

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2025.80170

# UPLC-MS/MS 柱前衍生对食用菌中 麦角甾醇含量的影响

张新月<sup>1,2,3,4</sup> 陈杭君<sup>2,3,4</sup> 牛 犇<sup>2,3,4</sup> 申屠旭萍<sup>1</sup> 杨海龙<sup>5</sup>  
殷 明<sup>2,3,4</sup> 邵海燕<sup>2,3,4</sup> 穆宏磊<sup>2,3,4</sup>

(1. 中国计量大学生命科学学院, 浙江 杭州 310018; 2. 全省生鲜食品智慧物流与加工重点实验室, 浙江 杭州 310021; 3. 农业农村部果品采后处理重点实验室, 浙江 杭州 310021; 4. 浙江省农业科学院食品科学研究所, 浙江 杭州 310021; 5. 温州大学生命与环境科学学院, 浙江 温州 325035)

**摘要:** [目的] 提高麦角甾醇在电喷雾电离源的响应, 并探究麦角甾醇的丹磺酰化衍生方法。[方法] 以丹磺酰氯为衍生试剂, 4-二甲氨基吡啶(DMAP)为催化剂, 采用响应面法优化衍生化条件。采用 C<sub>18</sub> 色谱柱分离, 0.15% 甲酸—甲醇溶液等度洗脱, 离子源为 ESI 源, 多反应监测模式检测, 并同时测定 10 种食用菌中麦角甾醇含量。[结果] 最佳的衍生条件为反应温度 36 °C, 反应时间 25 min, DMAP 质量浓度 8 μg/mL。麦角甾醇衍生后的线性范围为 25~2 000 ng/mL, 检出限为 13.4 ng/mL, 定量限为 149 ng/mL, 灵敏度较衍生前提高了 51.94 倍。10 种食用菌中, 香菇中的麦角甾醇含量最高, 为 (4.21±0.083) mg/g。[结论] 试验方法操作简单, 具有较高的灵敏度和准确性。

**关键词:** 麦角甾醇; 衍生化; 丹磺酰化; 超高效液相色谱—质谱联用; 食用菌

## Effect of UPLC-MS/MS pre-column derivatization on ergosterol content in edible fungi

ZHANG Xinyue<sup>1,2,3,4</sup> CHEN Hangjun<sup>2,3,4</sup> NIU Ben<sup>2,3,4</sup> SHENTU Xuping<sup>1</sup>  
YANG Hailong<sup>5</sup> YIN Ming<sup>2,3,4</sup> GAO Haiyan<sup>2,3,4</sup> MU Honglei<sup>2,3,4</sup>

(1. College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou, Zhejiang 310018, China; 2. Zhejiang Key Laboratory of Intelligent Food Logistics and Processing, Hangzhou, Zhejiang 310021, China; 3. Key Laboratory of Post-harvest Handling of Fruits, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Hangzhou, Zhejiang 310021, China; 4. Food Science Institute, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou, Zhejiang 310021, China; 5. School of Life and Environmental Sciences, Wenzhou University, Wenzhou, Zhejiang 325035, China)

**Abstract:** [Objective] To improve the responsiveness of ergosterol in electrospray ionization mode and to investigate the ergosterol derivatization through dansylation. [Methods] With dansyl chloride as the derivatizing agent and 4-dimethylaminopyridine (DMAP) as the catalyst, this paper carries out a response surface test to optimize derivatization conditions. The samples are separated on a C<sub>18</sub> column utilizing isocratic elution with a 0.15% formic acid-methanol solution as the mobile phase. Multiple reaction monitoring is performed using an ESI source. The ergosterol content in 10 edible fungi is assessed. [Results] The optimal derivatization conditions are the reaction temperature of 36 °C, the reaction time of 25 min, and the DMAP mass concentration of 8 μg/mL. The derivatized ergosterol exhibits a broad

**基金项目:** 国家自然科学基金 (编号: 32172282); 浙江省高层次人才特殊支持计划 (编号: 2022R52025); 国家重点研发计划课题 (编号: 2021YFD2100502)

**通信作者:** 穆宏磊 (1980—), 男, 浙江省农业科学院研究员, 博士。E-mail: mhljoe@l63.com  
邵海燕 (1958—), 女, 浙江省农业科学院研究员, 博士。E-mail: spsghy@l63.com

**收稿日期:** 2025-03-03 **改回日期:** 2025-04-30

**引用格式:** 张新月, 陈杭君, 牛犇, 等. UPLC-MS/MS 柱前衍生对食用菌中麦角甾醇含量的影响[J]. 食品与机械, 2025, 41(6): 36-43.

**Citation:** ZHANG Xinyue, CHEN Hangjun, NIU Ben, et al. Effect of UPLC-MS/MS pre-column derivatization on ergosterol content in edible fungi[J]. Food & Machinery, 2025, 41(6): 36-43.

linearity range of 25~2 000 ng/mL. The detection limit is 13.4 ng/mL, while the quantification limit is 149 ng/mL, with the sensitivity 51.94 times higher than the pre-derivatization state. Among the 10 edible fungi, shiitake mushrooms exhibit the highest ergosterol content, which is  $(4.21 \pm 0.083)$  mg/g. [Conclusion] This method is characterized by its ease of operation, high sensitivity, and accuracy.

**Keywords:** ergosterol; derivatization; dansylation; ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; edible fungi

食用菌被广泛食用和种植<sup>[1]</sup>,是人类健康饮食的重要组成部分<sup>[2]</sup>。麦角甾醇是一种5,7-二烯氧化甾醇,结构类似于胆固醇,具有结构稳定、专一性强等特点<sup>[3]</sup>,是真菌细胞甾醇含量中最高的一种,也是真菌细胞膜的重要组成部分之一<sup>[4]</sup>,且麦角甾醇为脂溶性维生素D<sub>2</sub>的主要来源。麦角甾醇具有多种生物活性,如免疫调节<sup>[5]</sup>、抗炎<sup>[6]</sup>、抗肿瘤<sup>[7]</sup>等,长期摄入可增强机体的抵抗力。

食用菌中含有丰富的麦角甾醇,其检测方法包括气相色谱-质谱联用法<sup>[8]</sup>、高效液相色谱法<sup>[9]</sup>、高效液相色谱-质谱联用法等。其中,高效液相色谱法的应用较为广泛<sup>[10]</sup>,但是单一色谱法易被干扰、分离,且麦角甾醇具有热稳定性差和结构多样性的特点,可能导致结构改变和分析不准确<sup>[11]</sup>。质谱检测具有高灵敏度、高分离能力等优点<sup>[12-14]</sup>。袁阳蕾等<sup>[15]</sup>使用高分辨质谱法分析了保健食品中22种非法添加化合物,该方法快速、准确。目前,质谱采用的电离源主要有化学电离(EI)源、电喷雾电离(ESI)源、大气压化学电离(APCI)源和大气压光电离(APPI)源等<sup>[16-18]</sup>。由于麦角甾醇的极性低,导致其在ESI源的响应远小于APCI源,而ESI源为使用最为广泛的电离源<sup>[19]</sup>。因此,为提高麦角甾醇在ESI源中的电离效率,需对麦角甾醇进行衍生。麦角甾醇的衍生位点为醇羟基,而醇类物质的衍生试剂主要包括酰卤类化合物、硅烷类化合物、酸酐类化合物和硼酸类化合物等<sup>[20]</sup>。其中最常用的衍生试剂为以丹磺酰氯为代表的磺酰卤化合物。丹磺酰氯的活性强,具有反应活性高、反应时间短和衍生效率高等优点,是一种高效衍生化试剂。其次,丹磺酰氯衍生化后可在目标分子中引入二甲胺基部分,二甲胺基极易结合H<sup>+</sup>,从而提高待测物的离子化效率,并增强质谱响应<sup>[21]</sup>。丹磺酰基还具有显著的紫外吸收和荧光特性,在其他检测器上也有良好的响应,适用的检测器范围较宽。Lee等<sup>[22]</sup>使用丹磺酰氯对14种晚期糖基化终末产物(AGEs)进行了衍生,衍生后引入的二甲胺基结构可以增强AGEs在ESI源中的电离强度,显著提高检测灵敏度,检测限为1.0~43.3 ng/mL。程聪等<sup>[23]</sup>使用丹磺酰氯对丁香酚进行衍生,提高了其在ESI源中的离子化效率和检测灵敏度。研究拟使用丹磺酰氯作为衍生试剂,4-二甲氨基吡啶(DMAP)为催化剂,利用响应面试验优化麦角甾醇衍生条件,采用UPLC-MS/MS法对衍生前后的麦角甾醇进行分析,并测定10种食用菌中的麦角甾醇含量,旨在为食用菌中麦角甾醇的测定提供依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与仪器

麦角甾醇、丹磺酰氯(DNSCl)、4-二甲氨基吡啶(DMAP)、碳酸钠(Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)、碳酸氢钠(NaHCO<sub>3</sub>)、三乙胺、吡啶:分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;

二氯甲烷、乙腈、丙酮、乙酸乙酯、正己烷、甲醇:色谱级,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;

香菇、平菇、杏鲍菇、猴头菇等:市售;

质谱仪:X-500B型,美国SCIEX公司;

高频数控超声波清洗器:KQ-3000TDE型,昆山市超声仪器有限公司;

冷冻干燥机:Free Zone 2.5 plus型,美国Labconco公司;

旋转蒸发器:RE-52AA型,上海亚荣生化仪器厂。

### 1.2 试验方法

1.2.1 麦角甾醇标准品衍生 采用Qiu等<sup>[24]</sup>的方法。

1.2.2 衍生催化剂筛选 分别使用DMAP、三乙胺、吡啶、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>和NaHCO<sub>3</sub>作为衍生反应的催化剂,二氯甲烷为反应溶剂,40℃反应30 min,考察衍生催化剂对麦角甾醇衍生效率的影响。

1.2.3 反应溶剂筛选 分别使用丙酮、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、正己烷作为衍生反应溶剂,8 μg/mL DMAP为催化剂,40℃反应30 min,考察反应溶剂对麦角甾醇衍生效率的影响。

#### 1.2.4 单因素试验

(1) 催化剂质量浓度对麦角甾醇衍生效率的影响:分别使用2, 4, 6, 8, 10 μg/mL的DMAP作为催化剂,二氯甲烷作为反应溶剂,40℃反应30 min,考察催化剂质量浓度对麦角甾醇衍生效率的影响。

(2) 反应温度对麦角甾醇衍生效率的影响:使用8 μg/mL的DMAP作为催化剂,二氯甲烷作为反应溶剂,分别于30, 40, 50, 60, 70℃反应30 min,考察反应温度对麦角甾醇衍生效率的影响。

(3) 反应时间对麦角甾醇衍生效率的影响:使用8 μg/mL的DMAP作为催化剂,二氯甲烷作为反应溶剂,40℃分别反应0, 15, 30, 45, 60 min,考察反应时间对麦角甾醇衍生效率的影响。

1.2.5 麦角甾醇衍生效率测定 麦角甾醇使用DNSCl进行衍生反应,过0.22 μm滤膜,进行UPLC-MS/MS分析。采用电喷雾正离子模式,通过多反应监测模式测定衍生产物的峰面积,并以峰面积作为定量依据评估麦角甾醇

衍生效率。

1.2.6 响应面试验 在单因素试验基础上,以衍生物峰面积为响应值,反应温度、反应时间和催化剂质量浓度为自变量,采用 Design-Expert 13 进行 Box-Behnken 试验优化麦角甾醇衍生条件。

1.2.7 UPLC-MS/MS 分析 所用柱为  $C_{18}$  (50 mm×2.0 mm, 4  $\mu$ m),采用 ESI 源,正离子扫描模式,MS 全扫描,多反应监测(MRM)模式,进样量 5  $\mu$ L,柱温 55  $^{\circ}$ C,流速 0.3 mL/min,流动相为 0.15% 甲酸—甲醇溶液。ESI<sup>+</sup>模式下,MS 参数:去簇电压 60 V,碰撞能 35 V,离子喷雾电压 +5 500 V,质量范围  $m/z$  50~700。将离子源的气体 1 和气体 2 设置为  $3.45 \times 10^5$  Pa,气帘气体为  $2.41 \times 10^5$  Pa,界面加热器温度为 500  $^{\circ}$ C。

1.2.8 方法学验证

(1) 线性范围:制备质量浓度为 25~2 000 ng/mL 的系列标准工作液,按 1.2.7 的方法进行检测,以待测物质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线。

(2) 检出限和定量限:分别在信噪比( $S/N$ )为 3, 10 时,测定麦角甾醇及其衍生物的检出限(LOD)和定量限(LOQ)。

(3) 精密度:配制线性范围内标准工作液,按 1.2.7 的方法重复测定 6 次,计算相对标准偏差 RSD。

(4) 重复性:重复称取同一批香菇冻干粉末 6 份,制备样品溶液,按 1.2.7 的方法测定峰面积,并计算相对标准偏差 RSD。

(5) 加标回收率:称取 9 份食用菌冻干粉末,分别按 50%, 100%, 150% 3 个水平添加标准品,每个添加量重复 3 次,按 1.2.7 的方法测定峰面积,并计算回收率和相对标准偏差 RSD。

1.2.9 样品准备 参照刘威良等<sup>[25]</sup>的方法并稍作修改。将食用菌研磨后,冷冻干燥 24 h。准确称取 1.00 g 食用菌冻干粉末,加入 40 mL NaOH-甲醇溶液,70  $^{\circ}$ C 皂化 70 min,立即冷却至室温,用石油醚萃取皂化液 3 次,合并醚层,

40  $^{\circ}$ C 旋转蒸发至近干,用三氯甲烷定容。按 1.2.1 的方法进行衍生化,使用乙腈定容,过 0.22  $\mu$ m 滤膜,上机测定。

1.3 数据处理

各试验平行 3 次,结果以平均值±标准差表示。使用 GraphPad Prism 9.0 软件进行数据统计分析,并采用单因素方差分析进行显著性检验,显著性水平为  $P < 0.05$ 。

## 2 结果与分析

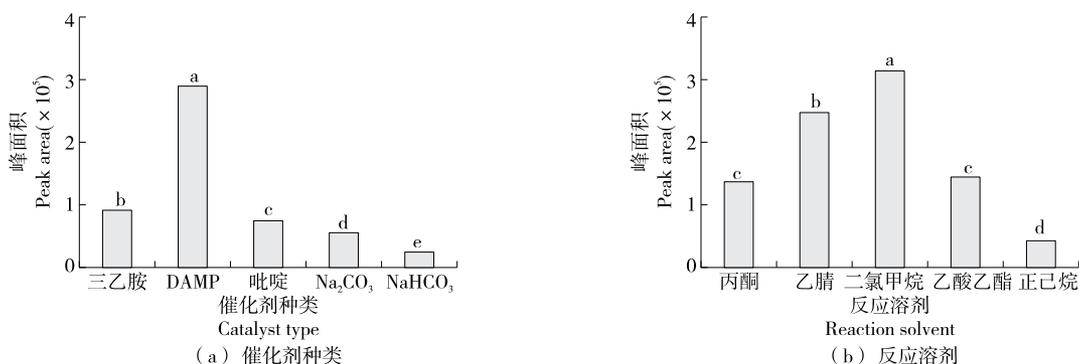
2.1 衍生条件优化

2.1.1 催化剂的选择 DNSCl 与伯胺、仲胺反应迅速,但与醇类反应慢<sup>[26]</sup>。由图 1(a)可知,DMAP 作为催化剂的衍生效率远高于其他催化剂,分别为三乙胺、吡啶、 $Na_2CO_3$ 、 $NaHCO_3$  的 2.11, 2.83, 4.16, 10.28 倍。DMAP 有助于催化醇和胺等物质的磺酰化和酰化反应,其衍生机理如图 2 所示,DMAP 结构中的吡啶环可以取代丹磺酰氯结构中的氯离子,形成 *N*-磺酰基吡啶鎓阳离子,亲电性强同时又是一个容易离去基团,从而催化麦角甾醇的丹磺酰化反应<sup>[27]</sup>。此外,DMAP 为有机碱,在有机溶剂中溶解度高,能够形成均相反应体系,具有较高的催化效率。综上,DMAP 为麦角甾醇衍生反应的高效催化剂,与 Schorr 等<sup>[28]</sup>的结论类似。

2.1.2 反应溶剂的选择 由图 1(b)可知,使用丙酮、乙酸乙酯和正己烷作为反应溶剂时,衍生效率明显低于乙腈和二氯甲烷。以二氯甲烷作为反应溶剂时,衍生效率约为正己烷的 7 倍。因此,最佳的反应溶剂为二氯甲烷。Peng 等<sup>[29]</sup>研究表明,质子溶剂存在阻碍甾醇衍生反应,因此在衍生过程中应尽量避免甲醇、水等质子溶剂的存在。

2.2 单因素试验

由图 3 可知,衍生效率随催化剂质量浓度的升高呈先上升后下降趋势。当催化剂质量浓度为 8  $\mu$ g/mL 时,衍生效果最佳。随着反应温度的升高,衍生效率先上升后下降,当反应温度为 40  $^{\circ}$ C 时衍生效率最高。这可能是由于温度过高会导致产物分解。随着反应时间的增加,衍生



小写字母不同表示差异显著( $P < 0.05$ )

图 1 催化剂种类和反应溶剂对麦角甾醇峰面积的影响

Figure 1 Effects of catalyst type and reaction solvent on ergosterol peak area

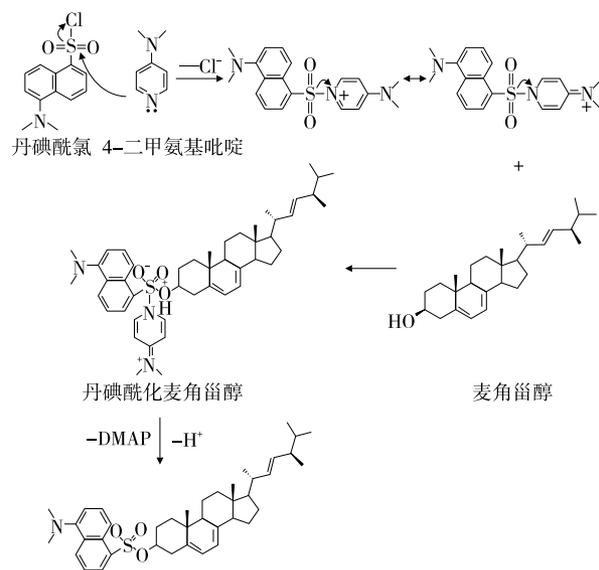


图2 DMAP催化麦角甾醇衍生机理

Figure 2 Derivatization mechanism of DMAP-catalyzed ergosterol

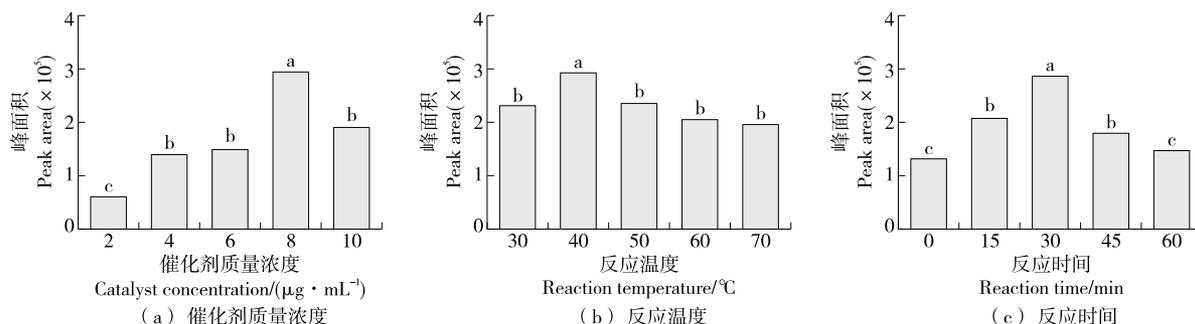
效率呈上升趋势,且在30 min时达最高。继续延长反应时间,衍生效率下降,可能是由于产物长时间处于高温条件下而降解。综上,选择催化剂质量浓度为8 μg/mL,反应温度为40 °C,反应时间为30 min。

### 2.3 响应面试验

2.3.1 响应面试验设计及结果 基于单因素试验结果,以峰面积作为响应值,反应温度、反应时间和催化剂质量浓度为关键因素,根据Box-Benhnken(BBD)进行三因素三水平响应面试验优化麦角甾醇衍生条件。试验因素水平表见表1,试验设计及结果见表2。

2.3.2 回归模型方程的建立及方差分析 采用Design-Expert 13软件进行二次多项式拟合,得回归方程:

$$Y=292\ 400-23\ 875A-21\ 051B+23\ 950C+26\ 875AB-23\ 875AC-10\ 625BC-50\ 777.5A^2-52\ 677.5B^2-88\ 677.5C^2 \quad (1)$$



字母不同表示差异显著( $P < 0.05$ )

图3 各因素对麦角甾醇峰面积的影响

Figure 3 Effects of factors on ergosterol peak area

表1 响应面因素水平表

水平	A 反应温度/°C	B 反应时间/min	C 催化剂质量浓度/(μg · mL <sup>-1</sup> )
-1	30	15	6
0	40	30	8
1	50	45	10

表2 响应面试验设计及结果

试验号	A	B	C	峰面积
1	-1	1	0	161 200
2	1	1	0	170 700
3	-1	0	1	219 600
4	0	-1	-1	128 800
5	0	0	0	274 800
6	0	0	0	312 500
7	0	0	0	302 600
8	0	-1	1	211 500
9	1	0	-1	134 000
10	0	0	0	293 600
11	-1	0	-1	137 500
12	-1	-1	0	260 900
13	1	0	1	120 600
14	0	1	1	152 000
15	0	0	0	278 400
16	1	-1	0	162 900
17	0	1	-1	111 800

由表3可知,二次回归方程模型具有高度显著性( $P < 0.000\ 1$ );失拟项  $P = 0.672\ 8 > 0.05$ ,不显著; $R_{Adj}^2 = 0.959\ 6$ ,证实了方程预测值与实测值之间具有良好的一致性,表明该二次回归模型能够准确反映试验数据的变化规律。一次项A、B、C,交互项AB和二次项A<sup>2</sup>、B<sup>2</sup>、C<sup>2</sup>均

对响应值影响极显著( $P < 0.01$ ),交互项 AC 对响应值影响显著( $P < 0.05$ ),表明麦角甾醇衍生过程与各因素并非简单的线性关系。各衍生条件对衍生效率的影响程度依次为催化剂质量浓度 > 反应温度 > 反应时间。

由图 4 可知, AB、AC 交互作用等高线图呈椭圆形,

表 3 回归方程方差分析<sup>†</sup>

Table 3 Analysis of variance of regression equation

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	$7.99 \times 10^{10}$	9	$8.87 \times 10^9$	43.24	$< 0.000 1$	**
A	$4.56 \times 10^9$	1	$4.56 \times 10^9$	22.22	0.002 2	**
B	$3.55 \times 10^9$	1	$3.55 \times 10^9$	17.27	0.004 3	**
C	$4.59 \times 10^9$	1	$4.59 \times 10^9$	22.36	0.002 1	**
AB	$2.89 \times 10^9$	1	$2.89 \times 10^9$	14.08	0.007 1	**
AC	$2.28 \times 10^9$	1	$2.28 \times 10^9$	11.11	0.012 5	*
BC	$4.52 \times 10^8$	1	$4.52 \times 10^8$	2.20	0.181 6	
A <sup>2</sup>	$1.09 \times 10^{10}$	1	$1.09 \times 10^{10}$	52.90	0.000 2	**
B <sup>2</sup>	$1.17 \times 10^{10}$	1	$1.17 \times 10^{10}$	56.93	0.000 1	**
C <sup>2</sup>	$3.31 \times 10^{10}$	1	$3.31 \times 10^{10}$	161.33	$< 0.000 1$	**
残差	$1.44 \times 10^9$	7	$2.05 \times 10^8$			
失拟项	$4.21 \times 10^8$	3	$1.41 \times 10^8$	0.55	0.672 8	不显著
纯误差	$1.02 \times 10^9$	4	$2.54 \times 10^8$			
总和	$8.13 \times 10^{10}$	16				

<sup>†</sup> \*差异显著( $P < 0.05$ ); \*\*差异极显著( $P < 0.01$ )。

BC 交互作用等高线图呈近圆形,表明反应温度和反应时间、反应温度和催化剂质量浓度两两交互作用对麦角甾醇衍生效率影响显著( $P < 0.05$ ),与表 3 的分析一致。

采用 Design-Expert 13 软件分析最优条件为反应温度 36.38 °C,反应时间 25.34 min,催化剂质量浓度 8.41 μg/mL,此条件下生成的衍生物峰面积为 302 500。根据实际操作,将最佳工艺修整为反应温度 36 °C,反应时间 25 min,催化剂质量浓度 8 μg/mL,测得衍生物峰面积为 299 433 ( $n = 3$ ),与预测值接近,证实了该模型的可靠性。

### 2.4 麦角甾醇衍生前后的 UPLC-MS/MS 分析

由图 5 可以确定准确质量的物质有麦角甾醇衍生物( $m/z$  630.39)和麦角甾醇( $m/z$  379.33)。化合物的母离子在一定的碰撞能量下会产生对应的子离子峰<sup>[30]</sup>,麦角甾醇衍生物及麦角甾醇的特征碎片离子分别为  $m/z$  252.06, 69.06。

由图 6 可知,麦角甾醇衍生物及麦角甾醇分别在 1.61、6.10 min 出峰,麦角甾醇衍生物色谱图基线平稳,峰形尖锐。正离子模式( $[M+H]^+$ )下,衍生后的麦角甾醇的检测灵敏度显著高于未衍生的,是由于衍生后的麦角甾醇含有丹磺酰基,其中的 N 原子带有孤对电子,易与  $H^+$  结合,提高了离子化效率<sup>[31]</sup>。未衍生的麦角甾醇的低强度归因于其电离效率差。Wang 等<sup>[32]</sup>使用丹磺酰氯对生物胺进行衍生,衍生后可准确、高效地对章鱼中的生物胺进行检测。

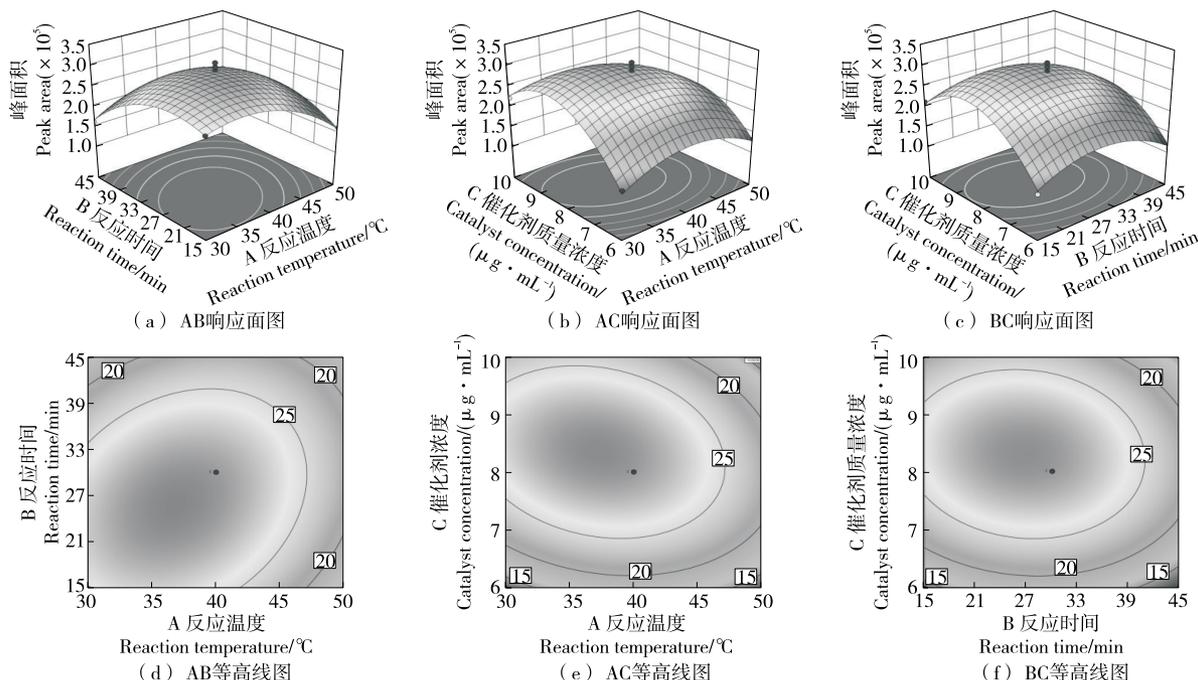


图 4 各因素交互作用对峰面积的影响

Figure 4 Effect of interaction between various factors on peak area

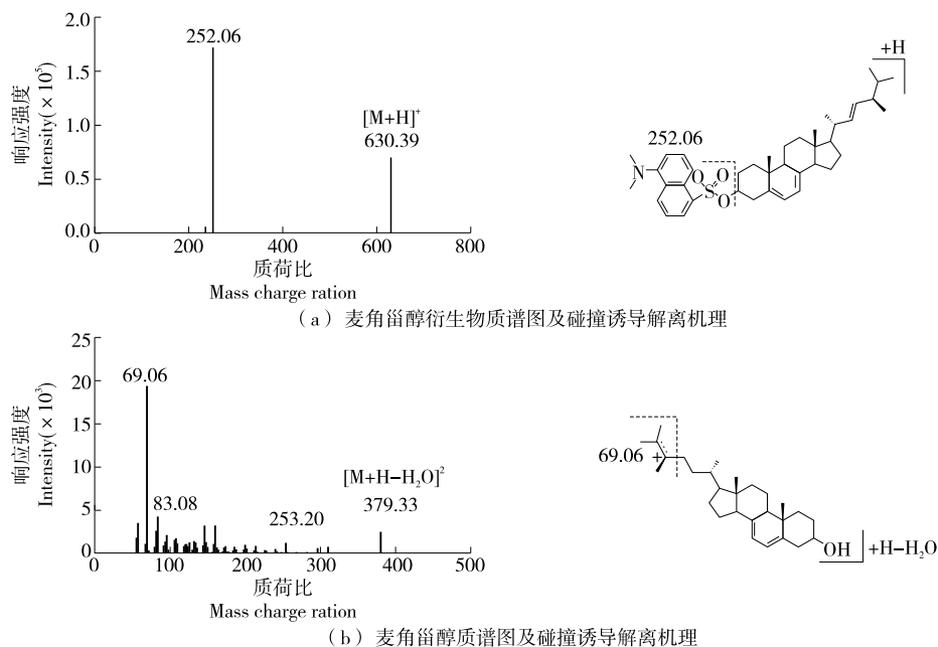


图5 麦角甾醇衍生前后质谱图及碰撞解离机理

Figure 5 Mass spectra and collision-induced dissociation mechanism of ergosterol before and after derivatization

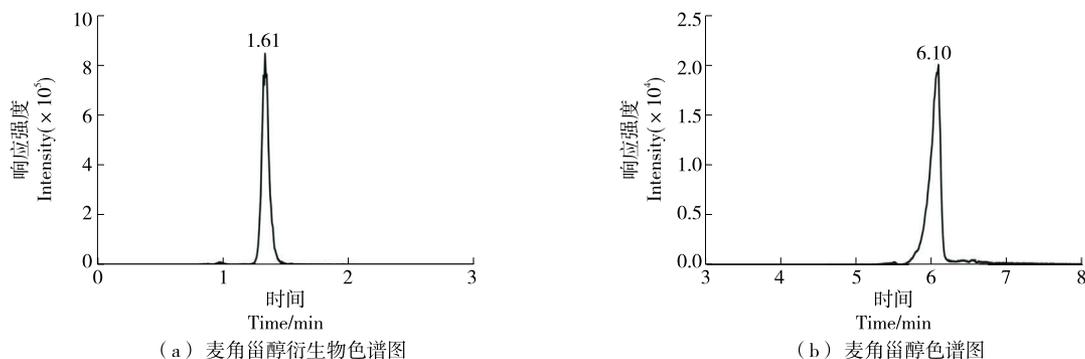


图6 麦角甾醇衍生前后色谱图

Figure 6 Chromatograms of ergosterol after and before derivatization

## 2.5 方法学验证

**2.5.1 线性范围、检出限和定量限** 通过线性回归分析得到标准曲线方程  $Y=264.82X+6\ 909.7$ ,  $R^2=0.999\ 3$ 。当质量浓度为 25~2 000 ng/mL 时,质量浓度与峰面积呈良好的线性相关性,符合分析化学的规范要求。

试验发现,麦角甾醇衍生前后的检出限分别为 696.0, 13.4 ng/mL,衍生后提高了 51.94 倍,表明使用 DNSCI 衍生可提高 MS 检测麦角甾醇的灵敏度。衍生后的定量限也从 7 740 ng/mL 降至 149 ng/mL。

**2.5.2 精密度和重复性** 试验发现,麦角甾醇峰面积的相对标准偏差(RSD)为 1.01%,证明了分析方法具有优异的精密性。麦角甾醇的平均含量为 4.06 mg/g, RSD 为 1.55% ( $n=6$ ),表明分析方法重复性良好。

## 2.6 实际样品测定

由图 7 和表 4 可知,10 种食用菌中香菇的麦角甾醇含量最高,为  $(4.21 \pm 0.083)$  mg/g,为其他食用菌的 1.67~21.24 倍。不同食用菌的平均加标回收率为 92.67%~102.74%, RSD 值为 1.69%~5.12%,说明该方法回收率良好。

## 3 结论

以丹磺酰氯为衍生试剂,4-二甲氨基吡啶为催化剂,成功解决了麦角甾醇在电喷雾电离源中响应低的问题,并将麦角甾醇检测灵敏度提高了约 51.94 倍。麦角甾醇的最佳衍生条件为反应温度 36 °C,反应时间 25 min,催化剂质量浓度 8 μg/mL。采用化学衍生结合 UPLC-MS/MS 法测定了 10 种食用菌中的麦角甾醇含量,其中,香菇中麦

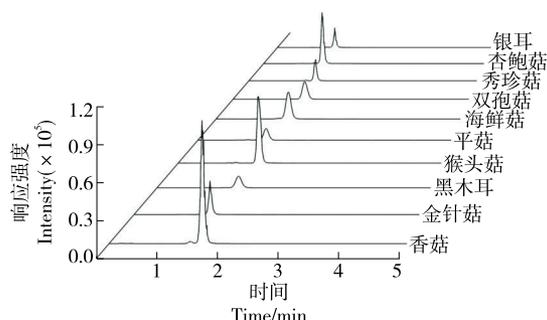


图 7 不同食用菌中麦角甾醇衍生物色谱图

Figure 7 Chromatogram of ergosterol derivatives in different edible fungi

表 4 10 种食用菌麦角甾醇含量

Table 4 Content of ergosterol in 10 edible fungi

样品	麦角甾醇含量/ (mg·g <sup>-1</sup> )	平均回收 率/%	RSD/%
香菇	4.21±0.083	100.70	2.92
金针菇	1.08±0.034	102.53	2.34
平菇	0.30±0.020	96.75	2.36
杏鲍菇	2.04±0.093	101.96	4.06
黑木耳	0.20±0.011	100.79	4.62
海鲜菇	1.50±0.091	100.10	1.69
双孢菇	0.75±0.013	98.48	2.13
秀珍菇	0.50±0.018	102.74	5.12
猴头菇	2.52±0.031	100.04	2.83
银耳	0.37±0.013	92.67	4.99

角甾醇含量最高,为(4.21±0.083) mg/g。该方法通过化学衍生改变了麦角甾醇结构,提高了其在电喷雾电离源中的电离效率,且具有灵敏度高、重现性良好等优点。后续可进一步拓展该衍生化方法的适用范围,验证在其他植物甾醇检测中的适用性。

参考文献

[1] SHARMA V, SINGH P, SINGH A. Shelf-life extension of fresh mushrooms: from conventional practices to novel technologies: a comprehensive review[J]. Future Postharvest and Food, 2024, 1(3): 317-333.

[2] FATIMA S, KUMAR V, BHADAURIA G. Optimization of aloe vera-sodium alginate composite coating using L16 orthogonal design for extension of shelf life of mushroom[J]. Future Postharvest and Food, 2024, 1(4): 414-427.

[3] 程洋洋, 惠靖茹, 郝竞霄, 等. 食用菌中麦角甾醇的研究进展[J]. 食品工业科技, 2021, 42(10): 349-354.

CHENG Y Y, HUI J R, HAO J X, et al. Research progress of ergosterol in edible fungi[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(10): 349-354.

[4] 刘宇光, 王欢, 王淑敏, 等. 药用真菌中麦角甾醇对偏头痛大鼠的作用机制[J]. 食品工业科技, 2021, 42(15): 327-331.

LIU Y G, WANG H, WANG S M, et al. Effects of ergosterol from medicinal fungi on migraine rats[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(15): 327-331.

[5] STASTNY J, MARSIK P, TAUCHEN J, et al. Antioxidant and anti-inflammatory activity of five medicinal mushrooms of the genus *Pleurotus*[J]. Antioxidants, 2022, 11(8): 1 569.

[6] SADOWSKA A, ZAPORA E, SAWICKA D, et al. *Heterobasidion annosum* induces apoptosis in DLD-1 cells and decreases colon cancer growth in in vivo model[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(10): 3 447.

[7] 唐小卉, 纪苏萍, 夏雪, 等. 硫酸麦角甾醇酯的制备及抗氧化作用[J]. 食品与机械, 2018, 34(8): 129-134.

TANG X H, JI S P, XIA X, et al. Preparation and antioxidation of ergosteryl lipoate[J]. Food & Machinery, 2018, 34(8): 129-134.

[8] WU L M, ZHAO J J, WU L H, et al. Simultaneous determination of squalene, tocopherols and phytosterols in edible vegetable oil by SPE combined with saponification and GC-MS[J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 169: 114026.

[9] XU Q H, WANG D, LV X, et al. Comprehensive profiling and evaluation of free/conjugated Phytosterols in crops using chemical derivatization coupled with UHPLC-ESI-QTOF-MS/MS[J]. Food Chemistry, 2025, 463: 141316.

[10] WU Y X, GUO Y M, YANG Q Q, et al. The effects of different antigen-antibody pairs on the results of 20 min ELISA and 8 min chromatographic paper test for quantitative detection of acetamiprid in vegetables[J]. Biosensors, 2022, 12(9): 730.

[11] LI T Z, YIN Y D, ZHOU Z W, et al. Ion mobility-based sterolomics reveals spatially and temporally distinctive sterol lipids in the mouse brain[J]. Nature Communications, 2021, 12(1): 4 343.

[12] JIANG F L, ZHANG C, LU Z H, et al. Simultaneous absolute protein quantification of seven cytochrome P450 isoforms in rat liver microsomes by LC-MS/MS-based isotope internal standard method[J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13: 906027.

[13] 韩浩蕾, 廖光琴, 吴雨轩, 等. 脂质组学在食品品质研究中的应用[J]. 食品工业科技, 2024, 45(24): 21-31.

HAN H L, LIAO G Q, WU Y X, et al. Application of lipidomics in the researches of food quality[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(24): 21-31.

[14] 唐吉旺, 袁列江, 肖泳, 等. 高效液相色谱—串联质谱法测定食品塑料包装材料中双酚 A 和壬基酚[J]. 食品与机械, 2023, 39(1): 37-41.

TANG J W, YUAN L J, XIAO Y, et al. Determination of bisphenol A and nonylphenol in food packaging material by high performance liquid chromatography-tandem mass

- spectrometry[J]. Food & Machinery, 2023, 39(1): 37-41.
- [15] 袁阳蕾, 袁利杰, 郭立净, 等. 高分辨质谱法快速筛查和定量分析改善胃肠道功能类保健食品中的22种非法添加化合物[J]. 现代食品科技, 2023, 39(1): 311-319.
- YUAN Y L, YUAN L J, GUO L J, et al. Rapid screening and quantitative analysis of 22 illegally added compounds in gut health-improving foods by high-resolution mass spectrometry[J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(1): 311-319.
- [16] GALMICHE M, ESSLINGER E, DELHOMME O, et al. Method development for the LC-MS/MS determination of C<sub>60</sub> and C<sub>70</sub> fullerenes and their functionalized derivatives in airborne particulate matter, settled dust and soot[J]. International Journal of Mass Spectrometry, 2023, 490: 117072.
- [17] ARCE-LÓPEZ B, LIZARRAGA E, VETTORAZZI A, et al. Human biomonitoring of mycotoxins in blood, plasma and serum in recent years: a review[J]. Toxins, 2020, 12(3): 147.
- [18] ISLAM S, ALAM M B, ANN H J, et al. Metabolite profiling of *Manilkara zapota* L. leaves by high-resolution mass spectrometry coupled with ESI and APCI and in vitro antioxidant activity,  $\alpha$ -glucosidase, and elastase inhibition assays[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(1): 132.
- [19] HUANG Z X, YAO Y N, LI W, et al. Analytical properties of electrospray ionization mass spectrometry with solid substrates and nonpolar solvents[J]. Analytica Chimica Acta, 2019, 1050: 105-112.
- [20] 刘文静, 陈蔚, 宋月林, 等. 适用于LC-MS的衍生化技术研究及应用进展[J]. 中国现代应用药学, 2024, 41(20): 2777-2788.
- LIU W J, CHEN W, SONG Y L, et al. Research and application progresses in derivatization techniques for LC-MS[J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2024, 41(20): 2777-2788.
- [21] CHEN J, ZHANG P, QIN S Y, et al. Stepwise solid phase extraction integrated with chemical derivatization for all-in-one injection LC-MS/MS analysis of metabolome and lipidome[J]. Analytica Chimica Acta, 2023, 1241: 340807.
- [22] LEE H H L, HA S K, KIM Y, et al. Simultaneous analysis of advanced glycation end products using dansyl derivatization[J]. Food Chemistry, 2024, 432: 137186.
- [23] 程聪, 王鑫, 刘有平, 等. 柱前衍生化LC-MS/MS法测定大鼠血浆中丁香酚的质量浓度[J]. 沈阳药科大学学报, 2021, 38(3): 251-257.
- CHENG C, WANG X, LIU Y P, et al. Determination of eugenol in rat plasma by LC-MS/MS with pre-column derivatization[J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, 2021, 38(3): 251-257.
- [24] QIU J Q, LI T Z, ZHU Z J. Multi-dimensional characterization and identification of sterols in untargeted LC-MS analysis using all ion fragmentation technology[J]. Analytica Chimica Acta, 2021, 1142: 108-117.
- [25] 刘威良, 蔡建, 高文荣, 等. 云南野生火棘叶甾醇提取工艺优化及体外活性研究[J]. 食品工业科技, 2024, 45(11): 187-194.
- LIU W L, CAI J, GAO W R, et al. Optimization of extraction process and *in vitro* activity study of total sterols from wild *Pyracantha fortuneana* leaves in Yunnan[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(11): 187-194.
- [26] NZEKOUÉ F K, CAPRIOLI G, RICCIUTELLI M, et al. Development of an innovative phytosterol derivatization method to improve the HPLC-DAD analysis and the ESI-MS detection of plant sterols/stanols[J]. Food Research International, 2020, 131: 108998.
- [27] TANG Z M, PETER GUENGERICH F. Dansylation of unactivated alcohols for improved mass spectral sensitivity and application to analysis of cytochrome P450 oxidation products in tissue extracts[J]. Analytical Chemistry, 2010, 82(18): 7706-7712.
- [28] SCHORR P, STOKES C S, VOLMER D A. Improved quantitative LC-MS/MS analysis of vitamin D metabolites in serum after one-pot double derivatization[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2023, 234: 115522.
- [29] PENG H, HU K J, ZHAO F R, et al. Derivatization method for sensitive determination of fluorotelomer alcohols in sediment by liquid chromatography - electrospray tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2013, 1288: 48-53.
- [30] ZANRÈ V, CAMPAGNARI R, CERULLI A, et al. Salvionolone from *Salvia miltiorrhiza* roots impairs cell cycle progression, colony formation, and metalloproteinase-2 activity in A375 melanoma cells: involvement of P21(Cip1/Waf1) expression and STAT3 phosphorylation[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(3): 1121.
- [31] BAGHDADY Y Z, SCHUG K A. Review of in situ derivatization techniques for enhanced bioanalysis using liquid chromatography with mass spectrometry[J]. Journal of Separation Science, 2016, 39(1): 102-114.
- [32] WANG K, PAN C Y, YANG Q, et al. Detection and quantification of biogenic amines in cephalopod using dansyl chloride pre-column derivatization-HPLC and their production[J]. Journal of Food Science, 2024, 89(5): 2909-2920.