

# QuEChERS – 超高效液相色谱 – 三重四级杆质谱法同时测定尿液和血液中 22 种植物毒素

李四生, 张维, 章剑, 葛成相, 朱国勋, 李昌安, 徐慧, 吴金菊

合肥市疾病预防控制中心, 安徽 合肥 230061

**摘要:**目的 以超高效液相色谱 – 三重四级杆质谱为检测手段, 建立尿液和血液中 22 种植物毒素的高通量快速检测方法。方法 样品经乙腈振荡提取, 离心, 取上清液进行 QuEChERS 净化处理后, 基质匹配标准曲线, 外标法定量, 超高效液相色谱 – 三重四级杆质谱的全扫描模式同时对 22 种目标物进行定量分析测定。比较 QuEChERS 方法的不同提取溶剂种类、净化剂的选择和用量对样品提取与净化的影响, 通过优化液相色谱分离条件和质谱参数来提高仪器的灵敏度。结果 尿液和血液中 22 种待测成分的回归方程线性良好, 相关系数  $\geq 0.996$ , 检出限分别为  $0.01 \sim 1.00 \mu\text{g/L}$  和  $0.01 \sim 0.90 \mu\text{g/L}$ , 定量下限分别为  $0.1 \sim 3.0 \mu\text{g/L}$  和  $0.03 \sim 3.0 \mu\text{g/L}$ , 平均加标回收率分别  $70.5\% \sim 125\%$  和  $73.7\% \sim 118\%$ , 日内精密度和日间精密度 (RSD) 分别为  $1.2\% \sim 15.2\%$  ( $n=6$ ) 和  $1.2\% \sim 13.5\%$  ( $n=6$ )。结论 该方法快速、准确, 灵敏度高, 检测通量高, 实现了血液和尿液中 22 种植物毒素的高效快速定量分析, 为生物样品中痕量植物毒素测定提供了参考。

**关键词:** 尿液; 血液; 植物毒素; 超高效液相色谱 – 三重四级杆质谱法

中图分类号: R115 文献标志码: A 文章编号: 1003 – 8507(2024)04 – 713 – 09

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202309136

## Simultaneous determination of 22 phytotoxins in urine/blood by QuEChERS – Ultra performance liquid chromatography – tandem triple quadrupole mass spectrometry

LI Si – sheng, ZHANG Wei, ZHANG Jian, GE Cheng – xiang, ZHU Guo – xun, LI Chang – an, XU – Hui, WU Jin – ju

Hefei Centers for Disease Control and Prevention, Hefei, Anhui 230061, China

**Abstract: Objective** To establish a high throughput method for the detection of 22 plant toxins in urine and blood by ultra performance liquid chromatography – triple quadrupole mass spectrometry. **Methods** The samples were extracted by acetonitrile oscillation, centrifuged, and the supernatant was purified by QuEChERS. Then, the matrix was matched with standard curve and quantified by external standard method. The full scanning mode of UPLC – MS /MS was used to quantitatively analyze and determine 22 kinds of target substances simultaneously. The influence of different extraction solvents, the selection and dosage of purification agent on sample extraction and purification by QuEChERS method was compared, and the sensitivity of the instrument was improved by optimizing the separation conditions of liquid chromatography and mass spectrometry parameters. **Results** The regression equations of the 22 components to be measured in urine and blood had an outstanding linear relationship, with correlation coefficients were  $\geq 0.996$ . The detection limits were  $0.01 \sim 1.00 \mu\text{g/L}$  and  $0.01 \sim 0.90 \mu\text{g/L}$ , the lower limits of quantification were  $0.1 \sim 3.0 \mu\text{g/L}$  and  $0.03 \sim 3.0 \mu\text{g/L}$ . The average recovery rates of spiked were  $70.5\% \sim 125\%$  and  $73.7\% \sim 118\%$ , Intraday precision and Daytime precision (RSD) were  $1.2\%$  to  $15.2\%$  ( $n=6$ ) and  $1.2\%$  to  $13.5\%$  ( $n=6$ ), respectively. **Conclusion** The method is rapid, accurate, sensitive and has high throughput. It can realize the rapid and efficient quantitative analysis of 22 plant toxins in blood and urine, and provide a reference for the determination of trace plant toxins in biological samples.

**Keywords:** Urine; Blood; Phytotoxin; Ultra performance liquid chromatography – tandem triple quadrupole mass spectrometry

我国有丰富植物资源, 其中有毒植物有 943 种,

外加毒蕈 83 种。有毒植物和毒蕈在生物或化学作用下能够产生生物碱、多酚、蛋白质及肽类等 8 大类约 1 300 多种植物毒素<sup>[1]</sup>。植物毒素种类繁多, 结构复杂多样, 溶解性和机体内富集、代谢情况差异大。大多数植物毒素经口进入人体, 经消化道进入血液循

基金项目: 合肥市卫生健康委应用医学研究重点项目 (Hwk2020zd0018)

作者简介: 李四生 (1974—), 男, 本科, 副主任技师, 研究方向: 食品中化学危害因素分析

通信作者: 吴金菊, E – mail: 470321667@qq.com

环,由肾小球过滤由尿液排出。植物毒素中毒剂量小,致死率高,可引起急、慢性中毒。每年全世界因误食植物毒素导致的中毒事件屡屡发生,成为广泛关注的公共卫生问题。

目前,植物毒素成分常见前处理方法主要有: QuEChERS<sup>[1-3]</sup>、固相支撑液液萃取法<sup>[4-5]</sup>、固相萃取法<sup>[6-8]</sup>以及免疫亲和柱法<sup>[9]</sup>等,其中 QuEChERS 技术作为样品前处理新技术,因具有快速(Quick)、简单(Easy)、便宜(Cheap)、有效(Effective)、可靠(Rugged)和安全(Safe)优点,故将其命名为 QuEChERS,目前该方法已经开始得到了广泛应用。分析方法有气相色谱-质联用法(Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)<sup>[10]</sup>、高效液相色谱(High performance liquid chromatography, HPLC)<sup>[11]</sup>、高效液相色谱质谱法(Ultra high performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry, UPLC-MS/MS)<sup>[12-15]</sup>等,其中 UPLC-MS/MS 具有灵敏度高、检测限低、分析检测速度快、定量准确等优点,适合生物样品中痕量植物毒素测定分析。

针对目前植物毒素检测样品前处理方法以液液萃取和固相萃取方法为主,其中液液萃取前处理方法提取效率低,需要大量使用溶剂;固相萃取前处理方法检测成本高,操作复杂,同时检测植物毒素种类较少,一定程度上导致植物毒素中毒原因查明率不高。本次研究的 QuEChERS 前处理方法与液液萃取相比较,它是更为理想的前处理方法,对样品具有更好的净化作用,较好的降低基质效应的影响,适用于基质复杂、所含待测物成分复杂的生物样品提取检测;同时 QuEChERS 前处理方法与固相萃取方法相比,具有操作便捷,价格便宜等优点。UPLC-MS/MS 检测技术对植物毒素进行检测分析,不但定性准确,灵敏度高,更通过标准曲线完成了准确定量工作,一次性可以同时检测多种植物毒素,大大节省了样品量和检测时间。

## 1 材料和方法

### 1.1 仪器、试剂及样品准备

**1.1.1 仪器** 多管漩涡混匀器(EFAA-HM-01型,上海安谱);超高效液相色谱仪(LC-30AC型,日本岛津);三重四极杆质谱仪(Triple Quad 6500型,美国 AB SCIEX);超纯水系统(Milli-Q Direct 8型,美国 MILLIPORE);BT 423S 电子天平(赛多利斯科学仪器(北京)有限公司);Multifuge X4RPro 台式高速冷冻离心机(美国 Thermo Fisher Scientific);加样枪(德国 eppendorf);0.22 μm 滤膜(美国 Waters)。

**1.1.2 试剂** 消旋山莨菪碱标准品、钩吻碱标准品、

钩吻素己标准品、钩吻素子标准品、秋水仙碱标准品、阿托品、东莨菪碱、(青岛普瑞邦生物,纯度≥99%);雷公藤春碱标准品、雷公藤次碱标准品(上海甄准生物,纯度≥98%);滇乌头碱标准品(加拿大 TRC,纯度≥98%);那可丁标准品、鱼藤酮标准品、罂粟碱标准品(德国 LGC Labor GmbH,纯度≥97%);马钱子碱标准品(美国 Panphy,纯度≥98%);吗啡标准、可待因标准、蒂巴因标准品(美国 Cerilliant,纯度≥97%);苯甲酰乌头原碱、次乌头碱标准品、新乌头碱标准品、乌头碱标准品、土的宁标准品(成都曼斯特生物,纯度≥98%);氨水,色谱纯(美国 MREDA);甲酸、乙酸,甲醇、乙腈、丙酮、色谱纯(美国 Thermo-Fisher);氯化钠,AR(中国国药集团);十八烷基硅烷(Octadecylsilane, C<sub>18</sub>)、N-丙基乙二胺(N-propyl ethylenediamine, PSA):40~60 μm(武汉伟琪博星生物)。

**1.1.3 样品** 新鲜人血液和尿液。

**1.2 色谱工作条件** ACQUITY UPLC BEH C18 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm, Waters 公司), Van Guard BEH C18 保护柱(5 mm × 2.1 mm, 1.7 μm, Waters 公司);流动相 A 为乙腈,流动相 B 为含 0.1% 甲酸的 2 mmol/L 乙酸铵水溶液。梯度洗脱程序:0~1 min:2% A;1~7 min:2% A~98% A;7~8 min:98% A;8~8.1 min:98% A~2% A;8.1~9 min:2% A。流速 0.30 mL/min;柱温为 45 °C;进样体积 2 μL。

**1.3 质谱参数** 电喷雾离子源(ESI),离子源温度(TEM) 300 °C、电压(IS) 5 500 V,气帘气压强(CUR):喷雾气压强(Gas1) 60 psi,辅助加热气压强(Gas 2) 60 psi, Gas1 和 Gas 2 均为氮气,40 psi,碰撞气压强(CAD):8 psi, EPI 碰撞能量为 36 eV,正离子扫描,多反应监测(MRM)模式。

**1.4 混合标准储备液的配备** 分别将 22 种植物毒素标准物质按照标准说明书选择用适合的溶剂溶解,根据各种植物毒素标准溶解后的浓度,取适量体积到 10 mL 容量瓶中,用乙腈定容,制备成 1.00 g/L 的混合标准储备溶液,于 -70 °C 保存。临用时再用 40% 乙腈稀释成混合标准工作溶液 1.00 mg/L。

**1.5 QuEChERS 样品前处理方法** 准确吸取 1.0 mL 全血样品,加入 2.0 mL 乙腈和 70 mg NaCl,振荡 10 min,在低温 4 °C 下以转速为 8 000 r/min 离心 10 min,在离心得到的 1.0 mL 上清液中加入 30 mg PSA 和 30 mg C18,再次振荡净化 10 min,以上次离心速度和时间再离心一次,对离心后的上清液用 0.22 μm 有机微孔膜过滤至进样瓶中,待上机测定。

准确吸取 1.0 mL 尿液,加入 500 μL 甲醇,加入 30 mg PSA 和 40 mg C<sub>18</sub>,振荡 10 min,在 4 °C 下以

8 000 r/min 的转速离心 10 min, 取上层清液, 用 0.22 μm 有机微孔膜过滤至进样瓶中, 待上机测定。

**1.6 标准曲线制备** 空白尿液和血液分别经过 QuEChERS 样品前处理方法后得到空白基体, 在空白基体中分别加入不同体积的标准工作溶液 (1.00 mg/L), 配制成浓度为 0.05、1.00、5.00、10.0、20.0、50.0、100、200 μg/L 的系列溶液, 上机测定。以定量离子对的峰面积 (y) 相对应的标准溶液浓度 (x, μg/L) 进行线性回归计算。

**1.7 基质效应测定方法** 利用 QuEChERS 样品前处理方法对空白的血液和尿液进行提取和净化, 在所得的空白尿液和血液基质液中加入浓度 1.00 mg/L 标准工作溶液, 制备成混合标准浓度为 C 的溶液, 进行测定标准峰面积为 A<sub>1</sub>。在乙腈中加入浓度 1.00 mg/L 标准工作溶液, 制备成混合标准浓度 C 溶液, 进行测定标准峰面积 A<sub>2</sub>, 基质效应 ME 如公式 1 所示。

**1.8 提取回收率方法** 在 1.0 mL 空白尿液和血液中, 加入浓度 1.00 mg/L 标准工作溶液 X μL, 按照样品前处理方法操作后, 上机测定得到的响应为 A<sub>1</sub>; 在 1.0 mL 空白尿液、血液通过相同提取方法得到基质液, 在提取所得全部的基质液中加入浓度 1.00 mg/L 标准工作溶液 X μL, 得到样品浓度为 X μg/L 的溶液, 上机测定得到的响应为 A<sub>2</sub>。提取回收率 P 如公式 2 所示。

$$ME = \frac{A_1}{A_2} \quad (\text{公式 1})$$

$$P = \frac{A_1}{A_2} \times 100\% \quad (\text{公式 2})$$

**1.9 方法精密度和加标回收率** 在空白血液和尿液样品中分别加入混合标准工作溶液 1.00 mg/L, 根据 QuEChERS 样品前处理方法分别进行前处理, 配置成理论值分别为 5 μg/L、50 μg/L 与 200 μg/L 三个高、中、低系列浓度, 在一个工作日内平行测定 6 次, 计算高、中、低三个浓度的日间精密度和加标回收率。在连续 3 个工作日内对上述高、中、低三个浓度水平的样品进行上机测定 (各平行试验测定 6 次) 计算日间精密度, 通过测量高、中、低三个浓度的相对标准 (RSD) 来评估方法的精密度。

**1.10 稳定性试验** 在空白血液和尿液样品中分别加入混合标准工作溶液 1.00 mg/L, 根据 QuEChERS 样品前处理方法分别进行前处理, 配置成理论值分别为 5 μg/L、50 μg/L 与 200 μg/L 三个高、中、低系列浓度, 提取液后在室温下连续测定 3 天, 每天测定 1 次, 考察样品提取液含量的变化。

## 2 结果

**2.1 质谱条件选择优化** 对 22 种植物毒素成分单一标准逐一直接使用针泵注入离子源内, 在一级全扫描质谱中确定母离子后, 再对母离子进行二级质谱扫描获得子离子对, 选择合适的子离子对, 在多反应监测 (Multiple response monitoring, MRM) 模式下, 对质谱的去簇电压 (Blanking voltage, DP) 及碰撞能量 (Collision energy, CE) 参数进行选择和优化, 具体参数见表 1。

表 1 22 种植物毒素成分质谱参数

Table 1 Mass spectrum parameters of 22 plant toxins

化合物	母离子 m/z	子离子 m/z	保留时间 min	去簇电压 V	碰撞能量 eV
钩吻碱	323.1	236.2 <sup>a</sup>	4.25	140	36
		195.0			53
马钱子碱	395.1	324.1 <sup>a</sup>	4.30	130	40
		244.2			50
消旋山莨菪碱	306.3	140.3 <sup>a</sup>	4.20	60	33
		122.2			36
阿托品	290.3	124.2 <sup>a</sup>	4.40	125	33
		93.3			38
雷公藤次碱	868.3	206.2 <sup>a</sup>	6.85	100	52
		686.4			44
颠乌头碱	660.4	600.3 <sup>a</sup>	5.64	65	46
		550.2			53
鱼藤酮	395.3	213.2 <sup>a</sup>	6.87	90	30
		192.2			31
次乌头碱	616.3	556.1 <sup>a</sup>	5.69	70	43
		524.3			49
乌头碱	646.3	586.4 <sup>a</sup>	5.66	150	45
		526.4			52

(续表)

化合物	母离子 m/z	子离子 m/z	保留时间 min	去簇电压 V	碰撞能量 eV
东莨菪碱	304.4	138.1 <sup>a</sup>	4.24	46	28
		156.3			22
钩吻素子	307	180.1 <sup>a</sup>	4.38	130	60
		204.1			66
新乌头碱	632.2	572.5 <sup>a</sup>	5.45	70	45
		354.2			55
土的宁	335.2	184.1 <sup>a</sup>	4.32	100	50
		156.1			58
雷公藤春碱	874.4	846.5 <sup>a</sup>	6.30	100	32
		176			52
秋水仙碱	400.2	358.2 <sup>a</sup>	5.00	50	31
		326.1			34
罂粟碱	340.2	202.2 <sup>a</sup>	4.85	115	35
		324.3			41
那可丁	414.3	220.2 <sup>a</sup>	4.94	95	30
		353.1			33
吗啡	285.9	165.3 <sup>a</sup>	4.23	110	47
		153.1			55
蒂巴因	312.3	249.1 <sup>a</sup>	4.64	50	24
		58.3			37
可待因	300.2	199.0 <sup>a</sup>	4.10	120	38
		215.1			35
苯甲酰乌头原碱	604.3	554.3 <sup>a</sup>	5.08	130	51
		496.2			58
钩吻素己	327.2	296.3 <sup>a</sup>	4.60	60	24
		265.2			37

注:a 表示定量离子。

**2.2 色谱条件选择优化** 选择色谱柱为 BEH C18 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm); 进样量: 2 μL, 流速: 0.3 mL/min。在实验条件下, 为了减少拖尾现象, 实验在甲酸铵浓度为 5 mmol/L 时, 各物质峰形均不拖尾。因此选择含 0.1% 甲酸的 5 mmol/L 甲酸铵溶液为水相(A), 乙腈为有机相(B) 作为超高效色谱的流动相。并且在该条件下, 不断优化梯度洗脱程序, 达到 22 种植物毒素较好效果分离, 各成分出峰时间在 4.30 min ~ 8.09 min 之间, 见吗啡和雷公藤次碱 MRM 色谱图 1。

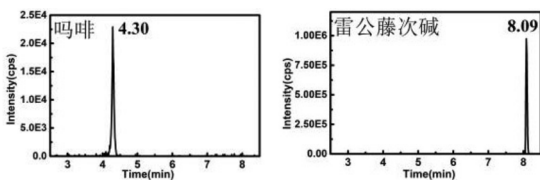


图 1 血液基体匹配标准吗啡和雷公藤次碱 (20 μg/L) MRM 色谱图

Fig. 1 MRM chromatogram of blood matrix matching standard morphine and triptoline (20 μg/L)

**2.3 QuEChERS 前处理方法选择** 针对 QuEChERS 前处理方法提取和净化两个步骤进行优化和改良。

在提取阶段对常见的萃取剂甲醇、乙腈和丙酮进行选择优化; 在净化阶段对加入的净化剂 PSA、C<sub>18</sub> 进行选择优化。通过考察各种植物毒素的提取回收率的高低和基质效应的改善情况, 选择合适的萃取剂和吸附剂, 同时进行优化组合, 确定各自的使用剂量。

**2.3.1 提取剂的选择** 尿液样品离心后直接 PSA 和 C<sub>18</sub> 净化处理。血液分别考察常用的甲醇、丙酮和乙腈三种不同萃取溶剂的提取回收率和基体效应。乙腈作为萃取剂和 NaCl 作为盐析剂时, 蛋白及血细胞沉淀好, 22 种植物毒素提取回收率明显要高, 大多数待测成分基体效应在 0.6 ~ 1.2 之间, 而甲醇和丙酮作为萃取剂时, 蒂巴因、苯甲酰乌头碱等多种植物毒素提取回收率低, 雷公藤次碱、苯甲酰乌头碱基体效应小于 0.6, 可待因、钩吻素子基体效应大于 1.2。结果见图 2 和 3。

试验进一步对血液萃取剂乙腈的体积研究, 分别考察了血液与乙腈体积比为 1:1、1:2、1:3 下的提取回收效率和基体效应。当血液: 乙腈 = 1:2 时, 基质效应小、回收率高。

**2.3.2 净化剂的选择**

**2.3.2.1 PSA 使用量的选择** PSA 对含有氨基 (-NH<sub>2</sub>) 和羟基 (-OH) 官能团的物质净化效果较好。尿液中加入 PSA 40 mg 振荡 10 min 后, 尿样的黄色明

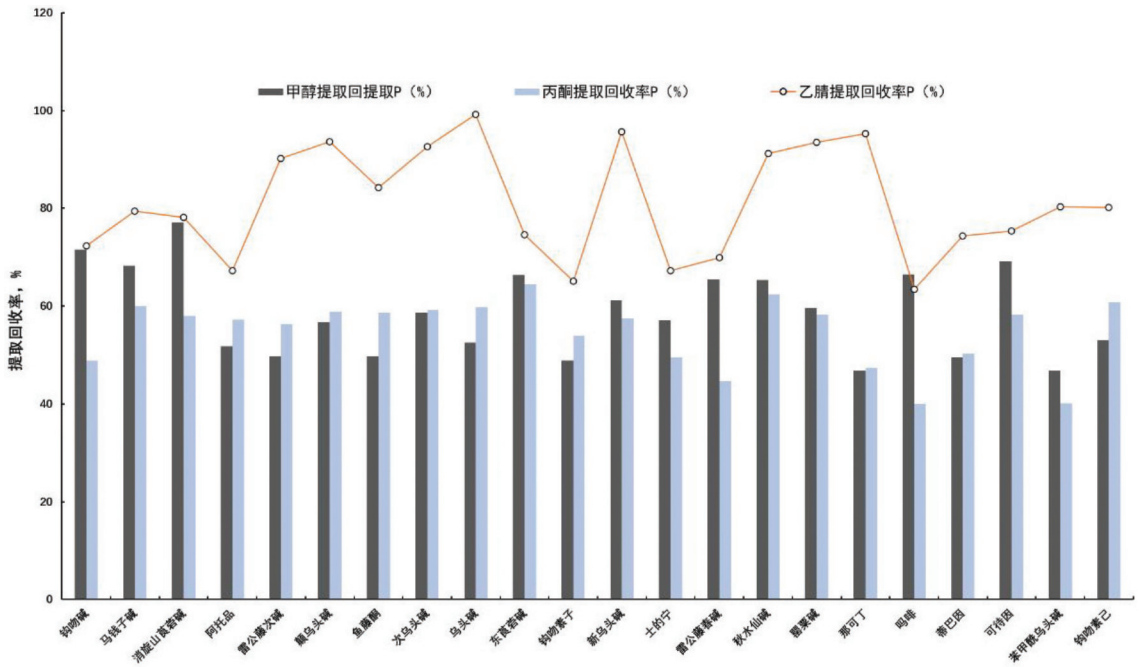


图 2 三种提取剂对血液提取回收率影响

Fig. 2 Effect of three extractants on the recovery rate of blood extraction

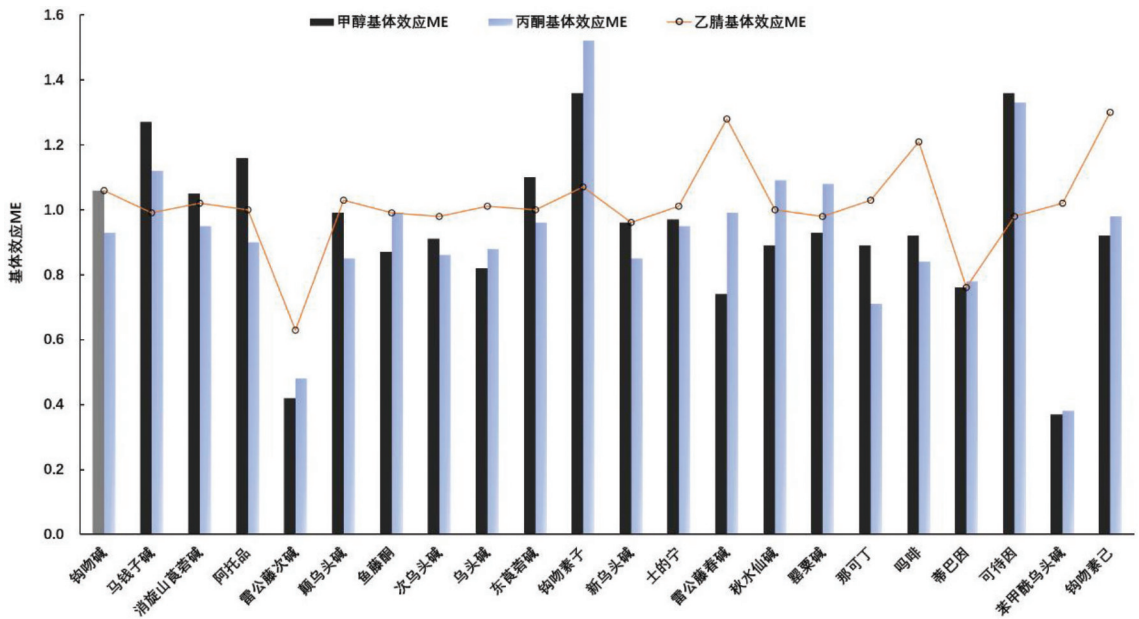


图 3 三种提取剂对血液基质效应影响

Fig. 3 Effects of three extractants on blood matrix effect

显变淡,底部的 PSA 沉淀为黄色,PSA 可改善基质效应使尿液颜色变淡,随着 PSA 使用量的增加,净化效果更明显,但是 PSA 使用量增加会降低样品提取回收率。在 1.0 mL 血液空白基体溶液中,加入浓度 750 μg/L 标准工作溶液 10.0 μL,分别选择 30 mg、40 mg、50 mg、60 mg 的 PSA 进行净化,在血液中 PSA 使用量 30~50 mg 时,很多待测成分的提取回收率比较稳定,使用量超过 60 mg 时,部分植物毒素成分的提

取回收率下降。因此实验选择 PSA 的使用量血液为 30 mg 和尿液 40 mg。实验结果见图 4 和 5。

**2.3.2.2 C<sub>18</sub> 使用量的选择** 在使用 C<sub>18</sub> 作为吸附剂时,除去血液中的油脂、甾醇、维生素等物质,基质效应改善效果明显,在 C<sub>18</sub> 用量超过 30 mg 时大部分待测物提取回收率开始下降。为保证高的提取回收率降低和改善基质效应,最终选择 30 mg PSA + 30 mg C<sub>18</sub> 作为血液的净化剂,40 mg PSA + 30 mg C<sub>18</sub> 作为尿

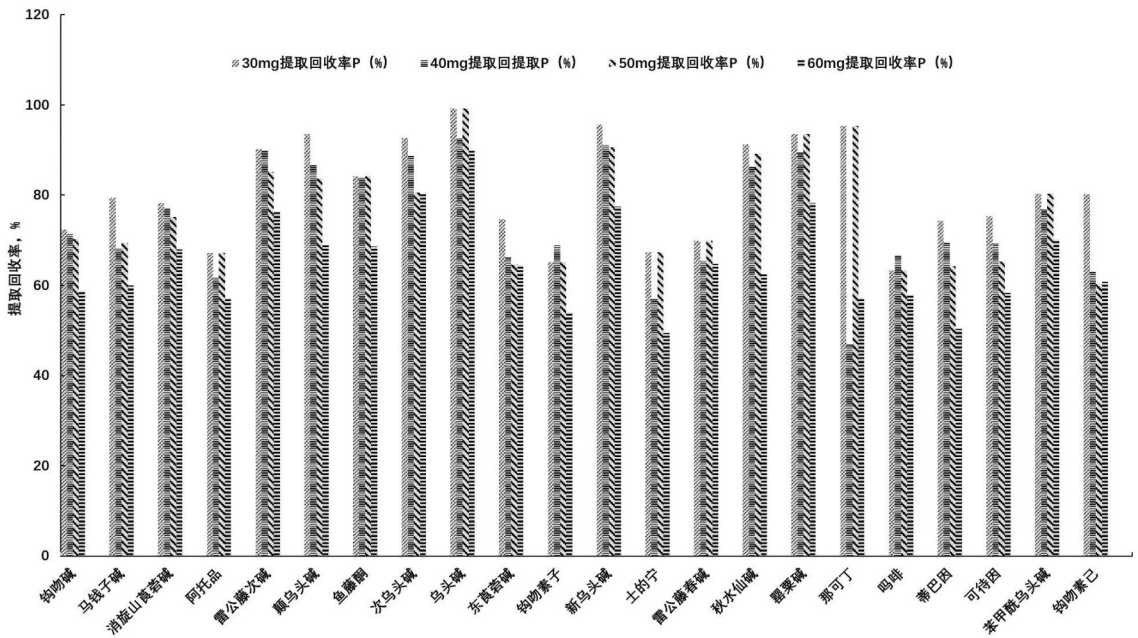


图 4 PSA 的使用量对血液提取回收率影响

Fig. 4 Effect of PSA usage on blood extraction recovery rate

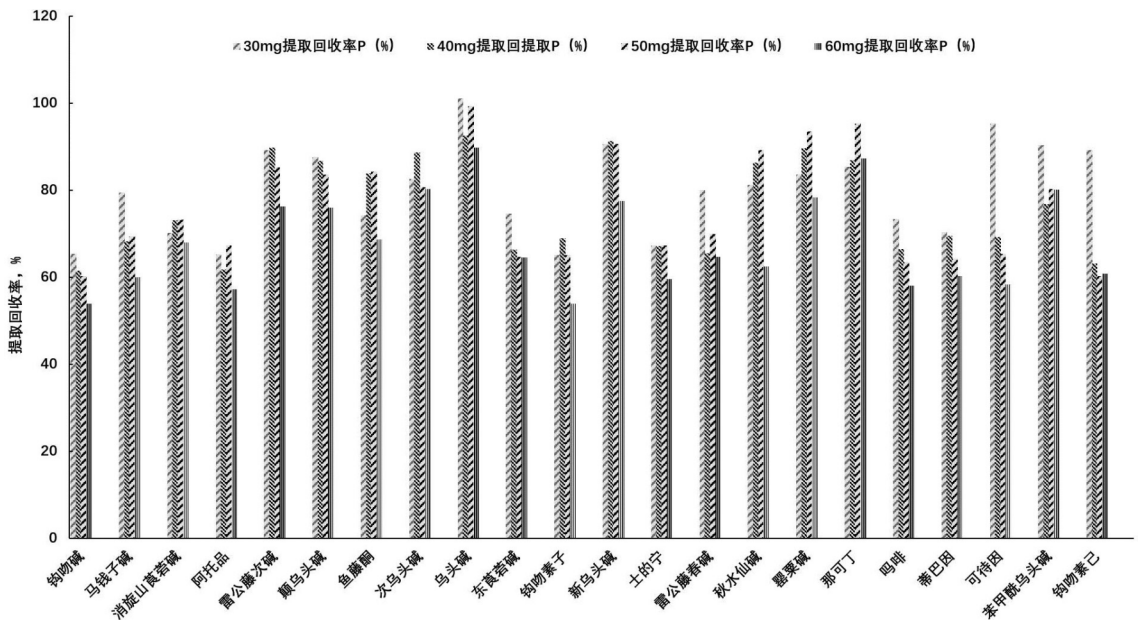


图 5 PSA 的使用量对尿液提取回收率影响

Fig. 5 Effect of PSA usage on urine extraction recovery rate

液净化剂。

**2.4 方法的线性关系与方法检测限、定量限** 22 种待测成分回归方程具有很好的线性关系, 相关系数  $r \geq 0.996$ 。分别在空白血液/尿液样品中加入低浓度 22 种植物毒素成分, 按照试验前处理方法处理和试验方法测定, 以定性离子的信噪比 ( $S/N$ )  $\geq 3$  时对应的浓度为检出限 (LOD), 以  $S/N \geq 10$  时对应的浓度为定量限 (LOQ)。血液和尿液中 22 种植物毒素成分的检出限分别为  $0.01 \sim 1.00 \mu\text{g/L}$  和  $0.01 \sim$

$0.90 \mu\text{g/L}$ , 定量下限分别为:  $0.1 \sim 3.0 \mu\text{g/L}$  和  $0.03 \sim 3.0 \mu\text{g/L}$ , 能够满足植物毒素中毒应急检测的要求。

**2.5 精密度和加标回收率** 血液/尿液中的植物毒素成分的日内精密度和日间精密度 (Relative standard deviation, RSD) 分别为  $1.2\% \sim 15.2\%$  和  $1.2\% \sim 13.5\%$ , 平均加标回收率为  $70.5\% \sim 125\%$  和  $73.7\% \sim 118\%$ , 具体数据见表 2。

**2.6 基质效应** 通过以空白基体匹配标准曲线, 解

决了 22 种待测成分离子样品的保留时间与标准曲线保留时间不一致的问题,前处理方法对样品的净化效果较好,基质效应得到了改善。

**2.7 稳定性试验** 5 μg/L、50 μg/L 与 200 μg/L 三个浓度提取液于室温保存,3 天内 22 种植物毒素成分均未发生明显的降解。

**表 2** 血和尿中植物毒素加标回收率和精密度  
**Table 2** Recovery and precision of phytotoxins in blood and urine

化合物	浓度水平 (μg/L)	血液			尿液		
		加标回收率 (%)	精密度(RSD,%)		加标回收率 (%)	精密度(RSD,%)	
			日内	日间		日内	日间
钩吻碱	5	82.4	7.2	8.3	79.5	6.5	7.8
	50	85.2	5.1	4.3	80.5	5.4	2.5
	200	87.1	6.2	4.8	84.5	2.3	3.8
马钱子碱	5	89.5	2.5	3.3	90.3	6.5	3.8
	50	90.5	2.7	3.6	99.2	3.6	3.8
	200	100.0	5.8	2.5	100.0	8.7	4.8
消旋山莨菪碱	5	88.3	2.4	2.2	83.6	1.5	2.7
	50	99.2	3.2	6.7	87.8	2.2	3.5
	200	98.5	5.1	4.3	90.5	1.8	2.1
阿托品	5	78.9	3.8	3.9	82.1	3.5	4.8
	50	87.8	4.8	6.1	80.5	6.3	4.2
	200	92.1	6.5	5.5	84.3	7.2	4.6
雷公藤次碱	5	100.0	6.2	3.2	99.6	5.9	6.2
	50	101.0	5.2	1.2	98.9	4.8	2.5
	200	103.0	2.3	3.2	102.0	3.5	3.7
颠乌头碱	5	103.0	4.4	5.7	105.6	2.2	4.0
	50	106.0	6.9	3.8	100.3	2.5	5.2
	200	112.0	7.9	4.2	99.7	3.6	4.6
鱼藤酮	5	94.6	14.1	10.2	93.1	3.8	3.7
	50	98.3	11.2	13.2	88.5	5.7	4.5
	200	101.0	9.2	9.7	89.4	8.7	6.5
次乌头碱	5	103.0	1.2	3.6	100.0	2.5	1.7
	50	104.0	2.5	2.9	98.7	3.2	2.6
	200	115.0	5.2	5.7	96.5	1.8	5.2
乌头碱	5	109.0	2.7	3.8	125.0	2.6	3.5
	50	115.0	4.8	3.3	105.0	2.3	3.8
	200	118.0	3.5	8.8	106.0	1.5	2.1
东莨菪碱	5	84.5	15.2	13.2	83.1	3.7	6.2
	50	83.6	10.1	9.9	79.8	5.5	3.8
	200	88.1	6.8	7.3	90.5	4.8	2.2
钩吻素子	5	75.3	9.7	8.9	83.2	10.8	13.5
	50	76.5	8.6	8.2	78.2	12.7	10.2
	200	79.5	7.6	8.5	79.8	15.2	10.9
新乌头碱	5	105.0	1.3	2.1	106.0	3.5	4.8
	50	109.0	3.2	4.2	117.0	2.6	1.5
	200	118.0	4.4	4.8	100.0	2.8	1.7
土的宁	5	78.9	6.3	2.5	75.8	3.6	4.4
	50	88.6	5.7	4.9	80.2	3.5	5.2
	200	85.3	3.3	4.5	83.5	7.7	6.1
雷公藤春碱	5	80.5	3.3	2.2	79.8	6.8	5.8
	50	84.2	5.2	4.8	78.4	6.3	7.9
	200	83.5	4.6	3.4	70.5	4.8	6.6
秋水仙碱	5	101.0	2.5	1.9	100.0	2.6	4.3
	50	103.0	3.2	2.5	99.5	3.7	4.4
	200	105.0	1.5	3.1	98.9	2.5	3.9
罂粟碱	5	103.0	3.2	6.3	101.0	3.3	7.8
	50	105.0	4.2	5.4	100.0	6.5	6.2
	200	109.0	4.3	5.7	116.0	2.8	3.9
那可丁	5	105.0	1.2	2.4	103.0	3.5	4.6

(续表)

化合物	浓度水平 ( $\mu\text{g/L}$ )	血液				尿液	
		加标回收率 (%)	精密度(RSD,%)		加标回收率 (%)	精密度(RSD,%)	
			日内	日间		日内	日间
吗啡	50	106.0	1.5	1.8	105.0	3.8	4.1
	200	108.0	1.8	1.9	103.0	5.5	2.5
	5	73.7	8.4	10.2	75.2	9.8	11.2
蒂巴因	50	75.2	7.8	9.9	76.2	10.5	13.2
	200	78.7	6.8	9.5	76.7	11.8	12.8
	5	84.8	8.2	4.8	87.2	1.3	3.5
可待因	50	88.6	3.8	4.6	86.2	1.8	4.2
	200	90.2	6.6	5.7	87.6	2.0	4.6
	5	85.9	2.3	3.8	87.2	2.5	6.8
苯甲酰乌头原碱	50	88.5	6.2	6.8	80.9	1.3	3.6
	200	93.5	7.7	5.2	87.3	5.9	4.9
	5	98.7	8.9	7.5	99.5	7.9	10.2
钩吻素己	50	105.0	2.1	4.2	88.9	6.6	5.8
	200	100.0	5.5	3.9	90.8	6.3	7.2
	5	90.5	4.8	6.2	97.2	4.6	3.9
	50	98.3	4.9	6.9	96.2	5.7	5.2
	200	100.0	5.5	5.7	98.9	6.1	4.8

### 3 讨论

本次研究针对植物毒素中毒特点,建立了 QuEChERS 样品前处理方法可以针对不同基质、待测物,搭配不同的净化剂,能做到在最大限度保留待测物的基础上,有针对性的净化复杂基质,提高植物毒素的提取能力。通过对超高效液相色谱与质谱的条件选择优化,建立了 22 种植物毒素成分的定性和定量离子谱库,实现了 MRM 定量分析功能。在分析方法的基础上,进一步成功改良 QuEChERS 前处理方法,对基质效应和提取回收率评估,验证了样品前处理方法的有效性,进一步对检出限、定量限、线性关系、精密度和加标回收率等进行考察,确认了在复杂基质和低浓度待测成分条件下,该方法具有简便、快速、灵敏、准确等优点,适合血液和尿液中多种植物毒素成分的中毒检测。本次研究为生物样品中植物毒素检测分析提供新思路和方法,弥补相关应急处理缺乏相应的检测技术储备不足,尤其目前植物毒素仅局限几种成分具有国家标准检测方法,一定程度上为解决在中毒事件处置中中毒原因查明率不高、检测方法有限等问题具有积极作用。但是本次研究建立的植物毒素检测方法能够检测的种类较少,只有 22 种,此外,如钩吻素子等加标回收率仍不高,需要继续进行研究,增加植物毒素检测的种类,以便满足植物毒素中毒事件检测需要。

**利益冲突声明** 本研究不存在任何利益冲突

### 参考文献

[1] 梁剑锋,李亚,宾月景,等. QuEChERS - 超高效液相色谱 - 串联

质谱法测定茶叶中伏马毒素 B1、B2、B3 的含量[J]. 理化检验: 化学分册, 2023, 59(11): 1316 - 1320.

Liang JF, Li Y, Bin YJ, et al. Determination of fumonisins B1, B2 and B3 in tea by ultra - high performance liquid Chromatography - Tandem mass spectrometry with QuEChERS[J]. Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis, 2023, 59(11): 1316 - 1320.

[2] 史洪飞,徐伯芄,徐成鑫,等. QuEChERS/高效液相色谱 - 四极杆 - 飞行时间质谱法测定巧克力中的 18 种合成大麻素[J]. 分析测试学报, 2023, 42(11): 1461 - 1468.

Shi HF, Xu BP, Xu CX, et al. Determination of 18 synthetic cannabinoids in chocolate by QuEChERS/high performance liquid Chromatography - Quadrupole - Time of flight mass spectrometry [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2023, 42(11): 1461 - 1468.

[3] 钟世豪. QuEChERS - HPLC - MS/MS 法对生物样品植物毒素的分析检测[D]. 北京: 中国人民公安大学, 2020.

Zhong SH. Determination of phytotoxins in biological samples by QuEChERS - HPLC - MS/MS [D]. Beijing: People's Public Security University of China, 2020.

[4] 应剑波,王芳琳,栾玉静,等. 固相支撑液液萃取 - 高效液相色谱 - 串联质谱法测定血中欧夹竹桃苷和欧夹竹桃苷乙的含量[J]. 理化检验: 化学分册, 2017, 53(2): 125 - 129.

Ying JB, Wang FL, Luan YJ, et al. HPLC - MS/MS determination of oleandrin and adynerin in blood with solid phase supported liquid - liquid extraction [J]. Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis, 2017, 53(2): 125 - 129.

[5] 邱天,王君,丁昌明. 固相支撑液液萃取 - 液相色谱 - 串联质谱法测定血浆中 3 种烟草生物标志物[J]. 中国卫生检验杂志, 2023, 33(16): 1921 - 1924.

Qiu T, Wang J, Ding CM. Simultaneous determination of 3 tobacco biomarkers in human plasmaby solid supported liquid - liquid extraction - liquid chromatography - tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2023, 33(16):

- 1921 - 1924.
- [6] Taniguchi M, Minatani T, Miyazaki H, et al. A highly sensitive quantification method for 12 plant toxins in human serum using liquid chromatography tandem mass spectrometry with a quick solid - phase extraction technique [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2021, 192: 113676.
- [7] 赵志东, 余丽宇, 孟娇, 等. 固相萃取 - 液相色谱 - 串联质谱法测定尿液中四氢大麻酚和  $\Delta 9$  - 四氢大麻酸的含量 [J]. *理化检验 - 化学分册*, 2023, 59(10): 1156 - 1161.
- Zhao ZD, Yu LY, Meng J, et al. Determination of tetrahydrocannabinol and  $\Delta 9$  - Tetrahydro - cannabinic acid in urine by liquid Chromatography - Tandem mass spectrometry with solid phase extraction [J]. *Physical Testing and Chemical Analysis - Part B: Chemical Analysis*, 2023, 59(10): 1156 - 1161.
- [8] 古崑山, 王继芬, 张瑛, 等. 尿液中新型合成大麻素及其代谢物的检验研究 [J]. *分析试验室*, 2023, 42(11): 1494 - 1501.
- Gu KS, Wang JF, Zhang Y, et al. Study on the detection of novel synthetic cannabinoids and their metabolites in urine [J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2023, 42(11): 1494 - 1501.
- [9] 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 sensitive 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]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2022, 40(5): 443 - 451.
- [10] 周思, 邓龙, 杜伟锋, 等. 固相萃取 - 气相色谱 - 质谱法测定植物饮料中的 9 种植物毒素 [J]. *现代食品科技*, 2017, 33(3): 311 - 316, 303.
- Zhou S, Deng L, Du WF, et al. Determination of nine phytotoxins in botanical beverage by solid - phase extraction and gas chromatography - mass spectrometry [J]. *Modern Food Science & Technology*, 2017, 33(3): 311 - 316, 303.
- [11] 杜伟锋, 张瑞瑞, 周思, 等. 高效液相色谱同时测定植物饮料中 7 种植物毒素 [J]. *中国酿造*, 2016, 35(8): 169 - 172.
- Du WF, Zhang RR, Zhou S, et al. Simultaneous detection of seven phytotoxin compounds in plant beverage by HPLC [J]. *China Brewing*, 2016, 35(8): 169 - 172.
- [12] 张帅, 孟娟, 张晶, 等. 超高效液相色谱 - 串联质谱法同时测定蜂蜜中的多类植物毒素 [J]. *农产品质量与安全*, 2021(6): 25 - 30.
- Zhang S, Meng J, Zhang J, et al. Simultaneous analysis of multiple phytotoxins in honey using UPLC - MS/MS [J]. *Quality and Safety of Agro - Products*, 2021(6): 25 - 30.
- [13] 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]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2023, 41(11): 976 - 985.
- [14] 吕小会, 罗辉泰, 黄晓兰, 等. 高效液相色谱 - 串联质谱法测定化妆品中 9 种禁用生物碱 [J]. *质谱学报*, 2021, 42(1): 73 - 83.
- Ly XH, Luo HT, Huang XL, et al. Determination of nine banned alkaloids in cosmetics by high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2021, 42(1): 73 - 83.
- [15] 刘治燕, 倪蕾, 傅武胜, 等. 液相色谱-串联质谱法测定尿液中 3 种钩吻生物碱的研究 [J]. *海峡预防医学杂志*, 2023, 29(3): 1 - 6.
- Liu ZY, Ni L, Fu WS, et al. Determination of three gelsemium elegans alkaloids in urine matrix by liquid chromatography - tandem mass spectrometry [J]. *Strait Journal of Preventive Medicine*, 2023, 29(3): 1 - 6.

收稿日期: 2023-09-11

## (上接第 685 页)

- Sun WW, Shi DN. The effect mechanism of social support and mental health of rural elderly [J]. *Sociological Review of China*, 2020, 8(4): 77 - 87.
- [8] Vaux A, Phillips J, Holly L, et al. The social support appraisals (SS - A) scale: Studies of reliability and validity [J]. *American Journal of Community Psychology*, 1986, 14(2): 195 - 218.
- [9] 林艳伟, 王婷仙, 倪进东. 老年人社会支持评价量表的汉化及信效度检验 [J]. *中华疾病控制杂志*, 2022, 26(7): 834 - 838, 861.
- Lin YW, Wang TX, Ni JD. Reliability and validity of Chinese version of the social support appraisals scale for olderpeople [J]. *Chinese Journal of Disease Control & Prevention*, 2022, 26(7): 834 - 838, 861.
- [10] Vaux A. *Social support: Theory, research, and intervention* [M]. New York: Praeger publishers, 1988.
- [11] 王婷仙, 杨建, 林艳伟. 老年人社会支持行为量表简化版的研制 [J]. *现代预防医学*, 2023, 50(3): 488 - 494.
- Wang TX, Yang J, Lin YW. Development of a shortened version of the social support behaviors scale for olderpeople [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2023, 50(3): 488 - 494.
- [12] Lin YW, Yu YL, Zeng JY, et al. Comparing the reliability and validity of the SF - 36 and SF - 12 in measuring quality of Life among adolescents in China: a large sample cross - sectional study [J]. *Health and Quality of Life Outcomes*, 2020, 18(1): 360.
- [13] 覃志良, 邓树嵩, 李畅. 桂西地区老年人生命质量影响因素分析 [J]. *现代预防医学*, 2022, 49(20): 3736 - 3740.
- Qin ZL, Deng SS, Li C. Factors influencing the quality of Life of the elderly in western Guangxi [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2022, 49(20): 3736 - 3740.
- [14] Winningham RG, Pike NL. A cognitive intervention to enhance institutionalized older adults' social support networks and decrease loneliness [J]. *Aging & Mental Health*, 2007, 11(6): 716 - 721.
- [15] Nguyen QD, Moodie EM, Forget MF, et al. Health heterogeneity in older adults: exploration in the Canadian longitudinal study on aging [J]. *Journal of the American Geriatrics Society*, 2021, 69(3): 678 - 687.
- [16] Bavik YL, Shaw JD, Wang XH. Social support: Multidisciplinary review, synthesis, and future agenda [J]. *The Academy of Management Annals*, 2020, 14(2): 726 - 758.
- [17] Bruine de Bruin W, Parker AM, Strough J. Age differences in reported social networks and well - being [J]. *Psychology and Aging*. 2020, 35(2): 159 - 168.

收稿日期: 2023-04-18