒素相似, 具有潜在的致癌性和毒性, 严重危害人类生命健康。研究发现部分中药易 ST 污染, 但目前针对中药中 ST 的快速检测研究相对较少。通过系统优化样品前处理条件及影响检测灵敏度的关键参数, 建立了简便的间接竞争酶联免疫分析法 (ic-ELISA), 用于消费量较大的药食同源薏苡仁中 ST 的快速筛查。所建立 ic-ELISA 的半数抑制浓度 (Half-Maximal Inhibitory Concentration, IC₅₀) 为 0.11 ng/mL, 线性范围为 6.25~100 μg/kg, 加标回收率在 79.27%~99.95% 之间, 相对标准偏差 (RSD) < 12%。此外, 该方法可抗基质干扰, 只需利用溶剂标准曲线即可进行定量。用所建立的 ic-ELISA 对 96 批薏苡仁样品进行了检测, 并用液相色谱-串联质谱 (LC-MS/MS) 对阳性样品进行了确证。该 ic-ELISA 快速、准确、经济, 可作为薏苡仁中 ST 高通量快筛的技术手段, 同时为其他中药中 ST 的快速检测提供参考。

关键词: 杂色曲霉毒素; 间接竞争酶联免疫分析方法; 样品前处理; 快速筛查; 薏苡仁

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283 (2024) 08-0084-07

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2024.0151

Rapid Detection of Sterigmatocystin in Coix Seed Using Indirect Competitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

HUANG Hui-qiang^{a,b,c}, HUANG Yu-xin^{a,b,c}, LIAO Meng-yao^{a,b,c}, LIN Yi^{a,b,c}, WANG Shu-mei^{a,b,c}, WANG Feng^{*a,b,c}, ZHANG Lei^{*a,b,c} (a. School of Chinese Materia Medica, b. Key Laboratory of Digital Quality Evaluation of Traditional Chinese Medicine, National Administration of Traditional Chinese Medicine, c. Guangdong Provincial Traditional Chinese Medicine Quality Engineering and Technology Research Center, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: Sterigmatocystin (ST), a secondary metabolite primarily synthesized by *Aspergillus versicolor* and *Aspergillus nidulans*, sharing a structural resemblance with aflatoxin, is known for its potential carcinogenicity and toxic properties, and poses a significant risk to human health and well-being. ST Contamination of certain traditional Chinese medicines has been reported, yet the researches on rapid detection methods for ST in these medicines remain limited. This research introduces an efficient indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ic-ELISA) for rapid screening of ST in Coix seeds, a commonly used Chinese medicine. By meticulously optimizing sample preparation and critical detection parameters, the established ic-ELISA exhibited a half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀) of 0.11 ng/mL, a linear range of 6.25~100 μg/kg, and spiked recoveries ranged from 79.27% to 99.95% with relative standard deviation (RSD) less than 12%. Notably, this method effectively eliminates matrix interference and enables quantification just through a solvent standard curve. Ninety-six batches of Coix seeds samples were detected by the established ic-ELISA, and the positive samples were confirmed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The established ic-ELISA is rapid, accurate and cost-effective, which can serve as a valuable tool for the high-throughput screening of ST in Coix seeds, and offers insights for the rapid detection of ST in other traditional Chinese medicines.

Key words: sterigmatocystin; indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay; sample pretreatment; rapid screening; coix seeds

收稿日期: 2024-03-12; 网络首发日期: 2024-04-23

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82374032, 81903798); 广东省基础与应用基础研究基金项目 (2022A1515012099); 广东省普通高校特色创新类项目 (2023KTSCX059)。

作者简介: 黄惠强 (1994-), 男, 广东江门人, 硕士生, 主要研究方向为中药质量分析与评价。

通讯作者: 王峰, E-mail: wfeng1230@gdpu.edu.cn; 张磊, E-mail: zhanglei-ctcm@gdpu.edu.cn。

引用本文: 黄惠强, 黄雨心, 廖梦瑶, 等. 间接竞争酶联免疫分析用于薏苡仁中杂色曲霉毒素的快速检测研究 [J]. 化学试剂, 2024, 46(8): 84-90.

杂色曲霉毒素 (Sterigmatocystin, ST) 是杂色曲霉 (*Aspergillus versicolor*) 和构巢曲霉 (*Aspergillus nidulans*) 等真菌的代谢产物, 是黄曲霉毒素 B₁ 合成的前体化合物, 具有潜在的致癌性与肝肾毒性^[1], 其主要污染谷物类农产品^[2]、中草药^[3]等, 是我国恶性肿瘤高发区居民饮食中的主要污染霉菌毒素之一^[4], 被国际癌症研究机构 (IARC) 列为 2B 类致癌物质。

薏苡仁是一种传统的药食兼用谷物资源, 主产于东亚和东南亚^[5], 且在欧洲被称为“生命健康之禾”。薏苡仁具有健脾益胃、补肺清热、利水渗湿等功效^[6], 其富含蛋白质、维生素、氨基酸和纤维等物质, 可作为滋补食品经常食用。然而近年来的研究发现, 薏苡仁易污染多种真菌毒素^[7], 其中 ST 的污染率高达 19%~29.9%^[8-10]。虽然目前仅捷克和斯洛伐克规定大米、蔬菜和土豆等食品中 ST 不得超过 50 μg/kg^[11], 但鉴于 ST 的毒性和发生率, 建立简便和灵敏的快速检测方法对于监控薏苡仁中 ST 具有重要意义, 可以减少潜在的健康威胁, 同时为风险评估及限量标准的制订提供依据。

酶联免疫分析是真菌毒素快速筛查中常用的检测方法, 2020 年版《中国药典》^[12] 已收载酶联免疫分析法作为中药中黄曲霉毒素的快速筛查方法。目前, 酶联免疫分析检测 ST 的研究相对较少, 且已有研究主要针对粮食基质^[13,14], 未见在中药基质检测中的应用。本文以薏苡仁中 ST 为检测对象, 通过系统优化样品前处理方法以最大程度降低薏苡仁基质对检测的干扰, 提高检测灵敏度及准确度, 建立适用于薏苡仁中 ST 检测的间接竞争酶联免疫分析法。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Spark 型酶标仪 (瑞士帝肯集团有限公司); WZ80-2 型微孔板恒温振荡器 (杭州佑宁仪器有限公司); VORTEX-6 型漩涡混合器 (江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司); WP-UP-WF-10 型超纯水机 (四川沃特尔浦水处理设备有限公司); DHM-200 型多管涡旋仪、BMBFree-17 型离心机 (博美科学仪器 (广州) 有限公司); ME104 型电子天平 (梅特勒-托利多仪器 (中国) 有限公司); Agilent 1290-6470 型液相色谱仪-串联质谱仪 (安

捷伦科技 (中国) 有限公司)。

ST 单克隆抗体和 ST-BSA 抗原 (河北朗飞生物科技有限公司); ST、Aflatoxin B₁ (AFB₁)、Aflatoxin B₂ (AFB₂)、Aflatoxin G₁ (AFG₁)、Aflatoxin G₂ (AFG₂)、Ochratoxin A (OTA)、Zearalenone (ZEN) 对照品溶液 (新加坡 Pribolab 公司); 3,3',5,5'-四甲基联苯胺显色液 (TMB, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 牛血清白蛋白 (BSA, 广州唐庄生物科技有限公司); 辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠二抗 (IgG-HRP, 南宁市蓝光生物技术有限公司); 明胶 (南京都莱生物技术有限公司); 甲醇 (CH₃OH)、甲酸 (CH₂O₂)、乙酸铵 (C₂H₇NO₂) (质谱级, 北京伊诺凯科技有限公司); 其他试剂均为分析纯。

实验中使用的 50 mmol/L 碳酸盐包被缓冲液 (pH 9.6)、封闭液、磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 7.4)、洗涤液 (PBST)、1 mol/L 终止液 (HCl) 均按照课题组的方法进行配制^[15]。

96 批薏苡仁样品随机购买于中国的药店与超市, 编号为 S1-S96, 经广东药科大学中药学院李明教授鉴定为禾本科植物薏苡 (*Coix lacrymajobi L. var. ma-yuen* (Roman.) Stapf) 的干燥成熟种仁 (薏苡仁)。薏苡仁样品经粉碎、密封后置于 -20 °C 冰箱中保存。

1.2 实验方法

1.2.1 样品溶液的制备

称取 1 g 薏苡仁样品粉末, 加入 10 mL V(乙腈):V(水)=80:20 混合溶液, 涡旋 10 min 后于 10 000 r/min 离心 5 min, 取适量上清液用 PBS 稀释 20 倍, 于 10 000 r/min 离心 5 min, 取上清液备用。

1.2.2 ic-ELISA 检测过程

首先将用包被液稀释的 100 μL/孔 ST-BSA 抗原溶液加入酶标板孔中, 4 °C 过夜孵育。用 PBST 洗板 3 次, 加入 200 μL/孔封闭液, 37 °C 孵育 2 h。用 PBST 洗板两次, 然后加入 50 μL ST 对照品或样品溶液及等体积的 0.1% 明胶 PBS 抗 ST 单克隆抗体稀释溶液, 继续孵育 1 h。随后用 PBST 洗板 3 次, 加入 0.1% 明胶-PBS 稀释的 100 μL/孔 IgG-HRP 溶液后孵育 1 h。用 PBST 洗涤板孔 4 次, 并加入 100 μL/孔显色溶液进行显色。显色 10 min 后, 每孔加入 50 μL 终止溶液终止显色反应, 于 450 nm 处测得黄色产物的吸光度值。

用抑制率 B/B_0 (ST 浓度为 0 的 OD 为 B_0 , 其他不同 ST 浓度的 OD 为 B) 与 ST 对照品溶液浓度的对数作图绘制抑制曲线。

1.2.3 LC-MS/MS 检测条件

本研究参考文献[9]中 LC-MS/MS 检测方法对薏苡仁样品中 ST 的含量进行测定。色谱条件: 色谱柱为 Waters CORTECSTM UPLC C18(100 mm×2.10 mm, 1.60 μm); 流动相: A 相为体积分数 0.1% 甲酸和 1 mmol/L 乙酸铵的水溶液, B 相为甲醇; 梯度洗脱 (0~2 min, 10% B; 2~3 min, 20% B; 3~4 min, 21% B; 4~5 min, 26% B; 5~9 min, 27% B; 9~9.5 min, 50% B; 9.5~12 min, 65% B; 12~15 min, 80% B; 15~15.1 min, 95% B; 15.1~17.8 min, 95% B; 17.8~18 min, 10% B; 18~21 min, 10% B); 进样量 2 μL; 柱温 40 °C; 流速 0.3 mL/min。

质谱条件: 采用电喷雾离子源 (Electrospray Ionization, ESI); 扫描模式采用多重反应监测模式 (Multiple Reaction Monitoring, MRM); 喷雾电压 3.0 kV (+), 2.5 kV (-); 鞘气流速 40 L/hr; 离子传输毛细管温度 350 °C。其他质谱参数见表 1。

表 1 ST 的质谱参数^注

真菌毒素	ESI 模式	离子对/ (m/z)	碰撞能量/ eV	保留时间/ min
ST	ESI ⁺	325.1→309.9 325.1→280.9*	35 51	14.38

注: * 为定量离子对。

2 结果与讨论

2.1 抗原、抗体浓度的优化

为达到最佳检测灵敏度, 首先采用棋盘滴定法对抗原和抗体的浓度进行筛选。初步研究发现, 当包被抗原浓度为 0.031 μg/mL、抗体浓度为 0.063 μg/mL 和包被抗原浓度为 0.063 μg/mL、抗体浓度为 0.031 μg/mL 时, 其吸光度值接近于 1.0 (表 2)。因此, 用这两组抗原、抗体浓度绘制抑制曲线, 通过进一步对比灵敏度筛选出最佳抗原、抗体浓度。如图 1 所示, 当抗原包被浓度 0.063 μg/mL、抗体浓度为 0.031 μg/mL 时, 检测灵敏度较高。因此, 后续研究将在该抗原和抗体浓度下进行。

2.2 提取溶剂的优化

ST 常用的提取溶液为甲醇-水^[14,16] 和乙腈-

表 2 棋盘法筛选最佳抗原、抗体浓度

Tab.2 Screening of optimal antigen and antibody concentrations by the checkerboard method

抗原浓度/ (μg·mL ⁻¹)	抗体浓度/(μg·mL ⁻¹)				
	0.250	0.125	0.063	0.031	0.016
0.250	2.85	2.38	2.290	2.080	1.240
0.125	2.18	2.24	1.930	1.550	0.799
0.063	2.07	1.83	1.380	0.962	0.607
0.031	1.88	1.42	0.985	0.653	0.425
0.016	1.55	1.06	0.689	0.453	0.281

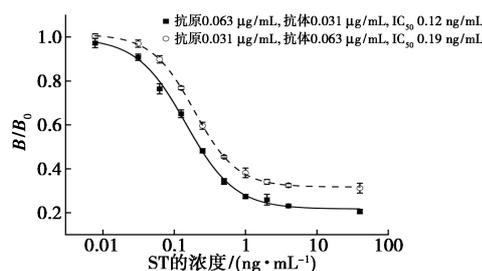


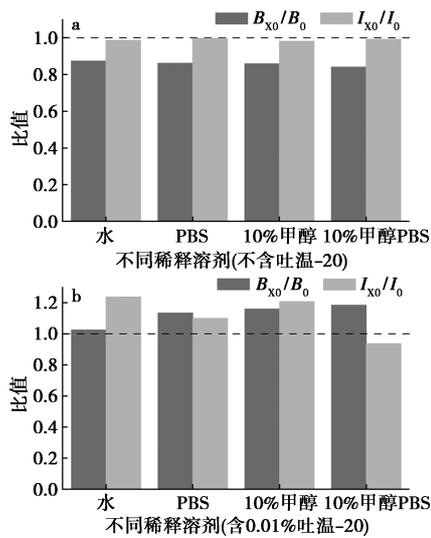
图 1 不同抗原抗体浓度的溶剂标准曲线

Fig.1 Solvent standard curves for different antigen-antibody concentrations

水溶液^[17,18]。但相对于甲醇而言, 乙腈具有较好的沉淀蛋白作用, 能使提取的溶液更澄清^[19], 同时根据本课题组的前期研究^[15,20], 后续实验将选用 $V(\text{乙腈}):V(\text{水})=80:20$ 作为提取溶剂。

2.3 稀释溶剂的优化

本研究首先对比了水、PBS、10% 甲醇-水和 10% 甲醇-PBS 这 4 种常用的稀释溶剂的效果。初步以 B_{X_0}/B_0 (阴性样品溶液与 0 ng/mL ST 对照品溶液吸光度值的比值) 和 I_{X_0}/I_0 (阴性加标样品溶液与相同 ST 浓度条件下的对照品溶液的抑制率比值) 是否均接近于 1.0 作为评价指标, 筛选获得最佳稀释溶剂。如图 2a 所示, 经稀释后, 薏苡仁基质对检测抑制率的影响较小, 且 4 种稀释溶剂的效果较为接近, 但 4 种稀释溶剂均无法解决样品基质对检测显色值的抑制问题。经查阅文献发现, 一定浓度的吐温-20 可减少样品基质对免疫反应的影响, 可使抗原抗体结合更牢固^[21,22]。因此, 本文尝试在 4 种稀释溶剂中分别加入 0.01% 吐温-20 后进行对比, 发现加入吐温-20 后, 可消除基质对显色值的抑制作用 (图 2b)。后续, 选取对抑制率和显色值影响相对较小的 0.01% 吐温-20 PBS 作为稀释溶剂, 对比了溶剂标准曲线和基质匹配标准曲线的差异, 结果显示两条标准曲线重合度不理想 (图 3), 还需要进一步优化。



a.不同稀释溶剂的 B_{x_0}/B_0 与 I_{x_0}/I_0 图;
b.0.01%吐温-20 不同稀释溶剂的 B_{x_0}/B_0 与 I_{x_0}/I_0 图

图 2 稀释溶剂的优化

Fig.2 Optimization of dilution solvents

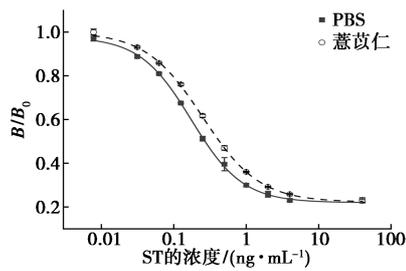


图 3 溶剂和基质匹配标准曲线

Fig.3 Solvent and matrix matching standard curve

2.4 提取液稀释倍数的考察

从 2.3 的实验结果可知,以 0.01% 吐温-20 PBS 作为稀释溶剂时,样品基质对抑制率和显色值的干扰相对比较同步,均为增强效应,且影响程度较为接近,因此本研究拟通过调整稀释倍数,进一步消除基质干扰。如图 4 所示,当样品提取液稀释倍数为 20 倍时, B_{x_0}/B_0 与 I_{x_0}/I_0 均较为接近于 1.0,因此,本研究选用稀释倍数 20 倍来进行后续的实验。

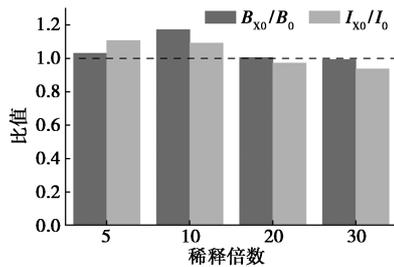


图 4 稀释倍数的优化

Fig.4 Optimization of dilution multiples

2.5 料液比优化

采用酶联免疫分析方法快速检测中药中真菌毒素时,样品提取采用的料液比通常为 1:5 (g/mL)^[20,23]。然而,在本实验中发现,当样品提取料液比为 1:5 (g/mL) 时,回收率偏低。因此,将料液比调整为 1:10 (g/mL)。由图 5 可知,当料液比为 1:10 (g/mL) 时,4 种不同加标水平的回收率均得到明显改善。

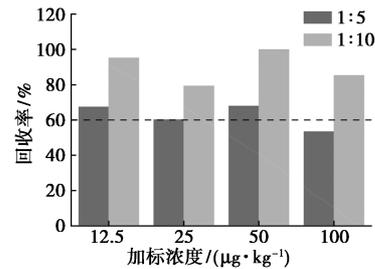


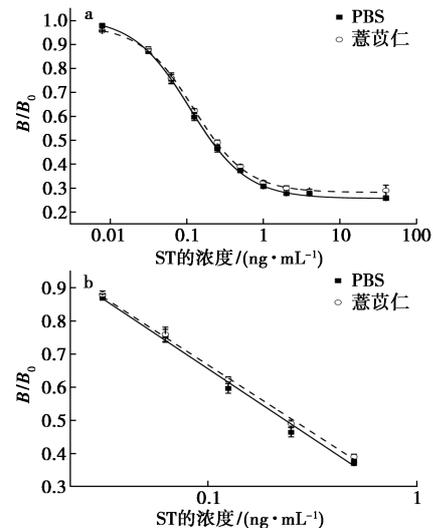
图 5 料液比的优化

Fig.5 Optimization of material-liquid ratio

2.6 方法学考查

2.6.1 线性与范围

用溶剂以及阴性薏苡仁样品(经 LC-MS/MS 确证)溶液,分别配制不同浓度(0、0.007 8、0.031 25、0.062 5、0.125、0.25、0.5、1、2、4、40 ng/mL)的 ST 对照品溶液,并根据 1.2.2 项下操作进行检测。以 ST 对照品溶液的浓度对数为横坐标、抑制率 B/B_0 为纵坐标。数据采用 OriginPro 2021 软件进行拟合,绘制溶剂标准曲线和基质匹配标准曲线。由图 6 和表 3 可知,溶剂抑制曲线和基质匹配抑制曲线的 IC_{50} 分别为 0.11、0.12 ng/mL,检测范



a.溶剂与非基质的非线性拟合曲线;b.溶剂与基质线性拟合直线

图 6 溶剂和基质匹配标准曲线

Fig.6 Solvent and matrix matching standard curves

表 3 标准曲线参数

Tab.3 Standard curve parameters

线性回归方程	R^2	灵敏度 $IC_{50}/$ ($ng \cdot$ mL^{-1})	线性 范围/ ($\mu g \cdot$ kg^{-1})	B_0
溶剂标准 曲线 $y = -0.419 13x +$ $0.236 56$	0.996	0.11	6.25~100	0.976
基质匹配 标准曲线 $y = -0.407 85x +$ $0.259 42$	0.997	0.12	6.25~100	0.961

围均为 0.031 25~0.5 ng/mL (6.25~100 $\mu g/kg$)。

2.6.2 基质效应评价

在免疫分析中,样品基质是否影响检测常采用基质效应(ME)来评价。基质效应为基质匹配标准曲线的线性方程斜率与溶剂标准曲线的线性方程斜率比值的百分比^[24]。根据中药有害残留物分析中质量控制指导原则^[25];当 ME 在 85%~115%范围内时,则可认为基质效应不明显。值得注意的是,当 ME 符合要求时,还需关注基质匹配标准曲线的 B_0 与溶剂标准曲线的 B_0 两者的比值,该比值越接近于 1,检测准确度越高。根据表 3 中的结果进行计算,ME 为 97.3%,并且两条标准曲线的 B_0 比值为 0.984,表明样品的基质效应对于结果的影响可忽略,后续可直接采用溶剂标准曲线进行实际样品的分析。

2.6.3 特异性

本研究采用 ST 与 4 种黄曲霉毒素(AFB_1 、 AFB_2 、 AFG_1 、 AFG_2)和两种其他常见真菌毒素(ZEN、OTA)的交叉反应率来评价所建立的 ic-ELISA 的特异性。交叉反应率为 ST 的 IC_{50} 与各种真菌毒素的 IC_{50} 比值的百分比。结果表明,ST 与 4 种黄曲霉毒素的交叉反应率均 $<0.1\%$,与 ZEN 和 OTA 几乎无交叉反应,表明本文所建立的 ic-ELISA 具有较高的特异性。

2.6.4 准确度与精密度

称取 1 g 阴性薏苡仁样品,平行称定 12 份,分别以 12.5、25、50、100 $\mu g/kg$ 4 个添加水平进行加标回收率试验,考察方法的准确度与精密度。4 个加标浓度分别重复 3 份,按照研究得到的最佳样品前处理条件进行样品制备,并按照 1.2.2 进行测定。从表 4 可知,加标回收率为 79.27%~99.95%, $RSD < 12\%$ 。用 50 $\mu g/kg$ 加标水平的薏苡仁样品考察日内和日间精密度,其中,平行制备 6 份,按照 1.2.2 在同一天内进行检测获得日内精密度;每天平行制备 2 个样品,连续检测 5 d 获

得日间精密度。结果表明,日内、日间精密度分别为 5.89%、6.64%。参考 2020 年版《中国药典》^[12]中对酶联免疫法回收率的规定(60%~120%)以及 GB/T 33411—2016《酶联免疫分析试剂盒通则》^[26]中对 RSD 的规定($RSD < 20\%$),本研究建立的 ic-ELISA 准确度与精密度均符合检测要求。

表 4 薏苡仁中的加标回收率和变异系数

Tab.4 Spiked recoveries and coefficients of

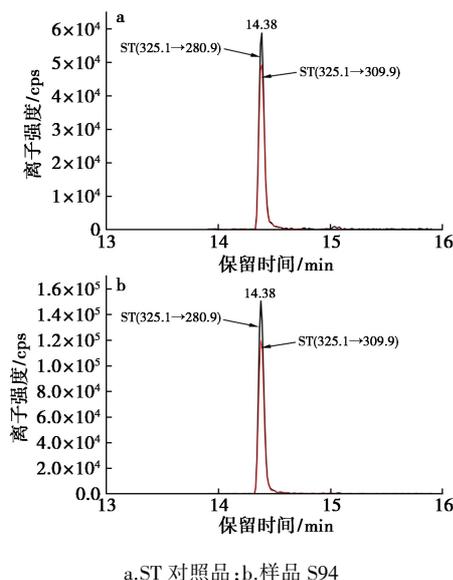
variation in coix seed (n=3)			
ST 加标水平/ ($\mu g \cdot kg^{-1}$)	检测值/ ($\mu g \cdot kg^{-1}$)	回收率/ %	RSD/ %
12.5	11.89	95.14	11.3
25	19.82	79.27	6.7
50	49.98	99.95	4.1
100	85.27	85.27	5.5

2.6.5 检测限和定量限

在 ELISA 中^[27],抑制率 10%时所对应的浓度为检测限(Limit Of Detection, LOD);抑制率 20%时所对应的浓度为定量限(Limit Of Quantitation, LOQ)。因此,本研究用于检测薏苡仁中 ST 的 ic-ELISA 检测限和定量限分别为 3.26、6.50 $\mu g/kg$ 。

2.7 实际样品检测

采用所建立的 ic-ELISA 对 96 批薏苡仁样品进行检测,发现 5 批为阳性样品(ST 含量大于检测限则视为阳性样品),其中 3 批样品的 ST 含量 $>LOQ$ 。用 LC-MS/MS 对 5 批薏苡仁阳性样品进行了确证(表 5),代表性色谱图见图 7。3 批 ST



a.ST 对照品;b.样品 S94

图 7 样品的 LC-MS/MS 谱图

Fig.7 LC-MS/MS spectrum of samples

表 5 薏苡仁阳性样品中 ST 含量^注

Tab.5 ST contamination levels in positive sample of coix seeds

样品号	产地	ST 含量/($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	
		ic-ELISA	LC-MS
S6	贵州	<LOQ	2.78
S16	贵州	<LOQ	1.28
S61	辽宁	7.75	6.62
S85	贵州	15.16	17.98
S94	贵州	109.58	110.93

注:LOQ 为定量限。

含量大于 LOQ 的薏苡仁样品的 ic-ELISA 与 LC-MS/MS 的检测数据通过 Person 相关系数计算结果为 0.999 4,表明本研究建立的 ic-ELISA 准确可靠。

3 结论

薏苡仁具有较高的营养价值和保健作用,人们喜爱以多种方式进行长期食用,而薏苡仁中污染的 ST 会因为蓄积而危害人体健康。因此,有必要建立简便、快速的技术手段对薏苡仁中的 ST 进行检测和监控。本研究基于简单的样品前处理方法,建立了一种无需任何校正,只需溶剂标准曲线即可定量的 ic-ELISA,方法灵敏、准确、可靠,可用于薏苡仁中 ST 的大规模筛查,有助于降低食用薏苡仁产生的安全隐患,同时本研究可为其他中药中 ST 快速检测方法的建立提供参考。

参考文献:

- [1] DÍAZ N C H, GRANERO A M, ZON M A, et al. Sterigmatocystin: A mycotoxin to be seriously considered[J]. *Food Chem. Toxicol.*, 2018, **118**:460-470.
- [2] 赵亚荣, 刘香香, 赵洁, 等. 食品中杂色曲霉毒素污染状况研究进展[J]. *中国食品卫生杂志*, 2016, **28**(5):680-682.
- [3] 胡佳哲, 赖宇红, 陈浩桢. 中药材中常见真菌毒素污染状况及分析方法研究进展[J]. *海峡药学*, 2019, **31**(1):1-5.
- [4] 林混. 粮食中杂色曲霉毒素污染和检测技术研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, **13**(5):1 634-1 640.
- [5] DING Y, ZHANG G, NI C, et al. Understanding the mechanism of change in morphological structures, visualization features, and physicochemical characteristics of adlay seeds (*Coix lacryma-jobi* L.): The role of heat soaking[J]. *J. Cereal Sci.*, 2020, **91**:102 892.

- [6] 郑舒怡, 左佳昕, 戴鑫, 等. 响应面法优化酶法制备薏苡仁寡糖工艺研究[J]. *化学试剂*, 2023, **45**(2):90-97.
- [7] 郭梦月, 姜汶君, 于景盛, 等. 基于高通量测序技术研究药食两用薏苡仁中污染真菌多样性[J]. *世界中医药*, 2020, **15**(9):1 279-1 284.
- [8] 张红霞, 江维克, 杨昌贵, 等. 薏苡仁真菌毒素污染状况分析与暴露风险评估[J]. *中国中药杂志*, 2023, **48**(6):1 491-1 497.
- [9] WU Y, YE J, XUAN Z, et al. Development and validation of a rapid and efficient method for simultaneous determination of mycotoxins in coix seed using one-step extraction and UHPLC-HRMS[J]. *Food Addit. Contam. A*, 2020, **38**(1):148-159.
- [10] ZHENG R, XU H, WANG W, et al. Simultaneous determination of aflatoxin B1, B2, G1, G2, ochratoxin A, and sterigmatocystin in traditional Chinese medicines by LC-MS-MS[J]. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2014, **406**(13):3 031-3 039.
- [11] GADE P S, SONKAR R M, BHATT P. Graphene oxide-mediated fluorescence turn-on GO-FAM-FRET aptasensor for detection of sterigmatocystin[J]. *Anal. Methods.*, 2022, **14**(39):3 890-3 897.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2020 年版四部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2020-5.
- [13] SINGH G, VELASQUEZ L, HUET A C, et al. Development of a polyclonal antibody-based indirect competitive ELISA for determination of sterigmatocystin in wheat and corn flours[J]. *Food Addit. Contam.*, 2019, **36**(2):327-335.
- [14] LI M, LI P, WU H, et al. An ultra-sensitive monoclonal antibody-based competitive enzyme immunoassay for sterigmatocystin in cereal and oil products[J]. *Plos One*, 2014, **9**(9):e106 415.
- [15] 张磊, 吴旺荣, 黄仁堂, 等. 基于简单样品前处理的玉米赤霉烯酮酶联免疫分析方法—以瓜蒌皮和瓜蒌子的检测为例[J]. *广东药科大学学报*, 2023, **39**(2):32-36.
- [16] KONG D, XIE Z, LIU L, et al. Development of indirect competitive ELISA and lateral-flow immunochromatographic assay strip for the detection of sterigmatocystin in cereal products [J]. *Food Agr. Immunol.*, 2016, **28**(2):260-273.
- [17] 闫志光, 田部男. QuEChERS-HPLC-MS/MS 法检测谷物源性运动食品中杂色曲霉毒素和黄曲霉毒素[J]. *中国酿造*, 2021, **40**(6):172-175.
- [18] OPLATOWSKA-STACHOWIAK M, REIRING C, SAJIC N, et al. Development and in-house validation of a rapid

- and simple to use ELISA for the detection and measurement of the mycotoxin sterigmatocystin [J]. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2018, **410**(12): 3 017-3 023.
- [19] 孙利东, 王震, 刘贺, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定油菜籽和亚麻籽中 16 种真菌毒素[J]. 化学试剂, 2023, **45**(4): 136-143.
- [20] 张磊, 关凯仪, 黄雨心, 等. 基于 QuEChERS 样品前处理的间接竞争酶联免疫分析法快速检测薏苡仁中黄曲霉毒素 B₁ [J]. 广东药科大学学报, 2023, **39**(6): 37-43.
- [21] 陈宗良, 周玲娜, 赵静芳, 等. 自动固相萃取-HPLC-在线柱后光化学衍生法测定藿香正气水中黄曲霉毒素 [J]. 中国现代应用药学, 2021, **38**(10): 1 218-1 221.
- [22] 张伟, 谌宇, 施思, 等. 黄曲霉毒素提取与净化技术用于延胡索药材中黄曲霉毒素检测 [J]. 中国药师, 2019, **22**(10): 1 810-1 814.
- [23] 刘云翔, 高鹏超, 詹志来, 等. 基于酶联免疫分析的中药薏苡仁玉米赤霉烯酮残留快速检测技术研究 [J]. 中国中药杂志, 2023, **48**(11): 2 919-2 924.
- [24] HUANG R, HUANG Y, LIU H, et al. A bifunctional AuNP probe-based enzyme-linked immunosorbent assay for facile and ultrasensitive detection of trace zearalenone in coix seed [J]. *Microchem. J.*, 2023, **184**: 108 152.
- [25] 王晓蕾, 刘永利, 苏建, 等. 中药有害残留物分析中质量控制指导原则 [J]. 药物分析杂志, 2020, **40**(10): 1 877-1 881.
- [26] 环境保护部, 国家质量监督检验检疫总局. 酶联免疫分析试剂盒通则: GB/T 33411—2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016-12-30.
- [27] HENNION M, BARCELO D. Strengths and limitations of immunoassays for effective and efficient use for pesticide analysis in water samples: A review [J]. *Anal. Chim. Acta*, 1998, **362**(1): 3-34.