

doi: 10.12452/j.fxcxb.26052502

超高效液相色谱-质谱/质谱法同时测定谷物中23种麦角生物碱

王清格¹, 邱楠楠^{1,2*}, 周爽², 李敬光²

(1. 河北医科大学 公共卫生学院, 河北 石家庄 050017; 2. 国家食品安全风险评估中心, 北京 100021)

摘要: 建立了超高效液相色谱-质谱/质谱法 (UHPLC-MS/MS) 测定中国总膳食谷物样品中23种麦角生物碱的分析方法。样品用乙腈-3 mmol/L 碳酸铵水溶液-甲酸 (84+15+1, v/v) 提取, 经过振荡、超声、离心后, 提取液经 Mycosep®150Ergot Alkaloids 多功能净化柱净化, 氮吹浓缩, 复溶后上机测定。采用 Waters BEH C18 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) 进行分离, 流动相在正离子模式采用乙腈和3 mmol/L 碳酸铵水溶液, 进行梯度洗脱, MRM 模式检测, 基质匹配标准曲线定量。23种麦角生物碱在各自的浓度范围内线性关系良好, R²均大于0.99, 检出限为0.007-1.5 μg/kg, 定量限为0.03-5.0 μg/kg。以谷物膳食样品为空白基质, 在3个加标水平下的平均加标回收率为74.6%-119.9%, 相对标准偏差均在可接受范围内。将该方法用于中国总膳食中谷类样品24个省份的检测, 部分省份检出双氢麦角胺甲磺酸盐、麦角克碱、麦角异卡里碱、麦角异新碱、麦角辛。该方法高效、灵敏、准确, 能够实现对谷物中23种麦角生物碱的多组分同时测定及痕量分析。

关键词: 麦角生物碱; 超高效液相色谱-质谱/质谱法; 食品安全; 谷类

中图分类号: O657.63; R155.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(XXXX)XX-0001-10

Simultaneous Determination of 23 Ergot Alkaloids in Cereals with Ultra-high Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

WANG Qing-ge¹, QIU Nan-nan^{1,2*}, ZHOU Shuang², LI Jing-guang²

(1. School of Public Health, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China; 2. China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China)

Abstract: An ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) method was established for the determination of 23 ergot alkaloids in cereal samples from the China Total Diet Study. Samples were extracted with acetonitrile-3 mmol/L ammonium carbonate aqueous solution-formic acid (84+15+1, v/v), followed by vortexing, ultrasonication, and centrifugation. The extract was purified using a Mycosep®150Ergot Alkaloids multifunctional clean-up column, concentrated under nitrogen, reconstituted, and then analyzed by UHPLC-MS/MS. The separation was carried out on a Waters BEH C18 column (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm). The mobile phase was separated by acetonitrile and 3 mmol/L ammonium carbonate in positive ion mode, gradient elution, mass spectrometry MRM mode detection, and matrix matching standard curve quantification. The 23 ergot alkaloids had a good linear relationship in their concentration range, and the R² was greater than 0.99. The detection limit was 0.007-1.5 μg/kg, and the limit of quantification was 0.03-5.0 μg/kg. Using blank cereal dietary samples as the matrix, the mean recoveries at three spiking levels ranged from 74.6% to 119.9%, with relative standard deviations all within acceptable ranges. The method was applied to the analysis of cereal samples collected from 24 provinces in the China Total Diet Study, and dihydroergotamine mesylate, ergocristine, ergocryptinine, ergometrine and ergosine were detected in some provinces. This method is efficient, sensitive, and accurate, and can realize the simultaneous multi-component determination and trace analysis of 23 ergot alkaloids in cereals.

收稿日期: 2026-05-25; 修回日期: 2026-06-12

基金项目: 国家重点研发计划 (2022YFF1102500)

* 通讯作者: 邱楠楠, 副研究员, 研究方向: 食品污染物检测与暴露解析, E-mail: qiunannan@cfsa.net.cn

网络首发日期: XXXX-XX-XX

Key words: ergot alkaloids; ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry (UHPLC–MS/MS); food safety; cereals

麦角生物碱(Ergot Alkaloids, EAs)是天然存在的次级代谢产物,具有四环麦角林结构(图1),主要由麦角菌属及部分产毒内生真菌产生,广泛污染谷物及其制品^[1],是重要的天然毒素之一。该核心结构为一个四环吲哚-哌啶框架,其中A环和B环含有吲哚结构,形成芳香平面部分,C环和D环则由六元环和哌啶环组成^[2]。根据化学性质的不同,麦角生物碱可分为两大类:麦角酸衍生物和克莱文酸衍生物^[3],其中麦角酸衍生物又可进一步分为简单酰胺类(胺类麦角碱)、肽类麦角碱^[4]和半合成衍生物。目前已发现的麦角生物碱种类超过80种,包括麦角柯宁碱、麦角克碱、麦角新碱、麦角胺等^[5]。由于这类化合物对加工过程具有较强的稳定性,在研磨、烘焙等工艺中难以被完全去除,因此面包、面条及饲料等产品中均存在麦角污染的风险。此外,动物若摄入麦角生物碱污染的饲料,其所生产的乳、蛋等产品也会受到污染^[6]。欧洲食品安全局(EFSA)^[7]指出,麦角生物碱通常以多组分共存的形式出现在食品和饲料中,不同化合物的毒性、含量水平及检出频率之间存在明显差异。

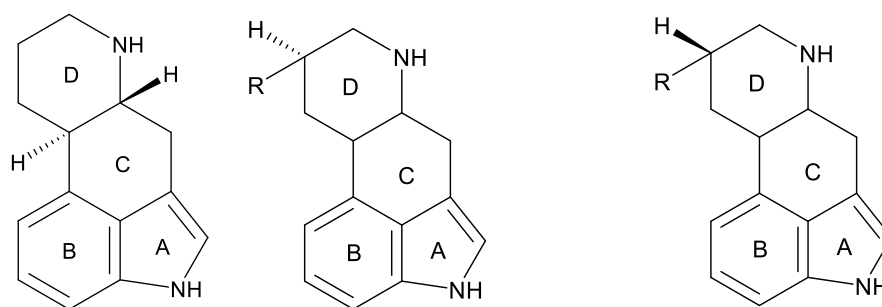


图1 麦角林结构

Fig. 1 Structure of ergoline.

随着全球粮食供应链的延伸以及气候变化对农业生态的影响,麦角生物碱对食品安全的威胁日益凸显。相关文献显示,麦角生物碱在西班牙^[8]、欧洲各国家^[9]、加拿大、荷兰、比利时^[10]、意大利、英国^[11]以及斯洛文尼亚^[12]等地区的谷物或以谷物为主要成分的婴儿食品中均有检出。2018年,我国南方在饲料样品的抽查中检出了麦角生物碱;2020年,在湖北的黑麦等样品中也检测到了其存在^[13]。

麦角生物碱对人体具有不可逆的伤害。长期或高剂量暴露可引发急性或慢性麦角中毒,其作用靶点众多,能同时影响心血管系统、中枢神经及周围神经系统^[14]。即使是微量累积也可能导致抽搐、坏疽^[15]、组织坏死、惊厥、呼吸困难、呕吐、幻觉、血管收缩等症状,严重时可能引发痉挛性麦角中毒^[16–17]。

目前,国内外对麦角生物碱的研究主要集中于12种欧盟重点监测目标物及其差向异构体,而针对谷物中更广谱麦角生物碱的研究相对较少^[7]。麦角生物碱在谷物种植、收获、储存、加工及流通的全过程中会持续存在并可能发生形态转化^[18],污染各类食品,通过膳食摄入进入人体,对人类构成潜在的健康风险。目前,国内外针对麦角生物碱的前处理方法以液液萃取(LLE)^[19]和固相萃取(SPE)^[20]为主,前者作为传统提取手段应用广泛,后者净化效率高成为复杂基质样品处理的主流选择。与之相应,检测方法也从早期的薄层色谱法(TLC)^[21]和酶联免疫吸附法(ELISA),逐步发展为以液相色谱-串联质谱法(LC–MS/MS)^[22]为核心的确证分析技术体系。其中,超高效液相色谱-串联质谱法(UHPLC–MS/MS)^[13, 23]因兼具高灵敏度、高选择性和差向异构体特异性定量能力,已成为当前麦角生物碱确证检测的首选方法。基于此,本研究建立了一种测定谷类样品中23种麦角生物碱的UHPLC–MS/MS检测方法。该方法高效、灵敏、准确,能够实现对谷物中23种麦角生物碱的多组分同时测定及痕量分析,可为我国相关限量标准的制修订及食品安全风险预警提供有力的技术支撑。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Exion LC AD System 超高效液相色谱串联QTRAP® AB SCIEX 6500+三重四极杆质谱(美国SCIEX

公司); 24位氮吹仪(美国Organomation公司); 涡旋混合器(美国Scientific Industries公司); 冷冻离心机(美国Beckman Coulter公司); 超声波清洗器(德国ELMA公司); Milli-Q纯水系统(美国Millipore公司); 电子天平(瑞士METTLER TOLEDO公司); Water ACQUITY UPLC®BEH C18色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm, Water公司); MycoSep®150Ergot固相萃取柱(Romer公司); 乙腈、甲醇、甲酸(LC-MS级, Fisher公司); 碳酸铵(HPLC级, 上海安谱实验科技股份有限公司)。

标准品: 9, 10-二氢麦角醇(纯度≥98%, 100 μg/mL, CAS: 18051-16-6), 田麦角碱(纯度≥98%, 100 μg/mL, CAS: 548-42-5), 双氢麦角胺甲磺酸盐(纯度≥99%, 100 μg/mL, CAS: 6190-39-2), 麦角柯宁碱(纯度≥97%, 100 μg/mL, CAS: 564-36-3), 麦角异柯宁碱(纯度≥99%, 10 μg/mL, CAS: 564-37-4), 麦角异卡里碱(纯度≥96%, 10 μg/mL, CAS: 511-10-4), 麦角异新碱(纯度≥99%, 25 μg/mL, CAS: 479-00-5), 马来酸麦角新碱(纯度≥99%, 100 μg/mL, CAS: 129-51-1), 麦角胺宁(纯度≥93%, 100 μg/mL, CAS: 639-81-6), 麦角醇(纯度≥99%, 100 μg/mL, CAS: 602-85-7), 甲基麦角新碱马来酸盐(纯度≥99%, 100 μg/mL, CAS: 57432-61-8), 异麦角酰胺(纯度≥91%, 1000 μg/mL, CAS: 2889-26-1), 以上标准品购自天津阿尔塔科技有限公司。野麦角碱(纯度≥99%, 500 μg/mL, CAS: 548-43-6), 麦角克碱(纯度≥98%, 100 μg/mL, CAS: 511-08-0), 麦角异克碱(纯度≥97%, 25 μg/mL, CAS: 511-07-9), 麦角卡里碱(纯度≥99%, 100 μg/mL, CAS: 511-09-1), 麦角辛(纯度≥98%, 100 μg/mL, CAS: 561-94-4), 麦角辛宁(纯度≥98%, 25 μg/mL, CAS: 596-88-3), 二氢麦角酰胺(纯度≥98%, 100 μg/mL, CAS: 2410-19-7), 9, 10-二氢麦角隐亭(纯度≥99%, 100 μg/mL, CAS: 25447-66-9), 麦角新碱(纯度≥98%, 10 μg/mL, CAS: 60-79-7), 以上标准品购自青岛普瑞邦生物工程有限公司; 麦角胺(纯度≥99%, 100 μg/mL, CAS: 113-15-5)该标准品购自iBW Tech Co., Ltd.; 双氢麦角汀(纯度≥98%, 100 μg/mL, CAS: 17479-19-5)该标准品购自Romer Labs。

1.2 标准溶液的配制

单一标准储备液: 将所有标准溶液分别配置为浓度为1.0 μg/mL的单一标准储备液, 置于1.5 mL棕色小瓶中, 用乙腈定容并摇匀, -30℃保存备用。

混合标准工作液: 分别准确吸取各单一标准储备液0.4 mL于8 mL棕色瓶中, 用乙腈定容并摇匀, 临用现配。其中包含的麦角生物碱浓度均为0.05 μg/mL。

混合标准储备液: 分别准确吸取一定量标准溶液于8 mL棕色瓶中, 用乙腈定容并摇匀, -30℃保存备用。其中9, 10-二氢麦角醇、田麦角碱、野麦角碱、麦角醇、二氢麦角酰胺、异麦角酰胺浓度为10 μg/mL, 其余麦角生物碱浓度均为1.0 μg/mL。

1.3 样品处理

1.3.1 样品来源 中国总膳食研究将膳食划分为12类: 谷类、豆类、乳类、薯类、肉类、蛋类、蔬菜类、水果类、水产类、酒类、水及饮料类和糖类。本研究样品来源于中国第七次总膳食研究的谷类样品。中国总膳食谷物样品的制备: 在各个省调查点所在的居委会或村附近的食物采购场所(如菜市场、副食店、粮店、农贸市场或农民家)采集各种食物样品。根据当地居民的饮食与烹饪习惯, 对常食用的谷物进行烹饪处理。将烹饪后的各类谷物食品分别混匀、打碎, 制成匀浆, 最终装瓶并进一步干燥制备成干粉。

24省分别为黑龙江、辽宁、河北、吉林、山西、北京、河南、陕西、宁夏、青海、内蒙古、甘肃、江西、福建、上海、江苏、浙江、湖北、湖南、四川、广西、广东、贵州、安徽。

1.3.2 提取 称取膳食谷物样品2 g(精确至0.01 g)于50 mL的聚丙烯离心管中, 加入9 mL乙腈-3 mmol/L碳酸铵水溶液-甲酸(84+15+1, v/v)溶液, 涡旋1 min, 室温下震荡0.5 h, 冰浴超声提取0.5 h, 9500 rpm下离心10 min。取上清液, 待净化。

1.3.3 固相萃取净化 准确吸取上层清液4 mL过MycoSep®150固相萃取净化柱, 过柱后取3.5 mL于试管中, 常温氮吹至近干。采用0.7 mL乙腈-3 mmol/L碳酸铵水溶液(5+95, v/v)复溶, 涡旋30 s后, 20000 rpm下离心30 min, 取上清液待进样。

1.4 仪器条件

1.4.1 色谱条件 色谱柱: Water ACQUITY UPLC®BEH C18 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm), 柱温: 40 °C, 进样量: 5 μL, 流速: 0.3 mL/min, 总用时 10 min。流动相: A 为 3 mmol/L 碳酸铵水溶液, B 为乙腈。梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution program

Time/min	A/%	B/%	Injection volume/μL
0	95	5	5
0.5	95	5	5
1	60	40	5
4	30	70	5
6	2	98	5
8	2	98	5
8.1	95	5	5
10	95	5	5

1.4.2 质谱条件 电喷雾离子源, 扫描方式为正离子模式, 多反应监测模式; 电离电压为 4500 V, 离子源温度为 550 °C, 辅助加热气为 65 psi, 喷雾气为 30 psi, 气帘气为 30 psi。23 种目标化合物的质谱参数见表 2。

2 结果与讨论

2.1 质谱参数的优化

麦角生物碱分子结构中的叔氮原子具有较强的质子亲和能力, 其在电喷雾电离 (ESI) 过程中结合质子形成稳定的 $[M+H]^+$ 离子^[24], 因而正离子模式下的电离效率和离子响应均优于负离子模式。因此, 本研究选择 ESI+ 进行质谱扫描, 这也与欧盟标准 (EN 17425: 2021)^[25] 一致, 保证了方法的可比性与准确性。通过二级质谱扫描即碎片离子扫描 (Product ion scan) 获得各待测物的碎片离子图, 确定碎片离子的准确质量数。选取响应高、干扰小的碎片离子与母离子组成离子通道。在 MRM 模式下, 分别优化各待测物子离子的去簇电压 (DP)、碰撞电压 (CE) 等参数, 确定最佳质谱参数。优化离子源的喷雾电压、电离温度、雾化气压力、辅助加热气压力等参数, 使各待测物的灵敏度最高。主要质谱参数如表 2 所示。

2.2 色谱条件的优化

考察了 Hypersil GOLD 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 3 μm)、Waters ACQUITY UPLC®BEH C18 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) 对 23 种麦角生物碱的分离效果, 结果表明, 在 ESI+ 扫描模式下采用 Waters ACQUITY UPLC®BEH C18 色谱柱, 所有化合物均表现出较好的峰型, 灵敏度高, 因此选择 Waters ACQUITY UPLC®BEH C18 色谱柱用于色谱分离。

实验考察了乙腈-0.1% 甲酸-5 mmol/L 乙酸铵、乙腈-2 mmol/L 碳酸氢铵、乙腈-5 mmol/L 碳酸氢铵、乙腈-1 mmol/L 碳酸铵、乙腈-5 mmol/L 碳酸铵、乙腈-3 mmol/L 碳酸铵、甲醇-3 mmol/L 碳酸铵体系的分离效果, 结果显示, 以 3 mmol/L 碳酸铵水溶液作为水相时效果最佳。在 ESI+ 模式下, 碳酸铵提供的弱碱性环境有利于麦角生物碱分子质子化, 可显著提高离子化效率和检测灵敏度; 同时, 碳酸铵对 pH 的调节作用有助于优化色谱峰形, 改善不同麦角生物碱及其异构体之间的分离度, 减少峰拖尾现象, 从而增强检测响应, 提高方法的灵敏度与稳定性, 保证定量准确性。对于有机相的选择, 考察了甲醇和乙腈分别与 3 mmol/L 碳酸铵水溶液组成的流动相体系。结果显示, 乙腈-水体系在待测物的分离度和峰形方面均优于甲醇-水体系。此外, 欧盟标准方法 (EN 17425: 2021)^[25] 及欧洲参考实验室 (EURL-MP) 推荐的麦角生物碱 LC-MS/MS 分析方法均采用乙腈作为主要有机相, 因此选择乙腈也确保了方法结果的可比性与法规一致性。

最终采用乙腈-3 mmol/L 碳酸铵水溶液为流动相, 所有化合物均能达到基线分离, 同时各化合物均有较好的峰型。进一步优化梯度洗脱条件、流速等参数, 使各化合物的灵敏度达到最佳。图 2 是最优条件下 23 种麦角生物碱 (20 μg/kg) 的 XIC 图; 图 3、4 是色谱柱和流动相优化的柱状图。

表2 MRM 模式下 23 种麦角生物碱的质谱参数
Table 2 MS parameters of 23 Ergot Alkaloids in MRM mode

Compound	t _R /min	Ionization mode	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	DP/V	CE/V
9, 10-Dihydrolysergol (9, 10-二氢麦角醇)	2.72	ESI+	257.3	167/208*	125	35/33
AGOCVN-Agroclavine (田麦角碱)	3.92	ESI+	239.3	168.1/208.2*	95	48/25
Dihydro ergotamine mesylate (双氢麦角胺甲磺酸盐)	3.77	ESI+	584	253.2/270.1*	140	45/43
Elymoclavin (野麦角碱)	2.69	ESI+	255.1	168.2/197.3*	90	43/32
Ergocornine (麦角柯宁碱)	4.13	ESI+	562	223.5/305.1*	100	49/37
Ergocorninine (麦角异柯宁碱)	5.13	ESI+	562.3	223/277*	95	43/39
Ergocristine (麦角克碱)	4.44	ESI+	610.1	223.3/592.2*	80	46/21
Ergocristinine (麦角异克碱)	5.51	ESI+	610.3	223.2/592.2*	75	46/23
Ergocryptine (麦角卡里碱)	4.36	ESI+	576.1	223.2/558.4*	90	47/23
Ergocryptinine (麦角异卡里碱)	5.41	ESI+	576.7	223.1/558.3*	85	44/21
Ergometrine (麦角新碱)	2.57	ESI+	326.4	205/223.3*	80	37/32
Ergometrinine (麦角异新碱)	2.93	ESI+	326.5	223.1/208.2*	102	35/39
Ergonovine maleate (马来酸麦角新碱)	2.57	ESI+	326.3	208.4/223.4*	80	36/34
Ergosine (麦角辛)	3.62	ESI+	548.3	208.1/223.4*	105	57/42
Ergosinine (麦角辛宁)	4.66	ESI+	548.1	223.2/530.5*	75	42/24
Ergotamine (麦角胺)	3.77	ESI+	582.5	564/223.1*	80	21/42
Ergotaminine (麦角胺宁)	4.88	ESI+	582.4	223/564.3*	70	42/21
Lysergol (麦角醇)	2.73	ESI+	255.2	168.2/197.2*	65	40/31
Methylergometrine maleate salt (甲基麦角新碱马来酸盐)	2.68	ESI+	339.8	208.1/223*	90	38/32
Dihydrolysergamide (二氢麦角酰胺)	4.21	ESI+	270.1	167.9/210.1*	85	38/31
Erginine (异麦角酰胺)	2.53	ESI+	268.3	208.1/223.1*	51	35/25
9, 10-dihydroergocryptine (9, 10-二氢麦角隐亭)	4.17	ESI+	578.5	350.2/270.3*	110	32/40
Dihydroergocristine (双氢麦角汀)	4.24	ESI+	612.4	253.3/269.9*	105	47/40

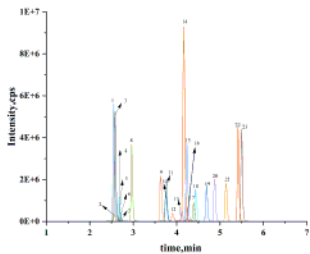


图2 23 种麦角生物碱 (20 μg/kg) 的 XIC 图

Fig. 2 23 Ergot Alkaloids (20 μg/kg) XIC Plot.

(1-Ergometrine, 2-Erginine, 3-Ergonovine maleate, 4-Methylergometrine maleate salt, 5-Elymoclavin, 6-9, 10-Dihydrolysergol, 7-Lysergol, 8-Ergometrinine, 9-Ergosine, 10-Dihydroergotamine mesylate, 11-Ergotamine, 12-AGOCVN-Agroclavine, 13-Ergocornine, 14-9, 10-Dihydroergocryptine, 15-Dihydroergocristine, 16-Dihydrolysergamide, 17-Ergocryptine, 18-Ergocristine, 19-Ergosinine, 20-Ergotaminine, 21-Ergocorninine, 22-Ergocryptinine, 23-Ergocristinine)

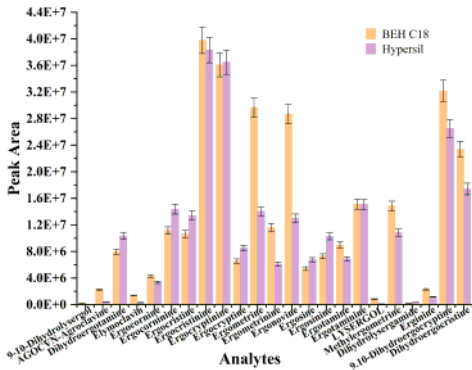


图3 不同色谱柱下 23 种麦角生物碱 (20 μg/kg) 的响应

Fig. 3 The response of 23 Ergot Alkaloids (20 μg/kg) under different chromatographic columns

2.3 前处理条件的优化

2.3.1 提取溶剂的选择 比较了 60 %乙腈-水、84 %乙腈-水、乙腈：3 mmol/L 碳酸铵 (84+16, v/v)

水溶液、乙腈: 3 mmol/L 碳酸铵水溶液: 甲酸 (84+15+1, v/v) 作为提取溶剂时的提取效果, 结果表明, 60 %乙腈-水作为提取溶液时麦角异柯宁碱、麦角克碱、麦角异克碱、麦角卡里碱、麦角异卡里碱等回收率偏低, 回收率都低于 40 %; 加入 1 %的甲酸后提取效果明显改善, 麦角生物碱是一类含氮碱性化合物, 其分子结构中含有可质子化的含氮官能团。在提取阶段向提取液中加入适量酸^[26], 可使目标物以质子化形式存在, 从而提高其在提取体系中的溶解性, 并促进其从样品基质中的释放, 从而提高提取效率。因此最终选择乙腈: 3 mmol/L 碳酸铵: 甲酸 (84+15+1, v/v) 作为提取溶剂。图5展示了不同提取溶剂下麦角生物碱的回收率情况。

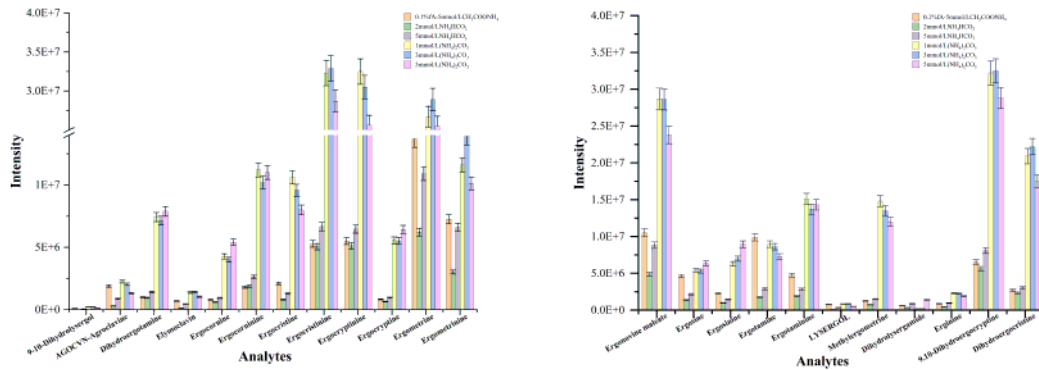


图4 23种麦角生物碱 (20 $\mu\text{g/kg}$) 在不同水相溶液中的响应值

Fig. 4 Response of 23 kinds of Ergot Alkaloids (20 $\mu\text{g/kg}$) in different aqueous solutions

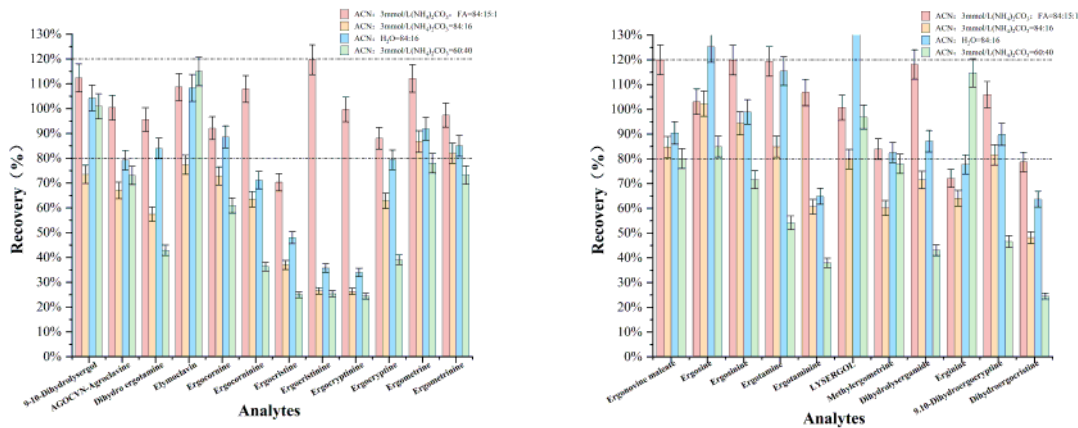


图5 不同提取液对各麦角生物碱回收率的影响

Fig. 5 Effect of different extraction solvents on recoveries of various Ergot Alkaloids

2.3.2 净化方法的选择 比较了 Oasis®HLB 6cc (200 mg)、麦角碱多功能净化柱 (MPC150)、Oasis®MCX6cc (150 mg)、Titan QuickQuake 多毒素检测净化柱、Pribolab 固相萃取柱 (MFC330)、Mycosep®150Ergot Alkaloids 净化柱的效果, 结果显示, 使用 Oasis®HLB6cc (200 mg)、Oasis®MCX6cc (150 mg)、Titan QuickQuake 多毒素检测净化柱、Pribolab 固相萃取柱 (MFC330) 净化后麦角生物碱在基质标准曲线下的绝对回收率都比较差, 均低于 60 %或高于 120 %; 而麦角碱多功能净化柱 (MPC150) 净化后麦角异柯宁碱、麦角克碱、麦角异克碱、麦角卡里碱、麦角异卡里碱的回收率偏低, 其他麦角碱的回收率均大于 60 %; Mycosep®150Ergot Alkaloids 净化柱净化后麦角生物碱的回收率基本都在 80 %–120 %之间。因此选择 Mycosep®150Ergot Alkaloids 净化柱净化。图6显示了选择不同净化柱时麦角生物碱的回收率。

2.4 基质效应

基质效应 (Matrix Effect, ME) 是指样品中与目标化合物进入检测系统的基质组分对目标物离子化效率的干扰, 可导致质谱响应的增强或抑制^[27]。采用基质效应 (ME) 评价公式 $ME = \frac{\text{目标物在基质}}$

中的峰面积与在溶剂中的峰面积之比, 计算基质效应^[28]。ME>1 为基质增强效应, ME<1 是基质抑制效应。基质效应在 0.8–1.2 之间为存在弱的基质效应, 可以接受, 而超出此范围则认为有强基质效应。结果显示, 谷物中 23 种麦角生物碱的基质效应 ME 在 0.63–1.03 之间 (表 3)。其中双氢麦角胺甲磺酸盐、麦角柯宁碱、麦角克碱、麦角异克碱、麦角新碱、甲基麦角新碱马来酸盐、异麦角酰胺等部分化合物表现出显著的基质抑制效应。因此, 必须采用基质匹配标准曲线进行定量, 以确保所有目标物检测结果的准确性和可靠性。

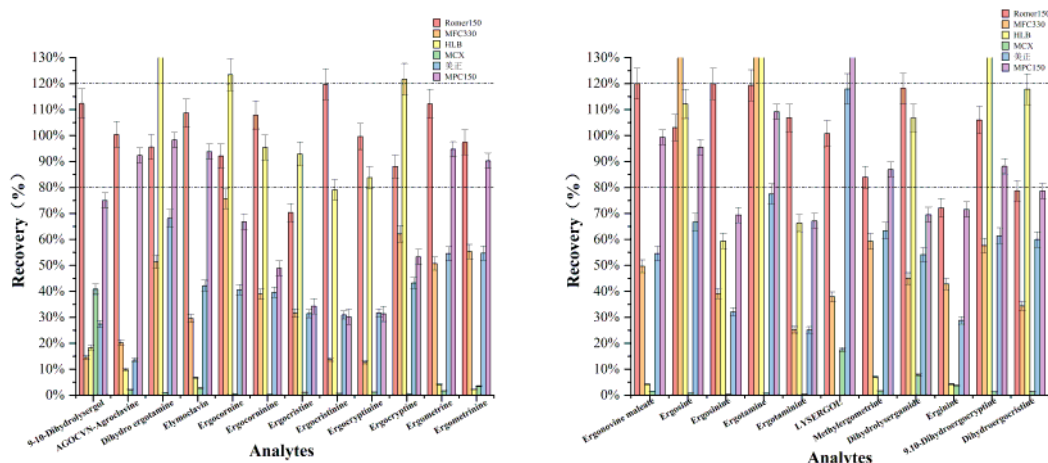


图 6 不同净化柱对 23 种麦角生物碱回收率的影响

Fig. 6 Effect of different purification columns on recoveries of 23 Ergot Alkaloids

2.5 线性范围、检出限与定量限

准确移取“1.2”中适量的混合标准储备液, 用经“1.3”处理后的空白谷物基质液稀释定容, 配制成系列浓度梯度的基质匹配标准曲线工作液。结果显示, 23 种麦角生物碱在各自的浓度范围内均呈现良好的线性关系 (见表 3), 相关系数均大于 0.99。选取空白谷物样品进行基质加标试验, 分别以 3 倍信噪比和 10 倍信噪比对应的浓度为方法检出限 (LOD) 和定量下限 (LOQ), 得到检出限为 0.007–1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 0.03–5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (见表 3)。

2.6 准确度与精密度

选取空白谷物样品, 称取 2.0 g (精确至 0.01 g), 在低、中、高浓度水平下进行加标回收试验, 每个浓度水平制作 6 个平行样品。如表 4 所示, 23 种麦角生物碱在上述基质中的平均回收率为 74.6%–119.9%, 相对标准偏差为 3.1%–11.3%, 表明本方法的准确性和重复性良好, 能够满足检测需求。

2.7 实际样品的测定

采用本方法对第七次中国总膳食样品的 24 份谷物样品进行 23 种麦角生物碱检测, 结果如下, 双氢麦角胺甲磺酸盐, 麦角克碱, 麦角异卡里碱, 麦角异新碱, 麦角辛 5 种麦角生物碱在谷物中有检出。双氢麦角胺甲磺酸盐在吉林、陕西、宁夏、上海、福建、江西、江苏、湖南、贵州和安徽的谷物样品中有检出, 平均检出为 0.07 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 麦角克碱在辽宁和安徽的谷物样品中有检出, 平均检出为 0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 麦角异卡里碱在黑龙江、辽宁、河北、吉林、陕西、宁夏、内蒙古、福建、江西、江苏、广西、湖南、贵州和安徽有检出, 平均检出为 0.07 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 麦角异新碱在辽宁的谷物样品中检出, 检出含量为 0.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 麦角辛在辽宁、河北、宁夏、内蒙古、福建、江西、湖南和安徽的谷物样品中有检出, 平均含量为 0.06 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。这五种麦角生物碱的检出率分别为 41.7%、8.3%、58.3%、4.2%、33.3%, 其它 18 种麦角生物碱在谷物样品中没有检出。目前, 中国尚未制定麦角生物碱的限量标准, 欧盟法规 (EU) 2023/915^[29] 对麦角柯宁碱、麦角异柯宁碱、麦角克碱、麦角异克碱、麦角卡里碱、麦角异卡里碱、麦角新碱、麦角异新碱、麦角辛、麦角辛宁、麦角胺、麦角胺宁等 12 种麦角生物碱的总和设定了最高限量, 其中婴幼儿谷物食品为 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 小麦研磨产品 (灰分含量低于 900mg/100g 干物质的) 为 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 黑麦研磨产品为 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。本研究中共检出的 5 种麦角生物碱平均含量均远低于上述欧盟限量

标准。

表3 23种麦角生物碱的回归方程、回归系数、线性范围、检出限、定量限及基质效应

Table 3 Linear ranges, linear equations, correlation coefficients (R^2), limits of detection, limits of quantification and Matrix Effect of 23 Ergot Alkaloids

Compound	Linear equation	R^2	Linear range ($\mu\text{g/L}$)	LOD ($\mu\text{g/kg}$)	LOQ ($\mu\text{g/kg}$)	ME
9, 10-Dihydrolysergol (9, 10-二氢麦角醇)	$y = 8.9290 \times 10^{-4} x - 1.7200 \times 10^{-3}$	0.9983	2-500	1	3.5	0.84
AGOCVN-Agroclavine (田麦角碱)	$y = 3.3010 \times 10^{-2} x + 7.6800 \times 10^{-3}$	0.9981	0.2-200	0.09	0.3	1.03
Dihydro ergotamine mesylate (双氢麦角胺甲磺酸盐)	$y = 1.3290 \times 10^{-2} x + 2.62070 \times 10^{-4}$	0.9997	0.05-50	0.03	0.09	0.65
Elymoclavin (野麦角碱)	$y = 9.0700 \times 10^{-3} x + 1.1570 \times 10^{-2}$	0.9973	1-500	0.9	3	0.78
Ergocornine (麦角柯宁碱)	$y = 2.3000 \times 10^{-3} x + 7.18505 \times 10^{-4}$	0.9971	0.1-50	0.09	0.3	0.64
Ergocorninine (麦角异柯宁碱)	$y = 1.8270 \times 10^{-2} x + 6.01705 \times 10^{-4}$	0.9987	0.05-50	0.03	0.09	0.79
Ergocristine (麦角克碱)	$y = 4.8200 \times 10^{-3} x + 4.39803 \times 10^{-4}$	0.9979	0.1-50	0.2	0.5	0.68
Ergocristinine (麦角异克碱)	$y = 1.9610 \times 10^{-2} x + 9.6500 \times 10^{-3}$	0.9980	0.05-50	0.03	0.09	0.67
Ergocryptine (麦角卡里碱)	$y = 1.0940 \times 10^{-2} x + 5.17179 \times 10^{-4}$	0.9991	0.05-50	0.02	0.05	0.71
Ergocryptinine (麦角异卡里碱)	$y = 8.8130 \times 10^{-2} x + 7.3300 \times 10^{-3}$	0.9981	0.05-50	0.07	0.2	0.94
Ergometrine (麦角新碱)	$y = 9.7400 \times 10^{-2} x + 3.7400 \times 10^{-3}$	0.9994	0.05-50	0.03	0.1	0.69
Ergometrinine (麦角异新碱)	$y = 1.2221 \times 10^{-1} x + 3.0700 \times 10^{-3}$	0.9975	0.05-50	0.03	0.09	0.78
Ergonovine maleate (马来酸麦角新碱)	$y = 7.0800 \times 10^{-2} x + 2.3300 \times 10^{-3}$	0.9993	0.05-50	0.03	0.1	0.70
Ergosine (麦角辛)	$y = 2.3330 \times 10^{-2} x + 6.36408 \times 10^{-4}$	0.9987	0.05-50	0.03	0.1	0.71
Ergosinine (麦角辛宁)	$y = 3.1040 \times 10^{-2} x - 6.00495 \times 10^{-4}$	0.9995	0.05-50	0.03	0.1	0.82
Ergotamine (麦角胺)	$y = 3.5760 \times 10^{-2} x + 1.2700 \times 10^{-3}$	0.9985	0.05-50	0.03	0.09	0.87
Ergotaminine (麦角胺宁)	$y = 5.0000 \times 10^{-2} x + 2.1700 \times 10^{-3}$	0.9976	0.02-50	0.007	0.03	0.68
Lysergol (麦角醇)	$y = 6.6900 \times 10^{-3} x + 1.0600 \times 10^{-3}$	0.9999	0.5-500	1.4	4.5	0.71
Methylergometrine maleate salt (甲基麦角新碱马来酸盐)	$y = 6.9300 \times 10^{-3} x + 5.88948 \times 10^{-4}$	0.9982	0.05-50	0.1	0.3	0.69
Dihydrolysergamide (二氢麦角酰胺)	$y = 1.52671 \times 10^{-4} x + 5.26327 \times 10^{-5}$	0.9996	5-500	1.5	5	0.78
Erginine (异麦角酰胺)	$y = 1.2370 \times 10^{-2} x + 9.8400 \times 10^{-3}$	0.9984	0.2-500	0.05	0.2	0.63
9, 10-dihydroergocryptine (9, 10-二氢麦角隐亭)	$y = 1.7406 \times 10^{-1} x + 3.3800 \times 10^{-3}$	0.9993	0.05-50	0.01	0.05	0.88
Dihydroergocristine (双氢麦角汀)	$y = 5.8510 \times 10^{-2} x + 1.6100 \times 10^{-3}$	0.9982	0.05-50	0.01	0.05	0.81

麦角生物碱在暴雨、潮湿、湿冷天气等特定条件下^[30], 检出率会明显提高。Balatsou 等强调^[31], 虽然常规年份谷物中麦角生物碱的平均水平通常低于限量, 但气候变化, 如花期降雨增加, 可能加剧谷物中麦角生物碱的爆发频率和污染的严重程度。

从全球范围看, 欧洲是麦角生物碱污染最严重、风险最受关注的地区, 主要由于其主食作物与气候条件。欧洲广泛种植易感染的黑麦, 加之温带海洋性气候花期多雨, 利于麦角菌侵染, 导致黑麦田污染率高达 67-81 %^[32], 食品中检出范围达 1-1121 $\mu\text{g/kg}$ ^[33]。Peloso 等^[22]对意大利小麦中麦角生物碱的影响因素进行了研究, 发现在开花期受极端天气影响的麦田中, 菌核中麦角生物碱的含量高达 4951 mg/kg , 麦粒中检出含量为 1 mg/kg , 表明不利气候变化可能对硬粒小麦产生负面影响, 促进麦角生物碱产毒真菌的生长。相比之下, 中国以水稻和小麦为主食, 黑麦种植极少, 麦角菌零星分布于部分省份, 饲料中平均污染水平仅 25.2 $\mu\text{g/kg}$ ^[13], 污染程度相对较低。国内对麦角生物碱的检测方法研究相对有限, 汪薇等^[13]采用 LC-MS/MS 法测定粮谷中 9 种麦角碱, LOD 为 5 $\mu\text{g/kg}$, LOQ 为 20 $\mu\text{g/kg}$, 其对 20 份市售粮谷样品的检测仅发现 1 份阳性样本且含量低于 20 $\mu\text{g/kg}$, 检出率相对较低; 刘柏林^[11]等采用 UPLC-MS/MS 结合 Captiva EMR - Lipid 柱净化技术测定谷物及其制品中 11 种麦角生物碱, LOD 为 0.006 - 0.2 $\mu\text{g/kg}$, 对 240 份小麦粉进行检测, 结果显示检出率为 0.57 % - 20.3 %, 检出含量水平为 56.7 $\mu\text{g/kg}$ 。与之相比, 本研究的方法灵敏度较优, 且基质为复杂的烹饪后谷物膳食。此外, 欧盟标准 EN 17425: 2021^[25]的验证范围为 13.2~168 $\mu\text{g/kg}$, 本方法的定量限可满足该国际标准的检测要求。

本研究对中国居民膳食谷类及其制品中的麦角生物碱的检测分析, 结果显示, 北方省份检出率高

于南方。辽宁、吉林、黑龙江、河北、宁夏、内蒙古等北方省份普遍存在多种麦角生物碱检出；江西、福建、湖南、广西、江苏、安徽、贵州等南方省份主要是三种麦角生物碱的检出为主。这一分布特征与麦角生物碱产毒真菌对温湿条件的需求密切相关。麦角菌偏好冷凉气候，最适温度为 15–25 °C，北方春末夏初小麦花期恰好为 18–25 °C，加之花期多雨、湿度高达 85–95 %，利于麦角碱侵染；而南方花期气温多超过 28 °C，虽全年湿度较高，但花期温度偏高抑制菌丝生长与产毒。此外，北方的主要种植作物小麦和黑麦高度易感，南方则以水稻、玉米等为主，侵染源较少。与国内的研究^[11, 13]相比，本研究相对较高的检出率也与检测方法的灵敏度大大提升有关。

表 4 23 种麦角生物碱的加标回收率和相对标准偏差
Table 4 Spiked recoveries and RSDs of 23 Ergot Alkaloids

Compound	Spiked (μg/kg)	Recovery (%)	RSD (%)
9, 10-Dihydrolysergol (9, 10-二氢麦角醇)	5.0, 50.0, 250	98.39	7.1
AGOCVN-Agroclavine (田麦角碱)	1.0, 10.0, 100.0	74.56	6
Dihydro ergotamine mesylate (双氢麦角胺甲磺酸盐)	0.1, 1.0, 10	116.84	4.5
Elymoclavin (野麦角碱)	5.0, 50.0, 250	103.91	4.1
Ergocornine (麦角柯宁碱)	0.5, 5.0, 25.0	119.21	8.9
Ergocorninine (麦角异柯宁碱)	0.1, 1.0, 10.0	117.91	4
Ergocristine (麦角克碱)	0.5, 5.0, 25.0	119.23	5.3
Ergocristinine (麦角异克碱)	0.1, 1.0, 10.0	113.35	4.6
Ergocryptine (麦角卡里碱)	0.1, 1.0, 10.0	88.56	3.1
Ergocryptinine (麦角异卡里碱)	0.5, 5.0, 25.0	119.95	4.1
Ergometrine (麦角新碱)	0.1, 1.0, 10.0	118.25	9.7
Ergometrinine (麦角异新碱)	0.1, 1.0, 10.0	87.18	5.0
Ergonovine maleate (马来酸麦角新碱)	0.1, 1.0, 10.0	118.11	10.5
Ergosine (麦角辛)	0.1, 1.0, 10.0	112.08	7.7
Ergosinine (麦角辛宁)	0.1, 1.0, 10.0	118.46	4.2
Ergotamine (麦角胺)	0.1, 1.0, 10.0	111.40	4.6
Ergotaminine (麦角胺宁)	0.1, 1.0, 10.0	119.01	5.8
Lysergol (麦角醇)	5.0, 50.0, 250.0	103.76	3.7
Methylergometrine maleate salt (甲基麦角新碱马来酸盐)	0.5, 5.0, 25.0	116.96	11.3
Dihydrolysergamide (二氢麦角酰胺)	10.0, 50.0, 250.0	118.36	7.90
Erginine (异麦角酰胺)	1.0, 10.0, 100.0	115.29	9.7
9, 10-dihydroergocryptine (9, 10-二氢麦角隐亭)	0.1, 1.0, 10.0	90.43	7.7
Dihydroergocristine (双氢麦角汀)	0.1, 1.0, 10.0	86.81	10.6

3 结 论

本研究建立了一种基于固相萃取净化的超高效液相色谱-质谱/质谱 (UHPLC-MS/MS) 的检测方法，实现谷物样品中 23 种麦角生物碱的高通量、多组分同步测定。该方法基质干扰较少，各项方法学指标（灵敏度、准确度及精密度）均满足痕量检测要求。为谷类膳食中麦角生物碱的精准定量分析及食品安全风险监测提供了可靠的技术支撑。

参考文献：

- [1] da Silva C R, Simões C T, Laber I F, et al. *Food Chemistry*, **2025**, 490: 145184.
- [2] Jastrzębski M K, Kaczor A A, Wróbel T M. *Molecules (Basel, Switzerland)*, **2022**, 27 (21): 7322.
- [3] Floss H G. *Tetrahedron*, **1976**, 32 (8): 873–912.
- [4] Gerhards N, Neubauer L, Tudzynski P, et al. *Toxins*, **2014**, 6 (12): 3281–3295.
- [5] Wang Y T, Sun X L, Zhang Z X, et al. *Chinese Journal of Food Hygiene*. (王亚婷, 孙秀兰, 张子璇, 等. 中国食品卫生杂志), **2025**, 37 (2): 187–194.
- [6] Caradus J R, Card S D, Finch S C, et al. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, **2022**, 65 (1): 1–41.
- [7] Chain (CONTAM) E P on C in the F. *EFSA Journal*, **2012**, 10 (7): 2798.
- [8] Arroyo-Manzanares N, Rodríguez-Estévez V, García-Campaña A M, et al. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **2021**, 101 (12): 5214–5224.
- [9] Malysheva S, Larionova D, Diana Di Mavungu J, et al. *WORLD MYCOTOXIN JOURNAL*, **2014**, 7 (2): 217–230.
- [10] Huybrechts B, Malysheva S V, Masquelier J. *Toxins*, **2021**, 13 (8): 531.
- [11] Liu B L, Zhang D, Zhao Z W, et al. *Chinese Journal of Chromatography (Se Pu)*. (刘柏林, 张丹, 赵紫薇,

- 等. 色谱), **2025**, 43 (4): 326–334.
- [12] Babič J, Tavčar-Kalcher G, Celar F A, et al. *Toxins*, **2021**, 13 (5): 304.
- [13] Wang W, Yu T T, Liu D, et al. *J. Modern Food Science and Technology*. (汪薇, 余婷婷, 刘迪, 等. 现代食品科技), **2020**, 36 (5): 277–287.
- [14] Ren C X, Wang X M, Sheng W L, et al. *Chinese Journal of Chromatography*. (任彩霞, 王晓敏, 盛万里, 等. 色谱), **2025**, .
- [15] Jiang W, Hou X, Peng G, et al. *Biotechnology Advances*, **2025**, 81: 108578.
- [16] Agriopoulou S. *Agronomy*, **2021**, 11 (5): 931.
- [17] Gabbai, Lisbonne, Pourquier. *British Medical Journal*, **1951**, 2 (4732): 650–651.
- [18] Tittlemier S A, Drul D, Roscoe M, et al. *Toxins*, **2019**, 11 (4): 195.
- [19] Pm S, Ga L. *Journal of agricultural and food chemistry*, **1980**, 28 (6) .
- [20] Krska R, Stubbings G, Macarthur R, et al. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2008**, 391 (2): 563–576.
- [21] Bhat R V, Roy D N, Tulpule P G. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **1976**, 36 (1): 11–17.
- [22] Peloso M, Sonfack G M, Prizio I, et al. *Foods*, **2024**, 13 (12): 1907.
- [23] Zhang X Y, Cai X X, Zhang X Y, et al. *Chinese Journal of Chromatography*. (张秀尧, 蔡欣欣, 张晓艺, 等. 色谱), **2019**, 37 (11): 1142–1156.
- [24] Ivanova B, Spiteller M. *Journal of Molecular Structure*, **2012**, 1029: 106–118.
- [25] EN **17425**: 2021. Foodstuffs – Determination of ergot alkaloids in cereals and cereal products by dSPE clean-up and HPLC-MS/MS. *European Standard*
食品中麦角生物碱的测定 谷物及谷物制品中 dSPE 净化-高效液相色谱-串联质谱法. 欧盟标准.
- [26] Krska R, Crews C. *Food additives & contaminants Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*, **2008**, 25 (6): 722–731.
- [27] Trufelli H, Palma P, Famiglini G, et al. *Mass Spectrometry Reviews*, **2011**, 30 (3): 491–509.
- [28] Yan J, Chen T, Zhang J, et al. *J. Food Science and Technology*. (闫君, 陈婷, 张婕, 等. 食品科技), **2024**, 49 (6): 335–341.
- [29] CommissionEuropean. Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on maximum levels for certain contaminants in food and repealing Regulation (EC) No **1881/2006** (Text with EEA relevance), 2023. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32023R0915>
- [30] Kodikara C, Bandara N, Tittlemier S A. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **2026**, 25 (3): e70456.
- [31] Balatsou M, Koutsaviti A, Sarigiannis Y, et al. *Metabolites*, **2025**, 15 (12): 778.
- [32] Orlando B, Maumené C, Piraux F. *World Mycotoxin Journal*, **2017**, 10 (4): 327–338.
- [33] Malysheva S V, Larionova D A, Diana Di Mavungu J, et al. *World Mycotoxin Journal*, **2014**, 7 (2): 217–230.

(责任编辑:)