

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241114001

超高效液相色谱-串联质谱法快速测定 蘑菇中 5 种鹅膏肽类毒素

邹 淼, 李延升, 韩晓鸥, 华正罡*

(辽宁省疾病预防控制中心, 沈阳 110172)

摘 要: **目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)快速测定鲜蘑菇中 α -鹅膏毒肽、 β -鹅膏毒肽、 γ -鹅膏毒肽、二羟鬼笔毒肽和羧基二羟鬼笔毒肽 5 种强毒性鹅膏肽类毒素的检测方法。**方法** 样品经充分粉碎后, 加入 10% 甲醇超声提取后, 离心上清液过 0.22 μm 微孔滤膜, 用 Waters Xselect CSH C₁₈ (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7 μm) 色谱柱分离, 外标法定量。**结果** 在优化条件下, 该方法中 5 种强毒性鹅膏肽类毒素的最低检出限均为 0.02 mg/kg, 定量限为 0.06 mg/kg, 平均回收率为 78.2%~103.5%, 相对标准偏差为 3.1%~7.6%。**结论** 本方法简便、快速、准确, 回收率好, 适用于因鹅膏肽类毒素引起的食物中毒快速应急检测。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱法; 鹅膏肽类毒素; 蘑菇

Rapid determination of 5 kinds of amanita peptide toxins in mushrooms by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZOU Miao, LI Yan-Sheng, HAN Xiao-Ou, HUA Zheng-Gang*

(Center for Disease Control and Prevention of Liaoning Province, Shenyang 110172, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the rapid determination of 5 kinds of highly toxic amanita peptide toxins including α -amanitin, β -amanitin, γ -amanitin, phalloidin and phalloidin in mushrooms by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** After thorough crushing of the sample, 10% methanol was added for ultrasonic extraction. The supernatant was centrifuged and passed through a 0.22 μm microporous membrane using Waters Xselect CSH C₁₈ (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7 μm) chromatographic column separation, quantitative analysis using external standard method. **Results** Under optimized conditions, the lowest limits of detection and limits of quantification of 5 kinds of highly toxic peptide toxins in this method were 0.02 mg/kg and 0.06 mg/kg, respectively. The average recovery rates were 78.2%–103.5%, and the relative standard deviations were 3.1%–7.6%. **Conclusion** This method is simple, fast, accurate, with good recovery rate, and is suitable for rapid emergency detection of food poisoning caused by amanita peptide toxins.

*通信作者: 华正罡, 主任技师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: huazhenggang2004@163.com

*Corresponding author: HUA Zheng-Gang, Chief Technician, Center for Disease Control and Prevention of Liaoning Province, No.168, Jinfeng Road, Hunnan District, Shenyang 110172, China. E-mail: huazhenggang2004@163.com

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; amanita peptide toxins; mushrooms

0 引 言

我国的蘑菇种类丰富, 其中不乏一些不可食用的毒蘑菇, 毒蘑菇又称毒覃、毒菌等, 已记载的有 400 余种^[1-2], 由毒蘑菇引发的中毒事件也是频频出现, 致死率较高, 约 90% 以上的蘑菇中毒死亡事件是由能引起肝肾功能衰竭的多肽类蘑菇毒素造成的^[3-6]。致死的多肽类蘑菇毒素主要有鬼笔毒肽和鹅膏毒肽, 前者主要包括二羟鬼笔毒肽和羧基二羟鬼笔毒肽, 后者主要包括 β -鹅膏毒肽、 α -鹅膏毒肽和 γ -鹅膏毒肽, 小鼠的半数致死量(median lethal dose, LD₅₀)分别为 1.5~3 mg/kg 和 0.3~0.7 mg/kg^[7-8]。鹅膏肽类毒素因其化学性质稳定, 耐高温和耐酸碱, 日常的烹饪方法无法破坏其结构及毒性, 一旦误食, 必将经消化道进入肝脏, 造成不可逆损伤, 引发多器官衰竭而死亡^[9-11]。因此, 建立高效、快速、准确的方法应急检测因鹅膏肽类毒素引起的食物中毒具有重要意义。

现有的鹅膏肽类毒素检测方法有薄层层析法^[12]、超高效液相色谱法^[13-15]、液相色谱-串联质谱法^[16-20]等。近年来, 随着质谱技术的不断发展, 鹅膏肽类和鬼笔毒肽类毒素的检测方式以色谱质谱联用为主, 且多采用酸性条件(5 mmol/L 甲酸铵作为水相流动相)进行测定, 其样品前处理方式包括溶剂提取、亲水亲脂平衡(hydrophile-lipophile balance, HLB)或固相萃取(solid phase extraction, SPE)净化, 或直接提取后置换溶剂进样等^[21-23]。在酸性条件下, 鹅膏肽类毒素[M+Na]⁺峰响应较强, 干扰[M+H]⁺峰定量, 且 HLB 及 SPE 法需要活化平衡, 前处理时间较长, SPE 柱所需经济成本高, 而此两类毒素作为剧毒物质, 发生急性中毒时需以最快速度分析和确证, 因此不宜采用 HLB、SPE, 或提取后还需置换试剂等耗时长的前处理方式。因此本研究通过开发一种在弱碱性流动相条件下, 提取后即可直接测定的 5 种鹅膏肽类毒素(α -鹅膏毒肽、 β -鹅膏毒肽、 γ -鹅膏毒肽、二羟鬼笔毒肽和羧基二羟鬼笔毒肽)的快检方法—超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS), 以期因鹅膏肽类毒素引起的食物中毒快速应急定性、定量检测提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与设备

Xevo TQS 超高效液相色谱质谱联用仪、Waters Xselect CSH C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.7 μ m)(美国 Waters 公司); BS 300S 电子天平(精度 0.001 g, 北京赛多利斯天平有限公司); 8010 G 研磨仪(美国 WARING 公司); ST16R 高

速台式冷冻离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); KQ-500DE 超声波清洗器(昆山市超声仪器公司); Vortex genic2 多用途涡混合器(美国 Scientific Industries 公司); 0.22 μ m 微孔滤膜(美国 PALL 公司)。

1.2 材料与试剂

蘑菇: 市售。

甲醇(质谱纯, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 氨水(化学纯, 国药集团化学试剂有限公司); α -鹅膏毒肽、 β -鹅膏毒肽、 γ -鹅膏毒肽、羧基二羟鬼笔毒肽、二羟鬼笔毒肽(纯度均大于 97%, 德国 Dr. Ehrenstorfer 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的配制

混合标准中间液(2000 ng/mL): 分别准确移取 5 种标准品各 100 μ L, 用甲醇稀释至 1.0 mL, 摇匀。

标准系列工作液: 分别准确移取适量的混合标准中间液至 5 个 10 mL 容量瓶中, 用 10% 甲醇溶液稀释并定容, 混匀, 此标准系列中各化合物的质量浓度依次为 10、20、50、100、200 ng/mL。

1.3.2 样品前处理

将新鲜蘑菇剪成小块, 放入研磨仪充分粉碎后, 准确称取 1 g 于 50 mL 离心管中, 加入 10% 甲醇水混合溶液 10 mL, 涡旋混匀后, 超声提取 30 min, 10000 r/min 离心 10 min, 上清液过 0.22 μ m 滤膜后测定。

1.3.3 色谱条件

色谱柱: Waters Xselect CSH C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.7 μ m); 柱温: 40 $^{\circ}$ C; 进样量: 10 μ L; 流量: 0.3 mL/min; 流动相: A: 0.02% (V/V) 氨水, B: 甲醇, 梯度洗脱条件见表 1。

表 1 梯度洗脱条件
Table 1 Gradient elution conditions

时间/min	A/%	B/%
0.0	90	10
6.0	60	40
10.0	10	90
13.0	90	10

1.3.4 质谱条件

电离方式: 电喷雾离子源正离子(electro spray ionization, ESI⁺), 离子源温度: 150 $^{\circ}$ C, 毛细管电压: 1.5 kV, 脱溶剂气温度: 500 $^{\circ}$ C, 锥孔反吹气流量: 50 L/h, 脱溶剂气流量: 1000 L/hr。5 种鹅膏肽类毒素质谱参数见表 2。

1.4 数据处理

每份样品重复测定 3 次, 取平均值表示最终结果。通

过 Xevo TQS 仪器所配置的工作站进行数据采集处理,使用 Office Excel 2007 统计分析数据及绘制图形。

表 2 5 种鹅膏肽类毒素质谱参数
Table 2 Parameters of mass spectra of 5 kinds of amanita peptide toxins

化合物	母离子	子离子	锥孔电压/V	碰撞能量/eV
β-鹅膏毒肽	920.5	86.1*	50	66
		259.2	58	48
α-鹅膏毒肽	919.5	86.2*	60	76
		259.2	60	48
γ-鹅膏毒肽	903.5	86.2*	56	76
		243.2	56	38
羧基二羟鬼笔毒肽	847.4	157.2*	68	62
		86.2	68	67
二羟鬼笔毒肽	789.4	157.2*	72	60
		86.2	72	80

注: *为定量离子。

2 结果与分析

2.1 仪器条件优化

2.1.1 色谱条件优化

5 种鹅膏肽类毒素为环状多肽类化合物, 具有较强

的极性, 易电离, 以往的检测多采用(250 mm×4.6 mm, 5 mm)的 C₁₈ 柱在酸性条件下测定^[24], 分析时间较长, 本研究尝试使用 Xselect CSH C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) 及 ZORBAX SB C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm) 色谱柱对 5 种化合物进行分离。结果表明, 使用 ZORBAX SB C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm) 色谱柱时, 2 种鬼笔毒肽色谱峰拖尾, 且各毒素分离度不佳, 而 Xselect CSH C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) 色谱柱由于采用了高强度硅胶 HSS 及表面带电杂化 CSH 颗粒填料, 对易电离的强极性化合物有更好的分离效果, 完美解决以上问题。关于流动相, 以往的研究多采用 5 mmol/L 乙酸铵水溶液-甲醇体系^[25-27], 本研究比对了 0.02% 氨水与 5 mmol/L 乙酸铵水溶液作为水相时, 5 种鹅膏肽类毒素的响应、分离度与峰型。结果表明, 在 5 mmol/L 乙酸铵水溶液作为水相时, 2 种鬼笔毒肽色谱峰基本重叠, 3 种鹅膏毒肽分离度也不理想, 而在 0.02% 氨水-甲醇体系下, 各化合物的灵敏度、峰形更好, 分离度能满足分析要求, 因此, 本研究选用 Xselect CSH C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) 为色谱柱, 在 0.02% 氨水-甲醇体系下对 5 种鹅膏肽类毒素进行测定。5 种鹅膏肽类毒素的多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)提取离子流图见图 1。

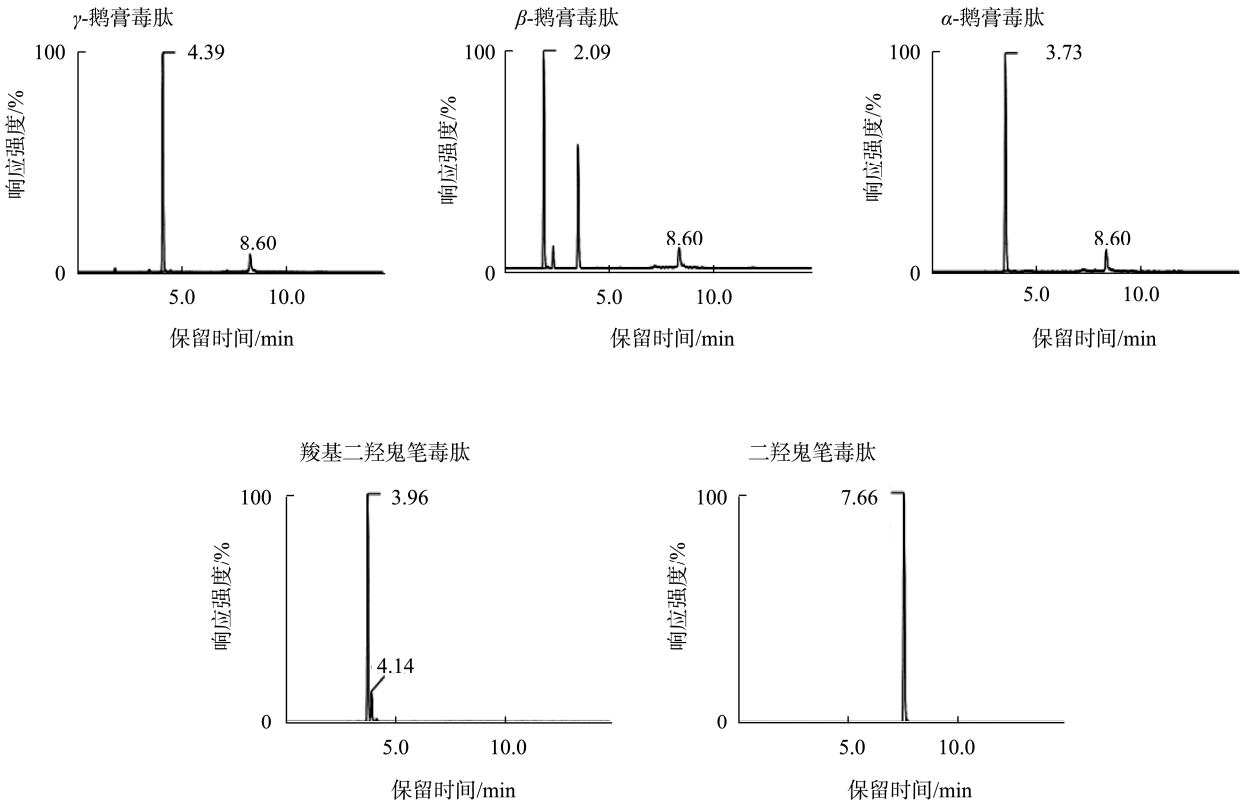


图 1 5 种鹅膏肽类毒素的 MRM 提取离子流图
Fig.1 MRM chromatograms of 5 kinds of amanita peptide toxins

2.1.2 质谱条件优化

5 种鹅膏肽类毒素的分子结构中均含有羟基、羰基和胺基等化学基团, 易电离成正离子, 比较正负两种模式下各化合物的响应, 发现正离子模式下 5 种鹅膏肽类毒素的 $[M+H]^+$ 峰响应明显增高, 而负离子模式下仅能产生较弱的 $[M-H]^-$ 峰。在流动相选取方面, 本研究对比了弱酸性流动相(5 mmol/L 甲酸铵水溶液-甲醇)及弱碱性流动相(0.02%氨水-甲醇)下各化合物的响应, 发现 5 种化合物都存在 $[M+Na]^+$ 峰, 并且在酸性流动相下 $[M+Na]^+$ 峰响应较高, 使 $[M+H]^+$ 峰比例降低, 影响 $[M+H]^+$ 峰的准确定量及检测灵敏度, 而在碱性条件下, $[M+Na]^+$ 峰响应明显减弱, $[M+H]^+$ 峰比例增加, 响应增强, 可有效降低 $[M+Na]^+$ 峰的干扰, 保证定量的准确性。因此, 本研究选用 ESI⁺ 进行全扫描, 选用 0.02%氨水-甲醇作为流动相, 同时对质谱条件进行优化, 选取合适的锥孔电压和碰撞能量, 获得更高的离子化效率。5 种鹅膏肽类毒素经优化后的测定条件见表 2。

2.2 提取试剂优化

对于蘑菇中毒等突发公共卫生事件来说, 快速定性、定量尤为重要。本研究中蘑菇样品可以直接提取离心后进样, 满足了快速筛查和确证的要求。在选择提取试剂上, 由于鹅膏肽类毒素化学性质稳定, 在甲醇、乙腈和水溶液中都有较好的溶解度^[28-30], 因此本研究对比了纯水、甲醇、水-甲醇(体积比 9:1)、水-甲醇(体积比 1:9)、乙腈的提取效率。结果表明, 使用乙腈提取时, 对于蘑菇基质来说, 它的选择性及响应强度远低于纯水或甲醇, 而纯水的提取平均回收率为 80.2%, 甲醇的提取平均回收率为 87.7%, 水-甲醇(体积比 9:1)及水-甲醇(体积比 1:9)的提取平均回收率均与甲醇相当, 结果见图 2。为了使提取液离心后可直接上机测定, 规避溶剂效应影响, 本研究选择与初始流动相配比相同的水-甲醇(体积比 9:1)作为提取试剂, 省去后续置换溶剂的烦琐步骤, 节约、高效, 使应急检测更加便捷、快速。

2.3 基质效应

基质效应(matrix effect, ME)是指样品中一种或多种

与待测物共同提取出来的物质对待测物响应值抑制或增强的现象, ME 值可按照式(1)量化评估。

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

ME 正值表示基质增强, 负值则表示基质抑制, 当 ME 的绝对值低于 20%时, 则表示基质效应在可接受范围内。本研究中, α -鹅膏毒肽、 β -鹅膏毒肽、 γ -鹅膏毒肽、二羟鬼笔毒肽和羧基二羟鬼笔毒肽的 ME 分别为-12.3%、-9.2%、-10.5%、-8.4%、-11.3%, 此 5 种鹅膏肽类毒素存在轻微基质抑制效应, 对定量没有显著影响, 可以忽略不计。

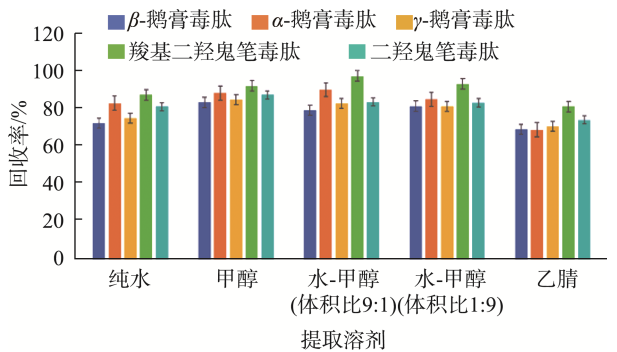


图 2 不同提取试剂提取效率
Fig.2 Extraction efficiencies of different extraction reagents

2.4 方法学评价

2.4.1 线性范围和检出限

将 10~200 ng/mL 标准系列工作液在本研究条件下测定, 以 5 种鹅膏肽类毒素的峰面积(Y)为纵坐标, 以各化合物的质量浓度(X, ng/mL)为横坐标, 绘制标准曲线, 各曲线线性关系良好, 相关系数在 0.9990~0.9993 范围内, 以 3 倍信噪比对应的 5 种鹅膏肽类毒素含量作为方法检出限, 得到最低检出限均为 0.02 mg/kg, 最低定量限均为 0.06 mg/kg, 满足实验测定要求, 见表 3。

2.4.2 准确度和精密度

选取 3 组蘑菇阴性样品, 每组 6 份, 加入混合标准中间液后, 混匀后静置, 使其充分混合, 然后按照本研究方法进行样品处理, 上机测定, 结果见表 4。5 种鹅膏肽类毒素的平均回收率为 78.2%~103.5%, RSDs 为 3.1%~7.6%, 回收率和精密度均满足实际样品测定要求。

表 3 5 种鹅膏肽类毒素的线性范围、标准曲线、相关系数、检出限及定量限
Table 3 Linear range, standard curve, correlation coefficients, limits of detection and limits of quantitative of 5 kinds of amanita peptide toxins

化合物	线性范围/(ng/mL)	标准曲线方程	相关系数	检出限/(mg/kg)	定量限/(mg/kg)
β -鹅膏毒肽	10~200	$Y=23.2X-11.3382$	0.9993	0.02	0.06
α -鹅膏毒肽	10~200	$Y=19.6758X+10.2218$	0.9991	0.02	0.06
γ -鹅膏毒肽	10~200	$Y=37.3607X-29.9215$	0.9990	0.02	0.06
羧基二羟鬼笔毒肽	10~200	$Y=44.6176X-89.2901$	0.9991	0.02	0.06
二羟鬼笔毒肽	10~200	$Y=229.636X-112.77$	0.9992	0.02	0.06

表 4 加标回收率与相对标准偏差(% , n=6)
Table 4 Spiked recoveries and the relative standard deviations (% , n=6)

化合物	0.1 mg/kg		0.5 mg/kg		2 mg/kg	
	平均回收率	RSDs	平均回收率	RSDs	平均回收率	RSDs
β -鹅膏毒肽	78.2	4.0	81.8	4.1	79.4	4.0
α -鹅膏毒肽	91.8	4.4	91.6	6.6	88.3	6.1
γ -鹅膏毒肽	82.2	6.0	83.4	5.3	84.8	7.6
羧基二羟鬼笔毒肽	93.2	5.1	97.4	4.9	103.5	6.0
二羟鬼笔毒肽	83.4	6.7	86.2	3.1	82.9	4.5

注：相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。

3 结 论

本研究采用 Waters Xselect CSH C₁₈ 色谱柱, 10%甲醇水溶液提取, 弱碱性流动相, 建立 UPLC-MS/MS 同时测定蘑菇中 5 种鹅膏肽类毒素的快检方法。与其他方法相比, 本研究选用合适配比的甲醇-水既保证了提取效率, 又与初始流动相比相同, 可以直接上机测定, 能有效避免溶剂效应影响, 省去提取后置换溶剂或使用 SPE 柱的烦琐步骤, 为中毒应急检测节约前处理时长。且本研究选用弱碱性流动相, 使各化合物的[M+H]⁺峰响应明显增强, 有效降低[M+Na]⁺峰带来的干扰, 既高效便捷又具有良好的回收率和精密度, 适用于蘑菇中毒事件中 5 种鹅膏肽类毒素的快速筛查和确证。

参考文献

[1] 图力古尔, 包海英, 李玉. 中国毒蘑菇名录[J]. 菌物学报, 2014, 33: 517–548.
TULI GER, BAO HY, LI Y. A revised checklist of poisonous mushrooms in China [J]. Mycosystema, 2014, 33: 517–548.

[2] 李启, 徐峻卿, 钱佳清, 等. 超高效液相色谱质谱法快速测定血浆中 6 种蘑菇毒素[J]. 中国现代医生, 2024, 62(19): 8–12.
LI Q, XU JQ, QIAN JQ, *et al.* Rapid determination of six mushroom toxins in plasma by ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Chin Mod Doctor, 2024, 62(19): 8–12.

[3] 周静, 袁媛, 邱楠, 等. 中国大陆地区蘑菇中毒事件及危害分析[J]. 中华急诊医学杂志, 2016, 25(6): 724–728.
ZHOU J, YUAN Y, LANG N, *et al.* Analysis of mushroom poisoning incidents and their impacts in mainland China [J]. Chin J Emerg Med, 2016, 25(6): 724–728.

[4] 余成敏, 李海蛟. 中国含鹅膏毒肽蘑菇中毒临床诊断治疗专家共识[J]. 中华危重症医学杂志, 2020, 29(2): 171–179.
YU CM, LI HJ. Expert consensus on clinical diagnosis and treatment of Amanita toxin poisoning in China [J]. Chin J Crit Care Med, 2020, 29(2): 171–179.

[5] 崔勇, 张冠英, 刘智. 磁性固相萃取净化-超高效液相色谱-串联质谱同时测定尿液中 6 种鹅膏肽类毒素[J]. 中国卫生工程学, 2024, 23(5): 593–597.
CUI Y, ZHANG GY, LIU Z. Simultaneous determination of six kinds of amanita peptide toxins in urine by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with magnetic solid-phase extraction [J]. Chin J Pub Health Eng, 2024, 23(5): 593–597.

[6] 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.
XU 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.

[7] 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.
WANG J, SHI ZX, QIAO J, *et al.* Research progress on lethal amanita species and amanita peptide toxins [J]. J Langfang Norm Univ (Nat Sci Ed), 2018, 18(1): 46–53.

[8] 许欣欣, 陈春晓, 仲岳桐, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定毒蘑菇中 5 种强毒性蘑菇毒素含量[J]. 食品安全质量检测报, 2020, 11(19): 6936–6941.
XU XX, CHEN CX, ZHONG YT, *et al.* Determination of 5 kinds of virulent mushroom toxins in poisonous mushroom by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(19): 6936–6941.

[9] 赵春艳, 王婷婷, 邵丽梅, 等. 鹅膏菌肽类毒素的研究进展[J]. 中国食用菌, 2014, 33(4): 9–11, 13.
ZHAO CY, WANG TT, TAI LM, *et al.* Research progress on amanita peptide toxins [J]. Edib Fung Chin, 2014, 33(4): 9–11, 13.

[10] 薛康, 胡江涛, 俞凌云, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定毒蕈中 6 种鹅膏毒肽类和鬼笔毒肽类毒素[J]. 安徽农业科学, 2021, 49(17): 182–185.
XUE K, HU JT, YU LY, *et al.* Rapid Determination of six amanitins and phallotoxins in poisonous mushrooms by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Anhui Agric Sci, 2021, 49(17): 182–185.

[11] 张秀尧, 蔡欣欣, 张晓艺, 等. 免疫亲和柱净化-超高效液相色谱-三重四极杆质谱法高灵敏测定尿液和血浆中 3 种鹅膏毒肽[J]. 色谱, 2022, 40(5): 443–451.
ZHANG XY, CAI XX, ZHANG XY, *et al.* Highly sensitiv determination of three kinds of amanitins in urine and plasma by ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry coupled with immunoaffinity column clean-up [J]. Chin J Chromatogr, 2022, 40(5): 443–451.

[12] 邓哲, 荆文光, 刘安. 薄层色谱法在当前中药质量标准中的应用探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(7): 209–214.
DENG Z, JING WQ, LIU AN. Application of thin layer chromatography incurrent quality standards of traditional Chinese medicine [J]. Chin J Exp Trad Med Formul, 2019, 25(7): 209–214.

[13] 张秀尧, 蔡欣欣, 张晓艺, 等. 超高效液相色谱-二极管阵列检测法快速测定毒蘑菇中 5 种毒肽[J]. 浙江预防医学, 2016, 28(2): 214–216.
ZHANG XY, CAI XX, ZHANG XY, *et al.* Rapid determination of five toxic peptides in poisonous mushroom by ultra performance liquid chromatography diode array detection [J]. Zhejiang J Prev Med, 2016, 28(2): 214–216.

- [14] 曹福祥, 张志光, 梁宋平. 反相高效液相色谱法分离纯化 α -鹅膏毒肽[J]. 分析化学, 2003, 31(5): 562–565.
CAO FX, ZHANG ZG, LIANG SP. Separation and purification of α -amanitin by reversed-phase high-performance liquid chromatography [J]. Chin J Anal Chem, 2003, 31(5): 562–565.
- [15] 龚庆芳, 魏宝阳, 肖桂林, 等. RP-HPLC 法测定鹅膏菌中毒患者体液中的 α -amanitin [J]. 湖南师范大学(自然科学学报), 2005, 28(2): 67–69.
GONG QF, WEI BY, XIAO GL, *et al.* Determination of α -amanitin in amanita poisoned patients body fluid by RP-HPLC [J]. J Nat Sci Hunan Norm Univ, 2005, 28(2): 67–69.
- [16] 李帮锐, 冯家力, 曾栋, 等. 尿液和血浆中蘑菇毒肽测定的方法学研究[J]. 职业与健康, 2016, 32(20): 2786–2791.
LI BR, FENG JL, ZENG D, *et al.* Methodology research on detection of phallotoxins in urine and plasma samples [J]. Occup Health, 2016, 32(20): 2786–2791.
- [17] 王硕, 孙灵利, 毛红霞, 等. 蘑菇中 5 种蘑菇毒素的超高效液相色谱-串联质谱同时测定法[J]. 职业与健康, 2019, 35(23): 3197–3200.
WANG S, SUN LL, MAO HX, *et al.* Simultaneous determination of five mushroom toxins in mushrooms by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Occup Health, 2019, 35(23): 3197–3200.
- [18] 周华, 吴香伦, 黄琴, 等. 超高效液相色谱-三重四极杆质谱法快速同时测定血浆和尿液中 3 种-鹅膏毒肽和 2 种鬼笔毒肽[J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31(18): 2199–2201.
ZHOU H, WU XL, HUANG Q, *et al.* Rapid simultaneous determination of three amatoxins and two phallotoxins in human urine and plasma by ultra-high performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry [J]. Chin J Health Lab Technol, 2021, 31(18): 2199–2201.
- [19] 蒋云露, 吴文, 黄弋耘, 等. 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法快速检测菌类中鹅膏毒肽毒素[J]. 粮食储藏, 2024, 53(4): 40–45.
JIANG YL, WU W, HUANG YY, *et al.* Rapid determination of amanita peptide toxins in mushrooms by ultra performance liquid chromatography-Q exactive orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. Grain Storage, 2024, 53(4): 40–45.
- [20] 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.
- [21] 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.
- [22] 薛康, 胡江涛, 陈佳玥, 等. 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[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(22): 8695–8702.
XUE K, HU JT, CHEN JY, *et al.* Simultaneous determination of 6 kinds of amatoxins and phallotoxins in wild mushrooms by dispersive solid-phase extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(22): 8695–8702.
- [23] 薛荣旋, 刘国平, 黄莹德, 等. 分散固相萃取结合超高效液相色谱-串联质谱法快速测定毒蘑菇中的 6 种野生蘑菇毒素[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(17): 6918–6923.
XUE RX, LIU GP, HUANG YS, *et al.* Rapid determination of 6 kinds of wild mushroom toxins in poisonous mushrooms by dispersive solid phase extraction combined with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(17): 6918–6923.
- [24] SGAMBELLURI RM, EPIS S, SASSERA D, *et al.* Profiling of amatoxins and phallotoxins in the genus lepiota by liquid chromatography combined with UV absorbance and mass spectrometry [J]. Toxins, 2014, 6(8): 2336–2339.
- [25] 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.
- [26] 叶小莉, 岳亚军, 赖璟琦, 等. 高效液相色谱-三重四极杆串联质谱法测定深圳梧桐山野生蘑菇中 5 种鹅膏肽类毒素的含量[J]. 理化检验-化学分册, 2022, 58(8): 909–913.
YE XL, YUE YJ, LAI JQ, *et al.* Determination of five amanita peptide toxins in wild mushroom in Shenzhen Wutong Mountain [J]. Phys Test Chem Anal Part B, 2022, 58(8): 909–913.
- [27] 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.
- [28] 刘磊琦, 陈镜泽, 傅武胜, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定野生蘑菇中鹅膏肽类与色胺类毒素[J]. 色谱, 2023, 41(11): 976–985.
LIU LQ, CHEN JZ, FU WS, *et al.* Determination of amanita peptide and tryptamine toxins in wild mushrooms by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2023, 41(11): 976–985.
- [29] 许莹, 李春盛, 郭维静. 超声波-固相萃取-高效液相色谱法测定毒蘑菇中肽类毒素[J]. 预防医学论坛, 2020, 26(10): 783–786.
XU Y, LI CS, GUO WJ. Determination of peptide toxins in poisonous mushroom by ultrasonic solid phase extraction high performance liquid chromatography [J]. Prev Med Tribune, 2020, 26(10): 783–786.
- [30] 贺丽迎, 唐晓琴, 赵舰, 等. 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法测定毒蘑菇中 5 种鹅膏肽类毒素[J]. 色谱, 2023, 41(1): 94–103.
HE LY, TANG XY, ZHAO J, *et al.* Determination of five amanita peptide toxins in poisonous mushrooms by ultra performance liquid chromatography-quadrupole electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2023, 41(1): 94–103.

(责任编辑: 于梦娇 安香玉)

作者简介

邹 淼, 副主任技师, 主要研究方向为
卫生理化检验及食品污染物风险监测工作。
E-mail: 741690012@qq.com

华正罡, 主任技师, 主要研究方向为
食品安全检测。
E-mail: huazhenggang2004@163.com