

9015 兽用中药中真菌毒素测定指导原则

真菌毒素（mycotoxin）是真菌产生的次级代谢产物。某些中药在种植、储存等过程中易产生一些真菌毒素，如黄曲霉毒素、赭曲霉毒素、杂色曲霉毒素主要由曲霉属真菌产生；伏马毒素、T-2毒素、呕吐毒素（脱氧雪腐镰刀菌烯醇）、玉米赤霉烯酮主要由镰刀菌属真菌产生；展青霉素、桔青霉素、霉酚酸主要由青霉属真菌产生；田麦角碱、麦角生碱、麦角克碱等麦角碱类真菌毒素主要由麦角菌属真菌产生；链格孢酚、链格孢酚甲醚、腾毒素等链格孢霉类真菌毒素主要由链格孢属真菌产生。呕吐毒素、玉米赤霉烯酮和展青霉素等，对动物具有毒性，有必要加强相关真菌毒素的控制。

本指导原则用于中药中真菌毒素的测定。

此外，植物对真菌毒素进行糖苷结合等代谢产生隐蔽型真菌毒素。隐蔽型真菌毒素进入人体或动物体内后，经代谢生成原型真菌毒素，可产生同等或更高毒性，如玉米赤霉烯酮-14-葡萄糖苷和脱氧雪腐镰刀菌烯醇-3-葡萄糖苷。

由于中药材在种植、加工、贮存及流通等过程存在被真菌及其产生的毒素污染的风险，为实现对中药中真菌毒素的准确测定，制定本指导原则。

基本原则

~~1. 中药中真菌毒素的分类~~ 真菌毒素是由各种各样的真菌菌核所产生的。曲霉属、镰刀菌属和青霉属包括了绝大多数的产毒真菌。与曲霉属的相关真菌毒素主要包括黄曲霉毒素、赭曲霉毒素A等；与镰刀菌属相关的真菌毒素主要包括玉米赤霉烯酮、T-2毒素、呕吐毒素（脱氧雪腐镰刀菌烯醇）和伏马毒素等；与青霉属相关的真菌毒素主要包括展青霉素和桔青霉素等。

一、识别中药中真菌毒素污染的风险并进行监控 ~~2. 监控品种~~

由于各类真菌毒素的产生毒性的机理不同，容易受真菌毒素污染的对象也有所不同。因此，应选取容易受污染的中药品种进行相应毒素检测方法的开发。粮谷类、种子类、油性成分多的品种、块茎类药材应注意黄曲霉毒素的检测监控，如柏子仁、莲子、延胡索等；养殖动物类药材应注意黄曲霉毒素、呕吐毒素、伏马毒素的监控，如土鳖虫、九香虫等；根及根茎类、香辛果实种子类药材应注意赭曲霉毒素、伏马毒素及链格孢霉类真菌毒素的监控，如黄芪、甘草、肉豆蔻等；与粮谷类有类似基质相似的中药材应注意赭曲霉毒素、呕吐毒素和、玉米赤霉烯酮类、麦角碱类真菌毒素的检测监控，如麦芽、淡豆豉、薏苡仁、白扁豆等；酸性果实类中药材应注意展青霉素的检测监控，如枸杞子、乌梅、酸枣仁、山楂等。处方中含有易污染的药材以及生粉投料的中成药品种应注意相关真菌毒素的检测。

使用发酵工艺生产加工的药材应注意开展相应真菌毒素的控制，如红曲应注意桔青霉素的监控。由易受真菌毒素污染药材品种加工的中药饮片、提取物亦应注意相关真菌毒素的监控。处方中含有易受真菌毒素污染的药材或以生药粉投料的成方制剂和单味制剂品种

应注意相关真菌毒素的监控，并关注贮存期间真菌毒素污染水平的动态变化。

二、根据不同测定需求采用适当的测定方法 ~~3.测定方法~~

真菌毒素的前处理方法包括液液萃取、固相萃取、免疫亲和净化等多种方式，可根据真菌毒素的理化性质、待测样品的基质类型特点等进行前处理方法的研究开发。

~~目前真菌毒素的检测测定方法主要有液相色谱法、液相色谱-质谱联用法（包括液相色谱-串联三重四极杆质谱法、液相色谱-串联高分辨质谱法等）、薄层色谱法、酶联免疫测定法、胶体金免疫层析色谱法等。高效液相色谱法和液相色谱质谱联用法等。~~薄层色谱法主要用于初筛，酶联免疫测定法适宜大批样品的集中检测，胶体金免疫层析方法适合现场单个或少量样品即时检测。高效液相色谱法专属性较强，重现性较好，假阳性率低。液相色谱质谱联用法可以实现多成分同时检测，解决色谱分离不完全及假阳性的情况。本指导原则主要提供了高效液相色谱法和液相色谱质谱联用法的参考方法。

液相色谱法通常联合免疫亲和净化等样品前处理方法，准确度高、重现性好、灵敏度高、专属性强，可用于单个（类）真菌毒素的定量检测。液相色谱-质谱联用法可实现对多成分同时定性定量检测，灵敏度高、准确度高、专属性强，可用于多个（类）真菌毒素的定性定量检测和广谱筛查。薄层色谱法专属性相对较差，灵敏度较低，操作较为繁琐，可用于单个真菌毒素的初筛。酶联免疫法和胶体金免疫色谱法均属于快速检测方法，灵敏度高，其中酶联免疫法具有批量分析优势，胶体金免疫色谱法操作简便快捷，但两种方法均存在一定的假阳性与假阴性概论，目前主要用于真菌毒素现场快筛。

在建立中药中真菌毒素的测定方法时，应符合兽药中兽药质量标准分析方法验证指导原则（附录指导原则 9011）。

4三、限值拟定

真菌毒素的限量可结合毒性数据、国内外相关行业的限度标准以及中药的用法用量进行拟定。

基本内容

一、高效液相色谱法单个（类）真菌毒素测定

高效液相色谱法较多应用于~~包括单一成分~~单个真菌毒素的分析测定或者同单类真菌毒素中的多个成分分析测定。

1. 色谱条件与系统适用性试验测定方法

应选择准确、专属的方法，方法检测灵敏度应满足限量标准要求。首选液相色谱法或液相色谱-质谱联用法。

液相色谱法可采用荧光检测器或者紫外-可见分光检测器，应根据待测真菌毒素的理化性质选择适宜的固定相和流动相，多成分测定时可采用流动相梯度洗脱，以达到良好分离效果。固定相常用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，可根据情况选择小粒径或较长的色谱柱以提高分离度。常用的流动相为不同比例的甲醇-水溶液和乙腈-水溶液。如桔青霉素可以乙腈-水（35:65）（用磷酸调节 pH 值至 2.3）为流动相，荧光检测器（激发波长 331nm 或 350nm，发射波长 500nm）进行测定。~~以荧光检测器或者二极管阵列检测器进行测定。~~

液相色谱-质谱联用法可采用液相色谱-串联三重四极杆质谱进行测定。应选择多对特征性的离子对通道，注意待测毒素在质谱中的采集模式，以提高离子化效率，并对质谱检测参数进行优化达到最佳。如桔青霉素可以含 0.4% 甲酸和 2mmol/L 甲酸铵的甲醇为流动相 A，以含 0.4% 甲酸和 2mmol/L 甲酸铵水溶液为流动相 B，按下列梯度洗脱：0~2 分钟，20%A；2~12 分钟，20%→80%A；12~13 分钟，80%→20%A；电喷雾离子源(ESI)正离子模式下选择质荷比 (m/z) 251.2→233.1 作为定量离子对，(m/z) 251.2→205.1 作为定性离子对进行检测。如赭曲霉毒素 A 可以乙腈-2%冰醋酸溶液 (49:51) 为流动相，荧光检测器检测（激发波长 333nm，发射波长 477nm）进行测定；呕吐毒素（脱氧雪腐镰刀菌烯醇）可以甲醇-水 (20:80) 为流动相，紫外检测器（检测波长为 220nm）进行测定；玉米赤霉烯酮可以乙腈-水 (50:50) 为流动相，荧光检测器检测（激发波长 232nm，发射波长 460nm）进行测定。

2. 对照品溶液的制备

应根据各种真菌毒素的理化性质，以保证溶解性和稳定性为原则，选择合适的溶剂溶解并配制合适的浓度作为贮备液。贮备液通常于 -20℃ 以下保存，并定期考察稳定性。常用的溶剂为甲醇、乙腈。对照品贮备液一般可于冰箱冷藏保存 1~3 个月。临用前需采用合适的溶剂将贮备液稀释成合适浓度的工作标准曲线对照品溶液，一般选用与供试品溶液相似比例的有机溶剂进行配制，如桔青霉素可采用 70% 甲醇配制。

采用液相色谱-质谱联用法时，一般应采用空白基质溶液（即不含待测真菌毒素的同类型样品按供试品溶液制备方法制得的溶液）进行对照品溶液配制。若待测毒素基质效应在 ±20% 以内，可采用合适的溶剂配制对照品溶液。如赭曲霉毒素 A、玉米赤霉烯酮可用甲醇溶解稀释；呕吐毒素（脱氧雪腐镰刀菌烯醇）可用 50% 的甲醇溶液溶解稀释；展青霉素可用 2% 乙腈溶液（用乙酸调节 pH 值至 2）溶解稀释。

3. 供试品溶液的制备

真菌毒素待测样品应置于阴凉干燥处保存，并尽快测定。真菌毒素在样品中的污染存在不均匀性，测定时按药材和饮片取样法(通则 0201)取样，并将样品全部粉碎后充分混匀。

应采用快速、简单、高效的提取方式进行待测真菌毒素的提取，常见的提取方式有振摇、超声以及高速匀浆等。提取液一般需进一步净化富集，如采用免疫亲和柱或者 HLB 固相萃取小柱对待测真菌毒素进行吸附与洗脱，其中免疫亲和柱由于可专属性吸附待测真菌毒素，净化效果较好，宜作为首选；HLB 固相萃取小柱需通过调整洗脱溶剂极性，分段进行待测物的洗脱与收集，可用于多成分的提取净化。其他毒素类型净化柱可用于吸附样液中的脂类、蛋白类等杂质，操作简便，但净化效果相对较差，需进一步考察。如桔青霉素可采用 70% 甲醇进行提取，提取液再采用相应的免疫亲和柱进行净化。

如赭曲霉毒素 A、呕吐毒素、玉米赤霉烯酮可分别采用 80% 甲醇溶液、水、90% 乙腈溶液进行提取，提取液再分别采用相应的免疫亲和柱进行净化。展青霉素可用乙腈水溶液进行提取后，用毒素净化柱进行处理。

4. 样品测定及结果判断

真菌毒素的测定一般采用标准曲线法，当供试品色谱中出现与对照品保留时间相同的色谱峰时（当采用二极管阵列检测器时，其紫外-可见吸收光谱与对照品光谱也应匹配），可

基本判断检出相应的毒素，通过标准曲线计算相应的含量。

样品测定一般需同时进行添加回收实验**准确度**和灵敏度实验**考察**，其中加样回收率一般应在 70%~120%之间，在满足重复性要求的情况下，部分真菌毒素回收率可放宽至 60%~130%，其他相关要求可参考兽用中药质量标准分析方法验证指导原则（指导原则 9011）。如有可能，应使用有证标准物质进行质量控制。中药基质复杂，提取效率各不相同，必要时可**选择加入**同位素内标进行校正，**同时应对内标物的浓度进行考察**。

当液相色谱法、酶联免疫法等检测结果为阳性或可疑时，可采用液相色谱-质谱联用法进行确证。采用液相色谱-串联三重四极杆质谱法时，供试品色谱中如检出与对照品保留时间相同的色谱峰，并且在扣除背景后的质谱图中，所选择的 2 对监测离子对均出现，供试品溶液的监测离子对峰面积比与浓度相当的对照品溶液的监测离子对峰面积比进行比较时，相对偏差不超过下列规定的范围，则可判定样品中存在该真菌毒素：相对比例>50%，允许±20%偏差；相对比例 20%~50%，允许±25%偏差；相对比例 10%~20%，允许±30%偏差；相对比例≤10%，允许±50%偏差。

采用液相色谱-串联高分辨质谱法时，供试品色谱中如检出与对照品保留时间相同的色谱峰，并且与对照品母离子和碎片离子精确质荷比偏差不超过百万分之五(精确质荷比小于 200 的偏差小于 1mDa)，则可判定样品中存在该真菌毒素。

5. **注意事项**

~~应尽量在每针进样后以高比例有机相冲洗色谱柱，在色谱柱前加预柱或保护柱，以延长色谱柱寿命。~~

~~应注意本法测定时出现的假阳性情况或色谱图有干扰时，应通过色谱-质谱联用法予以确认。~~

~~在本方法未检出毒素的情况下，也应注意假阴性情况，结合方法检测限，综合判断，必要时情况下应采用更为灵敏的方法进行检测。~~

二、高效液相色谱-质谱联用法高通量真菌毒素测定

包括不同种类真菌毒素的多成分测定或高通量筛查。当出现基质干扰或含量较低难以采用高效液相色谱法准确测定时，应采用高效液相色谱-质谱联用法测定，该方法还可用于不同种类的真菌毒素同时测定，~~实现真菌毒素的高通量快速筛选及含量测定。~~

1. 色谱条件与系统适用性试验检测方法

应选择可同时测定多种化学成分、灵敏、准确、专属的方法。首选液相色谱-质谱联用法，如液相色谱-串联三重四极杆质谱法或液相色谱-串联高分辨质谱法。

~~流动相组成的选择应注意待测毒素在质谱中的采集模式，以提高离子化率。应根据仪器的具体情况，选择最佳的离子采集模式，并对质谱检测参数进行优化达到最佳。采用三重串联四极杆质谱作为检测器时，应选择多对特征性的离子对通道，并针对性优化设定最佳碰撞能量等。~~**根据待测真菌毒素的离子化效率，选择合适的离子采集模式，可使用正负离子两种采集模式结合的方式。根据待测真菌毒素的理化性质，选择适宜的固定相、流动相及梯度，以保证良好的分离效果。为提高待测真菌毒素的响应强度，可添加甲酸、甲酸铵、乙酸、乙酸铵等促离子化试剂，但应对添加浓度进行优化。应对质谱检测参数进行优化达到**

最佳。

采用三重四极杆质谱仪作为检测器时，可选择多对特征性的离子对通道，经过多种中药基质考察后，选取干扰较少的离子对通道，并针对性优化设定最佳去簇电压和碰撞能量等重要质谱参数。采用高分辨质谱作为检测器时，应先建立待测真菌毒素的完整碎片信息的谱库。如进行真菌毒素高通量筛查时可以采用正负离子采集模式。正离子模式参考流动相及洗脱梯度：以 0.4% 甲酸溶液为流动相 A，以甲醇为流动相 B，按下列梯度洗脱：0~11 分钟，80%→45%A；11~15 分钟，45%→0A；15~21 分钟，0→80%A。负离子模式参考流动相及洗脱梯度：以水为流动相 A，以乙腈为流动相 B，按下列梯度洗脱：0~13 分钟，90%→40%A；13~15 分钟，40%→0A；15~18 分钟，0→90%A。部分真菌毒素的质谱监测离子对、碰撞电压及检出限参考值见表 1。如赭曲霉毒素 A 可以甲醇为流动相 A，以 0.01% 甲酸溶液为流动相 B，按下列梯度洗脱：0~5 分钟，A：55%→90%；5~7 分钟，A：90%；7~7.1 分钟，A：90%→55%；7.1~10 分钟，A：55%。电喷雾离子源（ESI）负离子模式下选择质荷比（ m/z ）402.1→358.1 作为定量离子对，402.1→211.1 作为定性离子对进行检测。呕吐毒素可以甲醇为流动相 A，以水为流动相 B，按下列梯度洗脱：0~5 分钟，A：10%→40%；5~6 分钟，A：40%→90%；6~7 分钟，A：90%；7~7.1 分钟，A：90%→10%；7.1~10 分钟，A：10%。电喷雾离子源（ESI）负离子模式下选择质荷比（ m/z ）295.1→265.1 作为定量离子对，295.1→138.0 作为定性离子对进行检测。玉米赤霉烯酮可以甲醇为流动相 A，以 0.01% 甲酸溶液为流动相 B，按下列梯度洗脱：0~5 分钟，A：55%→90%；5~7 分钟，A：90%；7~7.1 分钟，A：90%→55%；7.1~10 分钟，A：55%。电喷雾离子源（ESI）负离子模式下选择质荷比（ m/z ）317.1→174.9 作为定量离子对，317.1→130.8 作为定性离子对进行检测。展青霉素可以乙腈为流动相 A，以水为流动相 B，按下列梯度洗脱：0~4 分钟，A：3%；4~4.2 分钟，A：3%→40%；4.2~9 分钟，A：40%；9~9.5 分钟，A：40%→3%；9.5~15 分钟，A：3%。电喷雾离子源（ESI）负离子模式下选择质荷比（ m/z ）153.1→80.9 作为定量离子对，153.1→109.0 作为定性离子对进行检测。

同时测定黄曲霉毒素 G₂、G₁、B₂、B₁、赭曲霉毒素 A、呕吐毒素、玉米赤霉烯酮、伏马毒素 B₁、B₂ 及 T-2 毒素时，可以乙腈-甲醇（1:1）为流动相 A，以 0.01% 甲酸溶液为流动相 B，按下列梯度洗脱：0~2 分钟，A：5%；2~2.01 分钟，A：5%→40%；2.01~5 分钟，A：40%→50%；5~7 分钟，A：50%→55%；7~10 分钟，A：55%→90%；10~10.01 分钟，A：90%→5%；10.01~13 分钟，A：5%。采用三重四极杆串联质谱仪作为检测器，电喷雾离子源（ESI），黄曲霉毒素 G₂、G₁、B₂、B₁、伏马毒素 B₁、B₂ 及 T-2 毒素为正离子采集模式，赭曲霉毒素 A、呕吐毒素、玉米赤霉烯酮为负离子采集模式，化合物质谱参数见下表

表 1 部分真菌毒素的质谱监测离子对、碰撞电压及检出限参考值

编号	中文名	英文名	母离子(m/z)	子离子 (m/z)	CE (V)	检出限参考值 (μg/kg) *
1	黄曲霉毒素 G ₂ B ₁	Aflatoxin G ₂ B ₁	313.1331.1	241.0313.1	5033	0.5
			313.1331.1	285.1245.1	40	
2	黄曲霉毒素 G ₁ B ₂	Aflatoxin G ₁ B ₂	315.1329.1	287.1243.1	35	0.5
			315.1329.1	259.1311.1	4030	

编号	中文名	英文名	母离子(m/z)	子离子 (m/z)	CE (V)	检出限参考值 (µg/kg) *
3	黄曲霉毒素 B ₂ G ₁	Aflatoxin B ₂ G ₁	329.1315.1	243.1259.1	35	0.5
			329.1315.1	311.1287.1	45	
			331.1313.1	245.1241.0	40	
4	黄曲霉毒素 B ₄ G ₂	Aflatoxin B ₄ G ₂	331.1313.1	313.1285.1	38	0.5
			331.1313.1	313.1285.1	38	
			331.1313.1	313.1285.1	38	
5	黄曲霉毒素 M ₁	Aflatoxin M ₁	329.1	273.1	33	0.5
			329.1	259.2	33	
6	黄曲霉毒素 M ₂	Aflatoxin M ₂	331.1	273.1	47	3.1
			331.1	259.3	47	
7	赭曲霉毒素 A	Ochratoxin A	404.1	239.0	34	0.5
			404.1	102.1	93	
8	赭曲霉毒素 B	Ochratoxin B	370.0	205.2	47	0.5
			370.0	324.4	18	
9	赭曲霉毒素 C	Ochratoxin C	432.1	239.1	37	0.5
			432.1	358.0	23	
10	伏马毒素 B ₁	Fumonisin B ₁	722.43	334.3352.4	55	3.1
			722.43	352.3334.4	49	
			722.43	334.4	49	
11	伏马毒素 B ₂	Fumonisin B ₂	706.4	336.3	49	3.1
			706.4	318.3	52	
			706.4	318.3	52	
12	伏马毒素 B ₃	Fumonisin B ₃	706.6	336.3	47	12.5
			706.6	688.5	47	
			706.6	688.5	47	
13	去环氧-脱氧雪腐镰刀菌烯醇	Deepoxy-deoxynivalenol	281.1	215.1	18	12.5
			281.1	233.1	16	
			281.1	233.1	16	
14	脱氧雪腐镰刀菌烯醇	Deoxynivalenol	297.1	249.1	17	6.2
			297.1	231.1	18	
			297.1	231.1	18	
15	田麦角碱	Agroclavine	239.1	183.1	33	0.5
			239.1	168.2	36	
16	麦角克碱	Ergocristine	610.3	268.1	40	0.5
			610.3	223.1	40	
17	链格孢酚	Alternariol	259.0	213.0	36	3.1
			259.0	185.2	45	
18	链格孢酚甲醚	Alternariol-methylether	273.1	230.1	40	12.5
			273.1	199.2	40	
19	桔青霉素	Citrinin	251.2	233.1	25	0.5
			251.2	205.1	35	
20	黄绿青霉素	Citreoviridin	403.2	139.0	30	3.1
			403.2	297.1	20	
21	蛇形菌素	Diacetoxyscirpenol	384.2	307.3	15	0.5
			384.2	229.1	20	
22	镰刀菌烯酮	Fusarenon X	355.1	247.0	30	3.1
			355.1	175.1	20	
23	HT-2 毒素	HT-2 toxin	442.2	263.1	17	6.2
			442.2	215.1	19	
24	T-2 毒素	T-2 toxin	484.3489.2	305.1245.3	19	0.6

编号	中文名	英文名	母离子(<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	CE (V)	检出限参考值 (μg/kg)*
825	杂色曲霉毒素赭曲霉毒素 A	Sterigmatocystin	484.3489.2	245.1387.2	1829	0.5
			325.1402.1	281.1358.1	48-28	
			325.1402.1	310.1211.0	35-38	
926	霉酚酸呕吐毒素	Mycophenolic Acid	321.3295.1	207.1265.1	25-15	0.5
			321.3295.1	302.9138.0	12-25	
27	展青霉素	Patulin	153.0	109.0	-10	12.5
			153.0	81.0	-18	
28	α -玉米赤霉醇	α -zearalanol	321.1	277.1	-30	1.2
			321.1	303.4	-28	
29	α -玉米赤霉烯醇	α -zearalenol	319.1	173.8	-30	0.5
			319.1	160.2	-46	
30	β -玉米赤霉醇	β -zearalanol	321.1	303.4	-31	1.2
			321.1	259.1	-34	
31	β -玉米赤霉烯醇	β -zearalenol	319.1	275.1	-29	0.5
			319.1	160.1	-40	
32	玉米赤霉酮	Zearalanone	319.1	205.3	-29	0.5
			319.1	233.3	-29	
4033	玉米赤霉烯酮	Zearalenone	317.12	174.9175.1	-32	0.5
			317.12	131.2	-38	

注：*不同基质、不同仪器的检出限有差异，表中所列检出限仅供参考。

2. 对照品溶液的制备

可参考“一、单个（类）真菌毒素测定”项下对照品溶液的制备方法配制单个真菌毒素对照品的贮备液，通常于 - 20℃ 以下保存，并定期考察稳定性。

混合对照品溶液一般应于临用前配制。可参考高效液相色谱法项下对照品溶液的制备方法配制成不同浓度的系列工作液。同时测定黄曲霉毒素 G₂、G₁、B₂、B₁、赭曲霉毒素 A、呕吐毒素、玉米赤霉烯酮、伏马毒素 B₁、B₂ 及 T-2 毒素时，可用 50% 乙腈进行配制。

测定时可根据样品实际情况，采用空白基质溶液（即不含待测真菌毒素的同种样品按供试品溶液制备方法制得的溶液）进行配制对照品溶液。

3. 供试品溶液的制备

不同真菌毒素结构和理化性质各不相同，且污染量属于痕量范围，而中药材基质成分复杂，可能产生明显的基质效应影响筛查方法的准确度与灵敏度。应对提取和净化过程进行深入细致的研究。可参考高效液相色谱法项下，适当稀释至合适浓度，作为供试品溶液。同时测定黄曲霉毒素 G₂、G₁、B₂、B₁、赭曲霉毒素 A、呕吐毒素、玉米赤霉烯酮、伏马毒素 B₁、B₂ 及 T-2 毒素时，可将样品用 70% 甲醇溶液超声提取，提取液经 HLB 柱净化。

提取方法应考虑到总体提取效率及提取溶剂对待测真菌毒素稳定性的影响；净化方法可选用固相萃取或分散固相萃取技术进行，可根据中药基质的特性采用不同净化填料。如可采用适当浓度的乙腈溶液或其他缓冲液体系进行提取，采用 N-丙基乙二胺、石墨炭黑、硅胶和 C₁₈ 等混合填料净化。

4. 内标物质的选择

由于中药基质复杂，不同基质样品提取效率各不相同，必要时可选择同位素内标对基质效应进行校正，同时应对内标物的浓度进行考察。

5. 样品测定及结果判断

参考“单个(类)真菌毒素测定”项下。液相色谱-串联三重四极杆质谱法或液相色谱-串联高分辨质谱法可作为阳性样品互相验证方法。

供试品色谱中如检出与对照品保留时间相同的色谱峰，并且所选择的多对子离子的质荷比一致，供试品溶液的定性离子相对丰度比与浓度相当的对照品溶液的定性离子相对丰度比进行比较时，相对偏差不超过下列规定的范围，则可判定样品中存在该组分：相对比例 $\geq 50\%$ ，允许 $\pm 20\%$ 偏差；相对比例 $20\% \sim 50\%$ ，允许 $\pm 25\%$ 偏差；相对比例 $10\% \sim 20\%$ ，允许 $\pm 30\%$ 偏差；相对比例 $\leq 10\%$ ，允许 $\pm 50\%$ 偏差。

一般应采用标准曲线法测定样品中各真菌毒素的含量。

6. 三、注意事项

采用液相色谱法检测过程中，可在色谱柱前加预柱，在每完成一次测定后以高比例有机相冲洗色谱柱，以延长色谱柱寿命。

液相色谱法测定时，出现基质干扰或含量较低难以采用液相色谱法准确测定时，应采用液相色谱-质谱联用法测定。在未检出真菌毒素的情况下，也应注意假阴性情况，结合方法检出限，综合判断，必要时通过灵敏度更高的方法进行检测。

液相色谱-质谱联用法作为定性确证方法，可采用多种不同原理的质谱作为检测技术，但均应保证结果的准确可靠。

采用液相色谱-质谱联用法检测时，应注意真菌毒素适宜的进样浓度，避免交叉污染或对系统造成残留污染，注意采用空白试剂、空白基质、有证标准物质等进行过程质量控制。

进行真菌毒素检测时，应注意人员的安全防护，并防止污染环境。