

食物中毒常见天然毒素及其检测技术

张琳¹, 金玉娥², 汪国权²

1. 天津医科大学总医院药剂科, 天津 300052

2. 上海市疾病预防控制中心化学品毒性检定所, 上海 200336

摘要:

食物中毒是摄入含有生物性、化学性有毒有害物质的食品, 或把有毒有害物质当作食品摄入后所出现的非传染性的急性、亚急性疾病, 其中有有毒动植物及毒蘑菇中毒引起的死亡人数最多。此类中毒由食入天然毒素引起, 但天然毒素种类繁多、结构多样、致毒剂量小, 因此检测难度较大, 使食物中毒应急处置工作面临巨大挑战。本文总结了此类典型毒素成分、中毒后临床症状, 回顾了检测技术, 并指出目前检测方面仍面临的诸多挑战及未来发展。

关键词: 食物中毒; 天然毒素; 毒素检测; 植物毒素; 海洋毒素; 蘑菇毒素

Common toxins in food poisoning and their detection technologies ZHANG Lin¹, JIN Yu'e², WANG Guoquan² (1. Department of Pharmacy, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China; 2. Division of Chemical Toxicity and Safety Assessment, Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China)

Abstract:

Food poisoning is a non-infectious acute and subacute disease that occurs after ingesting food containing biological or chemical toxins or consuming toxic and harmful substances as food. Most deaths from food poisoning are caused by poisonous animals, plants, and mushrooms which contain natural toxins. Due to the high variety and large number of toxins and often with a low toxic dose, the emergency response capabilities for treating food poisoning face daunting challenges. This article summarized the typical toxin components, clinical symptoms, and detection technologies, and proposed the challenges of toxin detection and future development.

Keywords: food poisoning; natural toxin; toxin detection; phytotoxin; marine toxin; mushroom toxin

食物中毒是指摄入含有生物性、化学性有毒有害物质的食品, 或把有毒有害物质当作食品摄入后所出现的非传染性的急性、亚急性疾病。食物中毒原因包括细菌性、真菌性、有毒动植物和化学性食物中毒, 其中有有毒动植物及毒蘑菇引起的食物中毒的死亡人数最多, 主要致毒成分为其中的天然毒素。天然毒素, 即生物毒素, 是指生物来源并不可复制的有毒化学物质, 包括动物、植物、微生物在其生长繁殖过程中或一定条件下产生的, 对其他生物物种有毒害作用的各种化学物质。天然毒素具有结构复杂多样、检测难度大、中毒剂量小、致死率高的特点, 因此越来越受到广泛关注。

有毒动植物及毒蘑菇中毒事件的发生呈现一定的地域性和季节性。有毒植物中毒集中在植物茂密、植物品种多样的西南和华南地区, 植物多为有药用价值或加工后可食用的植物。有毒动物中毒事件多发于春夏季, 东部沿海地区, 以海洋毒素为主。毒蘑菇中毒高发于每年夏秋季, 集中在云贵川一带^[1]。本文梳理常见有毒动植物及毒蘑菇中天然毒素成分, 及典型毒素中毒的临床症状, 并对其检测方法加以总结。

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2021.20339

作者简介

张琳 (1991—), 女, 硕士, 药师;
E-mail: zhanglincpu@126.com

通信作者

汪国权, E-mail: wangguoquan@scdc.sh.cn

伦理审批 不需要

利益冲突 无申报

收稿日期 2020-07-12

录用日期 2020-09-30

文章编号 2095-9982(2021)03-0321-07

中图分类号 R11

文献标志码 A

引用

张琳, 金玉娥, 汪国权. 食物中毒常见天然毒素及其检测技术 [J]. 环境与职业医学, 2021, 38 (3): 321-327.

本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2021.20339

Correspondence to

WANG Guoquan, E-mail: wangguoquan@scdc.sh.cn

Ethics approval Not required

Competing interests None declared

Received 2020-07-12

Accepted 2020-09-30

To cite

ZHANG Lin, JIN Yu'e, WANG Guoquan. Common toxins in food poisoning and their detection technologies[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2021, 38(3): 321-327.

Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2021.20339

1 毒性成分

1.1 植物毒素

我国有毒植物约 1300 多种，毒素的种类复杂，主要毒素按其结构可分为生物碱类、萜类、苷类、氨基酸多肽及蛋白质（表 1），其中致死率最高的植物为乌头、钩吻和毒蜂蜜^[1]。乌头和钩吻致毒的成分为乌头碱、钩吻碱及其类似物。由于乌头形似“野芹菜”，而钩吻形似金银花，易误食引起中毒。另外，民间许多植物常被用于泡制“养生”药酒，因误食导致中毒也较为常见。乌头碱加热水解后，毒性可降低，烹煮加热不当，生物碱水解不彻底，亦可造成中毒。毒蜂蜜的毒素较为复杂，大多由于蜜蜂采蜜过程中采到有毒植物（如雷公藤）的花粉，使植物毒素富集在蜂蜜中，食用后中毒，因此毒蜂蜜中毒的毒素需要根据临床症状进一步加以判断。

表 1 常见植物毒素种类及主要成分

Table 1 The types and components of common phytotoxins

分类	亚类 (按结构分)	成分代表	代表植物
生物碱	吡咯烷类、吡啶和哌啶类、异喹啉类、吲哚类等	乌头碱、马钱子碱、土的宁、钩吻碱、莨菪碱、苦马豆素、秋水仙碱、麦角新碱、箭毒碱、毒扁豆碱、茶碱、毛果芸香碱	乌头、钩吻、马钱子、鲜黄花菜、天仙子
萜类	倍半萜内酯、二萜、三萜等	马桑内酯、雷公藤甲素、杜延内酯、莽草素、日本杜鹃毒素、木藜芦毒素	马桑果、杜鹃花科、大戟科植物
苷类	苷或苷元	氰苷、芥子油苷、甾苷、多萜苷、龙葵碱	夹竹桃、土豆芽
氨基酸、多肽及蛋白	非蛋白氨基酸、有毒植物凝聚素	豆类、藻类、蓖麻毒素、相思子毒素、巴豆毒素、麻风树毒素、胡拉毒素、刺槐毒素、洋刀豆血球凝集素、野豆凝集素	蓖麻子、相思子

1.2 海洋毒素

海洋毒素的形成与毒藻密切相关，有些毒藻被鱼类生物摄入后，毒素会在鱼体内富集，被人食用后引起中毒。海洋毒素主要有河豚毒素、贝类毒素及雪卡毒素三类（表 2）。河豚毒素存在于多种海洋及陆生动物中，是一类笼形原酸酯类生物碱，易溶于水，且分子中几乎所有碳原子均有不对称取代，目前已分离鉴定出的河豚毒素类似物有 20 余种。贝类毒素广泛分布于海洋生物中，种类繁多，按结构可分为 8 类，分别为原多甲藻酸（azaspiracid, AZA）、短裸甲藻毒素（brevetoxin, BTX）、环亚胺类（cyclic Imine, CI）、软骨藻酸（domoic acid, DA）、大田软海绵酸（okadaic acid, OA）、扇贝毒素（pectenotoxin, PTX）、石房蛤毒素（saxitoxin, STX）和虾夷扇贝毒素（yessotoxin, YTX）。AZA、CI、OA、BTX、PTX 和 YTX 6 类均为聚醚类物质，属

于脂溶性贝类毒素；而 STX 和 DA 为水溶性贝类毒素，其中 STX 为氨基甲肽类毒素，DA 为多莫酸毒素。雪卡毒素存在于珊瑚礁鱼类中，为阶梯状的大环聚醚类分子，按来源分为太平洋雪卡毒素（pacific ciguatoxin, P-CTX）、加勒比海雪卡毒素（Caribbean ciguatoxin, C-CTX）和印度洋雪卡毒素（Indian ciguatoxin, I-CTX），其中 P-CTX-1 为已知含量最高且毒性最强的雪卡毒素。海洋毒素多为热稳定性物质，常规烹饪难以去除^[2]。

表 2 常见海洋毒素种类及主要成分

Table 2 The types and components of common marine toxins

分类 (按来源分)	亚类 (按极性分)	常见成分 (按结构分)	其他说明
河豚毒素	—	河豚毒素 (TTX) 及衍生物	—
贝类毒素	脂溶性	短裸甲藻毒素 (BTX)、原多甲藻酸 (AZA)、环亚胺类 (CI)、大田软海绵酸 (OA)、虾夷扇贝毒素 (YTX)、扇贝毒素 (PTX)	BTX 为神经性贝毒主要成分；AZA1~3 为 AZA 的主要毒性成分；CI 包括螺环内酯毒素 (SPX)、螺旋形亚胺 (GYM) 等；OA 及其衍生物鳍藻毒素 (DTX) 是腹泻性贝毒的主要致毒成分
	水溶性	软骨藻酸 (DA)、石房蛤毒素 (STX)	DA 为失忆性贝毒主要成分；STX 为麻痹性贝毒主要成分
雪卡毒素	—	太平洋雪卡毒素 (P-CTX)、加勒比海雪卡毒素 (C-CTX)、印度洋雪卡毒素 (I-CTX)	—

1.3 蘑菇毒素

我国有毒蘑菇约四百多种，大多为鹅膏菌属。蘑菇毒素根据结构分为鹅膏毒肽、鬼笔毒肽和氨基酸生物胺 3 类（表 3），其中鹅膏毒肽和鬼笔毒肽均为环状多肽结构。鹅膏毒肽中的 α -鹅膏毒肽和 β -鹅膏毒肽毒性较强且含量较高，为鹅膏菌中毒死亡的主要原因^[3]。鹅膏毒肽化学性质稳定，耐加热、干燥，因此烹饪过程通常无法破坏其毒性。

表 3 常见蘑菇毒素种类及毒素成分

Table 3 The types and components of common mushroom toxins

分类 (按结构分)	常见成分	说明
鹅膏毒肽	α -鹅膏毒肽、 β -鹅膏毒肽、 γ -鹅膏毒肽、 ϵ -鹅膏毒肽、三羟毒伞肽、一羟毒伞肽酰胺、三羟鹅膏毒肽酰胺、羧基鹅膏毒肽酰胺、一羟鹅膏毒肽羧酸	α -鹅膏毒肽、 β -鹅膏毒肽为主要致毒成分
鬼笔毒肽	二羟鬼笔毒肽、一羟鬼笔毒肽、三羟鬼笔毒肽、一羟鬼笔毒肽原、羧基二羟鬼笔毒肽、羧基一羟鬼笔毒肽、羧基三羟鬼笔毒肽	—
生物胺及氨基酸	毒蕈碱、蟾毒素、裸盖菇素、裸盖菇碱、隐陡头菌素 S、蝇蕈醇、英寻碱、鹿花菌素、奥莱毒素、异烟酸、伞菌酸	—

2 典型毒素中毒的临床症状及救治

2.1 植物毒素

乌头中毒后表现为口舌及四肢麻木、呕吐腹泻，严重者会出现难以逆转的恶性心律失常，甚至死亡。

钩吻在进食 30 min 后发病,主要表现为呼吸困难甚至死亡^[4]。2015 年,云南一村民家中聚餐误食草乌,造成 27 人中毒,其中 6 人死亡。

2.2 海洋毒素

河豚毒素和以 STX 为代表的麻痹性贝毒可引起神经系统中毒,表现为麻木,唇、舌热痛,并传到面部和指尖,肌肉丧失协调性,严重时会导致呼吸系统麻痹甚至死亡。以 OA、AZA 等为代表的腹泻性贝毒在食用 30 min 至数小时后会 出现呕吐、腹泻和胃痉挛等消化系统症状。以 BTX 为代表的神经性贝毒中毒表现为 3 h 内发生面部刺痛且传至身体其他部位,忽冷忽热,瞳孔扩大且有醉酒感。以 DA 为代表的失忆性贝毒中毒表现为肠内不适,重症时出现面部怪相或咬牙,短期记忆丧失和呼吸困难。雪卡毒素潜伏期 2~10 h,典型中毒症状为“热感颠倒”,当触摸热的物体时,会产生冷觉^[5]。

2.3 蘑菇毒素

蘑菇中毒后都伴有不同程度的消化道症状,根据不同的品种可进一步分为急性肝损伤、急性肾损伤、神经型、急性胃肠炎型、溶血型、横纹肌溶解型和过敏皮炎型。其中致死率最高为急性肝损伤和横纹肌溶解。急性肝损伤在误食后 6~12 h 出现胃肠道症状,胃肠道症状消失后会出现假愈期,假愈期后迅速恶化,出现肝功能异常及多器官衰竭。横纹肌溶解在误食 1 h 内便出现消化道症状,24 h 后出现明显肌痛并伴有酱油尿,同时肌酸激酶急剧上升^[6]。2015 年无锡一起蘑菇中毒事件,造成 7 人中毒,其中 4 人死亡,食用的即为可导致急性肝损的裂皮鹅膏。

食物中毒救治在明确病因后,首先需要快速排泄毒物,主要以洗胃、导泻、利尿为主,对于剧毒物质必要时需加以血液透析。其次需对症治疗,针对不同疾病的症状进行对症支持疗法。针对一些临床实践中有特效药物的毒素,可采用特效药物,例如肝损伤性毒蘑菇宜选用水飞蓟素,毒蕈碱类蘑菇中毒宜选用阿托品。

3 检测技术

3.1 植物毒素

小分子植物毒素通常采用液质联用 (liquid chromatography tandem mass spectrometer, LC/MS) 检测,前处理过程除了传统的液液萃取^[7-8]外,还可进行固相萃取技术 (solid-phase extraction, SPE)^[9] 或

QuEChERS (quick easy cheap effective rugged safe)^[10-12] 进行净化。Martinell 等^[10] 使用 QuEChERS 建立的 10 种生物碱的提取方法可达到与 SPE 相同的回收率,方法更加省时。Ha 等^[13] 基于基质辅助激光解吸电离 (matrix-assisted laser desorption ionization, MALDI) 直接检测的优势,测定马铃薯块茎中的龙葵碱类物质及其分布,避免了其他方法中复杂的前处理过程。Ouyang 等^[8] 建立了血清中雷公藤的检测方法,相对于传统的食物检测方法,在未知暴露途径或食物残渣难以获得的情况下,仍可快速检测;另外,雷公藤个体代谢差异较大,生物样本可以更好地反映不同患者的中毒情况。

植物毒素类似物多,不同植物的不同部位会在不同生长周期形成一系列结构类似物,它们的标准品难以获得,但具有相似的质谱裂解行为,可通过质谱对中性丢失或子离子碎片扫描,实现毒素的推测与鉴定。Vaclavik 等^[11] 基于液相色谱串联四级杆静电场轨道离子阱质谱 (liquid chromatography tandem quadrupole orbitrap mass spectrometer, LC-Q-orbitrap MS) 使用 QuEChERS 同时测定食物中毒素及其代谢物,使用 dd-MS/MS (data-dependent MS/MS) 扫描不同碰撞能下的化合物子离子碎片,实现高通量的快速筛查。

蓖麻毒素和相思子毒素为蛋白质类结构,可采用免疫法净化或测定^[14-16]。Liu 等^[14] 基于便携式传感器和磁分离免疫测定技术,以丝网印刷电极为反应中心,实现了相思子毒素的快速检测,仅需 5 μL 样品,灵敏度达 0.1 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$,与 Hansbauer 等^[15] 建立的质谱方法相比,设备易于携带,检测时间短,但缺点是对同型化合物难以区分。常见植物毒素及其检测方法见表 4。

表 4 常见植物毒素及其检测方法

Table 4 Common phytotoxins and detection methods

成分	检测代表物	基质	处理方法	检测方法
22 种生物碱	乌头碱、茄碱、秋水仙碱	植物 / 尿液	液液萃取	LC/MS ^[7]
3 种雷公藤	雷公藤甲素、雷公藤乙素	血清	液液萃取	LC/MS/MS ^[8]
10 种生物碱	石松胺、千里光碱	蜂蜜	SPE	LC/MS ^[9]
10 生物碱	阿托品、东莨菪碱	蜂蜜	QuEChERS	LC/MS ^[10]
96 种物质	马兜铃酸、乌头碱等	食物	QuEChERS	LC-Q-orbitrap MS ^[11]
雷公藤	雷公藤甲素、原阿片碱	蜂蜜 / 鲜花	QuEChERS	LC/Q-TOF ^[12]
相思子毒素	相思子毒素	液体	磁探针免疫	电化学发光生物传感器 ^[14]
相思子毒素	相思子毒素同型凝集素	食物 / 血浆	免疫磁珠	Q-orbitrap MS ^[15]
蓖麻毒素	蓖麻毒素	植物	免疫亲和法	MALDI-TOF ^[16]

[注] *: LC/Q-TOF, 液相色谱串联四级杆飞行时间质谱。

3.2 海洋毒素

目前常用的海洋毒素检测方法有生物法、免疫法和色谱法。生物法采用小鼠生物检测法,根据注入毒素后小鼠的存活时间评判毒性。国标中对河豚毒素、腹泻性贝类毒素和麻痹性贝类毒素的检测均采用了该法。生物法操作简单,但无法测定毒素组成,受小鼠种属及个体差异影响较大,重现性差,同时因使用大量小鼠,引起伦理学争议。

免疫法根据抗原-抗体反应对毒素定量,检测方便、快速。Thattiyaphong等^[17]开发了基于测流免疫层析的快速检测方法,仅需5 min便可完成对TTX的检测,适用于对大批量水产品的快速筛查。但与酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)^[18]一样,免疫法对于衍生物较多的化合物均不易检测,难以实现化合物的高通量筛查,同时检测结果存在假阳性,仍需质谱进一步复测。Zheng等^[19]开发了新适配体(M-30f),用于检测STX,与原适配体(APTSTX1)相比,亲和力提高了30倍,同时较高的选择性可以降低假阳性率,但适配体的寻找较为困难,难以广泛应用。

LC/MS由于具有较高的灵敏度和选择性,已逐渐成为海洋毒素检测的主流方法,不仅可以检测食物样本,还可通过检测患者体液确定毒素^[20]。河豚毒素结构特殊,需用酸提取,国标还通过免疫亲和柱,提高灵敏度。对于其高极性,Rodríguez等^[21]比较了3种色谱柱后得出使用氨基柱可以更好地分离TTX及其衍生物。贝类毒素结构多样,脂溶性和水溶性兼有,给提取和检测增加了难度。Rey等^[22]整合多种净化手段,采用盐酸酸化提取除去蛋白,并使用二氯甲烷提取后经Hypercarb小柱净化,将基质效应均控制在15%以内,并在20 min内完全分离。Chen等^[23]使用反向色谱串联亲水作用色谱(hydrophilic interaction chromatography, HILIC),实现了亲脂性和亲水性贝类毒素的同时筛查。部分贝类毒素因含有酸碱基团,可与衍生化试剂反应引入荧光基团,因此荧光检测器(fluorescence detector, FLD)也常用于海洋毒素的检测。Mccarron等^[24]将AZA中的羧基与9-蒽重氮甲烷(9-anthryldiazomethane, ADAM)衍生化,经荧光检测器分析,检测限达 $40\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,提供了AZA检测的新思路。麻痹性贝类毒素的碱性基团在过碱性条件下被氧化成荧光衍生物,经在线柱后衍生反应进行荧光检测,方法灵敏度达 $50\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,与质谱相当,缺点是操

作复杂,使用试剂多而污染环境^[25]。

贝类毒素由于种类繁多,一些标准物质常难以大量获取,给准确定量带来了极大的挑战。因此,通常使用类似物,用以作半定量的对照,但由于不同化合物在电喷雾离子源(electron spray ionization, ESI)中灵敏度差异很大,因此方法准确度不高。Qiu等^[26]提出以GTx₂为参照物,测定相同条件下其他组分的相对响应因子值,并基于此进行半定量,结果与标准物质绝对定量结果相差 $\pm 20\%$ 以内。常见海洋毒素及其检测方法见表5。

表5 常见海洋毒素及其检测方法
Table 5 Common marine toxins and detection methods

成分	检测代表物	基质	处理方法	检测方法
河豚毒素	TTX	鱼肉	0.1%乙酸提取	测流免疫层析 ^[17]
河豚毒素	TTX	鱼肉	0.1%乙酸提取	ELISA ^[18]
腹泻性贝类毒素	—	贝肉	0.5%乙酸提取	小鼠生物法
麻痹性贝类毒素	STX	贝肉	盐酸提取	ELISA
麻痹性贝类毒素	STX	鱼肉	适配体	ELISA/细胞毒性 ^[19]
河豚毒素	TTX	血清	2%乙酸提取	LC/MS/MS ^[20]
9种河豚毒素	TTX及其衍生物	鱼肉	0.1%乙酸提取	LC/MS/MS ^[21]
26种麻痹性贝类毒素	STX/NEO/TTX/GTX	贝肉	盐酸/二氯甲烷提取SPE	LC/MS/MS ^[22]
19种贝类毒素	OA/GYM/SPX ₁ /PTX ₂	贝肉	甲醇-乙酸提取	RPLC/HILIC-TOF ^[23]
腹泻性贝类毒素	23种AZA	鱼肉	SPE	LC/FLD/MS ^[24]
麻痹性贝类毒素	GTX/STX	鱼肉	SPE	LC/FLD ^[25]
腹泻性贝类毒素	OA/AZA/DTX ₁	海产品	乙腈/水提取后SPE	LC/MS/MS ^[27]
8种雪卡毒素	P-CTX	鱼肉	甲醇/正己烷提取后SPE	LC/MS/MS ^[28]
太平洋雪卡毒素	P-CTX-1	鱼肉	甲醇提取后SPE	LC/MS/MS ^[29]

3.3 蘑菇毒素

中毒样本可选取食物、血浆和尿液,食用蘑菇后6~72 h在尿液中均有检出,而血浆样本仅在24 h内检出^[30]。蘑菇毒素的前处理大多采用SPE净化,但固相萃取法耗时长,Ginterová等^[31]将尿液稀释过膜后直接进行毛细管电泳色谱串联质谱(capillary electrochromatography tandem mass spectrometer, CE/MS/MS)检测,检测限达到 $0.05\sim 0.73\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。Helfer等^[32]使用在线快速提取串联液质联用,将全流程分析时间缩短至15 min,极大提高了前处理的效率及分析速度。

LC和少数气相色谱法(gas chromatography, GC)均可用于进行蘑菇毒素的检测(表6),其中肽类毒素主要通过LC分析,而小分子生物胺可以衍生化后通过GC分析。Lei等^[33]基于Orbitrap MS对蘑菇样品进行产物离子和中性丢失扫描,筛选定量三种毒素,并初步

鉴定了两种未知毒素。Abbott 等^[34]使用同位素标记 α -鹅膏毒肽作为内标,测定尿液中蘑菇毒素,灵敏度虽与 Zhang 等^[35]的方法相近,但色谱分析时间可缩短至 3 min。Rácz 等^[36]考察三种 HILIC 柱键合相在下不同色谱条件下对蘑菇毒素的保留行为,并基于此建模,寻找最优分离条件。Stříbrný 等^[37]采用离子交换柱对尿液中蝇蕈醇和异烟酸进行净化后通过氯甲酸乙酯衍生化,并经 GC 定量分析,方法应用于 4 例患者,表明肌酐及时间校准后的浓度,与中毒症状具有相关性。

表 6 常见蘑菇毒素及其检测方法
Table 6 Common mushroom toxins and detection methods

成分	检测代表物	基质	处理方法	检测方法
3 种蘑菇毒素	蝇蕈醇、毒蝇碱和异烟酸	尿液	滤膜过滤	CE/MS/MS ^[31]
6 种蘑菇毒素	鹅膏毒肽、鬼笔毒肽	干蘑菇	甲酸甲醇水提取	LC-Q-Orbitrap MS ^[33]
3 种蘑菇毒素	α - β - γ -鹅膏毒肽	尿液	稀释后 SPE	LC/MS/MS ^[34]
5 种蘑菇毒素	α - β -鹅膏毒肽、鬼笔毒肽	血浆、尿液	乙酸铵提取后 SPE	LC/MS/MS ^[35]
3 种蘑菇毒素	裸盖菇碱和盖菇素	蘑菇	甲醇提取	HILIC/MS ^[36]
2 种蘑菇毒素	蝇蕈醇和异烟酸	尿液	SPE 后衍生化	GC/MS ^[37]
5 种蘑菇毒素	α - β -鹅膏毒肽、鬼笔毒肽	蘑菇/食品	SPE	LC/MS/MS ^[38]
奥莱毒素	奥莱毒素	蘑菇	盐酸提取后 SPE	LC/MS/MS ^[39]

4 讨论及展望

有毒动植物及毒蘑菇中毒素种类复杂多样,毒性高,为相关食物中毒的快速检测、应急处置与防治带来极大的挑战,因此建立快速、灵敏、特异性高的毒素检测技术已成为应对食物中毒的关键。质谱分析技术因具有强大的结构确认能力,已逐步成为中毒物确认的主要技术手段,加之不同前处理技术和色谱联用技术,可以在干扰物去除,多组分分离与确认,基质干扰降低或消除等方面提升质谱技术水平,提升中毒毒物确认的灵敏度和特异性水平,因此逐渐成为食物中毒理化检测的主流方法。尤其近年来,基于高分辨质谱精确的分子量测定能力和离子淌度技术对具有空间结构差异的化合物的分离能力,天然毒物同分异构体的测定得以实现;同时,联合原位电离质谱技术的现场确认能力,毒物检测领域将有更大提升。样品前处理方面,由于检测样本多为基质复杂的食品及生物样本,因此需要基于毒素结构特点和样本特性,选择提取和净化方法,以最大程度保留待测成分。

目前,毒素检测仍面临诸多挑战。一方面,因流行病学调查的不完整,毒源样品消失,中毒个案化毒

物样品的存在,低含量但剧毒的毒素难以识别,毒素多样性和标准品缺乏等多种原因,一些食物中毒的原因尚无法确定。另一方面,针对天然毒素多样性,异构体繁多,体内毒物代谢过程难以确认,毒物经代谢极性增大等特点,特异的检测方法较少,加之毒物样本的复杂和多样,更增加了检测的难度。

今后,随着数据及智能化的发展,基于多种色谱联用技术、质谱技术及有毒物质构效关系的智能化,未知毒素识别及预测将成为可能,这将有助于寻找更多新的毒素并定向筛查。同时,随着原位电离质谱技术和生物试剂盒的开发应用,可实现常见毒素的快速便捷化检测。

参考文献

[1] 周静,袁媛,孙承业,等. 2004—2013 年全国有毒动植物中毒事件分析[J]. 疾病监测, 2015, 30(5): 403-407.
ZHOU J, YUAN Y, SUN CY, et al. Epidemiology of poisonous animal and plant poisoning in China, 2004-2013 [J]. Dis Surveill, 2015, 30(5): 403-407.

[2] SOLIÑO L, COSTA PR. Differential toxin profiles of ciguatoxins in marine organisms: chemistry, fate and global distribution [J]. Toxicon, 2018, 150: 124-143.

[3] CHEN Z, ZHANG P, ZHANG Z. Investigation and analysis of 102 mushroom poisoning cases in southern China from 1994 to 2012 [J]. Fungal Divers, 2014, 64(1): 123-131.

[4] CHAN TY. Aconite poisoning [J]. Clin Toxicol, 2009, 47(4): 279-285.

[5] CHAN WH, MAK YL, WU JJ, et al. Spatial distribution of ciguateric fish in the Republic of Kiribati [J]. Chemosphere, 2011, 84(1): 117-123.

[6] WHITE J, WEINSTEIN SA, DE HARO L, et al. Mushroom poisoning: a proposed new clinical classification [J]. Toxicon, 2019, 157: 53-65.

[7] NG SW, CHING CK, CHAN AYW, et al. Simultaneous detection of 22 toxic plant alkaloids (aconitum alkaloids, solanaceous tropane alkaloids, sophora alkaloids, strychnos alkaloids and colchicine) in human urine and herbal samples using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2013, 942-943: 63-69.

[8] OUYANG XK, CAI MQ, CHEN XH, et al. Development and validation of a liquid chromatography coupled with atmospheric-pressure chemical ionization ion trap mass

- spectrometric method for the simultaneous determination of triptolide, triptolide, and tripterine in human serum [J]. *J Anal Toxicol*, 2008, 32 (9) : 737-743.
- [9] KOWALCZYK E, KWIATEK K. Pyrrolizidine alkaloids in honey : determination with liquid chromatography-mass spectrometry method [J]. *J Vet Res*, 2018, 62 (2) : 173-181.
- [10] MARTINELLO M, BORIN A, STELLA R, et al. Development and validation of a QuEChERS method coupled to liquid chromatography and high resolution mass spectrometry to determine pyrrolizidine and tropane alkaloids in honey [J]. *Food Chem*, 2017, 234 : 295-302.
- [11] VACLAVIK L, KRYNITSKY AJ, RADER JI. Targeted analysis of multiple pharmaceuticals, plant toxins and other secondary metabolites in herbal dietary supplements by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-orbital ion trap mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2014, 810 : 45-60.
- [12] SUN M, ZHAO L, WANG K, et al. Rapid identification of "mad honey" from *Tripterygium wilfordii* Hook. f. and *Macleaya cordata* (Willd) R. Br using UHPLC/Q-TOF-MS [J]. *Food Chem*, 2019, 294 : 67-72.
- [13] HA M, KWAK JH, KIM Y, et al. Direct analysis for the distribution of toxic glycoalkaloids in potato tuber tissue using matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric imaging [J]. *Food Chem*, 2012, 133 (4) : 1155-1162.
- [14] LIU S, TONG Z, MU X, et al. Detection of abrin by electrochemiluminescence biosensor based on screen printed electrode [J]. *Sensors*, 2018, 18 (2) : 357.
- [15] HANSBAUER E M, WORBS S, VOLLAND H, et al. Rapid detection of abrin toxin and its isoforms in complex matrices by immuno-extraction and quantitative high resolution targeted mass spectrometry [J]. *Anal Chem*, 2017, 89 (21) : 11719-11727.
- [16] WANG D, BAUDYS J, BARR JR, et al. Improved sensitivity for the qualitative and quantitative analysis of active ricin by MALDI-TOF mass spectrometry [J]. *Anal Chem*, 2016, 88 (13) : 6867-6872.
- [17] THATTIYAPHONG A, UNAHLEKHAKA J, MEKHA N, et al. Efficiency of a rapid test for detection of tetrodotoxin in puffer fish [J]. *J Immunoassay Immunochem*, 2014, 35 (2) : 111-119.
- [18] REVERTÉ L, DE LA IGLESIA P, DEL RÍO V, et al. Detection of tetrodotoxins in puffer fish by a self-assembled monolayer-based immunoassay and comparison with surface Plasmon resonance, LC-MS/MS, and mouse bioassay [J]. *Anal Chem*, 2015, 87 (21) : 10839-10847.
- [19] ZHENG X, HU B, GAO SX, et al. A saxitoxin-binding aptamer with higher affinity and inhibitory activity optimized by rational site-directed mutagenesis and truncation [J]. *Toxicon*, 2015, 101 : 41-47.
- [20] TSUJIMURA K, YAMANOUCHI K. A rapid method for tetrodotoxin (TTX) determination by LC-MS/MS from small volumes of human serum, and confirmation of pufferfish poisoning by TTX monitoring [J]. *Food Addit Contam : Part A*, 2015, 32 (6) : 977-983.
- [21] RODRÍGUEZ P, ALFONSO A, OTERO P, et al. Liquid chromatography-mass spectrometry method to detect tetrodotoxin and its analogues in the puffer fish *Lagocephalus sceleratus* (Gmelin, 1789) from European waters [J]. *Food Chem*, 2012, 132 (2) : 1103-1111.
- [22] REY V, BOTANA A M, ANTELO A, et al. Rapid analysis of paralytic shellfish toxins and tetrodotoxins by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using a porous graphitic carbon column [J]. *Food Chem*, 2018, 269 : 166-172.
- [23] CHEN J, GAO L, LI Z, et al. Simultaneous screening for lipophilic and hydrophilic toxins in marine harmful algae using a serially coupled reversed-phase and hydrophilic interaction liquid chromatography separation system with high-resolution mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2016, 914 : 117-126.
- [24] MCCARRON P, GIDDINGS SD, MILES CO, et al. Derivatization of azaspiracid biotoxins for analysis by liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *J Chromatogr A*, 2011, 1218 (44) : 8089-8096.
- [25] HIGNUTT E. Suitability of postcolumn oxidation liquid chromatography method AOAC 2011.02 for Monitoring Paralytic Shellfish Toxins in Alaskan Shellfish—initial pilot study versus mouse bioassay and in-house validation [J]. *J AOAC Int*, 2014, 97 (2) : 293-298.
- [26] QIU J, WRIGHT E J, THOMAS K, et al. Semiquantitation of paralytic shellfish toxins by hydrophilic interaction liquid

- chromatography-mass spectrometry using relative molar response factors [J]. *Toxins*, 2020, 12 (6) : 398.
- [27] ZHUO L, FU W, YANG Y, et al. Simultaneous determination of biotoxins DSP and AZAs in bivalve molluscs and fish by liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2014, 28 (13) : 1479-1488.
- [28] SIBAT M, HERRENKNECHT C, DARIUS HT, et al. Detection of pacific ciguatoxins using liquid chromatography coupled to either low or high resolution mass spectrometry (LC-MS/MS) [J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1571 : 16-28.
- [29] WU JJ, MAK YL, MURPHY MB, et al. Validation of an accelerated solvent extraction liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for Pacific ciguatoxin-1 in fish flesh and comparison with the mouse neuroblastoma assay [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2011, 400 (9) : 3165-3175.
- [30] LEITE M, FREITAS A, AZUL AM, et al. Development, optimization and application of an analytical methodology by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for determination of amanitins in urine and liver samples [J]. *Anal Chem Acta*, 2013, 799 : 77-87.
- [31] GINTEROVÁ P, SOKOLOVÁ B, ONDRA P, et al. Determination of mushroom toxins ibotenic acid, muscimol and muscarine by capillary electrophoresis coupled with electrospray tandem mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2014, 125 : 242-247.
- [32] HELFER AG, MEYER MR, MICHELY JA, et al. Direct analysis of the mushroom poisons α - and β -amanitin in human urine using a novel on-line turbulent flow chromatography mode coupled to liquid chromatography-high resolution-mass spectrometry/mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1325 : 92-98.
- [33] LEI S, SHI P, WU W, et al. Extensive screening of cyclopeptide toxins in mushrooms by ultra-high- performance liquid chromatography coupled with quadrupole-Orbitrap mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2020, 329 : 127146.
- [34] ABBOTT NL, HILL KL, GARRETT A, et al. Detection of α -, β -, and γ -amanitin in urine by LC-MS/MS using 15N10- α -amanitin as the internal standard [J]. *Toxicon*, 2018, 152 : 71-77.
- [35] ZHANG S, ZHAO Y, LI H, et al. A simple and high-throughput analysis of amatoxins and phallotoxins in Human Plasma, serum and urine using UPLC-MS/MS combined with PRiME HLB μ Elution platform [J]. *Toxins*, 2016, 8 (5) : 128.
- [36] RÁCZ N, NAGY J, JIANG W, et al. Modeling retention behavior on analysis of hallucinogenic mushrooms using hydrophilic interaction liquid chromatography [J]. *J Chromatogr Sci*, 2019, 57 (3) : 230-237.
- [37] STŘÍBRNÝ J, SOKOL M, MEROVÁ B, et al. GC/MS determination of ibotenic acid and muscimol in the urine of patients intoxicated with *Amanita pantherina* [J]. *Int J Legal Med*, 2012, 126 (4) : 519-524.
- [38] XU XM, CAI ZX, ZHANG JS, et al. Screening of polypeptide toxins as adulteration markers in the food containing wild edible mushroom by liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Food Control*, 2017, 71 : 393-402.
- [39] SHAO D, TANG S, HEALY RA, et al. A novel orellanine containing mushroom *Cortinarius armillatus* [J]. *Toxicon*, 2016, 114 : 65-74.

(英文编辑：汪源；责任编辑：王晓宇)