

# SCIEX Triple Quad™ 4500系统检测水产品中11种脂溶性贝类毒素

## A Rapid Screening and Quantitative LC-MS/MS Method of 11 Lipophilic Marine Toxins in Seafood Using SCIEX Triple Quad™ 4500 LC-MS/MS system

张崇, 张景然, 刘冰洁, 李立军, 郭立海

Zhang Chong, Zhang Jingran, Liu Bingjie, Li Lijun, Guo Lihai

SCIEX应用技术中心

**Key Words:** Triple Quad™ 4500 LC-MS/MS system, Lipophilic Marine Toxins, Seafood

### 前言

脂溶性藻毒素是海洋中藻类产生的一类次生代谢产物, 包括大田软海绵酸(OA)系列毒素、蛤毒素(PTX)系列毒素、扇贝毒素(YTX)系列毒素、原多甲藻酸(AZA)系列毒素等多系列毒素。脂溶性藻毒素可在贝类体内富集或转化, 人类食用染毒贝类后会引发多种严重的中毒反应。随着中国沿海水产养殖业的快速发展和有害赤潮的频繁爆发, 由误食污染贝类引起的中毒事件不断增多, 直接影响了消费者的身体健康以及生命安全

对于常见脂溶性藻毒素的检测, 通常采用生物毒性测试法或化学分析法。对于OA、PTX、YTX等脂溶性藻毒素成分, 小鼠生物测试法是毒性初筛的重要方法。但是, 生物学测试方法存在特异性低、灵敏度差、假阳性率高、准确性和重现性低等问题。

本实验采用SCIEX Triple Quad™ 4500系统, 建立了11种脂溶性贝类毒素的快速筛查和定量方法。全部覆盖了国家食品安全风险评估中心发布的《国家食品污染物和有害因素风险检测工作手册》中对脂溶性贝类毒素检测的要求, 具有简单、快速、灵敏度高、准确性好等优点, 为贝类质量监控、食品安全风险评估提供了简单快速的解决方案。

### 本方法具有以下特点:

1、覆盖度广: 一针进样可检测11种脂溶性贝类毒素, 全面覆盖了国家食品安全风险评估中心对脂溶性贝类毒素的检测要求。

- 2、前处理简单: 参照国家食品污染物和有害因素风险检测工作手册中的前处理方式, 样品经甲醇提取后直接进样, 可有效减少工作量。
- 3、高灵敏度: 11种脂溶性贝类毒素的定量限均可满足我国及欧盟相关规定的要求。

### 试验方法

#### 1. 样品前处理

##### 1.1 游离毒素分析

用清水将贝壳外表洗净。撬开贝壳, 切断闭壳肌, 用水淋洗, 去除内部泥沙及其它异物, 仔细取出贝肉, 切勿割破贝体, 在筛子上平铺沥水5 min, 然后将贝肉均质、混匀。

准确称取2 g ( $\pm 0.01$  g) 样品于10 mL离心管中, 加入9 mL甲醇, 涡旋混匀1 min, 超声5 min, 8000 rpm离心5 min。取上清液至20 mL玻璃刻度离心管中, 残渣再用9 mL甲醇重复提取1次, 合并上清液用甲醇定容至20 mL, 过0.22  $\mu$ m有机滤膜, 上机测定。

##### 1.2 OA类毒素(OA, DTX1, DTX2)总量的测定

当游离的OA、DTX1和DTX2均未检出时, 不需测定总量。当三者有一种或多种检出时, 需经过碱皂化后测定其总量。

取1 mL上述提取液于10 mL具塞塑料试管中, 加入125  $\mu$ L 2.5 mol/L氢氧化钠溶液, 混匀后加盖密封, 于76 °C恒温反应40 min。试管流水冷却至室温后, 加入125  $\mu$ L 2.5 mol/L盐酸和2.5 mL水, 混匀, 于8000 rpm离心5 min, 过0.22  $\mu$ m有机滤膜, 上机测定。

## 2. 液相条件

液相：Exion LC 30AD™系统

色谱柱：Phenomenex Luna C18 ( 2.1 × 100 mm, 3 μm )

流速：0.3 mL/min

柱温：40 °C

进样量：5 μL

梯度洗脱。

## 3. 质谱条件

SCIEX Triple Quad™ 4500系统

离子源：ESI源，正/负离子切换模式

离子源参数：

IS电压：5500 V/-4500 V

气帘气：35 psi

雾化气GS1：50 psi

辅助气GS2：55 psi

源温度TEM：500 °C

碰撞气CAD：Medium

## 实验结果

### 1. 11种脂溶性贝类毒素的典型色谱图 ( 见图1 )

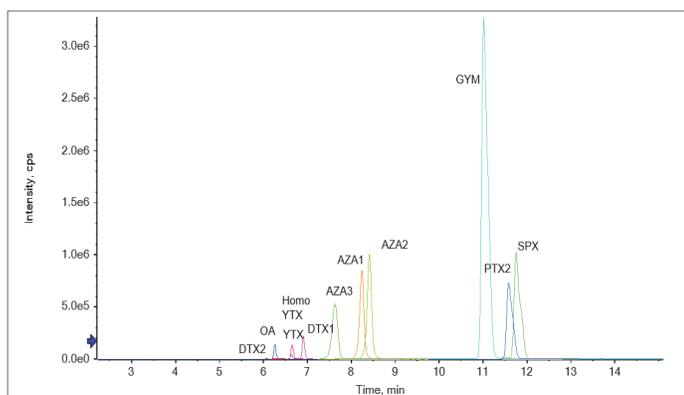


图1. 一针正负同时检测软体贝类中11种脂溶性贝类毒素的色谱图。

### 2. 线性范围:

11种脂溶性贝类毒素在各自线性范围内线性良好 (  $r > 0.995$  )，线性范围宽，保证不同浓度水平样品的准确定量 ( 见表2 )。

表1. 11种脂溶性毒素质谱参数。

类别	英文缩写	母离子模式	保留时间	Q1	Q3	去簇电压 (DP, V)	碰撞能量 (CE, eV)
虾夷扇贝毒素	YTX	[M-2H] <sup>2-</sup>	6.64	570.5	467.3	-130	-43
				570.5	396.2	-130	-48
	Homo-YTX	[M-2H] <sup>2-</sup>	6.65	577.4	474.3	-130	-47
				577.4	403.1	-130	-50
大田软海绵酸	OA	[M-H] <sup>-</sup>	5.96	803.5	255	-150	-66
				803.5	112.9	-150	-92
鳍藻毒素	DTX1	[M-H] <sup>-</sup>	6.91	817.5	255.14	-180	-64
				817.5	113	-180	-100
	DTX2	[M-H] <sup>-</sup>	6.27	803.5	255.2	-155	-38
				803.5	113.1	-155	-38
AZA1	[M+H] <sup>+</sup>	8.24	842.5	824.5	150	47	
			842.5	672.4	150	78	
原多甲藻毒素	AZA2	[M+H] <sup>+</sup>	8.41	856.5	838.5	173	45
				856.5	672.4	173	70
AZA3	[M+H] <sup>+</sup>	8.63	828.5	810.5	150	46	
			828.5	658.4	150	70	
蛤毒素	PTX2	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	11.6	876.5	823.4	150	36
				876.5	213	150	44
米氏裸甲藻毒素	GYM	[M+H] <sup>+</sup>	11.03	508.4	490.3	135	33
				508.4	162.3	135	49
螺环内酯毒素	SPX1	[M+H] <sup>+</sup>	12.19	692.5	444.3	153	51
				692.5	164.2	153	55

### 3. 回收率

在扇贝及牡蛎样品中分别添加11种脂溶性贝类毒素混合标准品，前处理提取后进样经LC-MS/MS检测，回收率为80.3-119.1 % ( 见图2 )，重现性 ( n=6 )，RSD为1.26-4.90% ( 见图3 )。

表2. 水产品种11种脂溶性贝类毒素线性范围。

序号	中文名	线性范围 (µg/kg)	线性方程	相关系数 r
1	YTX	90-2.5e5	$y=9.15 \times 10^3 X+201.83$	0.9978
2	HomoYTX	30-1.2e5	$y=7.20 \times 10^3 X+643.84$	0.9978
3	OA	30-3e5	$y=1.98 \times 10^3 X-28.64$	0.9958
4	DTX1	30-2.5e5	$y=2.24 \times 10^3 X+1035.77$	0.9993
5	DTX2	30-2.5e5	$y=3.18 \times 10^4 X+3023.5$	0.9993
6	AZA1	40-2e4	$y=1.35 \times 10^4 X-261.87$	0.9996
7	AZA2	30-2e4	$y=1.34 \times 10^4 X+1896.35$	0.9996
8	AZA3	30-2.5e4	$y=1.13 \times 10^4 X+209.22$	0.9996
9	PTX2	50-5e4	$y=4.36 \times 10^4 X+25606.4$	0.9982
10	GYM	3-4e4	$y=3.72 \times 10^5 X-103.14$	0.9991
11	SPX1	60-1.2e5	$y=2.89 \times 10^4 X-1966.62$	0.9987

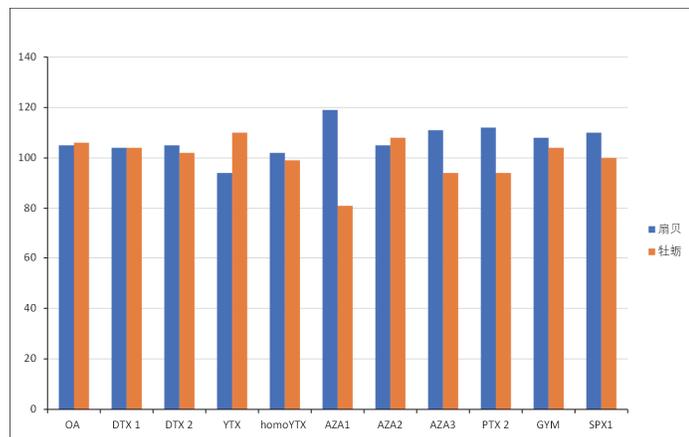


图2. 贝类样品中11种毒素的加标回收率。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在英国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。AB SCIEX™ 商标经许可使用。© 2020 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.

RUO-MKT-02-11491-ZH-A



### SCIEX中国

北京分公司  
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院  
1号楼5层  
电话：010-5808-1388  
传真：010-5808-1390  
全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心  
上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室  
电话：021-2419-7200  
传真：021-2419-7333  
官网：[sciex.com.cn](http://sciex.com.cn)

广州分公司  
广州市天河区珠江西路15号  
珠江城1907室  
电话：020-8510-0200  
传真：020-3876-0835  
官方微信：ABSciex-China



图3. 贝类样品中11种毒素的加标分析重现性。

## 总结

本文在SCIEX Triple Quad™ 4500系统上，建立了一套测定软体贝类中11种脂溶性贝类毒素的LC-MS/MS检测方法。

本方法灵敏度高，可满足我国及欧盟对水产品中贝类毒素相关限量要求；前处理参照国家食品安全风险评估中心的操作方法，回收率高，重现性好，可用于日常对贝类食品的安全风险评估。

## 参考文献

1. Yang Liu, Ren-Cheng Yu, Fan-Zhou Kong et al. Contamination status of lipophilic marine toxins in shellfish samples from the Bohai Sea, China.[J]. Environmental pollution, 2019, 249: 171-180
2. Yang Liu, Peng Zhang, Du Sen et al. Occurrence and distribution of lipophilic phycotoxins in a subtropical bay of the South China Sea[J]. Chemosphere, 2020, 243: 125352