

# 分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定野生菌中6种鹅膏毒肽和鬼笔毒肽毒素

薛康<sup>1,2</sup>, 胡江涛<sup>1,2\*</sup>, 陈佳玥<sup>1,3</sup>, 华焱<sup>1</sup>, 马丽<sup>1</sup>, 吴雪梅<sup>1</sup>, 徐畅<sup>1</sup>,  
张格<sup>1</sup>, 肖宇<sup>1</sup>, 俞凌云<sup>1,2</sup>

(1. 成都海关技术中心, 成都 610041; 2. 食品安全检测四川省重点实验室, 成都 610041;  
3. 四川大学华西公共卫生学院, 成都 610041)

**摘要: 目的** 建立分散固相萃取(dispersive solid-phase extraction, dSPE)前处理方法和超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)快速测定野生菌中6种鹅膏毒肽类和鬼笔毒肽类毒素的含量的检测方法。**方法** 样品经低温干燥, 用甲酸酸化的甲醇超声萃取, 采用石墨化碳黑(graphitized carbon black, GBC)、C<sub>18</sub>和N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA)吸附净化, 采用UPLC-MS/MS进行检测。**结果** 6种毒肽在质量浓度20~1000 μg/kg范围内具有良好的线性关系, 相关系数大于0.998。方法检出限为20 μg/kg, 定量限为50 μg/kg。在加标水平为50、250、500 μg/kg时, 方法的平均回收率为78.9%~115.5%, 相对标准偏差为1.6%~6.8% (n=3)。**结论** 本方法准确可靠、可操作性强, 适用于野生菌中6种毒肽的检测。

**关键词:** 野生菌; 鹅膏毒肽; 鬼笔毒肽; 分散固相萃取法; 超高效液相色谱-串联质谱法

## Simultaneous determination of 6 kinds of amatoxins and phallotoxins in wild mushrooms by dispersive solid-phase extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

XUE Kang<sup>1,2</sup>, HU Jiang-Tao<sup>1,2\*</sup>, CHEN Jia-Yue<sup>1,3</sup>, HUA Yan<sup>1</sup>, MA Li<sup>1</sup>, WU Xue-Mei<sup>1</sup>, XU Chang<sup>1</sup>,  
ZHANG Ge<sup>1</sup>, XIAO Yu<sup>1</sup>, YU Ling-Yun<sup>1,2</sup>

(1. Chengdu Customs Technology Center, Chengdu 610041, China; 2. Food Safety Detection Key Laboratory of Sichuan, Chengdu 610041, China; 3. West China School of Public Health and West China Fourth Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a pretreatment method of dispersed solid-phase extraction (dSPE) and ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) for the rapid determination of 6 kinds of amatoxins and phallotoxins in wild mushrooms. **Methods** Samples were dried at low temperature, extracted with methanol acidified with formic acid by ultrasonic extraction, purified by the mixture of graphitized carbon black (GBC), C<sub>18</sub> and primary secondary amine (PSA), and then determined by UPLC-MS/MS. **Results** Good linearities of 6 kinds of toxic peptides were obtained at the concentration of 20-1000 μg/kg, with the correlative

基金项目: 四川省科技厅重点研发项目(2019YFS0482)

Fund: Supported by the Key Research and Development Projects of Sichuan Provincial Science and Technology Department (2019YFS0482)

\*通信作者: 胡江涛, 研究员, 主要研究方向为食品质量安全检测。Email: 11166589@qq.com

\*Corresponding author: Hu Jiang-Tao, Professor, Chengdu Customs Technology Center, No.28, Section 4, Southern First Ring Road, Chengdu 610041, China. E-mail: 11166589@qq.com

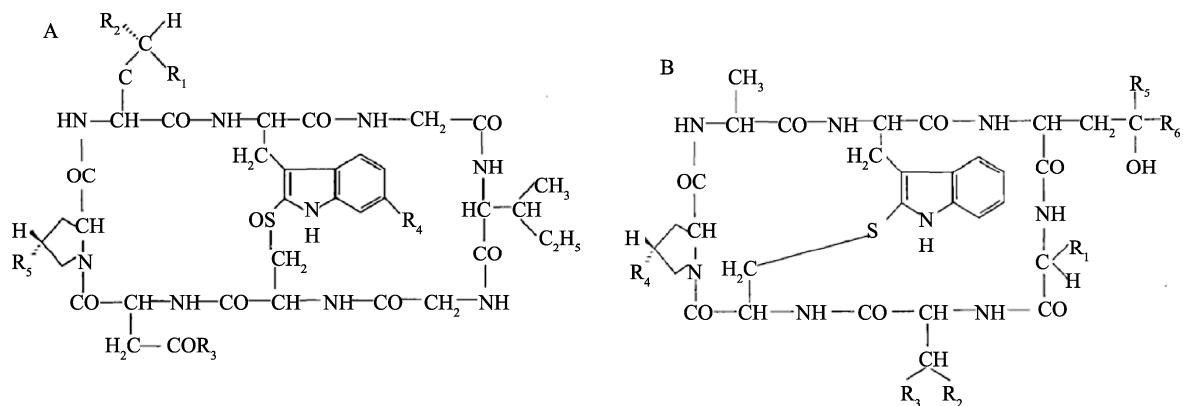
coefficients more than 0.998. The limits of detection were 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and the limits of quantitation were 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . When the spiked concentrations were 50, 250, 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , the average recoveries were 78.9%-115.5%, and the relative standard deviations were 1.6%-6.8% ( $n=3$ ). **Conclusion** This method is accurate, reliable and operable, which is suitable for the determination of 6 kinds of toxic peptides in wild mushrooms.

**KEY WORDS:** wild mushrooms; amatoxins; phallotoxins; dispersive solid-phase extraction; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

## 0 引言

我国盛产食用野生菌,但由于有些毒菌和可食用野生菌没有明显的形态特征差别,也缺乏快速可靠的毒蘑菇形态鉴别方法,每年均会发生因误食毒蘑菇而引发的群体中毒事件。据统计,在误食毒菌导致的中毒死亡事件中,高达 70.49% 的事件是因为误食剧毒鹅膏菌引起的<sup>[1]</sup>。鹅膏菌中引起中毒反应的毒素主要是鹅膏毒肽和鬼笔毒肽类毒素,二者均为环肽类化合物。其中鹅膏毒肽是一种双环八肽,鬼笔毒肽是一种双环七肽,结构式见图 1<sup>[2-3]</sup>,各种毒肽的差别仅在其侧链基团的区别<sup>[4]</sup>(见表 1、2)。鹅膏毒肽类和鬼笔毒肽类毒素化学性质十分稳定,且耐干燥、耐酸碱、耐高温,一般的烹调加工无法破坏其毒性,该类化合物易溶于水、甲醇、吡啶和液氨<sup>[5]</sup>。

目前文献报道的检测方法主要有高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)<sup>[5-8]</sup>和超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)<sup>[9-14]</sup>。前处理方式大多采用甲醇提取,HLB 固相萃取柱净化的方法<sup>[5,9,12-14]</sup>。分散固相萃取法是美国农业部于 2003 年提出的一种新的样品前处理技术,具有操作简单、成本低、回收率高的特点,在兽药多残留分析中具有广泛应用<sup>[15]</sup>,但目前尚未见到采用分散固相萃取法结合 UPLC-MS/MS 同时测定野生菌中 6 种毒肽的方法报道。因此,本研究采用优化的分散固相萃取法,通过对净化条件的优化,并结合 UPLC-MS/MS 检测技术,建立一种野生菌中 6 种鹅膏毒肽和鬼笔毒肽类毒素的测定方法,以为野生菌中此类毒素的确证分析提供参考依据。



注: A. 鹅膏毒肽类; B. 鬼笔毒肽类。

图 1 毒素结构式

Fig.1 Toxin structural formulas

表 1 已知鹅膏毒肽类型

Table 1 Known types of amanitas

鹅膏毒肽类	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	化学式	分子量	半数致死量/(mg/kg)
$\alpha$ -鹅膏毒肽	CH <sub>2</sub> OH	OH	NH <sub>2</sub>	OH	OH	C <sub>39</sub> H <sub>54</sub> N <sub>10</sub> O <sub>14</sub> S	918	0.3~0.6
$\beta$ -鹅膏毒肽	CH <sub>2</sub> OH	OH	OH	OH	OH	C <sub>39</sub> H <sub>53</sub> N <sub>9</sub> O <sub>15</sub> S	919	0.5
$\gamma$ -鹅膏毒肽	CH <sub>3</sub>	OH	NH <sub>2</sub>	OH	OH	C <sub>39</sub> H <sub>54</sub> N <sub>10</sub> O <sub>13</sub> S	902	0.2~0.5
$\epsilon$ -鹅膏毒肽	CH <sub>3</sub>	OH	OH	OH	OH	C <sub>39</sub> H <sub>53</sub> N <sub>9</sub> O <sub>14</sub> S	903	0.3~0.6
三羟鹅膏毒肽	CH <sub>2</sub> OH	OH	OH	H	OH	C <sub>39</sub> H <sub>53</sub> N <sub>9</sub> O <sub>14</sub> S	903	0.5
三羟鹅膏毒肽酰胺	CH <sub>2</sub> OH	OH	NH <sub>2</sub>	H	OH	C <sub>39</sub> H <sub>54</sub> N <sub>10</sub> O <sub>13</sub> S	902	0.3
二羟鹅膏毒肽酰胺	CH <sub>3</sub>	H	NH <sub>2</sub>	OH	OH	C <sub>39</sub> H <sub>54</sub> N <sub>10</sub> O <sub>12</sub> S	886	>20.0
二羟鹅膏毒肽羧酸	CH <sub>3</sub>	H	OH	OH	OH	C <sub>39</sub> H <sub>54</sub> N <sub>9</sub> O <sub>9</sub> S	887	>20.0
二羟鹅膏毒肽酰胺原	CH <sub>3</sub>	H	NH <sub>2</sub>	OH	H	C <sub>39</sub> H <sub>54</sub> N <sub>10</sub> O <sub>11</sub> S	870	>20.0

注: R<sub>1</sub>~R<sub>5</sub>为图 1 结构式种的基团。

表 2 已知鬼笔毒肽类型  
Table 2 Known types of phallotoxins

鬼笔毒肽类	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	化学式	分子量	半数致死量/(mg/kg)
一羟鬼笔毒肽	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	OH	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	C <sub>35</sub> H <sub>48</sub> N <sub>8</sub> O <sub>10</sub> S	772	1.5
二羟鬼笔毒肽	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	OH	CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>3</sub>	C <sub>35</sub> H <sub>48</sub> N <sub>8</sub> O <sub>10</sub> S	772	2.0
三羟鬼笔毒肽	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	OH	CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>2</sub> OH	C <sub>35</sub> H <sub>48</sub> N <sub>8</sub> O <sub>12</sub> S	804	2.5
一羟鬼笔毒肽原	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OH	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	C <sub>35</sub> H <sub>48</sub> N <sub>8</sub> O <sub>9</sub> S	756	>20.0
羧基一羟鬼笔毒肽	CH(CH <sub>3</sub> )	CH <sub>3</sub>	COOH	OH	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	C <sub>35</sub> H <sub>48</sub> N <sub>8</sub> O <sub>10</sub> S	815	1.5
羧基二羟鬼笔毒肽	CH(CH <sub>3</sub> )	OH	COOH	OH	CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>3</sub>	C <sub>37</sub> H <sub>50</sub> N <sub>8</sub> O <sub>13</sub> S	846	1.5
羧基三羟鬼笔毒肽	CH(CH <sub>3</sub> )	OH	COOH	OH	CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>2</sub> OH	C <sub>37</sub> H <sub>50</sub> N <sub>8</sub> O <sub>14</sub> S	862	4.5

注: R<sub>1</sub>~R<sub>6</sub> 为图 1 结构式种的基团。

## 1 材料与方 法

### 1.1 仪器与试剂

UPLC I-class-XEVOTQ-XS 超高效液相色谱/串联质谱联用仪、ACQUITY UPLC HSS T3 C<sub>18</sub> 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm)(美国 Waters 公司); 3H20RI 离心机(中国赫西公司); AE240 电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司); XW-80A 旋涡混合器(中国 HUXI 公司); B8510E-DTH 超声波清洗器(美国必能信公司); Mili-Q Integral 3 超纯水仪(美国 Millipore 公司)。

甲醇、乙腈、甲酸、乙酸铵(色谱级, 美国 Fisher 公司); C<sub>18</sub> (10 g, 40~60 μm, 青云实验耗材有限公司); 石墨化碳黑(graphitized carbon black, GBC)(50 g, 120~400 目)、N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA)(上海安谱实验科技有限公司)。

标准品: α-鹅膏毒肽(α-amanitin, 纯度≥90%)、β-鹅膏毒肽(β-amanitin, 纯度≥90%)、γ-鹅膏毒肽(γ-amanitin, 纯度≥90%)、羧基二羟鬼笔毒肽(phalloidin, 纯度≥95%)、二羟鬼笔毒肽(phalloidin, 纯度≥90%)(瑞士 Alex 公司); 羧基三羟鬼笔毒肽(phallisacin, 质量浓度 50 μg/mL, 上海安谱实验科技有限公司)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 样品前处理

提取: 将新鲜的野生菌样品烘干(<50 °C)并打成粉末, 精确称量干燥粉末 0.20 g 置于 50 mL 离心管中, 加入含 1% (V/V)甲酸的酸化甲醇 10 mL, 振荡涡旋 1 min, 超声提取 10 min, 以 10000 r/min 离心 5 min 后, 移取上清液于另一离心管中。残渣中再加入 10 mL 酸化甲醇, 重复上述步骤, 合并上清液。

净化: 取 10 mL 上清液转入至装有 25 mg GCB, 40 mg C<sub>18</sub>, 400 mg PSA 的 50 mL 离心管中, 涡旋 5 min, 然后以

10000 r/min 离心 5 min。取 5 mL 上清液在 40 °C 水浴中氮吹近干。用 1 mL 初始流动相溶解定容, 过 0.22 μm 有机滤膜, 制成待测液。

#### 1.2.2 仪器条件

色谱条件: HSS T3 C<sub>18</sub> 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm, 美国 Waters 公司); 流动相: A: 5 mmol/L 乙酸铵-0.1% 甲酸水溶液, B: 甲醇溶液; 柱温: 4 °C; 进样量: 1.0 μL; 洗脱程序见表 3。

质谱条件: 电喷雾电离(electrospray ionization, ESI)正离子模式; 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM); 离子源温度 150 °C; 毛细管电压 2.83 kV; 脱溶剂温度 550 °C; 脱溶剂气流量 1000 L/h。

表 3 梯度洗脱程序  
Table 3 Gradient elution procedures

时间/min	流速/(mL/min)	流动相 A/%	流动相 B/%
0.00	0.300	90	10
0.20	0.300	90	10
3.00	0.300	40	60
3.50	0.300	50	50
4.00	0.300	50	50
5.00	0.300	60	40
5.50	0.300	90	10
7.00	0.300	90	10

## 2 结果与分析

### 2.1 前处理条件的优化

#### 2.1.1 提取剂的选择

由于鹅膏毒肽类和鬼笔毒肽类易溶于水、甲醇、吡啶和液氨等溶剂, 本研究比较了纯水、1% 甲酸水溶液、甲醇、1% 甲酸甲醇溶液的提取效果。每种提取剂分别提取了有毒野生菌(含 α-鹅膏毒肽和 β-鹅膏毒肽)和牛肝菌加标(含 6 种

毒肽)2种样品,每种样品做3平行,计算整体平均回收率。纯水对有毒野生菌和牛肝菌加标的提取回收率为75%、80%;1%甲酸水的提取回收率为72%、82%;甲醇的提取回收率为93%、97%;1%甲酸-甲醇溶液提取回收率为95%、96%,结果表明:甲醇和1%甲酸甲醇的提取效果较好,考虑到实验过程中1%甲酸甲醇的提取回收率平行性较好,故本研究选取含1%甲酸的甲醇溶液作为提取剂。

### 2.1.2 吸附剂的选择

PSA、C<sub>18</sub>和GCB是分散固相萃取法理想的吸附剂。在净化吸附的过程中,PSA可以吸附野生菌中的有机酸、糖类和少量色素等干扰物质,C<sub>18</sub>主要去除脂肪、固醇类、蜡质和维生素等化合物,GCB则能有效去除样品中的色素、甾醇类和非极性干扰物<sup>[15]</sup>。

在净化方法的研究中,为了更好地去除样品中的多种杂质,本研究利用控制变量的实验方法,优化选择出PSA、C<sub>18</sub>和GCB最佳的用量。根据相关文献<sup>[14-15]</sup>,在添加30 mg GCB和500 mg PSA的同时,添加不同用量的C<sub>18</sub>(0、10、20、40、80、100 mg),结果如图2A。研究结果表明,当C<sub>18</sub>用量为40 mg时,6种鹅膏毒肽和鬼笔毒肽的回收率均较高,且用量继续增加,回收率变化不明显。因此本研究确定净化

剂中C<sub>18</sub>用量位40 mg。同理,研究进一步优化出GCB和PSA的最佳用量为25和400 mg,研究结果如图2B、C。

## 2.2 质谱和色谱条件优化

分别配制质量浓度为0.2 mg/L的6种毒肽标准溶液,以甲醇+5 mmol/L乙酸铵-0.1%甲酸(50:50, V:V)为流动相,采用ESI正负离子模式,对各种毒肽进行一级质谱扫描,确定各毒肽的母离子,然后对各个母离子进行二级质谱扫描,确定各毒肽的子离子。最后结合基质加标溶液的离子扫描图,进一步优化各种质谱参数,确定6种毒肽在MRM模式下的质谱条件及参数,优化后结果见表4。

本研究选择了HSS T3色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm),此色谱柱是与100%水相相兼容的C<sub>18</sub>柱,对保留和分离极性有机多肽分子具有较为理想的效果。本研究研究了4组流动相的分离效果,A组:5 mmol/L乙酸铵(0.1%甲酸)-甲醇;B组:5 mmol/L乙酸铵(0.1%甲酸)-乙腈;C组:0.1%甲酸水-甲醇;D组:0.1%甲酸水-乙腈。实验结果表明,选择A组5 mmol/L乙酸铵(0.1%甲酸)-甲醇作流动相时,6种毒肽毒素分离效果较好且离子峰强度响应较高,峰形好,如图3所示。

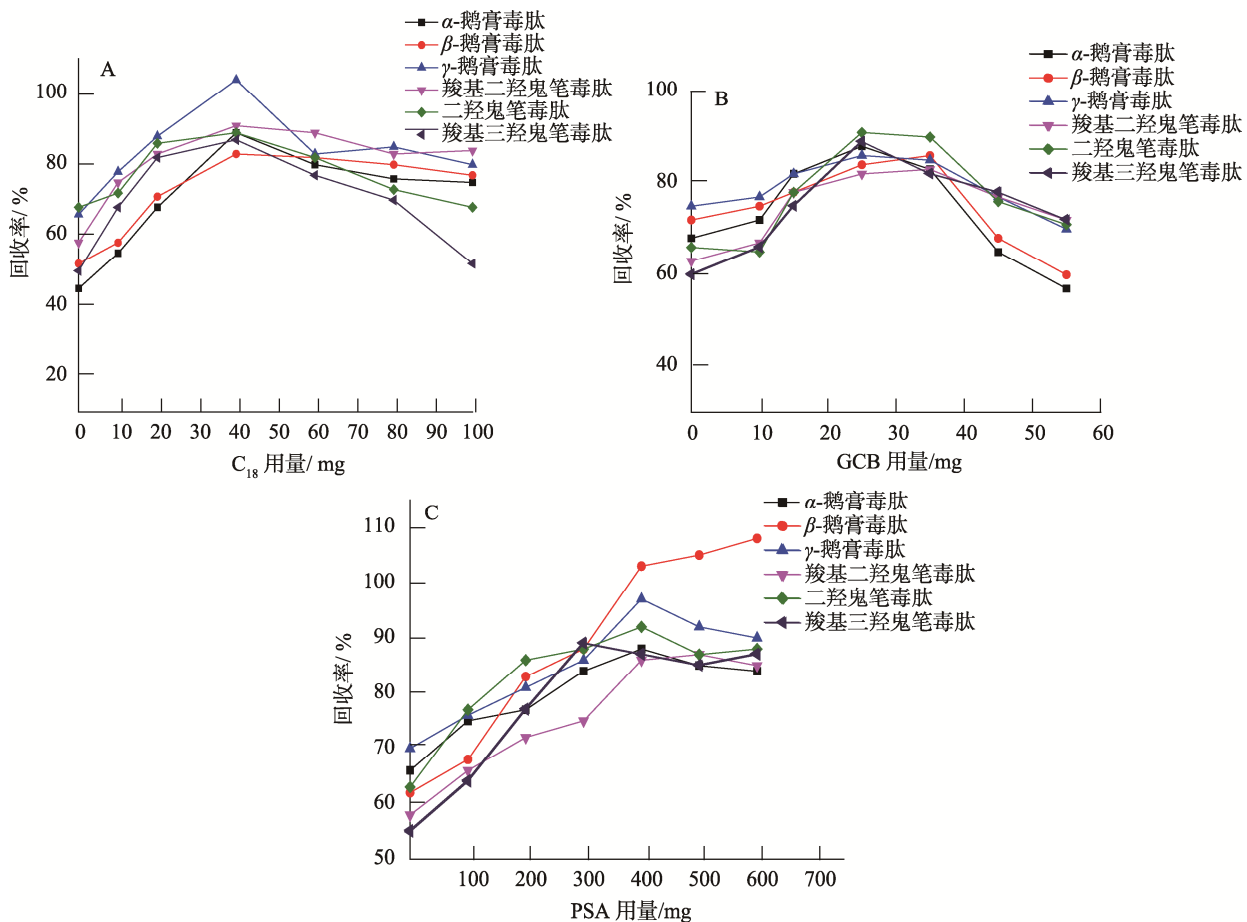


图2 C<sub>18</sub>(A)、GCB(B)、PSA(C)用量优化图

Fig.2 Dosage optimization charts of C<sub>18</sub>(A), GCB(B) and PSA(C)

表 4 6 种毒肽的质谱条件参数  
Table 4 Mass spectrum condition parameters of 6 kinds of toxic peptides

目标分析物	保留时间/min	目标离子对	锥孔电压/V	碰撞能量/eV
$\alpha$ -鹅膏毒肽	3.85	919.32/85.95*	66	80
		919.32/339.08		56
$\beta$ -鹅膏毒肽	3.81	920.50/85.95*	48	66
		920.50/259.05		34
$\gamma$ -鹅膏毒肽	4.18	903.52/85.95*	46	74
		903.52/243.00		40
二羟鬼笔毒肽	4.94	789.00/85.95*	32	68
		789.00/330.00		52
羧基二羟鬼笔毒肽	5.08	847.48/85.88*	30	74
		847.48/156.99		76
羧基三羟鬼笔毒肽	4.70	863.26/157.07*	54	78
		863.26/173.96		80

注: \*表示定量离子对。

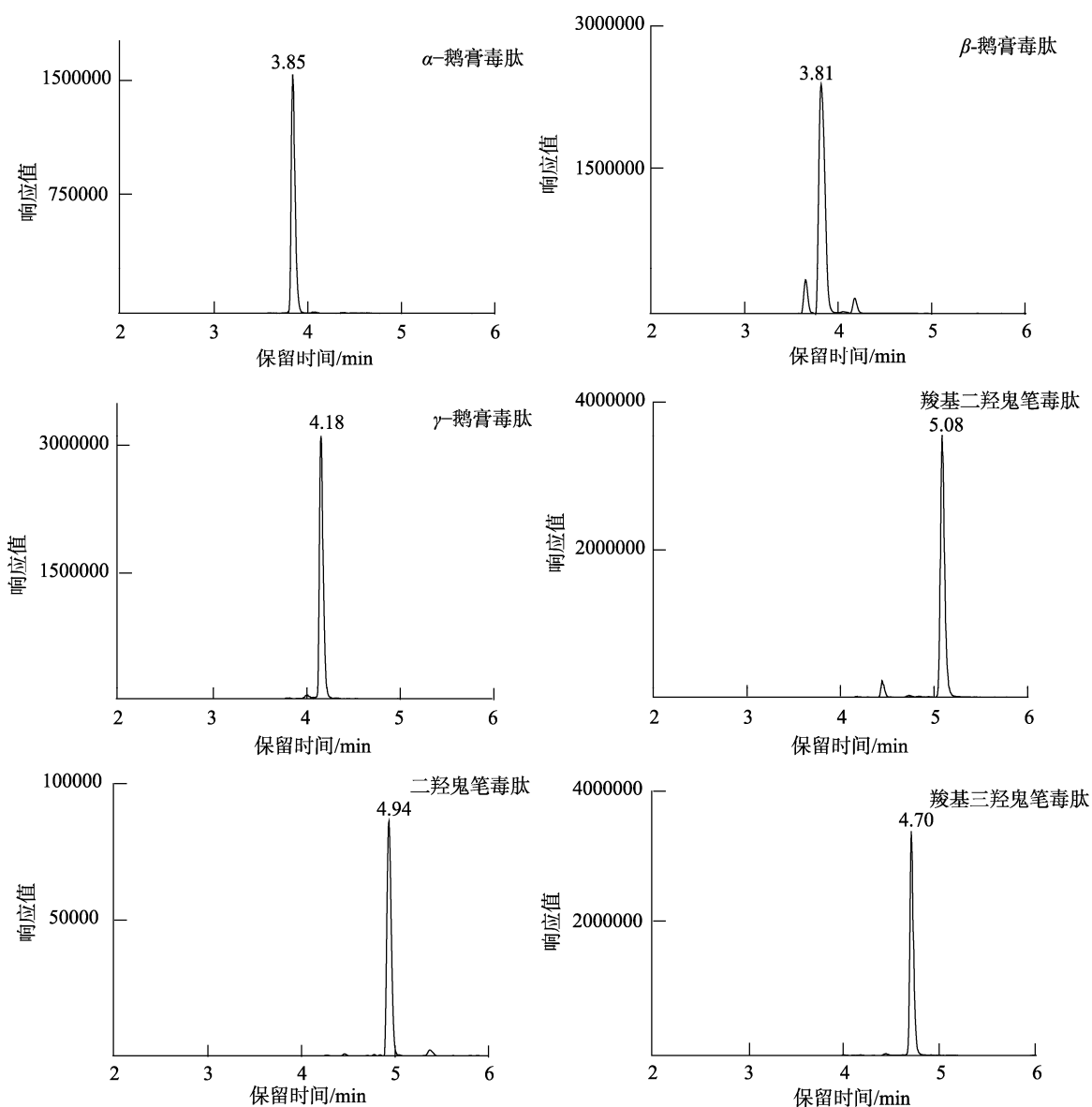


图 3 6 种毒肽的色谱图

Fig.3 Chromatograms of 6 kinds of toxic peptides

### 2.3 基质效应研究

基质效应(matrix effect, ME)是指从样品中与目标物同时提取出来的物质引起的目标物分析信号抑制或增强的现象,野生菌基质成分复杂,容易在 UPLC-MS/MS 定量分析中引入干扰。本研究使用基质匹配的标准物质来补偿基质溶液中目标物的 ME。ME 值可按公式(1)进行量化评估<sup>[16]</sup>。

$$ME = \left( \frac{\text{基质溶液中目标物峰面积}}{\text{纯溶剂中目标物峰面积}} - 1 \right) \times 100\% \quad (1)$$

ME 为正值时,基质效应表现为增强效应,反之减弱。当 ME 值超过 20%时,则认为基质效应对定量分析具有显著影响,不可忽略。野生菌中 6 种毒肽( $\alpha$ -鹅膏毒肽、 $\beta$ -鹅膏毒肽、 $\gamma$ -鹅膏毒肽、二羟鬼笔毒肽、羧基二羟鬼笔毒肽、羧基三羟鬼笔毒肽)的 ME 值分别为-27.6%、-32.3%、

-29.5%、-33.8%、-37.2%、-22.1%,抑制效应比较明显。为确保结果的准确性,本研究采用牛肝菌基质标准工作曲线进行校正。

### 2.4 方法学验证

#### 2.4.1 线性关系与检出限、定量限

在最优实验条件下,对 6 种目标毒肽的混合标样溶液进行测定。以各毒肽的质量浓度( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )为横坐标( $X$ ),对应的峰面积为纵坐标( $Y$ ),绘制标准工作曲线,并得到线性范围、线性方程和相关系数。6 种毒肽目标物在 20~1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  范围具有良好的线性关系,相关系数均大于 0.998,结果见表 5。以 3 倍信噪比估算检出限(limits of detection, LODs),6 种毒肽的检出限为 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ;以 10 倍信噪比估算定量限(limits of quantitation, LOQ),6 种毒肽的定量限为 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,方法灵敏度较高。

表 5 6 种毒肽线性方程、线性范围、相关系数、检出限和定量限  
Table 5 Linear equations, correlation coefficients, LODs and LOQs of 6 types of toxic peptides

分析物	线性方程	线性范围/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	相关系数	检出限/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	定量限/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$
$\alpha$ -鹅膏毒肽	$Y=84.9303X-5.96184$	20~1000	0.9994	20	50
$\beta$ -鹅膏毒肽	$Y=95.7568X-90.8386$	20~1000	0.9997	20	50
$\gamma$ -鹅膏毒肽	$Y=128.128X+23.2262$	20~1000	0.9999	20	50
二羟鬼笔毒肽	$Y=8.93254X-4.11611$	20~1000	0.9986	20	50
羧基二羟鬼笔毒肽	$Y=33.893X-3.34399$	20~1000	0.9998	20	50
羧基三羟鬼笔毒肽	$Y=17.5689X+51.5908$	20~1000	0.9990	20	50

#### 2.4.2 回收率与精密度

分别在空白牛肝菌样品中添加低(50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )、中(250  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )、高(500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )浓度的加标实验。平均回收率分别为  $\alpha$ -鹅膏毒肽:82.0%~97.1%; $\beta$ -鹅膏毒肽:83.4%~109.9%; $\gamma$ -鹅膏毒肽:80.4%~111.1%;二羟鬼笔毒肽:80.4%~88.6%;羧基二羟鬼笔毒肽:78.9%~104.4%;羧基三羟鬼笔毒肽:82.5%~115.5%。每个添加浓度分别 6 次平行测定,相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)在 1.6%~6.8%之间,方法准确性较好,结果见表 6。

### 2.5 实际样品检测

按本研究建立的方法对四川成都、峨眉山、青城山采集到的 10 个野生菌样品进行前处理和检测。在 4 号和 6 号样品中检出了  $\alpha$ -鹅膏毒肽、 $\beta$ -鹅膏毒肽和羧基二羟鬼笔毒肽 3 种毒肽,具体结果见表 7。

## 3 结论

本研究采用优化的分散固相萃取方法,结合超高效液相串联质谱技术,外标法定量,建立了野生菌中 6 种毒肽和鬼笔毒肽毒素的检测方法。本方法所采用的分散固相萃取前处理技术与液-液萃取<sup>[17-20]</sup>和固相萃取法<sup>[9-14,21]</sup>相比,操作简单,成本更低且消除干扰效果较好,其准确度、精密度和灵敏度均符合检测要求,适合快速鉴别野生

菌是否有毒以及突发野生菌中毒事件的毒素确证分析。

表 6 方法的平均回收率和相对标准偏差( $n=6$ )  
Table 6 Average recoveries and RSDs of the method ( $n=6$ )

分析物	加标水平/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	平均回收率/%	RSDs/%
$\alpha$ -鹅膏毒肽	50	82.0	2.4
	250	85.2	4.9
	500	97.1	5.1
$\beta$ -鹅膏毒肽	50	85.8	5.3
	250	83.4	2.5
	500	109.9	1.6
$\gamma$ -鹅膏毒肽	50	80.4	4.4
	250	100.9	2.7
	500	111.1	3.1
二羟鬼笔毒肽	50	80.4	2.2
	250	88.6	2.5
	500	85.3	3.6
羧基二羟鬼笔毒肽	50	78.9	6.8
	250	90.9	6.7
	500	104.4	3.8
羧基三羟鬼笔毒肽	50	82.5	4.7
	250	88.5	6.1
	500	115.5	3.5

表 7 实际野生菌中 6 种毒肽的检测结果(mg/kg)  
Table 7 Detection results of 6 kinds of toxic peptides in actual wild mushrooms (mg/kg)

毒肽名称	4 号样品	6 号样品
$\alpha$ -鹅膏毒肽	552.0	未检出
$\beta$ -鹅膏毒肽	388.9	未检出
$\gamma$ -鹅膏毒肽	未检出	未检出
二羟鬼笔毒肽	未检出	未检出
羧基二羟鬼笔毒肽	未检出	308.0
羧基三羟鬼笔毒肽	未检出	未检出

### 参考文献

- [1] CHEN Z, ZHANG P, ZHANG Z, *et al.* Investigation and analysis of 102 mushroom poisoning cases in southern China from 1994 to 2012 [J]. *Fungal Divers*, 2014, 64(1): 123–131.
- [2] 王晶, 史振霞, 乔洁, 等. 毒鹅膏菌和鹅膏肽类毒素研究进展[J]. 廊坊师范学院学报(自然科学版), 2018, 18(1): 46–53.  
WA J, SHI ZX, QIAO J, *et al.* Research progress on lethal amantia species and amanita peptide toxins [J]. *J Langfang Norm Univ (Nat Sci Ed)*, 2018, 18(1): 46–53.
- [3] 赵建, 张杰, 侯若彤, 等. 鹅膏菌毒素的研究[J]. 林产化学与化工, 2003, 23(2): 90–96.  
ZHAO J, ZHANG J, HOU RT, *et al.* Advances in the studies on toxins of amanita [J]. *Chem Ind Forest Prod*, 2003, 23(2): 90–96
- [4] VETTER J. Toxins of *Amanita phalloides* [J]. *Toxicon*, 1998, 36(1): 13–24.
- [5] 柳洁, 丁文婕, 何碧英, 等. 超高效液相色谱-电喷雾离子化-四级杆飞行时间串联质谱指纹图谱检测毒蕈中 4 种鹅膏肽类毒素[J]. 分析化学研究报告, 2013, 41(4): 500–508.  
LIU J, DING WJ, HE BY, *et al.* Identification of four toxin peptides from amanita in poisonous mushroom by mass spectrum fingerprint based on ultra performance liquid chromatography electrospray ionization quadrupole time of flight-mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2013, 41(4): 500–508.
- [6] BAO H, BAU T, LI Y, *et al.* HPLC analysis of peptide toxin in seven species of amanita [J]. *J Fungal Res*, 2005, 3(1): 13–16
- [7] 包海鹰, 李玉, 图力古尔, 等. 长白山鹅膏菌肽类毒素的 HPLC 分析[J]. 菌物系统, 2002, 21(2): 234–238.  
BAO HY, LI Y, TU LGE, *et al.* HPLC analysis of peptide toxin in amanita from Changbai mountains [J]. *Mycosystema*, 2002, 21(2): 234–238.
- [8] 徐小民, 张京顺, 蔡增轩, 等. 在线液相色谱-二极管阵列检测器-串联质谱法检测野生菌中鹅膏毒肽和鬼笔毒肽[J]. 色谱, 2017, 35(6): 613–619.  
XUN XM, ZHANG JS, CAI ZX, *et al.* Determination of amanitins and phallotoxins in wild mushrooms by online liquid chromatography-diode array detector-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2017, 35(6): 613–619.
- [9] 周贻兵, 李磊, 吴玉田, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定野生蘑菇中的 3 种鹅膏毒肽[J]. 现代预防医学, 2018, 45(22): 4144–4147.  
ZHOU YB, LI L, WU YT, *et al.* Determination of three amatoxins in wild mushrooms by UPLC-MS/MS [J]. *Mod Prev Med*, 2018, 45(22): 4144–4147.
- [10] 肖绍震, 林峰, 傅武胜, 等. 血浆和尿液中 6 种鹅膏毒肽和鬼笔毒肽的超高效液相色谱-串联质谱法测定[J]. 食品科学, 2018, 39(22): 312–318.  
XIAO SZ, LIN F, FU WS, *et al.* Determination of amatoxins and phallotoxins in plasma and urine by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2018, 39(22): 312–318.
- [11] 张秀尧, 蔡欣欣. 超高效液相色谱三重四级杆质谱联用法快速检测尿液和血液中鹅膏毒肽和鬼笔毒肽[J]. 分析化学研究报告, 2010, 38(1): 39–44.  
ZHANG XY, CAI XX. Rapid simultaneous determination of five amatoxins and phallotoxins in human urine and plasma by ultra performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Chine J Anal Chem*, 2010, 38(1): 39–44.
- [12] 赵丽, 张瑞雨, 林佳, 等. 超高效液相色谱-质谱法测定蘑菇中 5 种毒肽[J]. 理化检验-化学分册, 2019, 55(2): 201–204.  
ZHAO L, ZHANG RY, LIN J, *et al.* UHPLC-MS determination of 5 poisonous peptides in mushrooms [J]. *Phys Test Chem Anal Part B*, 2019, 55(2): 201–204.
- [13] 雒婉霞, 王冉冉, 王庆国, 等. 超高效液相色谱串联质谱法检测毒蕈中 5 种鹅膏多肽类毒素[J]. 疾病预防控制中心通报, 2018, 33(5): 84–87.  
LUO WX, WANG RR, WANG QG, *et al.* UHPLC-MS/MS determination of 5 amatoxins in poisonous mushrooms [J]. *Bull Dis Control Prev*, 2018, 33(5): 84–87.
- [14] 刘阳, 栾杰, 林佳. 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定云南野生致命鹅膏菌中的毒伞肽和毒肽毒素[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(10): 3756–3761.  
LIU Y, LUAN J, LIN J. Rapid determination of amanitins and phallotoxins in Yunnan *Amanita exitialis* by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, 8(10): 3756–3761.
- [15] 黄松, 刘佳, 陈彦宏, 等. 改良 QuEChERS 法在农药多残留检测中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(12): 3683–3688.  
HUANG S, LIU J, CHEN YH, *et al.* Application of the modified QuEChERS in the multi-class pesticide residues [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(12): 3683–3688.
- [16] 林涛, 魏茂琼, 余积东, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-三重四级杆质谱测定野生食用菌中尼古丁[J]. 色谱, 2019, 37(5): 512–517.  
LIN T, WEI MQ, YU JD, *et al.* Determination of nicotine in wild edible fungi by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2019, 37(5): 512–517.
- [17] 冯建明, 陈卓, 梁建强, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定野生蘑菇中 2 类肽类毒素的含量[J]. 西北药学杂志, 2013, 28(4): 351–354.  
FENG JM, CHEN Z, LIANG JQ, *et al.* Determination of peptides toxins in true mushroom by UPLC-MS [J]. *Northwest Pharm J*, 2013, 28(4): 351–354.

- [18] 伍福仙, 张志清, 王瑾, 等. 超高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱法检测毒蘑菇中 4 种常见毒素含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(22): 7656-7664.  
WU FX, ZHANG ZQ, WANG J, *et al.* Determination of 4 kinds of common toxins in poisonous mushrooms by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(22): 7656-7664.
- [19] 魏佳会, 吴剑锋, 陈佳, 等. 12 种剧毒鹅膏菌的毒肽类毒素成分鉴定及其相对含量差异比较研究[J]. 分析化学, 2017, 45(6): 817-823.  
WEI JH, WU JF, CHEN J, *et al.* Identification and content difference of toxic peptides in 12 kinds of lethal amanita species [J]. *Chin J Anal Chem*, 2017, 45(6): 817-823.
- [20] 陈作红, 胡劲松, 张志光, 等. 我国 28 种鹅膏菌主要肽类毒素的检测分析[J]. 菌物系统, 2003, 22(4): 565-573.  
CHEN ZH, HU JS, ZHANG ZG, *et al.* Determination and analysis of the main amatoxins and phallotoxins in 28 species of amanita from China [J]. *Mycosystema*, 2003, 22(4): 565-573.
- [21] ABBOTT NL, HILL KL, ALAINE G, *et al.* Detection of  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and

$\gamma$ -amanitin in urine by LC-MS/MS using  $^{15}\text{N}_{10}$ - $\alpha$ -amanitin as the internal standard [J]. *Toxicol*, 2018, 152: 71-77.

(责任编辑: 李磅礴 张晓寒)

## 作者简介



薛 康, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品质量安全检测。

E-mail: 1099125251@qq.com



胡江涛, 研究员, 主要研究方向为食品质量安全检测。

E-mail: 11166589@qq.com