时间分辨荧光免疫层析法检测中药真菌毒素的方法建立及验证

纪　元[1]，孙莹莹[2]，徐晓洁[1]，贾　嘉[3]，周倩倩[1]，任丽宏[1]*

（1. 山东省食品药品检验研究院，山东省中药标准创新与质量评价工程实验室，产业技术基础公共服务平台，山东济南 250101；
2. 国家烟草质量监督检验中心，河南郑州 450001；3. 郑州左安检测科技有限公司，河南郑州 450001）

摘要：为建立适用于中药材及饮片中真菌毒素的快速筛查与定量检测方法，该研究基于时间分辨荧光免疫层析技术，构建了黄曲霉毒素 B_1 和玉米赤霉烯酮的快速定量检测试纸条，并进行了方法学验证。通过制备铕荧光微球标记抗体并组装试纸条，建立了中药中黄曲霉毒素 B_1 和玉米赤霉烯酮的时间分辨荧光免疫层析检测法，并评价其专属性、定量限、准确度、精密度、重现性和耐用性。结果表明，该方法具有较好的专属性和阴性 / 阳性样品区分能力，黄曲霉毒素 B_1 和玉米赤霉烯酮的定量限分别为1.8 和 49.3 μg/kg，均可满足 ChP 2025 年版的限量控制要求；加标回收率为 85.82%～ 117.24%，相对标准偏差均小于 15%。对 42 批中药样品进行平行检测，结果显示该法与药典法的检测结果具有较高的一致性。所建立的方法具有检测速度快、操作简便、成本较低等特点，可为中药真菌毒素的现场快速筛查和质量安全监管提供技术支撑。

关键词：中药；真菌毒素；黄曲霉毒素 B_1；玉米赤霉烯酮；时间分辨荧光免疫层析法；试纸条；快速定量检测技术

中图分类号：TQ460.7$^+$2；R284.1　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2026)08-0950-08

引用：纪元, 孙莹莹, 徐晓洁, 等. 时间分辨荧光免疫层析法检测中药真菌毒素的方法建立及验证[J]. 中国医药工业杂志, 2026, **57**(8): 950-957. DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2026.08.009

Development and Validation of a Time-resolved Fluorescence Immunochromatographic Assay for Detection of Mycotoxins in Traditional Chinese Medicines

JI Yuan[1], SUN Yingying[2], XU Xiaojie[1], JIA Jia[3], ZHOU Qianqian[1], REN Lihong[1]*

(*1. Industrial Technology Foundation Public Service Platform, Shandong Engineering Lab for Standard Innovation and Quality Evaluation of TCM, Shandong Institute for Food and Drug Control, Jinan 250101; 2. China National Tobacco Quality Supervision and Test Center, Zhengzhou 450001; 3. Zhengzhou Zuo'an Testing Technology Co., Ltd., Zhengzhou 450001*)

ABSTRACT: To establish a rapid screening and quantitative method for mycotoxins in traditional Chinese medicines (Chinese materia medica and prepared slices), a rapid quantitative test strip for aflatoxin B_1 and zearalenone was developed based on time-resolved fluorescence immunochromatographic assay, and systematic methodological validation was performed. Europium fluorescent microsphere-labeled antibodies were prepared and assembled into test strips to construct a detection method for aflatoxin B_1 and zearalenone in traditional Chinese medicines. The specificity, limit of quantification, accuracy, precision, reproducibility and robustness were evaluated. The results showed that the method exhibited good specificity and excellent capability to distinguish positive from negative samples. The limits of quantitation for aflatoxin B_1 and zearalenone were 1.8 and 49.3 μg/kg, respectively, both meeting the requirements of the *Chinese Pharmacopoeia* (2025 Edition). The recoveries ranged from 85.82 % to 117.24 %, with all RSDs less than 15 %. A total of 42 batches of traditional Chinese medicine samples were tested in parallel, and the results demonstrated high consistency between the established method and the pharmacopoeia method. This method is rapid, simple, and cost-effective, providing technical support for on-site screening as well as quality and safety supervision of mycotoxins in traditional Chinese medicines.

Key Words: traditional Chinese medicine; mycotoxin; aflatoxin B_1; zearalenone; time-resolved fluorescence immunochromatographic assay; test strip; rapid quantitative detection technique

黄曲霉毒素（aflatoxins，AFs）主要由黄曲霉（*Aspergillus flavus*）、寄生曲霉（*A. parasiticus*）和特曲霉（*A. nomius*）等产毒真菌侵染宿主后产生。天然存在的 AFs 混合物被世界卫生组织国际癌症研究中心列为 1 类致癌物，与肝癌的发生具有相关性。作为二氢呋喃香豆素的衍生物，AFs 结构稳定、耐高温，在一般的炮制加工温度下很难被破坏。玉米赤霉烯酮（zearalenone，ZEN）由镰刀菌属（*Fusarium*）和赤霉属（*Gibberella*）真菌代谢产生，耐高温，具有生殖毒性和致畸作用[1]。作为中药类产品中被重点关注的有害物质，ChP 2025 年版作出了严格的限量规定，例如“酸枣仁”和“薏苡仁”项下规定，每 1 000 g 含黄曲霉毒素 B_1（aflatoxin B_1，AFB_1）不得过 5 μg，含黄曲霉毒素 G_2、G_1、B_2 和 B_1 的总量不得过 10 μg，ZEN 不得超过 500 μg。

目前，真菌毒素的检测方法有薄层色谱法、液相色谱法、液相色谱 - 质谱联用法[2-3]、酶联免疫法[4]、侧流免疫层析试纸条法[5]等。尽管 USP 仍将薄层色谱法列为 AFs 检测的第一法，但该法的特异性和灵敏度较差，难以实现定量检测。液相色谱及其与质谱联用的方法（ChP 2025 年版四部通则 2351“真菌毒素测定法”收录的第一、第二法）因具有优越的灵敏度、准确度和稳定性，是 AFs 检测的金标准。但色谱法的样品前处理涉及使用免疫亲和柱，受批次间差异、中药基质等因素的影响较大，操作耗时长、成本高，且受精密大型仪器的限制，难以满足现场快速检测的要求。

酶联免疫法[4,6]具有灵敏度高、可批量检测等优势，但易受环境温度、人员操作等因素影响，重现性较差，时效性一般，且难以避免基质效应造成的假阳性和假阴性[7]。侧流免疫层析试纸条法具有简单、快速、成本低等优势，再通过优化示踪剂、试纸条材料、前处理方法等手段，可满足灵敏度、准确度和精密度的要求[8-9]。

时间分辨荧光免疫层析法（time-resolved fluorescence immunochromatographic assay，TRFICA）采用了新型的荧光标记技术，相较于传统胶体金试纸条法的优势更明显[10-11]。镧系稀土金属元素具有大的斯托克斯位移，且荧光寿命比背景荧光寿命高 5 ～ 6 个数量级，在荧光光谱图中的峰形尖锐，因此能有效消除非特异性荧光背景的干扰，大幅提高灵敏度[12-13]。目前，粮油、饲料等行业已发布多个基于侧流色谱免疫分析法的真菌毒素检验方法标准（如粮食行业标准 LS/T 6108—2014《粮油检验 谷物中黄曲霉毒素 B_1 的快速测定 免疫层析法》和农业行业标准 NY/T 2548—2014《饲料中黄曲霉毒素 B_1 的测定时间分辨荧光免疫层析法》）。因此，迫切需要建立适用于中药的真菌毒素快速检测技术，形成标准化检测方法，填补中药真菌毒素定量快速检测的空白标准。本文基于 AFB_1 和 ZEN 单克隆抗体，制备了时间分辨荧光定量试纸，以期建立适用于多种中药基质的真菌毒素快速检测技术。

1 仪器与试药

HM3035 型 XYZ 三维划膜喷金仪（上海金标生物科技有限公司）；HGS201 型切条机（杭州峰航科技有限公司）；FD-100 型台式荧光免疫分析仪（郑州左安检测科技有限公司）；1200 型液相色谱仪［美国 Agilent 公司，配置 Agilent Eclipse XDB C_{18} 色谱柱（2.1 mm×150 mm，3.5 μm）］；API 4000 型三重四极杆质谱仪（美国 AB SCIEX 公司）。

槟榔、陈皮、淡豆豉、地龙、蜂房、六神曲、全蝎、肉豆蔻、神曲、酸枣仁、桃仁、蜈蚣、延胡索、薏苡仁、远志等 14 种中药材和饮片［《上海市中药饮片炮制规范》（2018 年版）记载，六神曲习称神曲，故本研究将二者视作同一饮片］来自山东省药品质量风险监测品种抽样。其中，部分未检出 AFB_1 的样品被用作阴性空白分析质控样：薏苡仁（批号 240801）和莲子（批号 240701）抽样自青岛天成中药饮片有限公司，麦芽（批号 220901）抽样自山东国盛中药饮片有限公司，地龙（批号 241001）抽样自山东嘉泰中药饮片有限公司，桃仁（批号 240601）、酸枣仁（批号 240602）和全蝎（批号 241102）抽样自山东百味堂中药饮片有限公司。莲子 AFB_1 阳性质控样品（含量分别为 2.3 、3.9 、7.2 μg/kg，批号分别为 JT2412-0364 、JT2412-0365 、JT2412-0366）、麦芽 AFB_1 阳

收稿日期：2025-09-23
基金项目：国家药典委员会国家药品标准制修订研究项目（2024Y08）
作者简介：纪　元，副主任药师，从事快速检测方法的开发。
通信作者：任丽宏，高级工程师，从事微生物检测技术的研究。

性质控样品（含量分别为 2.6 、4.4 、8.2 μg/kg，批号分别为 JT2412-0367 、JT2412-0368 、JT2412-0369）、薏苡仁 AFB_1 阳性质控样品（含量分别为 2.7 、4.3 、8.0 μg/kg，批号分别为 JT2412-0370 、JT2412-0371 、JT2412-0372）、薏苡仁 ZEN 阳性质控样品（含量分别为 85.3 、203.6 、380.3 μg/kg，批号分别为 JT2412-0373 、JT2412-0374 、JT2412-0375）和阴性空白分析质控样品（批号 JT2501-0135）均购于北京微标标物科技有限公司。

AFB_1 乙腈标准溶液（含量 3 mg/L，批号 22950013）和 ZEN 乙腈标准溶液（含量 500 mg/L，批号 2106199）均购于上海安谱璀世标准技术服务有限公司；AFB_1 单抗（含量≥ 95 %，批号 20240326）和 ZEN 单抗（含量≥ 95 %，批号 20240117）均购于深圳市科捷实业发展有限公司；AFB_1 包被抗原（含量 >90%，批号 20240218）和 ZEN 包被抗原（含量 >90%，批号 20231016）均购于郑州左安检测科技有限公司；兔免疫球蛋白 G（immunoglobulin G，IgG，含量 >90%，批号 102417334）和山羊抗兔 IgG（goat anti-rabbit IgG，GAR IgG，以下简称“二抗”，含量 >90% ，批号 072136685）均购于长沙博优生物科技有限公司；1- 乙基 -3-（二甲基氨基丙基）-碳二亚胺（ethyldimethylaminopropyl carbodiimide，EDC，含量 99%，批号 L480X130）和海藻糖（含量 99% ，批号 LM30Y94）均购于北京百灵威科技有限公司；牛血清蛋白（bovine serum albumin，BSA，美国 Proliant Health & Biologicals 公司，含量≥ 98%，批号 NZB4024101）；4- 吗啉乙磺酸（4-morpholineethanesulfonic acid，MES）水合物（美国 Sigma-Aldrich 公司，含量 99 %，批号 WXBC7885V）；铕荧光微球（粒径 200 nm，固含量 1%，批号 9200521L）购于上海辉质生物科技有限公司；蔗糖（分析纯，天津市科密欧化学试剂有限公司）；样品垫、结合垫、吸收垫和聚氯乙烯底板购于上海杰一生物技术有限公司；CN140 型硝酸纤维素（nitrocellulose，NC）膜（德国 Sartorius 公司）；甲醇为色谱纯，其他试剂为分析纯。

2　方法与结果

2.1　时间分辨荧光定量试纸的工作原理

试纸条利用竞争法原理检测真菌毒素（图 1）。将待测样本点样于加样区后，样本中的目标分析物（抗原）将与结合垫中预载的铕荧光微球标记单克隆抗体形成复合物，并在毛细层析作用下沿反应膜迁移。当混合体系到达 T 线时，膜表面固相包被的抗原竞争性地结合未与样本抗原结合的游离荧光素标记抗体。在此竞争免疫反应过程中，T 线捕获的荧光素标记抗体量与样本中目标物浓度呈负相关，即目标物浓度越高，抗体被样本抗原占据的比例越大，T 线荧光信号越弱；反之则信号增强。

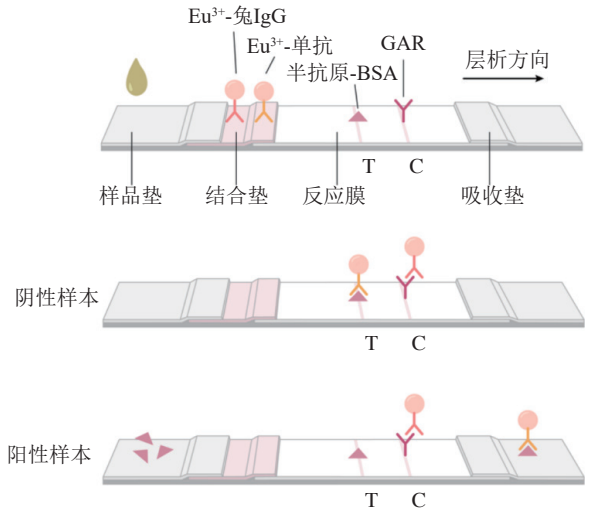


图 1　时间分辨荧光免疫层析试纸条的结构示意图

Fig.1　Schematic Diagram of the Time-resolved Fluorescence Immunochromatographic Test Strip

层析过程完成后，采用荧光免疫分析仪对 T 线与 C 线进行双波长（340/610 nm）荧光信号采集。系统通过计算 T/C 线的信号强度比值，结合预置的拟合标准曲线，自动完成目标物的定量分析及阴 / 阳性判定。需特别指出的是，C 线的荧光信号是验证层析过程的有效性，若 C 线未显色，则表明层析失败，检测结果无效。

2.2　铕荧光微球标记单克隆抗体的制备

向铕荧光微球（10 mg/mL）100 μL 中加入 MES 缓冲液（50 mmol/L，pH 6.0，下同）400 μL，涡旋后于 10 ℃离心（17 000×*g*）15 min。将沉淀重悬在 MES 缓冲液 500 μL 中，加入 EDC 溶液（10 mg/mL）5 μL，涡旋 15 min。活化完成后，将上述混合物离心（21 000×*g*）10 min，以去除多余的 EDC ，所得沉淀用 MES 缓冲液 500 μL 重悬，加入不同的单克隆抗体（AFB_1 单抗和 ZEN 单抗）80 μg 后涡旋 2 h，然后加入 10 % BSA 溶液 55 μL，以封闭未反应的活性位点。混合物继续涡旋 2 h，再离心（21 000×*g*）

10 min，然后用 MES 缓冲液 500 μL 洗涤 1 次，将获得的铕荧光微球 - 单克隆抗体偶联物（Eu^{3+}- 单抗）混悬于硼酸盐缓冲液（50 mmol/L，pH 8.0）500 μL 中，于 4 ℃保存备用。同法对兔 IgG 进行荧光标记，得 Eu^{3+}- 兔 IgG 。

2.3 时间分辨荧光定量试纸条的构建

将 2 种包被抗原用 10 mmol/L PBS（含 3 % 甲醇，pH 7.4）调整至 0.1 mg/mL 的工作质量浓度，二抗采用相同的缓冲液稀释至 0.01 mg/mL。用切条机将包被抗原（T 线）及二抗（C 线）以 1.0 μL/cm 的喷量喷涂固定于反应膜表面，于 37 ℃干燥过夜。采用 10 mmol/L 三羟甲基氨基甲烷［tris（hydroxymethyl）aminomethane，Tris］缓冲液（含 10%蔗糖、2%海藻糖、2% BSA，pH 8.0）将 Eu^{3+}- 单抗和 Eu^{3+}- 兔 IgG 分别稀释至 8 μg/mL 和 1.6 μg/mL，混匀后按 2.5 μL/cm 的喷量均匀喷涂于结合垫表面，于 37 ℃干燥 2 h 。按层析方向依次组装样品垫、结合垫、反应膜及吸水垫，精密裁切成宽 4.0 mm 的试纸条，最终封装于塑料卡壳中，置干燥（相对湿度 <25%）、避光环境中保存，备用。

2.4 中药提取液制备

精密称取过筛（筛孔内径为 850 μm）后的中药样品粉末 1.0 g，置配有滤膜（孔径 15 ～ 20 μm）的提取过滤瓶中后，精密加入 60 % 甲醇 5 mL，涡旋 4 min，挤压小瓶将上清液过滤至 1.5 mL 微量离心管中，于 4 ℃保存，备用。

2.5 时间分辨荧光定量试纸条检测方法（以下简称“试纸条法”）

精密量取提取液 100 μL，与 PBST（即含 0.5 % 吐温 20 的 PBS，pH 7.4）500 μL 混匀；精密量取 100 μL，共 3 份，分别滴加在 3 个试纸条的样品垫上。于 37 ℃孵育 10 min，然后将试纸条插入荧光免疫分析仪，在 340 和 610 nm 处读取 T 线和 C 线的荧光信号值。

2.6 方法学验证

2.6.1 专属性试验

为验证试纸条法的专属性，对阴性样品和相应的加标中药（AFB_1 3 μg/kg 或 ZEN 50 μg/kg）进行提取和检测，每份样品设置 3 个平行样，每样使用 3 条试纸。根据检测线（T 线）和质控线（C 线）荧光强度之比，计算真菌毒素浓度。结果显示，7 种中药的阴性样品中 AFB_1 和 ZEN 的检测结果均低于方法定量下限，而相应的加标中药样品均可检出目标毒素（表 1），表明该方法在所考察基质中具有较好的阴性、阳性样品区分能力，可满足快速筛查需求。需要说明的是，不同中药基质在低浓度加标水平下可对荧光信号产生不同干扰，导致个别样品测定值出现偏高现象，因此专属性试验结果主要用于评价方法的区分能力，方法的准确度和精密度需经加标回收试验进一步验证。

表 1 专属性试验结果（n=3）

Tab.1 Results of Specificity Test（n=3）

中药品种	样品类型	T/C 线荧光强度比值		检测结果 /（μg·kg^{-1}）
		均值	RSD/%	
薏苡仁 [1)]	阴性	6.4（3.6）	3.6（1.8）	均未检出
	加标	4.5（2.8）	5.2（3.1）	2.6（51.7）
莲子	阴性	6.6	5.6	未检出
	加标	5.0	6.4	3.7
麦芽	阴性	6.4	2.4	未检出
	加标	4.4	7.7	4.6
地龙	阴性	6.5	3.5	未检出
	加标	5.3	4.6	3.5
酸枣仁	阴性	6.7	5.3	未检出
	加标	5.0	6.8	3.0
全蝎	阴性	5.8	1.1	未检出
	加标	4.8	7.1	5.2
桃仁	阴性	7.1	1.9	未检出
	加标	4.7	4.5	3.5

注 [1)]：薏苡仁阴性样品中分别加入了 AFB_1 和 ZEN，括号内外分别是 ZEN 和 AFB_1 的相应数据。

2.6.2 线性试验

向 60 % 甲醇 5 mL 中分别精密加入 AFB_1 乙腈标准溶液（含 AFB_1 0、1、2、5、10、20、40 ng），或 ZEN 乙腈标准溶液（含 ZEN 0 、50 、100 、150、200、400、600 ng），涡旋 4 min，同“**2.4**”项下方法操作。采用试纸条法检测系列标准溶液，各试纸的反应结果如图 2 所示。以真菌毒素的含量（c）为横坐标、T/C 线荧光强度比值（Y）为纵坐标作图，

采用四参数方程拟合曲线，所得的决定系数 R^2 均不低于 0.990（表 2），表明本方法线性良好。以 80% T/C 线比值对应的含量为定量下限，20%时对应的含量为定量上限，结果显示 AFB_1 和 ZEN 的定量下限均低于药典限量，证实本方法的灵敏度和检测范围能够满足监管要求。

2.6.3 准确度、精密度试验

精密称取薏苡仁、莲子、麦芽、地龙、酸枣仁、全蝎、桃仁阴性样品粉末 1.0 g，分别精密加入 AFB_1 乙腈标准溶液（含 AFB_1 3、5、10 ng）或 ZEN 乙腈标准溶液（含 ZEN 100、200、300 ng），每个梯度平行制备 3 份样品，按“**2.4**”项下方法操作，制备提取液。各提取液采用试纸条法检测，计算加标回收率，结果如表 3 所示。

精密称取薏苡仁等 7 种中药阴性样品粉末 1.0 g，分别精密加入 AFB_1 乙腈标准溶液（含 AFB_1 5 ng）；或精密称取薏苡仁阴性样品粉末 1.0 g，加入 ZEN 乙腈标准溶液（含 ZEN 250 ng）。各加标量样品平行制备 6 份，按“**2.4**”项下方法操作，制备提取液。各提取液采用试纸条法检测，计算方法精密度，结果如表 3 所示。

结果（表 3）显示，各样品的加标回收率为 85.82%～117.24%；RSD 在 15%以内，说明本方法具有良好的准确度和精密度。

表 2　AFB_1 和 ZEN 的标准曲线及其决定系数

Tab.2　Standard Curves of AFB_1 and ZEN and Their Correlation Coefficients

真菌毒素	标准曲线	R^2	定量下限 /（μg·kg^{-1}）	定量上限 /（μg·kg^{-1}）	药典限量 /（μg·kg^{-1}）
AFB_1	Y=6.303 9/(1+c/6.61)$^{1.08}$ − 0.207 7	0.992	1.8	20.6	5
ZEN	Y=3.190 0/(1+c/117.48)$^{1.43}$+ 0.385 0	0.995	49.3	531.9	500

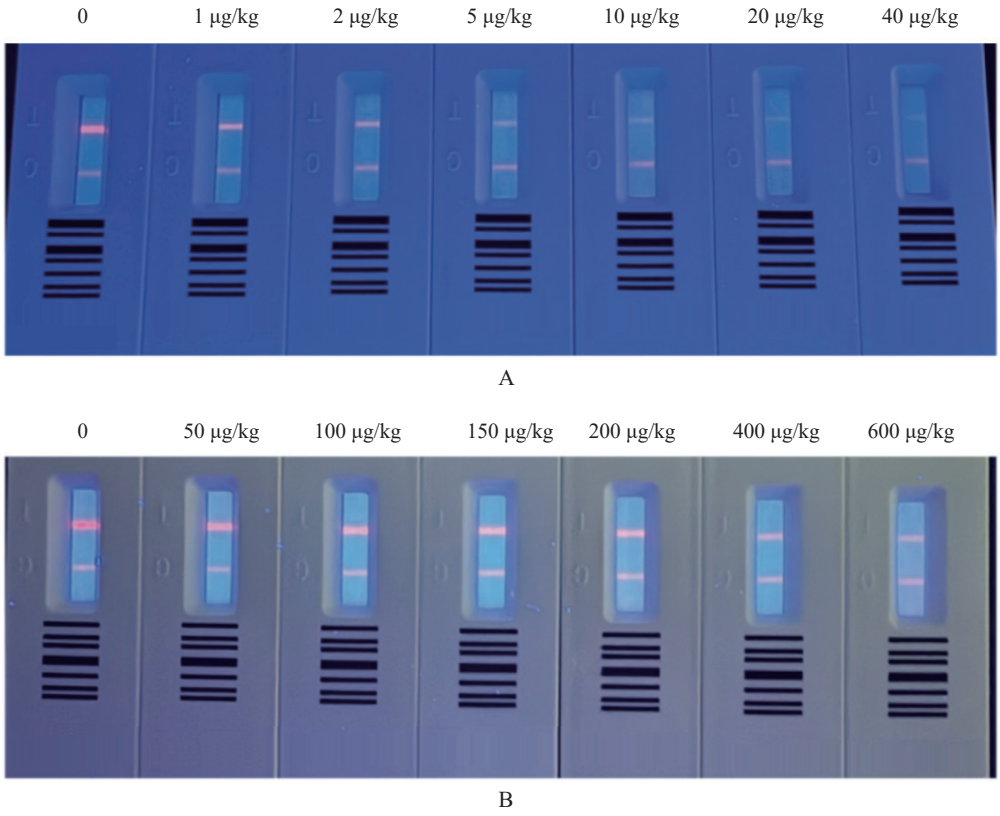


图 2　不同质量浓度 AFB_1（A）和 ZEN（B）标准溶液点样后的照片

Fig.2　Photographs of Spotted Standard Solutions of AFB_1（A）and ZEN（B）at Different Mass Concentrations

表 3 检测方法的回收率和精密度结果

Tab.3 Recovery and Precision Results of This Detection Method

中药品种	加标量[1]/(μg·kg^{-1})	加标回收率 /%(*n*=3)	精密度 RSD/%(*n*=6)
薏苡仁	3	85.82	—
	5	92.00	3.96
	10	109.26	—
	100(ZEN)	90.71	—
	200(ZEN)	95.08	—
	250(ZEN)	—	4.92
	300(ZEN)	97.03	—
莲子	3	113.45	—
	5	106.20	9.91
	10	101.48	—
麦芽	3	105.81	—
	5	97.91	9.31
	10	96.59	—
地龙	3	117.24	—
	5	116.98	12.47
	10	86.18	—
酸枣仁	3	99.09	—
	5	98.61	9.22
	10	94.36	—
全蝎	3	100.41	—
	5	105.70	8.43
	10	110.02	—
桃仁	3	115.50	—
	5	100.68	4.48
	10	107.62	—

注：[1] 未做标注的是 AFB_1。

2.6.4 重现性试验

为评价试纸条法的重现性，在 3 家通过中国合格评定国家认可委员会和检验检测机构资质认定的实验室中对试纸条法进行复核验证。精密称定薏苡仁、麦芽和莲子 AFB_1 阳性质控样品粉末和薏苡仁 ZEN 阳性质控样品粉末 1.0 g，每种中药包括 3 个质量浓度梯度，各 3 份。按“**2.4**”项下方法操作，制备提取液。结果（表 4）显示，AFB_1 的回收率均在 60%～120%，ZEN 的回收率均在 80%～110%，且 RSD 处于可接受范围内，表明试纸条法的重现性良好。

2.6.5 耐用性考察

以薏苡仁阴性空白分析质控样加标 AFB_1 5 μg/kg 或 ZEN 200 μg/kg 为考察对象，分别考察孵育时间（孵育温度固定为 37 ℃）和孵育温度（孵育时间固定为 10 min）对检测结果的影响。结果如表 5 所示，孵育时间在 10～12 min，或孵育温度在 36～38 ℃时，回收率和 RSD 都可接受，表明试纸条法具有良好的耐用性。

2.7 实际中药样品的检测结果

精密称取不同的中药样品粉末 1.0 g，各 3 份，按“**2.4**”和“**2.5**”项下方法操作。同时，采用 ChP 2025 年版四部通则 2351“真菌毒素测定法”中黄曲霉毒素测定法第一法（液相色谱法）和玉米赤霉烯酮测定法第一法（液相色谱法），检测各中药样品中的 AFs 和 ZEN 含量，对比本法和药典法测定结果的一致性。结果（表 6）显示，酸枣仁（序号 29）和延胡索（序号 37）中的 AFB_1 超过药典限量。其中，肉豆蔻（序号 22）和延胡索（序号 36）的 AFB_1 检测出现阳性偏差，这与基质成分对抗体的干扰有关。薏苡仁中的 ZEN 含量符合限量要求。上述检测结果说明试纸条法与药典标准方法的一致性较好，基本满足要求。

3 总结

现行 ChP 尚未收录基于侧流免疫层析的快速检测方法。本研究建立并评价了用于真菌毒素检测的荧光试纸条法，采用铕荧光微球标记真菌毒素特异性单克隆抗体，在提高检测灵敏度的同时一定程度上削弱了中药复杂成分带来的基质干扰。与 ChP 收载的真菌毒素检测方法相比，本法“一步提取—直接检测”的模式省去了色谱法中耗时、昂贵的免疫亲和柱净化步骤，避免了酶联免疫法的多次提取离心、氮气流吹干等烦琐操作和高毒性有机试剂的使用，可实现现场批量筛查的目的。

表 4　阳性质控样品的检测结果（*n*=3）

Tab.4　Test Results of Positive Quality Control Samples（*n*=3）

中药品种	真菌毒素	含量 /(μg·kg^{-1})	实验室 1		实验室 2		实验室 3		重现性 RSD/%
			回收率 /%	RSD/%	回收率 /%	RSD/%	回收率 /%	RSD/%	
薏苡仁	AFB_1	2.7	97.0	14.9	74.1	14.1	92.6	6.1	11.3
		4.3	102.6	11.6	93.0	18.3	93.0	10.3	4.7
		8.0	90.4	10.9	100.0	12.4	97.5	11.8	4.2
	ZEN	85.3	86.1	11.5	91.4	5.6	88.5	11.0	2.4
		203.6	92.2	8.0	86.0	6.8	86.0	6.4	3.3
		380.3	75.4	10.5	87.6	5.0	87.6	10.0	6.9
麦芽	AFB_1	2.6	102.7	6.6	115.4	9.2	103.9	10.5	5.3
		4.4	89.8	10.3	113.6	8.3	104.6	8.7	9.6
		8.2	96.2	7.1	85.4	11.6	91.5	8.6	4.9
莲子	AFB_1	2.3	96.5	14.6	87.0	8.7	100.0	17.6	5.8
		3.9	89.5	14.6	102.6	9.9	84.6	11.0	8.2
		7.2	99.2	10.6	97.2	6.1	91.7	7.6	3.3

表 5　孵育时间和孵育温度对回收率结果的影响（*n*=3）

Tab.5　Effects of Incubation Time and Temperature on the Recovery Results（*n*=3）

孵育时间 /min	AFB_1		ZEN		孵育温度 /℃	AFB_1		ZEN	
	回收率 /%	RSD/%	回收率 /%	RSD/%		回收率 /%	RSD/%	回收率 /%	RSD/%
8	87.4	9.0	104.3	1.6	35	103.8	13.8	117.0	5.2
9	105.6	8.9	114.2	3.1	36	98.9	3.8	101.6	6.9
10	96.5	10.3	102.9	10.1	37	91.6	5.7	89.5	11.5
11	99.5	3.9	91.4	12.5	38	98.5	12.1	90.7	12.4
12	96.1	4.1	90.7	6.8	39	80.6	6.6	75.5	5.1

表 6　实际样品的检测结果（*n*=3）

Tab.6　Test Results of Real Samples（*n*=3）

序号	中药品种	批号	AFB_1 /(μg·kg^{-1})		序号	中药品种	批号	AFB_1 /(μg·kg^{-1})		序号	中药品种	批号	AFB_1 /(μg·kg^{-1})		ZEN /(μg·kg^{-1})	
			试纸条法	HPLC 法				试纸条法	HPLC 法				试纸条法	HPLC 法	试纸条法	HPLC 法
1	槟榔	231101	0.5	0.2	15	六神曲	240201	0.6	0.2	29	酸枣仁	240403	10.8	9.3	—	—
2	陈皮	240105005	0	0	16	六神曲	240202	1.1	1.3	30	桃仁	20210601	0	0	—	—
3	陈皮	2405001	0	0	17	全蝎	230601	0	0	31	桃仁	2307123	0	0	—	—
4	陈皮	2404008	0	0	18	全蝎	20240201	0.2	0	32	桃仁	240201	0	0	—	—
5	淡豆豉	240401	0	0	19	全蝎	Y231201	0.6	0	33	蜈蚣	240401	0.4	0	—	—
6	淡豆豉	2404003	0	0	20	全蝎	YP06-2401330	1	0	34	蜈蚣	240502	0	0	—	—
7	淡豆豉	240101	0	0	21	肉豆蔻	231101	0	0	35	蜈蚣	A240426	1.5	0	—	—
8	淡豆豉	2304002-3	0	0	22	肉豆蔻	240501	10.6	0	36	延胡索	20240501	33.9	0	—	—
9	地龙	230301	0	0	23	肉豆蔻	2404001	0	0	37	延胡索	2406001	22.0	33.6	—	—
10	地龙	240201	0	0	24	肉豆蔻	C1442210002	0	0	38	薏苡仁	231202	0	0	19.5	0
11	地龙	240401	0.2	0	25	神曲	/	0.3	0.2	39	薏苡仁	240401	0	0	22.5	34
12	蜂房	C0432403001	0	0	26	神曲	/	0.2	0.2	40	薏苡仁	240601	0	0	282.5	250
13	蜂房	221201	1.4	0	27	酸枣仁	231101	0	0	41	远志	13624003	0	0	—	—
14	六神曲	230502	0.1	0.2	28	酸枣仁	2401001	0	0	42	远志	Z2304002	2.7	0	—	—

依据 ChP(2025 年）四部通则 9101“药品质量分析方法验证指导原则”对荧光试纸条法进行了方法学验证，结果主要指标均满足指导原则的要求。与 ChP 现有方法相比，本法检验时间和成本大幅降低，操作简单，更适合现场快速筛查，具有重要的应用价值，对保障中药质量安全有积极意义。

参考文献：

[1] 刘丽娜, 李海亮, 李耀磊, 等. 中药真菌毒素质量控制概况、限量标准制定及有关问题的思考[J]. 中草药, 2023, **54** (19): 6197-6207.

[2] 朱渊, 陆益红, 王俊虎. 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定建曲中的7个真菌毒素[J]. 药物分析杂志, 2024, **44**(3): 442-449.

[3] 陈俊妃, 栗建明, 谢思敏, 等. UPLC-MS/MS法同时测定中成药妇康片中11种真菌毒素[J]. 今日药学, 2025, **35**(8): 593-597.

[4] 南铁贵, 洪小栩, 徐昕怡, 等. 中药黄曲霉毒素测定酶联免疫吸附法的研制[J]. 中国中药杂志, 2020, **45**(17): 4158-4162.

[5] 范妙璇, 傅欣彤, 陈奕菲, 等. 三线定量胶体金免疫亲和试纸法定量中药饮片中黄曲霉毒素 B1 及 B1 、B2 、G1 、G2 总量的研究[J]. 中草药, 2021, **52**(17): 5275-5286.

[6] 许源升, 刘姣, 张恬, 等. 酶联免疫吸附测定法用于中药质量控制的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, **30**(4): 12-20.

[7] 王镐, 秦晓雅, 周恒, 等. 中药中真菌毒素快速检测技术研究进展及应用[J]. 分析测试学报, 2023, **42**(8): 1047-1055.

[8] Sadeghi P, Sohrabi H, Majidi M R, *et al*. Mycotoxins detection in food samples through lateral flow assays(LFAs): an update for status and prospect [J]. *TrAC — Trends Anal Chem*, 2024, **176**: 117722.

[9] Huang X, Huang T, Li X, *et al*. Flower-like gold nanoparticles-based immunochromatographic test strip for rapid simultaneous detection of fumonisin B1 and deoxynivalenol in Chinese traditional medicine [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, **177**: 112895.

[10] Fan Z Y, Hu L W, Ji Y, *et al*. Construction of a TRFIC strip for rapid and sensitive detection of *Ralstonia solanacearum* [J]. *Talanta,* 2022, **239**: 123139.

[11] Ji Y, Hu L W, Xiong W, *et al*. Highly sensitive time-resolved fluoroimmunoassay for the quantitative onsite detection of *Alternaria longipes* in tobacco [J]. *J Appl Microbiol*, 2022, **132**(2): 1250-1259.

[12] Ji Y, Guo Y S, Deng H M, *et al*. Rapid diagnosis of *Tobacco mosaic* virus in tobacco using time-resolved fluorescence immunoassay [J]. *Food Agric Immunol*, 2023, **34**(1): 10-20.

[13] Fan Z Y, Cai X J, Xu X J, *et al*. Development of a rapid time-resolved fluorescence immunoassay for cannabidiol quantification in *Cannabis sativa* L [J]. *Ind Crop Prod*, 2025, **226**: 120626.