

# 高效液相色谱-串联质谱法快速测定海鳗鱼肉中 3种太平洋雪卡毒素

麦艳玲<sup>1,2</sup>, 林珊珊<sup>1,2</sup>, 肖陈贵<sup>3</sup>, 岳振峰<sup>3</sup>, 吴佳俊<sup>1,2</sup>, 康海宁<sup>3</sup>, 林群声<sup>1,2</sup>, 陈荔<sup>1,2\*</sup>

(1. 深圳市海洋生物多样性可持续利用重点实验室, 香港城市大学深圳研究院海洋与人类健康研究中心, 深圳 518057;  
2. 香港城市大学海洋污染国家重点实验室, 香港 999077; 3. 深圳出入境检验检疫局食品检验检疫技术中心,  
深圳市食品安全检测技术研发重点实验室, 深圳 518045)

**摘要:** **目的** 建立了一种平行振荡方法萃取海鳗鱼肉中的3种太平洋雪卡毒素(P-CTX-1、P-CTX-2、P-CTX-3), 并采用高效液相色谱-电喷雾串联质谱法同时测定P-CTX-1、P-CTX-2、P-CTX-3残留量的分析方法。**方法** 海鳗等样品经甲醇并采用平行振荡方法提取, C18固相萃取柱净化后, 采用高效液相色谱-电喷雾串联质谱分析测定。**结果** 以基质标准曲线外标法定量, 线性范围为0.01~50.0 ng/g, 相关系数均大于0.999( $r > 0.999$ ,  $n=3$ ), P-CTX-1、P-CTX-2、P-CTX-3的定量限分别为(LOQs,  $S/N=10$ )0.009、0.019、0.017 ng/g。以0.05、0.10、0.50 ng/g 3个添加浓度水平进行方法验证, 回收率分别为72.9~81.0%、63.0~77.9%、46.3~69.5%, 相对标准偏差分别为2.3~2.7%、2.1~12.2%、6.1~15.3%。**结论** 该方法简便快速、灵敏度高, 适用于鱼肉中同时快速检测3种太平洋雪卡毒素。

**关键词:** 高效液相色谱-电喷雾串联质谱法; 平行振荡法; 太平洋雪卡毒素; 鱼肉

## Rapid determination of three Pacific ciguatoxins in muscle of moray eel by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

MAK Yim Ling<sup>1,2</sup>, LIN Shan-Shan<sup>1,2</sup>, XIAO Chen-Gui<sup>3</sup>, YUE Zhen-Feng<sup>3</sup>, WU Jia-Jun<sup>1,2</sup>,  
KANG Hai-Ning<sup>3</sup>, LAM Kwan Sing Paul<sup>1,2</sup>, CHAN Lai Leo<sup>1,2\*</sup>

(1. Shenzhen Key Laboratory for Sustainable Use of Marine Biodiversity, Research Centre for the Oceans and Human Health, City University of Hong Kong Shenzhen Research Institute, Shenzhen 518057, China; 2. State Key Laboratory in Marine Pollution, City University of Hong Kong, Hong Kong 999077, China; 3. Key Laboratory of Detection Technology R & D on Food Safety, Food Inspection and Quarantine Center, Shenzhen Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shenzhen 518045, China)

**ABSTRACT: Objective** A parallel shaking method was developed to extract three Pacific ciguatoxins (P-CTX-1, P-CTX-2, P-CTX-3) in muscle samples of moray eel and a rapid simultaneous quantification method was optimized to quantify P-CTXs in fish muscle using high performance liquid chromatography coupled with electrospray-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). **Methods** Muscle samples of moray eel were

基金项目: 国家自然科学基金项目(41276110, 41306173)、深圳市战略新兴产业发展专项资金(CXZZ20120618140401134)

**Fund:** Supported by the National Natural Science Foundation of China (41276110, 41306173) and Shenzhen Strategic Emerging Industry Development Special Project (CXZZ20120618140401134)

\*通讯作者: 陈荔, 博士, 研究员, 主要研究方向为藻毒素合成机制及对生态系统的影响。E-mail: leochan@cityu.edu.hk

\*Corresponding author: CHAN Lai Leo, Research Professor, Shenzhen Key Laboratory for Sustainable Use of Marine Biodiversity, Research Centre for the Oceans and Human Health, City University of Hong Kong Shenzhen Research Institute, Shenzhen 518057, Guangdong Province, China. E-mail: leochan@cityu.edu.hk

extracted in methanol using parallel shaker. Crude extract was then cleaned-up by C18 solid-phase extraction (SPE) cartridges. High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) was employed to identify and quantify P-CTXs. **Results** The quantification of P-CTX-1, P-CTX-2 and P-CTX-3 were performed using matrix-matched calibrations with correlation coefficients above 0.999 ( $r \geq 0.999$ ,  $n=3$ ). The linearity of the calibration curves ranged from 0.01~50.0 ng/g. The limits of quantification (LOQs,  $S/N=10$ ) of P-CTX-1, P-CTX-2 and P-CTX-3 were 0.009, 0.019, and 0.017 ng/g. Method validation was carried out by spiking three levels of P-CTXs (i.e. 0.05, 0.10, and 0.50 ng/g) to fish muscle. The recovery of P-CTX-1, P-CTX-2 and P-CTX-3 were 72.9~81.0%, 63.0~77.9%, and 46.3~69.5% with relative standard deviations (RSDs) of 2.3%~2.7%, 2.1%~12.2%, and 6.1%~15.3%, respectively. **Conclusion** The method is simple, rapid, and high sensitive, and hence suitable for the rapid simultaneous quantification of 3 P-CTXs in fish muscle samples.

**KEY WORDS:** high performance liquid chromatography couple with electrospray-tandem mass spectrometry; parallel shaking method; Pacific ciguatoxins; fish muscle

## 1 引言

雪卡毒素(ciguatoxins, CTXs)是一类脂溶性的大分子聚醚神经毒素,属于获得性毒素。首先由海洋底栖甲藻,如冈比亚藻(*Gambierdiscus toxicus*),合成弱极性前体化合物冈比亚毒素(gambiertoxins, GTXs),并通过食物链进行生物累积,然后在鱼体内转成高毒性的雪卡毒素(CTXs)<sup>[1]</sup>。根据地域不同,可将已知的雪卡毒素分为三类:太平洋型雪卡毒素(Pacific ciguatoxins, P-CTXs)、印度洋型雪卡毒素(Indian ciguatoxins, I-CTXs)和加勒比海型雪卡毒素(Caribbean ciguatoxins, C-CTXs)。P-CTXs的结构与转化过程见图 1。在已知的雪卡毒素(CTXs)中,P-CTX-1无论在数量上还是在毒性上,都是最主要的雪卡毒素。研究<sup>[2,3]</sup>表明,当 P-CTX-1 在肉食性鱼类肌肉中的含量达到 0.1 ng/g 时,就可引起急性雪卡鱼类中毒(ciguatera fish poisoning, CFP),是已知的对哺乳动物毒性最强的毒素之一,比河豚毒素的毒性高 100 倍,对人类健康构成极大威胁。每年都有误食带毒野生石斑鱼等深海鱼而中毒的事件发生。因此开展雪卡毒素的高精度痕量检测技术研究具有重要现实意义。

目前雪卡毒素的检测方法主要有几类:(1)喂养试验:使用小鼠等动物进行生物毒性实验<sup>[4]</sup>;(2)免疫试验:放射性免疫测定法(radioimmunoassay, RIA)<sup>[5]</sup>,膜免疫株试验法(membrane immunobead assay, MIA)<sup>[6]</sup>以及酶联免疫法(enzyme-linked immunoassay, ELISA)<sup>[7]</sup>;(3)细胞毒性试验:使用小鼠神经母细胞瘤

细胞(neuro-2a)<sup>[8]</sup>;(4)化学分析试验:高效液相色谱串联质谱法<sup>[9,10]</sup>。其中喂养试验消耗大量的毒素提取物,耗时、灵敏度低、重现性差;而免疫法会有较高的假阳性结果出现,影响诊断的准确性;细胞毒性检测的灵敏度在相当程度上依赖于受试细胞的恒定性;而前 3 种方法均不能确定毒素具体成分。LC-MS/MS 的灵敏度高,特异性强,利用其进行分析可提高检测的准确度。然而目前多数研究<sup>[11-13]</sup>主要报道 P-CTX-1 的分析测定方法,所检测的化合物种类单一,但除 P-CTX-1 外,其他 CTXs 亦会存在于鱼肉并导致雪卡鱼类中毒。最近本研究团队采用加速溶剂萃取法(accelerated solvent extraction, ASE)对鱼肉中的 P-CTX-1、P-CTX-2、P-CTX-3 进行检测,回收率较好<sup>[11]</sup>,但是 ASE 法不能同时批量处理样品导致实验过程耗时长,实验操作繁琐,且 ASE 方法的设备成本高。然而平行振荡萃取法(parallel shaking extraction, PSE)通过高速振荡使样品与溶剂充分接触,促使目标物从基体分离进入到萃取相中,可以实现分析物的快速、高效提取,该萃取方法操作简便、设备成本低,耗时短,因此本研究建立了一种平行振荡方法萃取珊瑚鱼鱼肉中的 P-CTXs,并采用高效液相色谱-电喷雾串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)同时测定 P-CTX-1、P-CTX-2、P-CTX-3 残留量的分析方法,样品采用平行振荡萃取方法提取,C18 固相萃取柱净化后,有效降低样品基质效应,提高灵敏度,该方法可同步快速检测 3 种 P-CTXs,耗时短,结果重现性好,检测限低。

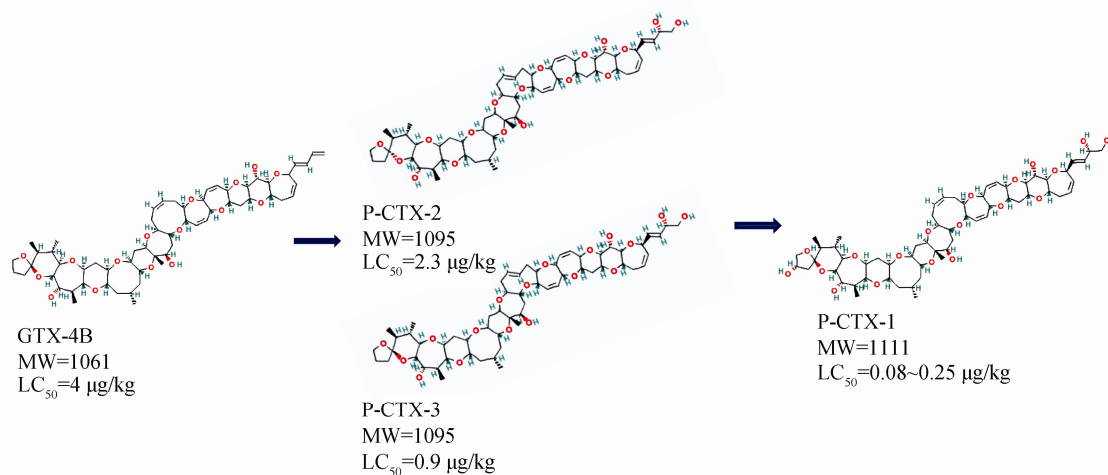


图 1 P-CTXs 的生物转化过程

Fig. 1 Biotransformation processes of P-CTXs

## 2 材料和方法

### 2.1 仪器与试剂

API5500 型四级杆串联质谱仪配电喷雾离子源(美国 ABSciex 公司), 与 Agilent 1290 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); Phenomenex Kinetex C18 色谱柱(100 mm×2.1 mm i.d., 1.7 μm, 美国 Phenomenex 公司); 平行振荡器; 20 位固相萃取装置(美国 Waters 公司); C18 固相萃取柱(500 mg, 6 mL, 美国 Agilent 公司); 漩涡振荡混合器(美国 Thermo 公司); Sigma 冷冻离心机(最大转速 14000 r/min, 美国 Sigma 公司); TurboVap LU 型吹氮浓缩仪(Caliper lifeSciences 公司); Gilson 移液器(可调范围: 10~100 μL、20~200 μL、10~1000 μL、1000~5000 μL, 法国 Gilson 公司)

P-CTX-1 由香港城市大学海洋污染国家重点实验室采集于基里巴斯共和国的海鳗内脏提取并纯化所得(纯度 95%)、P-CTX-2 及 P-CTX-3 标准品由澳大利亚昆士兰大学 Richard J. Lewis 教授提供(纯度为>95%)。甲醇、乙腈、甲酸为 HPLC 纯, 购自德国 Merck 公司和美国 Sigma 公司; 氯化钠、甲酸铵为 HPLC 纯(Sigma 公司); 三氯甲烷为 HPLC 纯(韩国 DukSAN 公司); 实验用水均为 Millipore 纯水系统(美国 Millipore 公司)制得的高纯水。

### 2.2 标准溶液的配制

准确称取各标准物质于样品瓶中, 加入少量甲醇, 待完全溶解后转移到 10 mL 棕色容量瓶, 并用溶

剂定容至刻度, 配制成浓度为 1.0 μg/mL 的单标储备液。储备液均置于-30 °C 避光保存。移取各单标储备液配制成混合标准工作液, 并按需要逐级稀释。

### 2.3 色谱-质谱条件

色谱条件如下: C18 色谱柱(100 mm×2.1 mm i.d., 1.7 μm); A 相: 水+2 mmol/L 乙酸铵(含 0.1%甲酸); B 相: 95%乙腈+2 mmol/L 乙酸铵(含 0.1%甲酸)。色谱流速为 200 μL/min, 柱温为 30 °C, 进样体积为 10 μL。线性梯度洗脱, 洗脱程序见表 1<sup>[11]</sup>。

质谱条件如下: 正离子模式(ESI<sup>+</sup>)下喷雾电压为 5500 V, 雾化气压力 207 kPa(GS1, 30 psi), 去溶剂气压力 276 kPa(GS2, 40 psi), 碰撞气压力为 62.1 kPa(CAD, 9psi), 离子源温度为 400 °C。具体质谱参数见下表 2 所示<sup>[11]</sup>。

表 1 流动相梯度洗脱程序表  
Table 1 Gradient elution procedure of mobile phase

时间/分钟(time/min)	A (%)	B (%)
0.0	50.0	50.0
1.0	50.0	50.0
2.0	0.0	100.0
10.0	0.0	100.0
10.1	50.0	50.0
15.0	50.0	50.0

表 2 3 种 P-CTXs 的定性/定量离子对、保留时间和优化的质谱参数  
Table 2 Qualitative/quantitative ion pair, retention time and mass parameters of the 3 P-CTXs

编号 No.	化合物 Compound	离子对 Q1/Q3 ( <i>m/z</i> )	保留时间 (min)	去簇 电压(V)	碰撞气 能量(eV)	EP 值	碰撞室 出口电压(V)
1	P-CTX-1	1128.4/1075.5*	3.2	51	29	10	24
		1128.4/1093.5		51	27	10	28
		1128.4/1057.5		51	31	10	16
		1128.4/1039.5		51	35	10	34
2	P-CTX-2	1112.7/1077.8*	3.9	51	25	10	20
		1112.7/1059.8		105	30	10	20
		1112.7/1041.8		105	30	10	20
3	P-CTX-3	1112.7/1077.8*	4.1	51	25	10	20
		1112.7/1059.8		105	30	10	20
		1112.7/1041.8		105	30	10	20

\*为定量离子对。

## 2.4 样品前处理

将鱼肉搅碎, 称取样品 5 g(精确至 0.01 g), 经冻干后充分碾碎于 50 mL 螺旋盖聚丙烯离心管, 加入 15 mL 甲醇, 涡旋混匀 1 min 后, 置于平行振荡器下 210 r/min 速度提取 15 min, 在 4 °C、14000 r/min 下离心 5 min。收集上清液, 残渣再加 15 mL 甲醇, 重复提取 1 次, 合并两次的提取液, 将所有提取液转移至圆底烧瓶, 40 °C 减压蒸发至干。残余物用 5.0 mL 甲醇和 4.5 mL 水充分溶解, 将溶液加入预先用 15 mL 乙腈、15 mL 甲醇和 10 mL 水活化过的 C18 柱, 弃去流出液; 用 6.5 mL 65% (v:v) 甲醇-水淋洗后抽干, 再用 15 mL 乙腈洗脱; 洗脱液于 40 °C 下氮吹浓缩至干; 准确加入 200  $\mu$ L 甲醇溶液, 涡旋混匀, 过 0.22  $\mu$ m 有机膜, 上机测定。

## 3 结果讨论

### 3.1 提取溶剂的选择

P-CTXs 是一类脂溶性的大分子聚醚神经毒素, 文献报道<sup>[11-13]</sup>常用甲醇、丙酮等有机溶剂来提取基质样品中的 P-CTXs。于是本实验考察了甲醇、丙酮、乙腈和乙酸乙酯这 4 种溶剂对 P-CTXs 的提取效果。鱼肉的水份含量会根据鱼种及其保存方法出现差异, 因此鱼肉需于提取前进行冻干, 以确保其水份不会影响溶剂的极性, 以致分析结果的准确度。实验过程在 5 g 冻干的鱼肉样品中添加 0.1 ng/g 的 P-CTXs 标准品, 结果见图 2。由此可见, 对于 3 种 P-CTXs 而

言, 甲醇的提取效果最好, 因此实验中选择甲醇作为提取溶剂。

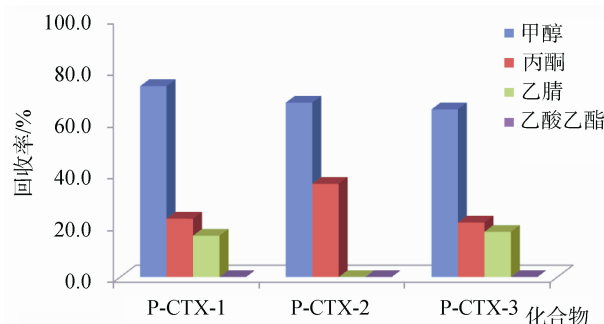


图 2 不同有机溶剂对 P-CTXs 回收率的影响

Fig. 2 Effects of different organic solvents on the recoveries of P-CTXs

### 3.2 加速溶剂萃取法与平行振荡法的提取性能比较

ASE 是一种施加较高的温度和(或)压力来提高溶剂沸点、增加溶剂与样品接触面从而实现快速高效提取的技术, 然而 ASE 不能批量处理样品导致实验过程耗时长。平行振荡萃取法通过高速振荡使样品与溶剂充分接触, 促使目标物从基体分离, 进入到萃取相中, 从而实现分析物的快速、高效提取。目前已有不少文献广泛报导以平行振荡萃取法提取鱼类中不同污染物如孔雀石绿残留及全氟化合物<sup>[14,15]</sup>。本研究利用较早前进行 ASE 方法验证的相同批次的鱼肉, 考察了平行振荡提取的回收率, 并与文献<sup>[11]</sup>中报道

的 ASE 方法进行了提取效果的比较。采用 ASE 方法得到鱼肉中 P-CTX-1、P-CTX-2、P-CTX-3 回收率分别为 81%、70%、62%，而本实验采用平行振荡提取方法，结果 P-CTX-1、P-CTX-2、P-CTX-3 回收率分别为 72.9%~81.0%、63.0%~77.9%、46.3%~69.5%。从结果可知，利用 ASE 方法及平行振荡萃取法得到的 P-CTX-1、P-CTX-2、P-CTX-3 回收率相对接近，但通过平行振荡萃取法所得的相对标准偏差稍高一些。而利用两种检测方法对阳性海鳗进行分析后，发现 P-CTX-1 残留含量分别为(11.0±3.80)及(9.26±6.84) ng/g，可见两种方法的有效性及准确性大致相同。可是，采用 ASE 方法的设备成本高、且不能同时批量处理样品，而平行振荡提取方法操作简便、设备成本低、耗时短。再者，ASE 方法在较高的温度和(或)压力进行提取，除目标分析物外，其他杂质如色素、脂肪及蛋白质亦会一并被提取出来。通过平行振荡提取方法得到的提取液杂质较少，提取液于 4 °C 高速离心又可去除蛋白质，因此选择平行振荡方法作为 P-CTXs 的提取方法，可使 C18 固相萃取柱更有效地净化色素及脂肪，减弱基质效应。

### 3.3 色谱-质谱条件的优化

对实验中的色谱分离方法进行优化能获得分离重现性好、响应值高的测定信号。实验中采用梯度洗脱的方法来实现 3 种 P-CTXs 的分离。为了优化 P-CTXs 的质谱行为，实验中对流动相进行了研究，分别试验过以下流动相：(1)A 相：水+2 mmol/L 乙酸铵(含 0.1%甲酸)；B 相：95%乙腈+2 mmol/L 乙酸铵(含 0.1%甲酸)；(2)A 相：水(含 0.1%甲酸)；B 相：乙腈(含 0.1%甲酸)；(3)A 相：水；B 相：乙腈；(4)A 相：水+2 mmol/L 乙酸铵(含 0.1%甲酸)；B 相：甲醇(含 0.1%甲酸)；(5)A 相：水+2 mmol/L 乙酸铵(含 0.1%甲酸)；B 相：95%甲醇+2 mmol/L 乙酸铵(含 0.1%甲酸)。然后用混合标准溶液进行检测来优化色谱分离条件。结果表明，在正离子模式下，以 A 相：水+2 mmol/L 乙酸铵(含 0.1%甲酸)；B 相：95%乙腈+2mmol/L 乙酸铵(含 0.1%甲酸)作为流动相时响应值较高，基线背景影响较低。这是因为在正离子模式下，流动相中加入 0.1% 甲酸能够使 P-CTXs 在 ESI<sup>+</sup> 模式下有更好的电离效率，且加入乙酸铵溶液能够调整流动相的极性、改善化合物的峰形，使 P-CTXs 能更好地分离。P-CTX-2 及 P-CTX-3 属立体异构物，极性相约，均需以 100% B 相洗脱，纵使优化后的液相色谱梯度未能使其分离

度达到 1.5 以上，但优化后的色谱分离条件可保证更强的响应信号；然而当乙酸铵的浓度过高时，则会抑制目标化合物的响应信号。优化后得出的液相色谱梯度洗脱程序见表 1。对浓度为 1 ng/mL 的 3 种 P-CTXs 混合标准溶液进行了 LC-MS/MS 测定，结果 3 种 P-CTXs 均得到较为满意的响应信号和分离程度，图 3 为 1 ng/mL P-CTXs 混合标准溶液的总离子流图。

根据 3 种 P-CTXs 的结构特征，选择 ESI<sup>+</sup> 电离模式。通过一级质谱全扫描(full scan)，确定其准分子离子，再进行二级质谱扫描(product ion)确定其碎片离子，选择丰度较高的 3 个碎片离子作为定性与定量离子。优化质谱参数以提高质谱检测的灵敏度，包括去簇电压(declustering potential, DP)、碰撞能(collision energy, CE)以及碰撞室出口电压(collision cell exit potential, CXP)。采用 Analyst 1.5.2 软件，在各个离子保留时间的前后各 100 s 的时间窗口内采集该离子对，确保质谱方法的灵敏度和重现性。

### 3.4 分析方法的评价

#### 3.4.1 方法的线性范围、检出限和定量限

方法采用基质曲线-外标法定量，即用空白样品萃取液配制浓度分别为 0.0、1.0、5.0、10.0、25.0 和 50.0 ng/mL 的标准样品溶液，以定量离子峰面积对 3 种 P-CTXs 的浓度进行线性回归计算，所得相关系数均大于 0.999。根据 3 倍和 10 倍信噪比确定化合物的检出限(limits of determination, LODs)和定量限(limits of quantification, LOQs)，结果见表 3，重构离子色谱图见图 4。张缙等<sup>[12,13]</sup>采用全自动固相萃取/高效液相色谱-串联质谱法，其检出限及定量限分别为 0.01 及 0.02 ng/g。由此可见，本方法显示了更高灵敏度，检出限及定量下限均低于文献值及现有急性雪卡鱼中毒的食用安全标准(0.01 ng P-CTX-1/g)。

#### 3.4.2 标准加入回收实验和精密度实验

分别添加 0.05、0.10、0.50 ng/g 浓度水平考察方法的添加回收率和精密度，结果见表 4。总体回收率范围为 46.3%~81.0%，相对标准偏差范围为 2.1%~15.3%。

#### 3.4.3 实际样品检测

应用本方法对 5 份采购于市售野生的海鳗样品和 1 份采集于基里巴斯共和国海域的海鳗样品进行测定，结果显示，市售的海鳗鱼肉样品中均未检出 P-CTX-1、P-CTX-2、P-CTX-3 残留含量，而基里巴斯共和国海域的海鳗鱼肉样品中有检出 P-CTX-1、

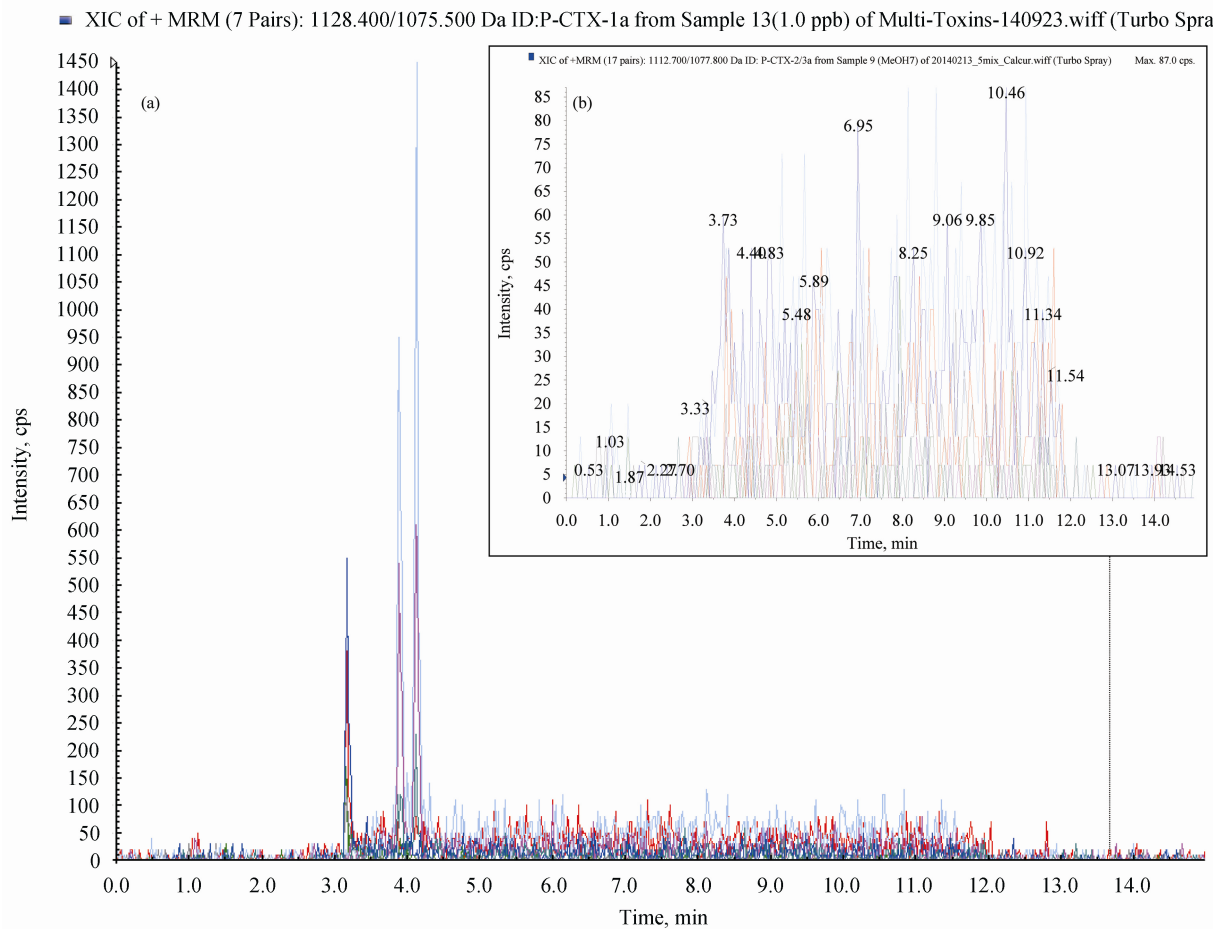


图 3 流动相优化的(a) P-CTXs 混合标准溶液及(b)空白总离子流图

Fig. 3 The total ion chromatograms of P-CTXs mixed standards obtained by the optimized mobile phases

表 3 鱼肉中 3 种 P-CTXs 的回归方程、线性范围、检出限及定量限

Table 3 Regression equations, linear range, LODs and LOQs of 3P-CTXs in fish muscle

编号	化合物	回归方程	相关系数( <i>r</i> )	线性范围(ng/g)	检出限(ng/g)	定量限(ng/g)
1	P-CTX-1	$Y=1.7 \times 10^3 X + 41.3$	0.9992	0~50.0	0.003	0.009
2	P-CTX-2	$Y=3.06 \times 10^3 X + 420$	0.9995	0~50.0	0.006	0.019
3	P-CTX-3	$Y=5.35 \times 10^3 X + 2640$	0.9994	0~50.0	0.005	0.017

表 4 鱼肉样品中回收率和精密度实验结果

Table 4 The results of the recovery and accuracy evaluation experiments (at concentration of 0.05 , 0.10 , 0.50 ng/g, *n* = 3) in fish muscle

编号	化合物	加标水(ng/g)	回收率(%)	相对标准偏差(%)
1	P-CTX-1	0.05	73.3~76.7	2.2
		0.1	72.9~77.0	2.7
		0.5	77.6~81.0	2.4
2	P-CTX-2	0.05	72.5~75.5	2.1
		0.1	67.8~75.4	2.1
		0.5	63.0~77.9	12.3
3	P-CTX-3	0.05	51.2~69.5	15.3
		0.1	51.3~57.0	6.1
		0.5	46.3~52.3	6.1

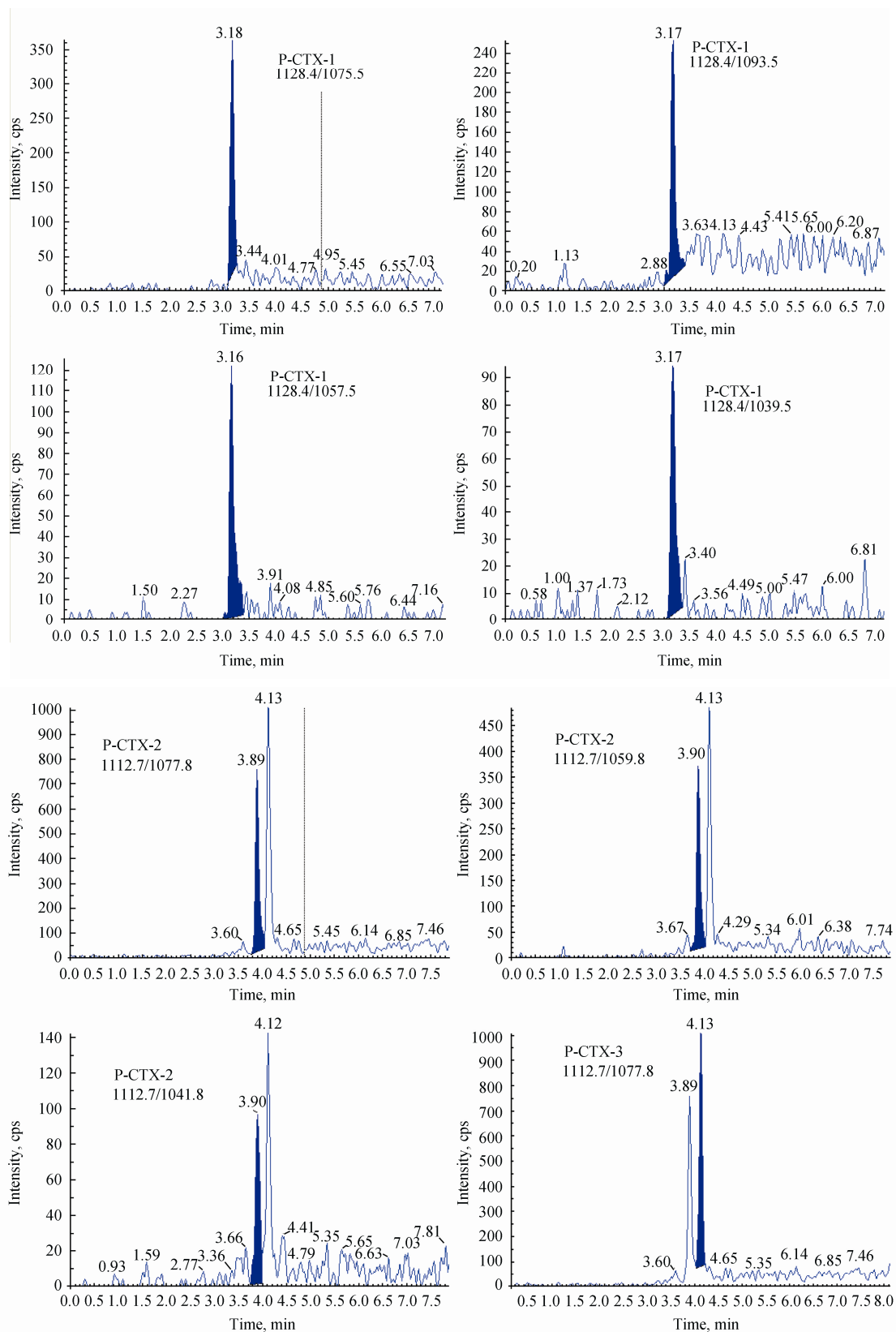
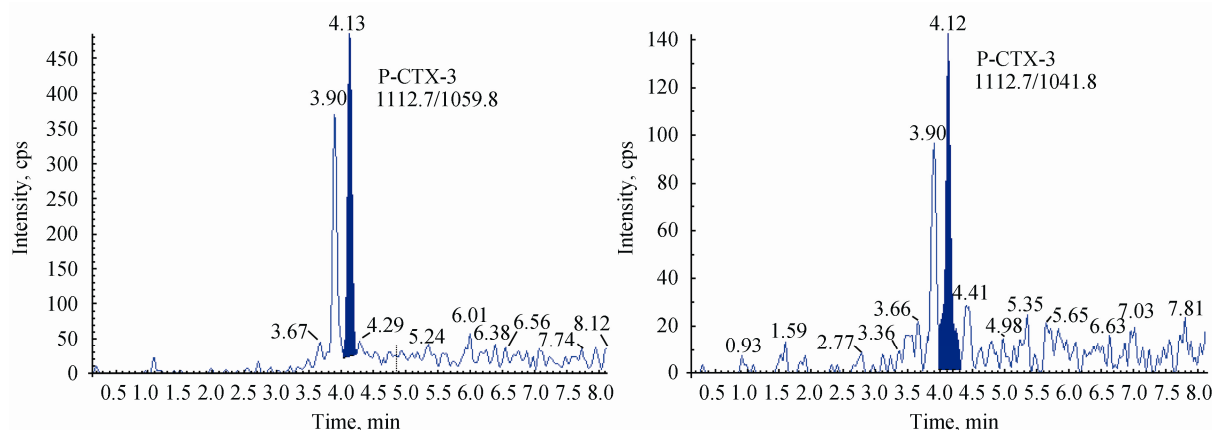


图 4 空白样品中添加 1.0 ng/mL P-CTX-1, P-CTX-2 和 P-CTX-3 的重构离子色谱图

Fig. 4 Chromatograms of P-CTX-1, P-CTX-2 and P-CTX-3 (concentration = 1.0 ng/mL) in extracts of non-ciguatotoxic fish muscle samples



续图 4

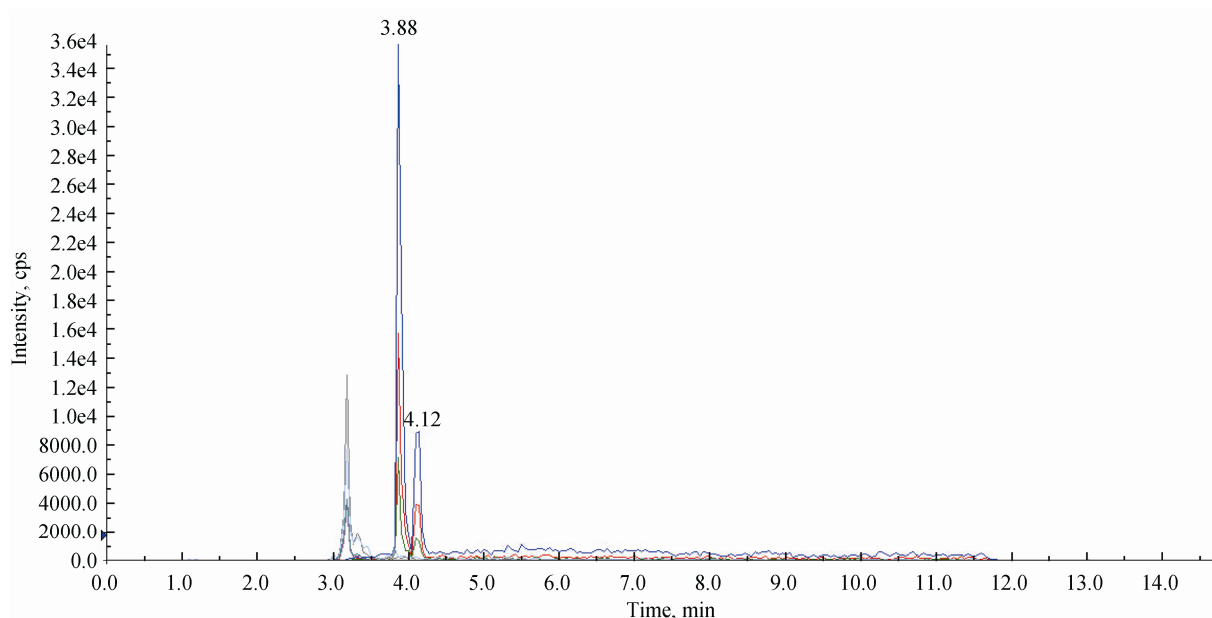


图 5 检出太平洋雪卡毒素的实际样品色谱图

Fig. 5 The chromatograms of P-CTXs in actual sample

P-CTX-2、P-CTX-3, 残留含量分别为 0.842、1.004 和 0.546 ng/g。有检出的样品色谱图见 5。

#### 4 结 论

本研究建立了平行振荡萃取方法提取珊瑚鱼肉中太平洋雪卡毒素 P-CTX-1、P-CTX-2、P-CTX-3, 并采用高效液相色谱-四级杆串联质谱法 (HPLC-MS/MS) 进行分析测定。实验中对样品的前处理方法进行了优化, 应用该方法能够同时快速测定珊瑚鱼鱼肉中 3 种太平洋雪卡毒素的痕量残留。与现有的残留分析方法相比, 该方法前处理过程快速、

操作简便, 灵敏度高、各项性能指标可满足残留分析要求。

#### 参考文献

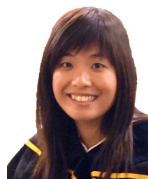
- [1] Lewis RJ. Origin and transfer of toxins involved in ciguatera [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1993, 106: 615–628.
- [2] Masahiro H, Oishi T, Uehara H, *et al.* Total synthesis of ciguatera toxin CTX3C [J]. *Science*, 2001, 294: 1904.
- [3] Arena P. Neuropsychologic effects in chronic ciguatera fish poisoning [J]. *Harmful Algae*, 2004, 3(1): 51–60.
- [4] Juranovic LR, Park DL. Foodborne toxins of marine origin: ciguatera [J]. *Rev Environ Contam Toxicol*, 1991, 117: 51–94.



- [5] Hokama Y, Banner AH, Boylan DB. A radioimmunoassay for the detection of ciguatoxin [J]. *Toxicon*, 1977, 15(4): 317–325.
- [6] Hokama Y, Takenaka WE, Nishimura KL, *et al.* A simple membrane immunobead assay for detecting ciguatoxin and related polyethers from human ciguatera intoxication and natural reef fishes [J]. *J AOAC Int*, 1998, 81(4): 727–735.
- [7] Campora CE, Hokama Y, Yabusaki K, *et al.* Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of ciguatoxin in fish tissue using chicken immunoglobulin [J]. *J Clin Lab Anal*, 2008, 22(4): 239–245.
- [8] Manger RL, Leja LS, Hungerford JM, *et al.* Detection of sodium channel toxins: directed cytotoxicity assays of purified ciguatoxins, brevetoxins, saxitoxins, and seafood extracts [J]. *J AOAC Int*, 1995, 78(2): 521–527.
- [9] Lewis RJ, Jones A, Vernoux JP. HPLC/tandem electrospray mass spectrometry for the determination of Sub-ppb levels of Pacific and Caribbean ciguatoxins in crude extracts of fish [J]. *Anal Chem*, 1999, 71(1): 247–250.
- [10] Lewis RJ, Yang AJ, Jones A. Rapid extraction combined with LC-tandem mass spectrometry (CREM-LC/MS/MS) for the determination of ciguatoxins in ciguateric fish flesh [J]. *Toxicon*, 2009, 54(6): 62–66.
- [11] Mak YL, Wu JJ, Chan WH, *et al.* Simultaneous quantification of Pacific ciguatoxins in fish blood using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2013, 405: 3331–3340.
- [12] 张缙, 徐敦明, 曾三妹, 等. 全自动固相萃取/高效液相色谱-串联质谱法(HP-LC-MS/MS)测定深海鱼中雪卡毒素残留量[J]. *分析测试学报*, 2013, 32(6): 710–714.  
Zhang J, Xu DM, Zeng SM, *et al.* Determination of ciguatoxin residues in deep sea fish by auto-spe/high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2013, 32(6): 710–714.
- [13] 刘红河, 刘桂华, 杨俊, 等. 高效液相色谱-电喷雾串联质谱法测定鱼体中雪卡毒素[J]. *分析化学*, 2009, 37(11): 1675–1678.  
Liu HH, Liu GH, Yang J, *et al.* High performance liquid chromatography coupled with electrospray tandem mass spectrometry for analysis of pacific ciguatoxin in fishes [J]. *Chin J Anal Chem*, 2009, 37(11): 1675–1678.
- [14] Loi EIH, Yeung LWY, Taniyasu S, *et al.* Trophic magnification of poly- and perfluorinated compounds in a subtropical food web [J]. *Environ Sci Technol*, 2011, 45: 5506–5513.
- [15] Martínez Bueno MJ, Herrera S, Ucles A, *et al.* Determination of malachite green residues in fish using molecularly imprinted solid-phase extraction followed by liquid chromatography-linear ion trap mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2010, 665: 47–54.

(责任编辑: 张宏梁)

### 作者简介



麦艳玲, 博士, 研究员, 主要研究方向为海洋毒素检测方法的优化、其在海产及食物网中的监测及对生态系统的影响机制等。

E-mail: yimlmak@cityu.edu.hk



陈荔, 博士, 研究员, 主要研究方向为藻毒素合成机制及对生态系统的影响。

E-mail: leochan@cityu.edu.hk