

实验技术与方法

基于通过型固相萃取-超高效液相色谱三重四级杆/复合线性离子阱质谱法测定调味酱中蟾蜍色胺

孙文芳¹,徐杰¹,朱峰²,杨雯¹,刘祥萍¹,陈慧敏³(1. 南京市疾病预防控制中心,江苏南京 210003;2. 江苏省疾病预防控制中心,江苏南京 210009;
3. SCIEX公司,上海 200335)

摘要:目的 建立通过型固相萃取-超高效液相色谱三重四级杆/复合线性离子阱质谱法(UHPLC-QTRAP-MS/MS)测定调味酱中蟾蜍色胺含量的检测方法。方法 样品匀浆后加入一定量的纯水和5%氯化乙腈超声提取。盐包盐析后,取上清液调节有机相比例及pH,通过PRiME HLB固相萃取小柱进行净化,净化液用纯水稀释离心后,UHPLC-QTRAP-MS/MS检测。同时结合线性离子阱采集的二级谱图与建立的标准谱库进行匹配分析。结果 蟾蜍色胺在0.2~50.0 ng/mL浓度范围内线性关系良好,相关系数>0.999,方法检出限为0.4 μg/kg,加标水平为5.0、50.0、200 μg/kg时,回收率范围为99.5%~106.5%,相对标准偏差为1.9%~4.3%。结论 该方法方便快捷,无须内标,抗干扰能力强,线性离子阱采集的二级质谱对样品进行二次辅助定性,可适用于应急事件调味酱中蟾蜍色胺含量的测定。

关键词:蟾蜍色胺;调味酱;超高效液相色谱三重四级杆/复合线性离子阱质谱法;通过型固相萃取

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2024)12-1318-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2024.12.003

Determination of bufotenine in sauces by ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole/linear ion trap mass spectrometry with pass-through solid phase extractionSUN Wenfang¹, XU Jie¹, ZHU Feng², YANG Wen¹, LIU Xiangping¹, CHEN Huimin³

(1. Nanjing Center for Disease Control and Prevention, Jiangsu Nanjing 210003, China;2. Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention, Jiangsu Nanjing, 210009, China;3. SCIEX Analytical Instrument Trading Co., Ltd, Shanghai 200335, China)

Abstract: Objective To establish a method for determination of bufotenine in sauces by ultra-high performance liquid chromatography-linear ion trap mass spectrometry (UHPLC-QTRAP-MS/MS) with pass-through solid phase extraction.

Methods Samples were homogenized, extracted with water and ammoniated acetonitrile via ultrasonication. After salting out, the supernatant was taken to adjust the organic phase ratio and pH, then purified by PRiME HLB solid phase extraction column. After dilution and centrifugation with pure water, the purified liquid was detected by UHPLC-QTRAP-MS/MS. UHPLC-QTRAP-MS/MS technique automatically triggered an enhanced product ion scan (MRM-IDA-EPI) mode, collecting secondary mass spectra of suspected target compounds for comparison with standard spectra, thereby further identifying positive samples. **Results** Under optimized conditions, bufotenine can be effectively separated and showing good linearity in the concentration range from 0.2 to 50.0 ng/mL with correlation coefficients exceeding 0.999. The method's detection limit was 0.4 μg/kg, with an average recovery rate between 99.5% to 106.5% for spiked levels of 5.0, 50.0 and 200 μg/kg. A relative standard deviation from 1.9% to 4.3%. **Conclusion** It was a simple and rapid method, with secondary mass spectrometry collected by a linear ion trap, meeting the requirements for detecting bufotenine content in sauces.

Key words: Bufotenine; sauce; ultra-high performance liquid chromatography-linear ion trap mass spectrometry; pass-through solid phase extraction

收稿日期:2024-07-03

基金项目:南京市公共卫生检测重点实验室;南京市医学重点专科资助

作者简介:孙文芳 女 副主任技师 研究方向为卫生理化检验 E-mail:sunwenfang8304@163.com

通信作者:刘祥萍 女 主任技师 研究方向为卫生理化检验 E-mail:Lxping89@126.com

蟾蜍色胺是一种与血清素相关的色胺类物质,含有吲哚环,属于吲哚类的生物碱^[1],结构与二甲基色胺、脱磷酸裸盖菇素和 5-甲氧基二甲基色胺类似(图 1),作用于中枢神经系统时有致幻性,主要作用是产生对色幻视,可引起副交感神经兴奋、出汗、恶心、呕吐、气急、瞳孔放大、轻度呼吸障碍等症状^[2-3]。除此之外,也有研究表明蟾蜍色胺具有抗炎镇痛的特性^[1],其存在于某些蟾蜍皮肤(得名于蟾蜍属)、蘑菇、植物和哺乳动物中^[2-4]。在本市一起公共卫生应急事件处置中,用于制作菜肴的自制调味酱送检样品中筛出蟾蜍色胺,因此有必要建立调味酱中蟾蜍色胺的快速定性定量检测方法,为类似公共卫生应急事件处置的定性定量确证提供技术支持。

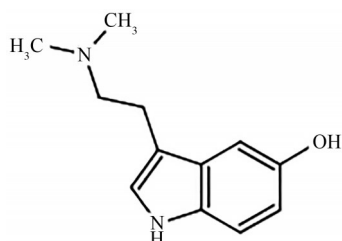


图 1 蟾蜍色胺化学结构式

Figure 1 Chemical structure of bufotenine

由于蟾蜍色胺小分子和强极性的特点,已报道的蟾蜍色胺的检测技术主要为色质联用技术。RAISANEN 和 KARKKAINEN^[5]和 MISHRAKI-BERKOWITS 等^[6]分别采用衍生气相色谱法及氯化二氯甲烷作为提取剂直接检测蟾蜍色胺及其结构类似物;BLACKLEDGE 和 PHELAN^[7]等利用气相-红外光谱仪鉴定 4-羟基-N,N-二甲基色胺及蟾蜍色胺;MARTIN 等^[8]和刘磊琦等^[9]均用固相萃取-液相色谱质谱联用法分析了血尿及蘑菇中的蟾蜍色胺;BAMBAUER 等^[10]建立了固相萃取-亲水液相色谱-高分辨质谱联用法检测尿液中蟾蜍色胺等多种蘑菇毒素的方法。相较于气相色谱法,液相色谱质谱联用法灵敏度高、抗干扰能力强,更适用于调味酱这种复杂基质中残留物质的检测^[7]。三重四级杆/复合线性离子阱质谱具有增强二级碎片离子定性功能,可建立增强子离子扫描(EPI)谱库,弥补一部分三重四级杆分辨率低的缺点,通过多能级图谱检索进行补充定性^[8]。

目前,蟾蜍色胺的检测基质主要为植物和人体生物样本^[3-6]。尚无报道针对调味酱中蟾蜍色胺的检测方法。由于方法针对应急事件处置,且调味酱中富含大量色素、蛋白质和油脂,优先采用较为便捷的通过式固相萃取法和分散固相萃取法净化处理^[7,9]。PRiME HLB 固相萃取小柱具有高效吸附、去除样品中蛋白与磷脂类物质和降低基质干扰的

作用,常用于动物源性食品中残留检测的样品前处理^[10-11]。本研究通过碱性有机试剂萃取,盐析除水后调节酸度及有机溶剂含量,PRiME HLB 小柱净化,基于超高效液相色谱-线性离子阱质谱(UHPLC-QTRAP-MS/MS)技术,采用自动触发增强子离子扫描(Multiple Reaction Monitoring-Information Dependent Acquisition-Enhanced Product Ion, MRM-IDA-EPI)模式,将可疑目标化合物的二级质谱图与标准谱库比对,通过保留时间、二级碎片比对结果对可疑样品进行定性确证。该方法无须内标,简单快捷、稳定有效,满足应急事件调味酱中蟾蜍色胺的定性定量检测要求。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

LC-30A 超高效液相色谱系统(岛津公司,日本),配有 QTRAP 4500 三重四级杆-线性离子阱复合型质谱仪(AB SCIEX 公司,美国);LYNX6000 高速离心机(赛默飞公司,美国);Centrifuge5418 高速离心机(Eppendorf 公司,德国);UP500H 超声波清洗器(垒君达超声仪器有限公司,中国);Milli-Q 超纯水装置(Millipore 有限公司,美国)。

蟾蜍色胺标准溶液(100 μg/mL,购自阿尔塔科技有限公司);Oasis PRiME HLB 固相萃取小柱(3cc, 60 mg)购自 Waters 公司。QuEChERS 净化管 1(含 PSA 50 mg、硫酸镁 150 mg),QuEChERS 净化管 2(含 PSA 50 mg、GCB 50 mg、C18 50 mg 及硫酸镁 150 mg)均购自 Agilent 公司。QuEChERS 净化管 3(含 C18 25 mg 及硫酸镁 150 mg)、盐析试剂包(含 4 g 硫酸镁及 1 g 氯化钠)均购自安谱公司。乙腈、甲醇(均为色谱纯)均购自 Merck 公司,甲酸(色谱纯)购自 Sigma-Aldrich 公司,氨水(分析纯)购自国药集团化学试剂有限公司,实验用水为 Milli-Q 超纯水。

1.2 标准溶液的配制

取一定量的 100 μg/mL 蟾蜍色胺标准溶液,用 40% 乙腈水溶液配制制成 1 μg/mL 浓度的标准储备液,置于冰箱-18 °C 保存。取标准储备液用 40% 的乙腈水溶液稀释得蟾蜍色胺浓度为 0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50.0 ng/mL 的系列标准溶液。以待测物质量浓度为横坐标,以待测物峰面积为纵坐标绘制标准曲线。

1.3 试验方法

1.3.1 样品前处理

称取经匀浆的样品 2.0 g 于 50 mL 离心管中,加入纯水 2 mL,分散均匀后加入 5% 氨化乙腈 8 mL。

涡旋 1 min 后超声提取 10 min。加入硫酸镁 4.0 g 及氯化钠 1 g, 混匀冷却后在 4 °C 下 12 000 r/min 离心 5 min(离心半径为 15.4 cm)。取 2.0 mL 上清液, 加入纯水 0.5 mL 及 50 μ L 甲酸, 混匀后全部通过 Oasis PRiME HLB 固相萃取小柱(3cc/60 mg), 收集所有滤液并混匀。取滤液 1 mL, 加入纯水 1 mL, 混匀后, 12 000 r/min 离心 5 min(离心半径为 7.7 cm), 上清液待 LC-MS/MS 检测。

1.3.2 分析条件

1.3.2.1 液相色谱分析条件

色谱柱: phenomenex Kinetex F5(50 \times 3.0 mm, 2.6 μ m), 流动相: A 为 0.1%(v/v) 甲酸水, B 为 0.1%(v/v) 甲酸甲醇。梯度洗脱程序: 0~2 min, 5% B; 2~6 min, 5%~90% B; 6~8 min, 90% B; 8~8.1 min, 90%~5% B; 8.1~10 min, 5% B。流速: 0.3 mL/min, 柱温: 35 °C, 进样体积: 1 μ L。

1.3.2.2 质谱条件

多反应监测(Multiple reaction monitoring, MRM)-信息依赖扫描(Information dependent acquisition, IDA)-增强离子扫描(Enhanced Product Ion scan, EPI)模式。MRM 参数: 气帘气(Curtain gas): 20 psi; 雾化气(gas 1): 50 psi; 辅助气(gas 2): 50 psi; 离子源温度(TEM): 550 °C; 电喷雾电压(IS): 5 500 V; 碰撞气(CAD): High。优化后的质谱参数见表 1。

表 1 蟾蜍色胺的质谱参数

Table 1 Mass spectrometry parameters for bufotenine

化合物	母离子/(m/z)	子离子/(m/z)	DP/V	CE/eV
蟾蜍色胺	205.1	160.0*	40	21
		58.0	40	30

注: *定量离子

IDA 参数: 启动 EPI 阈值为 1000 CPS, 动态背景扣除模式; EPI 参数: 扫描速度 10 000 Da/S, 扫描范围 m/z 50~300 Da, 动态填充阱集时间, EPI 碰撞能量(CE): (35 \pm 15)eV。

筛查质谱库建立参数: 气帘气(Curtain gas): 20 psi; 雾化气(gas 1): 16 psi; 辅助气(gas 2): 0 psi; 离子源温度(TEM): 0 °C; 电喷雾电压(IS): 5 500 V。EPI 扫描速度 10 000 Da/s, 扫描范围为 m/z 50~300 Da, 动态填充阱集时间, 去簇电压(DP)为 60 V, EPI 碰撞能量(CE)为 (35 \pm 15)eV。

2 结果

2.1 质谱条件优化

将待测化合物配制成 100 ng/mL 的标准溶液, 在正离子模式(ESI+)下通过针泵注入质谱, 确定母离子, 再选择离子丰度相对较高、干扰较小的两个

子离子, 优化其去簇电压和碰撞电压, 获得待测物质的质谱参数。

2.2 色谱条件的优化

蟾蜍色胺是一种吲哚类生物碱^[1], 水溶性较强, 在反相色谱柱上不易保留, 本研究选择 BEH C18 色谱柱和 F5 色谱柱进行试验, 结果表明蟾蜍色胺在 F5 色谱柱上保留效果更好。因为 F5 色谱柱的氟基团具有高电负性, 能够产生偶极矩及氢键作用, 有助于增强极性化合物的保留能力, 而普通 C18 色谱柱保留较弱, 因此最终选择 phenomenex Kinetex F5 色谱柱(50 \times 3.0 mm, 2.6 μ m)作为分析柱。

通常, 降低样品进样溶液的有机相比例或者减小进样量, 可以改善溶剂效应。结合前处理相关步骤, 对不同乙腈含量的进样溶液及进样量不同时对溶剂效应的影响进行比较。结果表明 40% 乙腈进样 1 μ L 均未表现出溶剂效应, 乙腈含量 50% 及进样 2 μ L 以上时, 峰渐渐展宽直至出现双峰, 故最终选择进样溶液体系为 40% 乙腈; 进样体积为 1 μ L。

比较了水-甲醇、0.1% 甲酸水-甲醇、0.1% 甲酸水-0.1% 甲酸甲醇和 0.1% 甲酸水-0.1% 甲酸乙腈几种流动相体系。结果发现, 流动相不含甲酸时, 蟾蜍色胺保留时间较长, 峰形展宽, 在流动相添加一定量甲酸后, 可能因蟾蜍色胺分子得到完全离子化, 因此具有稳定的保留时间和较好峰型。相较于甲醇, 乙腈洗脱能力较强, 蟾蜍色胺无法在色谱柱上得到有效保留。因此最终选择 A 相为 0.1% 甲酸水, B 相为 0.1% 甲酸甲醇, 梯度洗脱的模式。色谱图见图 2。

2.3 前处理条件的优化

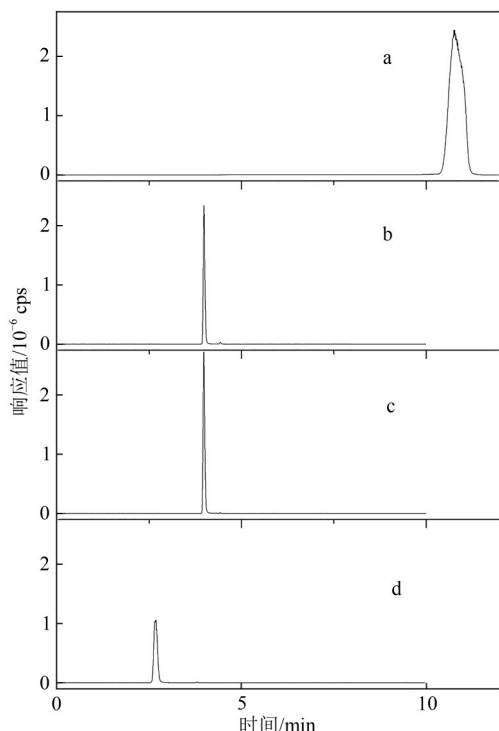
2.3.1 样品提取溶液的选择

调味酱直接用甲醇或甲醇-乙腈(1:1, v/v)混合溶液进行提取, 基质可充分分散, 但回收率均在 50% 以下。直接用乙腈提取却往往难以完全分散, 导致萃取不完全。最终采用先加入少量水分散样品基质, 再加入乙腈的方法进行提取。

对比酸性的 1% 甲酸乙腈和碱性的 5% 氨化乙腈提取液对提取效率的影响。5% 氨化乙腈作为提取液时回收率接近 100%, 而 1% 甲酸乙腈作为提取液时回收率为 75%。可能因为蟾蜍色胺结构中的叔氨基在酸性条件下易于形成离子态, 使部分残留于水相中, 而碱性乙腈则可保持叔氨基以分子态的形式存在, 使乙腈完全提取基质中的蟾蜍色胺, 因此最终选择 5% 氨化乙腈作为提取溶剂。各种提取试剂的考察结果见图 3。

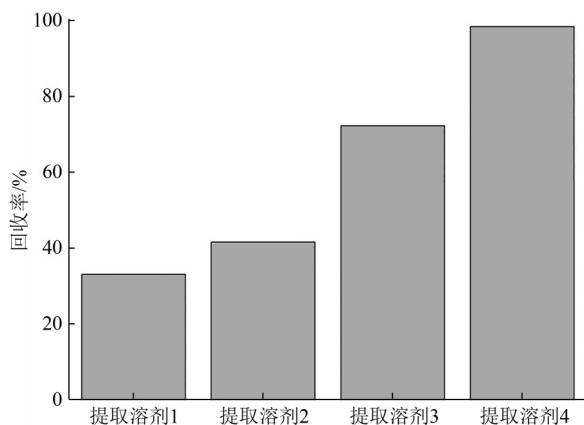
2.3.2 盐析条件的选择

由于不同调味酱含盐量差异较大, 为保持盐析条件的一致性, 及提取液的 pH, 排除使用针对酸性



注:a. 水-甲醇;b. 0.1% 甲酸水(v/v)溶液-甲醇;c. 0.1% 甲酸水(v/v)溶液-0.1% 甲酸甲醇(v/v)溶液;d. 0.1% 甲酸水(v/v)溶液-0.1% 甲酸乙腈(v/v)溶液

图2 采用不同流动相时目标物的提取离子流色谱图
Figure 2 Extracted ion chromatography of the target compounds obtained using different mobile phase



注:提取溶剂1: 甲醇;提取溶剂2: 甲醇-乙腈(1:1, v/v);提取溶剂3: 乙腈[含 1%(v/v)甲酸];提取溶剂4: 乙腈[含 5%(v/v)氨水]

图3 不同提取溶剂对回收率的影响

Figure 3 Effect of different extraction solutions on the recoveries

缓冲体系的醋酸盐和柠檬酸盐盐析试剂包,选择了不含 pH 缓冲能力的 4 g 硫酸镁及 1 g 氯化钠作为盐析试剂包,对水分进行彻底去除,使蟾蜍色胺完全提取至乙腈层。

2.3.3 净化条件的选择

调味酱基质复杂多样,含有大量油脂、色素和盐分,前处理过程中会产生油脂分层及乳化现象,因此对净化条件进行了探索。相较于 SPE 固相萃取

法前处理步骤较多,通过式固相萃取法及 QuEChERS 法更能满足应急检测对方法的便捷性及时效性的要求。PRiME HLB 固相萃取小柱在碱性条件下会对目标化合物产生吸附,回收率较低;使用到的几种 QuEChERS 净化管中净化材料主要为硅胶骨架,均不适用于碱性样品体系,因此净化前用 50 μ L 甲酸调节 pH 至酸性。

考察了常用的 3 种 QuEChERS 净化管:1(含 PSA 50 mg、硫酸镁 150 mg),2(含 PSA 50 mg、GBC 50 mg、C18 50 mg 及硫酸镁 150 mg),3(含 C18 25 mg 及硫酸镁 150 mg)及 Waters PRiME HLB 固相萃取小柱(60 mg/3 cc)对回收率的影响。结果表明,净化管 2 回收率较低,为 80%;使用净化管 1 和 3,净化后用水稀释会出现乳化现象,脂质部分去除不完全。

由于 PRiME HLB 固相萃取小柱无须纯乙腈作为提取液,利用 PRiME HLB 固相萃取小柱的通过模式进行样品净化时,对提取液溶剂为纯乙腈和 80% 乙腈净化后的效果进行比较。纯乙腈样品提取液过柱后,稀释时发生乳化,离心后可见油脂层。而 80% 乙腈样品提取液过柱后,净化液清澈且不随稀释倍数产生浑浊乳化,得到较好的除脂效果。因此取盐析除水后的乙腈提取液按照 4:1 的比例加入纯水,最终满足上柱净化溶液为 80% 乙腈溶液。

综合比较以上前处理结果并考虑色谱柱耐用性,最终选择将乙腈提取液稀释至乙腈含量为 80% 时,直接通过 Waters PRiME HLB 固相萃取小柱进行净化。前处理方法对回收率的影响见图 4。

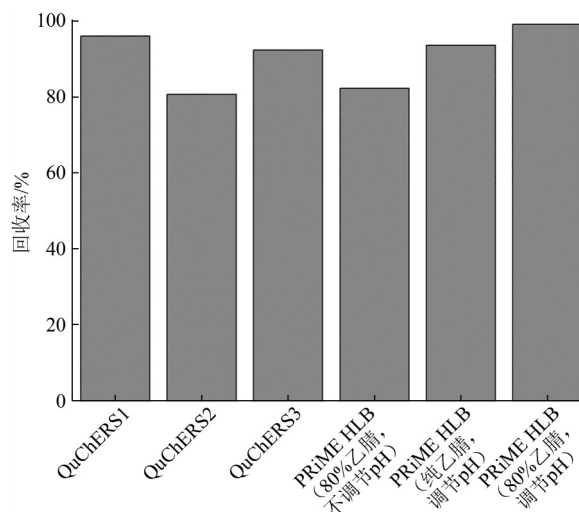


图4 不同前处理方法对回收率的影响

Figure 4 Effect of different pretreatment methods on the recoveries

2.3.4 基质效应

通过对比处理后的空白基质加标曲线与空白溶剂加标曲线的斜率比值来评价基质效应(Matrix effect, ME)。基质效应计算公式为 $ME = (\text{基质匹配})$

标准曲线斜率/溶剂标准曲线斜率-1)×100%。当|ME|<20%时为弱基质效应。结果表明,在溶液萃取及色谱分离的基础之上,基质干扰性成分可得到有效去除或进行色谱区分,阴性空白调味酱未净化前基质效应为5.9%,表现出弱基质效应,净化之后基质效应为0.5%,基质效应得到进一步消除,因此无需使用内标校正或基质曲线,即可准确定量。

2.3.5 滤膜过滤的影响

对高速离心和亲水PTFE滤膜过滤对回收率的影响进行比较,结果表明,用亲水PTFE进行过滤后,标准品浓度会下降85%,而高速离心处理后回

收率没有变化,因此采用进样前12 000 r/min高速离心的处理方式。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性回归方程及检测限

按照方法1.2配制标准曲线并进行线性回归。结果表明在0.2~50.0 ng/mL范围内,线性关系良好,相关系数大于0.999。按照取样量为2 g时,最终定容体积为20 mL,采用向阴性样品中添加标准物质的方法,分别以3倍和10倍信噪比(S/N)计算出方法的检出限和定量限。线性方程、相关系数及检测限、定量限见表2。

表2 蟾蜍色胺的线性范围、线性方程、相关系数、方法检出限和方法定量限

Table 2 Linear range, linear equation, correlation coefficient, detection limits of the method and quantification limit of the method for bufotenine

化合物	线性范围/($\mu\text{g/L}$)	标准曲线	r	LOD/($\mu\text{g/kg}$)	LOQ/($\mu\text{g/kg}$)
蟾蜍色胺	0.2~50.0	$y=7.639\ 9\times 10^4x-339$	0.999 9	0.4	1.3

注:LOD:检出限;LOQ:定量限

2.4.2 加标回收率和精密度

选用不含待测物的阴性样品为空白基质。准确称量2.0 g,各添加3个不同浓度水平的蟾蜍色胺,添加水平分别为5.0、50.0、200 $\mu\text{g/kg}$,按照1.3.1前处理方法进行回收率实验。同时平行测定6组,用于考察方法精密度,结果见表3。结果表明,加标水平为5.0、50.0、200 $\mu\text{g/kg}$ 时,回收率范围为99.5%~106.5%,相对标准偏差为1.9%~4.3%。

表3 加标回收率和精密度结果($n=6$)

Table 3 Recoveries and RSD of the bufotenine at three spiked level ($n=6$)

化合物	加标水平/($\mu\text{g/kg}$)	平均回收率/%	RSD/%
蟾蜍色胺	5.0	99.5	4.3
	50.0	106.5	3.3
	200	104.7	1.9

注:RSD表示相对标准差

2.5 筛查质谱库和筛查方法的建立

筛查质谱库的建立:将蟾蜍色胺100 ng/mL标准溶液通过针泵直接进样,按1.3.2.2建立筛查质谱库的质谱条件,收集子离子质谱图(图5a),建立相应质谱库。

筛查方法的建立:设置待测化合物的MRM离子对,当MRM采集信号强度大于设定阈值时(IDA),出现色谱峰,触发在线增强子离子扫描模式(EPI),同时得到预设MRM及对应通道母离子的增强二级离子扫描质谱图。

软件在对应的谱库中搜索与目标谱图对应的标准谱图,得到相应匹配度,达到二次定性的功能。MRM采集的信号中,定性离子和定量离子的丰度比可作为定性分析的根据,与增强二级离子扫描质

谱图匹配结果相互印证,可有效降低假阳性结果。需要注意的是,因为蟾蜍色胺与脱磷酸裸盖菇素等其他色胺类化合物具有极为相似的碎片及二级扫描质谱图,本方法分析条件下,蟾蜍色胺与脱磷酸裸盖菇素的保留时间差异大于一般色谱定性时间偏差2.5%的要求,但筛查结果仅作为提示进一步确证的方向,或降低假阳性的可能,最终必须通过标准品对筛查结果进行确认。

由于蟾蜍色胺的母离子质荷比205 Da,也是常见的邻苯二甲酸酯碎片离子^[12]。经验证,流动相中存在可产生205 Da碎片的邻苯二甲酸酯类化合物,其再次碎裂产生的碎片与蟾蜍色胺的碎片并不相同,不会对定量方法产生影响,但是会对EPI采集的二级离子扫描图产生干扰。因此用正匹配(Fit值)作为匹配判断条件比反匹配(Refit值)、Purity值更合理。尤其是浓度低于0.5 ng/mL时,Fit值也无法达到理想的匹配度,需要采取人工匹配的方式进行判定。以阳性样品为例,采用建立的MRM-IDA-EPI扫描模式进行检测,谱库检索图见图5b。

2.6 实际样品测定

应用本法对应急事件中采集的调味酱样品进行检测,检出送检调味酱中蟾蜍色胺的浓度在145~217 $\mu\text{g/kg}$ 。所有检出样品的EPI图谱跟自建的标准图谱正匹配值(Fit值)均大于60%。同时也发现,同一份调味酱样品,如果只取油脂部分,蟾蜍色胺的检出浓度会大幅降低,因此要注意取样时的均匀性。

3 小结

本文建立了一种采用通过型固相萃取-超高效液

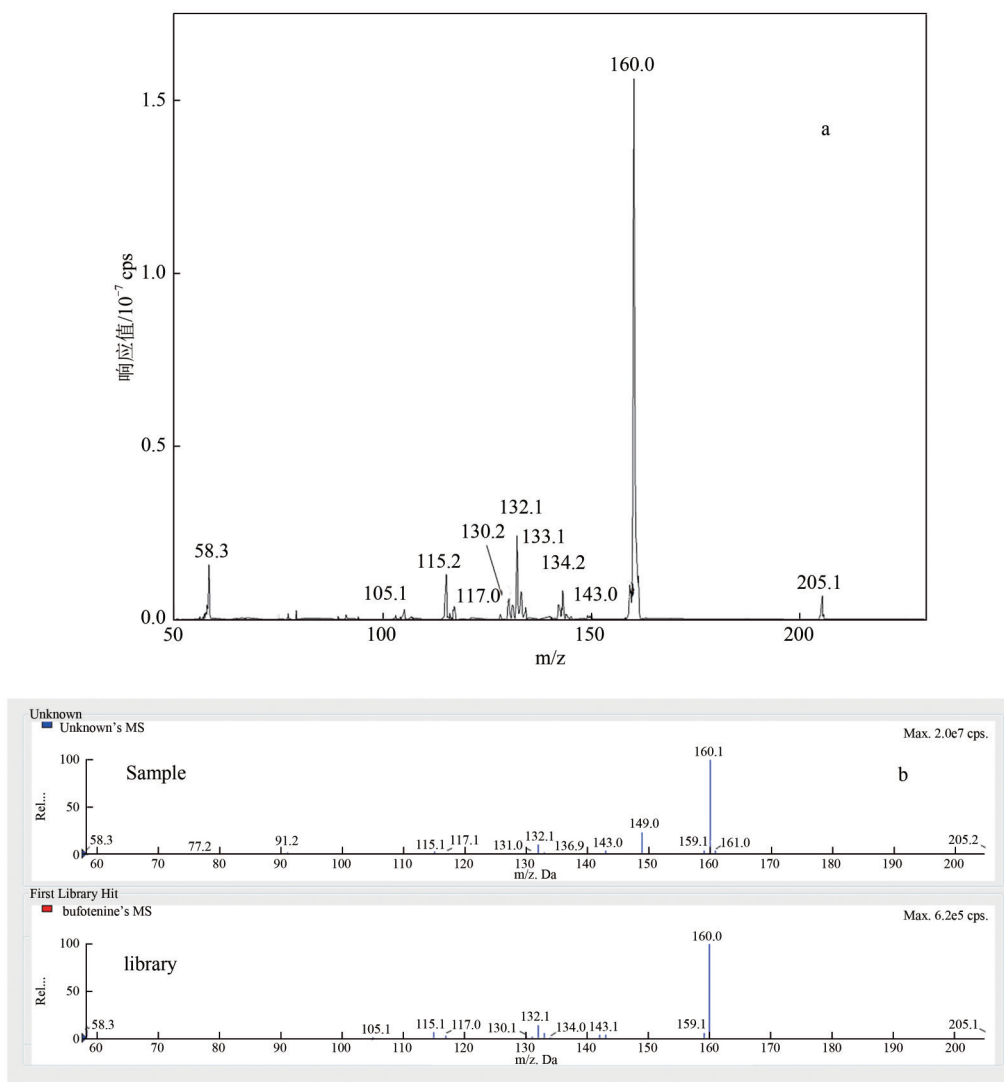


图5 蟾蜍色胺EPI二级谱图(a)及阳性样品谱库检索图(b)

Figure 5 EPI spectra of bufotenine (a) and library search for positive sample (b)

相色谱三重四级杆/复合线性离子阱质谱法(UHPLC-QTRAP-MS/MS)对应急事件调味酱中蟾蜍色胺定性定量检测的方法。该方法简单快速,净化效果好,无需使用内标溶液或基质曲线进行校正,重现性及精密度均满足调味酱中蟾蜍色胺含量快速检测的要求。此外,本方法采用MRM-IDA-EPI模式,通过与自建标准图谱进行检索比对,可进一步对结果进行定性,排除假阳性,适用于公共卫生突发应急事件检测的要求。

参考文献

[1] 徐迪辉. 基于质谱技术对蟾酥中吲哚类生物碱的鉴定及镇痛抗炎活性评价[D]. 南京: 南京中医药大学, 2021.
 XU D H. Identification of indole alkaloids in toad venom and evaluation of its analgesic and anti-inflammatory activity based on mass spectrometry[D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2021.

[2] MCBRIDE M C. Bufotenine: toward an understanding of possible psychoactive mechanisms[J]. Journal Of Psychoactive Drugs.

2000, 32(3): 321-331.

[3] 杜秀菊. 神经致幻型毒菌205(Psilocybe sp.)的初步鉴定及生物学特性研究[D]. 山东大学, 2005.
 DU X J. Identification and studies on biological characteristic of 205 (Psilocybe sp.)[D]. Shandong University, 2005.

[4] 徐鑫梅, 杜欢, 易欢, 等. 基于UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS代谢组学技术筛选不同基原小檗皮品种鉴别的指标性成分[J]. 中草药, 2022, 53(23): 7524-7531.
 XU X M, DU H, YI H, et al. Selection of indicative components for identification of different species of Berberidis Cortex based on UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS metabolomics[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2022, 53(23): 7524-7531.

[5] RAISANEN M, KARKKAINEN J. Mass fragmentographic quantification of urinary N,N-dimethyltryptamine and bufotenine[J]. Journal Of Chromatography, 1979, 162(4): 579-584.

[6] MISHRAKI-BERKOWITZ T, KOCHESKI E, KAVANAGH P, et al. The psilocin (4-hydroxy-N, n-dimethyltryptamine) and bufotenine (5-hydroxy-N, n-dimethyltryptamine) case: Ensuring the correct isomer has been identified[J]. Journal Of Forensic Sciences, 2020, 65(5): 1450-1457.

[7] BLACKLEDGE R D, PHELAN C P. Identification of Bufotenine

- in Yopo Seeds via GC/IRD[J]. *Microgram Journal*, 2006, 4: 3-11.
- [8] MARTIN R, SCHURENKAMP J, GASSE A, et al. Determination of psilocin, bufotenine, LSD and its metabolites in serum, plasma and urine by SPE-LC-MS/MS[J]. *International Journal of Legal Medicine*. 2013, 127(3): 593-601.
- [9] 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 L Q, CHEN J Z, FU W S, et al. Determination of amanita peptide and tryptamine toxins in wild mushrooms by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Chromatography*. 2023, 41(11): 976-985.
- [10] BAMBAUER T P, WAGMANN L, MAURER H H, et al. Development and application of a strategy for analyzing eight biomarkers in human urine to verify toxic mushroom or ricinus communis ingestions by means of hydrophilic interaction LC coupled to HRMS/MS[J]. *Talanta*. 2020, 213: 120847.
- [11] 郭礼强, 崔晓娜, 丁葵英, 等. 超高效液相色谱-串联质谱测定芝麻酱中16种真菌毒素[J]. *中国调味品*. 2017, 42(10): 154-159.
- GUO L Q, CUI X N, DING K Y, et al. Determination of 16 Mycotoxins in Sesame Paste by Ultra Performance Liquid Chromatography—Tandem Mass Spectrometry [J]. *China Condiment*. 2017, 42(10): 154-159.
- [12] 赵超群, 陈万勤, 袁莹, 等. DSPE-超高效液相色谱-线性离子阱质谱联用法测定鸡肉中利巴韦林残留[J]. *分析试验室*. 2020, 39(6): 679-683.
- ZHAO C Q, CHEN W Q, YUAN K, et al. Determination of ribavirin residues in chicken by DSPE-UHPLC-QTRAP-MS/MS [J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*. 2020, 39(6): 679-683.
- [13] 张弛, 任君, 陈达炜, 等. 分散微固相萃取-超高效液相色谱-高分辨质谱法测定火锅底料中罂粟壳生物碱[J]. *中国食品卫生杂志*. 2021, 33(1): 29-35.
- ZHANG C, REN J, CHEN D W, et al. Determination of poppy shell alkaloids in hot pot condiment by ultra-high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry coupled with dispersive micro solid-phase extraction [J]. *Chinese Journal Of Food Hygiene*. 2021, 33(1): 29-35.
- [14] 苏燕, 魏宇涛, 李澍才, 等. 超高效液相色谱串联质谱同时测定豆芽、豆干、火锅底料中喹诺酮类、磺胺类、硝基咪唑类、四环素类42种抗生素药物[J]. *中国食品卫生杂志*. 2023, 35(1): 65-71.
- SU Y, WEI Y T, LI S C, et al. Simultaneous determination of 42 antibiotics of quinolones, sulfonamides, nitroimidazoles and tetracycline in bean sprouts, dried tofu and hot pot seasoning by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal Of Food Hygiene*. 2023, 35(1): 65-71.
- [15] 姚建花, 邵国健, 余娟, 等. 超高效液相色谱-三重四极杆/复合线性离子阱质谱法快速测定动物源性食品中5种硝基咪唑类药物残留[J]. *中国食品卫生杂志*. 2022, 34(06): 1212-1217.
- YAO J H, SHAO G J, YU J, et al. Fast determination of five nitroimidazoles drug residue in animal-derived foods by ultraperformance liquid chromatography-triple quadrupole/linear ion trap mass spectrometry [J]. *Chinese Journal Of Food Hygiene*. 2022, 34(6): 1212-1217.
- [16] 杨其帆, 蔡菁婷, 范惠莹. 环境空气细颗粒物中16种邻苯二甲酸酯类化合物的超高效液相色谱-串联质谱测定法[J]. *职业与健康*. 2023, 39(23): 3206-3211.
- YANG Q F, CAI J T, FAN H Y. Ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of 16 phthalate esters in fine particulate matter in ambient air [J]. *Occup and Health*. 2023, 39(23): 3206-3211.