

# 超高效液相色谱-串联质谱法测定闽东地区织纹螺中河豚毒素

黄连琴\*

(宁德市产品质量检验所, 宁德 352100)

**摘要: 目的** 建立一种测定织纹螺中河豚毒素(tetrodotoxin, TTX)含量的超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)。**方法** 织纹螺样品用 1%乙酸水溶液提取, 0.5%乙酸甲醇溶液稀释, -18 °C 冷冻 10 min 后离心, 经亲水作用色谱柱分离, 乙腈-0.1%甲酸水溶液作为流动相梯度洗脱, UPLC-MS/MS 分析, 基质匹配标准曲线外标法定量。**结果** 该方法的检出限为 10 µg/kg, 定量限为 25 µg/kg, 满足欧洲食品安全委员会对双壳贝类和腹足类中河豚毒素安全限量值 44 µg/kg 的检测要求。在织纹螺中添加 50、100、250 µg/kg 河豚毒素进行加标回收试验, 河豚毒素回收率为 79.6%~118.1%, 相对标准偏差为(relative standard deviations, RSDs)为 7.7%~10.6% (n=6)。采用该方法测定闽东地区 14 份织纹螺样品, 最高检出河豚毒素 25.7 mg/kg。**结论** 该研究方法准确性高、成本低、操作性强, 能够满足当前批量定量检测织纹螺中河豚毒素含量的技术要求。

**关键词:** 河豚毒素; 织纹螺; 超高效液相色谱-串联质谱法

## Determination of tetrodotoxin in *Nassarius* of eastern Fujian by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

HUANG Lian-Qin\*

(Ningde Quality Inspection Institute of Product, Ningde 352100, China)

**ABSTRACT: Objective** To develop a method for the determination of tetrodotoxin (TTX) in *Nassarius* by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** The samples were extracted with 1% acetic acid aqueous solution, diluted with 0.5% acetic acid methanol solution, frozen at -18 °C for 10 min, and centrifuged, then separated by hydrophilic column, acetonitrile-0.1% formic acid aqueous solution as mobile phase gradient elution, analyzed by UPLC-MS/MS, and quantified by matrix matching standard curve with external standard method. **Results** The limit of detection and limit of quantitation were 10 and 25 µg/kg, respectively, which met the current action limit of 44 µg/kg for bivalves and gastropods enforced in the European Food Safety Commission. The method exhibited recoveries ranging from 79.6% to 118.1%, and the relative standard deviations (RSDs) was demonstrated ranging from 7.7% to 10.6% (n=6). This method was used to test 14 batches of *Nassarius* samples collected from east Fujian, the results of which were found to contain TTX at levels up to

基金项目: 福建省市场监督管理局科技项目(FJMS2019050)

Fund: Supported by the Science and Technology Project of Fujian Market Supervision Administration (FJMS2019050)

\*通信作者: 黄连琴, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品质量安全。E-mail: 645376318@qq.com

\*Corresponding author: HUANG Lian-Qin, Master, Engineer, Ningde Quality Inspection Institute of Product, No.13 Zhengda Road, Dongqiao Economic Development Zone, Ningde 352100, China. E-mail: 645376318@qq.com

25.7 mg/kg. **Conclusion** The method has been found to be accurate, low-costed and practical, which can meet the current technical requirements of batch quantitative determination of TTX in *Nassarius*.

**KEY WORDS:** tetrodotoxin; *Nassarius*; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

## 0 引言

河豚毒素(tetrodotoxin, TTX)是一种毒性很强的神经性毒性物质,会导致人体出现恶心、呕吐等病症,重者会出现呼吸衰竭等现象,致死率高<sup>[1-2]</sup>。河豚毒素是在河豚中发现并以此命名<sup>[3]</sup>,随后在两栖动物和软体动物中也陆续发现,特别是在腹足类软体动物中已发现较高含量的河豚毒素<sup>[4-5]</sup>。研究发现,新西兰灰色侧鳃海蛞蝓(*Pleurobranchaea maculata*)中的河豚毒素含量最高达到 1414.0 mg/kg<sup>[5]</sup>。2007 年,中国连云港发现的半褶织纹螺(*Nassarius sinarum*)中河豚毒素含量达到 190 mg/kg<sup>[6]</sup>。河豚毒素通过腹足类软体动物的滤食性活动而富集在其体内,从而导致食用这些螺类产生河豚毒素中毒的风险不断加大<sup>[7]</sup>。

闽东地区近海腹足类软体动物分布广泛,不同品种的螺类为人们日常饮食佳品,特别是织纹螺,闽东地区俗称麦螺,其螺肉鲜美,曾经是地道的当地海鲜美食之一。但是,食用织纹螺导致中毒的事件时有发生<sup>[8-9]</sup>,有研究发现,织纹螺中含有高浓度的河豚毒素<sup>[6,10-11]</sup>。尽管国家卫生部已于 2012 年 07 月 20 日发布禁止销售和食用织纹螺的通知,但是闽东地区沿海各县居民难以抵抗织纹螺肉的鲜美,认为洗净的织纹螺安全可食,当地仍然存在摆摊售卖、吃食织纹螺的现象,中毒事件时有发生。因此,针对闽东地区织纹螺中河豚毒素污染情况的调查研究十分重要。从而需要建立一种准确有效的织纹螺中河豚毒素检测方法,以满足批量定量检测织纹螺中河豚毒素含量的技术要求。

传统的河豚毒素检测方法有小鼠生物法、柱前/柱后衍生-液相色谱-荧光检测法、受体结合法等<sup>[12]</sup>。液相色谱-串联质谱法定量分析河豚毒素具有较好的灵敏性和特异性<sup>[13]</sup>。但是,现行有效标准 GB 5009.206—2016《食品安全国家标准 水产品中河豚毒素的测定》第二法液相色谱-串联质谱法适用于河豚鱼肌肉及脏器组织中河豚毒素的测定。由于标准的适用范围未包括腹足类软体动物,而且标准方法前处理采用免疫亲和柱净化,过程复杂、成本高。因而标准方法不适用于研究调查中织纹螺样品河豚毒素的批量筛查。所以建立一种快速有效的织纹螺中河豚毒素检测方法十分必要。

现有的河豚毒素液相色谱-质谱法测定过程中的前处理技术复杂、耗时长、成本高,难以满足批量织纹螺样品的快速检测需要。研究表明,河豚毒素是低分子量杂环化合物,具有水溶性及热稳定性<sup>[14]</sup>,用醋酸甲醇溶液或醋酸水溶液

提取效果好<sup>[15]</sup>。因此,本研究通过优化织纹螺样品中河豚毒素提取的前处理过程,采用 1%乙酸水溶液提取织纹螺样品中的河豚毒素,然后用 0.5%乙酸甲醇溶液稀释并使蛋白变性沉淀,配合超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)分析,建立一种准确有效的织纹螺中河豚毒素检测方法,以满足当前闽东地区调查研究中批量定量检测织纹螺中河豚毒素含量的技术要求。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

LC-30AD 高效液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司); Triple Quad 5500 质谱仪(美国 AB 公司); ME204E 电子天平(精度 0.1 mg, 梅特勒-托利多仪器有限公司); KQ-500DE 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 3-18K 高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司); VORTEX-5 振荡涡旋器(济南千司生物技术有限公司); S18-A928 组织粉碎机(九阳股份有限公司); UPT-II-10T 超纯水机(成都超纯科技有限公司); BCD-527WDPC 冰箱(海尔股份有限公司)。

河豚毒素标准储备溶液(纯度≥98%, 浓度 100 mg/L)、乙腈、甲醇、乙酸、甲酸(色谱纯)(上海安谱科技公司); 0.22 μm 尼龙过滤膜(北京迪马科技有限公司); 纯净水(屈臣氏个人护理用品商店)。

河豚毒素标准储备溶液用纯水稀释成 1 μg/mL 中间溶液。提取液用 1 mL 乙酸和 99 mL 纯水配制,稀释溶液用 0.5 mL 乙酸和 99.5 mL 甲醇配制。

### 1.2 样品来源

于 2021 年 5 月采集闽东地区 14 份织纹螺样品,样品来源如表 1 所示。

表 1 闽东地区织纹螺样品来源信息  
Table 1 Information on the origin of *Nassarius* samples from eastern Fujian

织纹螺样品编号	采样地区	织纹螺样品编号	采样地区
1#	福鼎秦屿	8#	福安溪尾
2#	福鼎沙垵	9#	霞浦溪南
3#	福鼎秦屿	10#	福安下白石
4#	福鼎沙垵	11#	福安下白石
5#	福鼎秦屿	12#	霞浦三沙
6#	蕉城飞鸾	13#	蕉城二都
7#	蕉城飞鸾	14#	霞浦下浒

### 1.3 样品前处理

取 500 g 织纹螺用清水洗净,用钳子小心钳裂外壳,取出可食部分,收集所有样品组织,均质匀浆,作为待分析试样。

称取上述试样 1 g 左右(精确至 0.01 g)于 50 mL 聚丙烯离心管中,准确加入 10 mL 1%乙酸水溶液,充分振荡涡旋 1 min,然后再 60 °C 超声 20 min,4000 r/min 离心 5 min。准确移取 2.0 mL 上清液到 50 mL 聚丙烯离心管中,并加入 8.0 mL 的 0.5%乙酸甲醇溶液,充分振荡涡旋 1 min,-18 °C 冷冻 10 min,4000 r/min 离心 5 min,上清液过尼龙膜,置于棕色进样品中,当天上机。

### 1.4 标准工作溶液配制

溶剂标准工作溶液:分别准确移取适量的 1 μg/mL 河豚毒素标准中间溶液,用 0.5%乙酸甲醇溶液逐级稀释,配制成 0.5、2、5、10、20、50 ng/mL 的河豚毒素溶剂标准工作溶液。

织纹螺基质标准工作溶液:分别准确移取适量的 1 μg/mL 河豚毒素标准中间溶液,用阴性织纹螺样品按照 1.3 样品前处理得到阴性织纹螺基质溶液。利用阴性织纹螺基质溶液逐级稀释,配制成 0.5、2、5、10、20、50 ng/mL 的河豚毒素织纹螺基质标准工作溶液。

### 1.5 色谱质谱条件

#### 1.5.1 色谱条件

Waters AQUITY UPLC BEH HILIC 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 进样体积 2.00 μL; 柱温箱温度 40 °C; 流速为 0.25 mL/min; 流动相: A 为 0.1%甲酸水溶液, B 为乙腈。洗脱条件: 0~2.0 min, 98% B; 2.0~5.0 min, 98%~50% B; 5.0~6.0 min, 50% B; 6.0~6.5 min, 50%~98% B; 6.5~8.5 min, 98% B。

#### 1.5.2 质谱条件

气帘气: 35.0 psi; 离子喷雾电压: 5500.0 V; 离子源温度: 500.0 °C; 辅助气: 50.0 psi; 辅助气: 55.0psi; 碰撞气: 9.0 psi; 去簇电压: 90.0 psi; 入口电压: 10.0 psi; 碰撞室出口电压: 14.0 psi; 定量离子对  $m/z$  320.2/302.0 和定性离子对  $m/z$  320.0/162.0 的碰撞能分别为 35.0 和 51.0 eV。

## 2 结果与分析

### 2.1 提取条件的优化

河豚毒素是低分子量杂环化合物,具有水溶性及热稳定性<sup>[14]</sup>。研究报道显示,采用 1%、3%的乙酸甲醇溶液、0.1%的乙酸水溶液对织纹螺中河豚毒素提取效果较好<sup>[11,16-18]</sup>。织纹螺提取液中主要基质干扰来源是蛋白质、色素、盐等。鉴于河豚毒素具有水溶性的特点,1%乙酸水溶液提取效果较好。但是,孙博伦等<sup>[16]</sup>在研究中表明,乙

酸水溶液提取织纹螺肉时会提取出部分蛋白质成分,对仪器检测造成干扰,基质效应大。因此,本研究在 1%乙酸水溶液提取后,结合 0.5%乙酸甲醇稀释,能够有效去除蛋白质干扰。在此基础上,本研究比较了不同超声时间和温度对河豚毒素提取效果的影响。结果表明,20 °C 5 min 条件下,100 μg/kg 添加回收率结果为 69.5% ( $n=3$ ); 60 °C 20 min 条件下,100 μg/kg 添加回收率结果为 89.5% ( $n=3$ ); 100 °C 60 min 条件下,100 μg/kg 添加回收率结果为 119.4% ( $n=3$ )。结果说明提高超声时间和温度,河豚毒素添加回收率提高。但是,时间太长、温度过高,提取后的基质溶液更复杂,对仪器检测干扰大。并且在基质效应干扰下,河豚毒素的保留时间会延迟到 5.6 min 左右。另外,时间长温度高提取成本也比较大。因此,本研究采用 60 °C 超声 20 min 对织纹螺中河豚毒素进行提取,即可满足实验要求。

### 2.2 净化条件的优化

#### 2.2.1 提取液稀释倍数的优化

方力等<sup>[17]</sup>研究报道,0.1%乙酸水溶液沸水浴提取并结合亲水亲油平衡填料(hydrophile-lipophile balance, HLB)和石墨化碳黑(graphitized carbon black, GCB)粉末净化,能够有效地提取织纹螺中的河豚毒素。王兴龙等<sup>[18]</sup>研究表明,1%乙酸甲醇提取并结合 80%甲醇溶液稀释,对织纹螺中河豚毒素的提取效果较好。孙博伦等<sup>[16]</sup>研究报道,1%乙酸甲醇溶液提取结合多壁碳纳米管净化,加标回收率在 83.7%~91.4%之间。刘琳琳<sup>[9]</sup>研究中采用 3%乙酸甲醇溶液提取并结合混合型阳离子交换固相萃取小柱(mixed cation exchange, MCX)净化,能够有效提取织纹螺中的河豚毒素。本研究中样品经 1%乙酸水溶液提取,结合 0.5%乙酸甲醇稀释和冷冻静置 10 min 后离心,能够有效去除蛋白质干扰。本研究采用公式(1)对基质效应进行评估<sup>[19]</sup>。%ME=100%表示基质效应不明显;%ME<100%表示基质抑制作用,值越小表示基质抑制作用越大;%ME>100%表示基质增强作用,值越大表示基质增强作用越大。结果表明,提取液稀释 5 倍条件下,100 μg/kg 添加回收率结果为 101.8% ( $n=3$ ); 提取液稀释 10 倍条件下,100 μg/kg 添加回收率结果为 91.3% ( $n=3$ ); 提取液稀释 20 倍条件下,100 μg/kg 添加回收率结果为 89.5% ( $n=3$ )。添加回收率结果均在满意范围。表 2 结果显示,稀释倍数越大,基质抑制作用越小。但是稀释倍数越大,相应的方法灵敏度也同时降低。该研究采用基质标准曲线以消除基质效应。因此,综合考虑方法灵敏度与稳健性,将提取液稀释倍数设为 5 倍,以保证实验结果的可靠性。

$$\%ME = \frac{\text{基质标准曲线线性回归方程的斜率}}{\text{溶剂标准曲线线性回归方程的斜率}} \times 100\% \quad (1)$$

#### 2.2.2 冷冻时间的优化

MCNABB 等<sup>[12]</sup>研究表明,提取液甲醇稀释后沉淀蛋白需在冷冻条件下放置至少 1 h。为了达到快速提取的效

果, 本研究比较了冷冻 10、60 min 及冷冻过夜条件下, 蛋白去除效果。结果表明, 3 种条件下, 基质效应没有显著差异, 结果见表 3。因此, 提高冷冻时间并没有达到更好除蛋白的效果。因此, 为了达到快速提取的效果, 该研究将冷冻时间设为 10 min。

### 2.3 方法线性范围、方法定量限和检出限

该研究采用外标法基质标准曲线定量, 线性范围为 0.5~50.0 ng/mL。结果表明, 该方法线性关系良好, 相关系数  $r^2 \geq 0.999$ 。采用空白基质加标 10 和 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 空白基质液和空白基质加标 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式下的总离子色谱图(total ion chromatogram, TIC)图谱见图 1。空白基质中目标物出

峰处有杂峰干扰, 但是通过对定性离子与定量离子的占比可以排除杂峰干扰。以被测化合物的响应值信噪比大于 3 时所对应的含量作为检测限, 信噪比大于 10 作为定量限。加标水平为 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  时, 定量离子对信噪比为 33.1, 定性离子对信噪比为 8.6, 均大于 3; 加标水平为 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$  时, 定量离子对信噪比为 44.3, 定性离子对信噪比为 18.8, 均大于 10。结果表明, 本研究所建立的方法中河豚毒素检出限和定量限分别为 10 和 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。根据欧洲食品安全委员会(European Food Safety Authority, EFSA)规定, 双壳贝类和腹足类中河豚毒素安全限量值为 44  $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[20]</sup>。根据该限量指标要求, 本方法定量限和检出限均能够满足检测需要。

表 2 不同基质溶液和溶剂中标准曲线线性回归方程和基质效应

Table 2 Standard curve linear regression equation in different matrix solutions and solvents and matrix effects

基质溶液和溶剂	回归方程(相关系数 $r^2$ )	基质效应/%
5 倍稀释基质	$Y=13209.10399X+5948.59854, r^2=0.99976$	39.6
10 倍稀释基质	$Y=18958.44117X+139.53432, r^2=0.99954$	56.8
20 倍稀释基质	$Y=25564.82621X-3576.13278, r^2=0.99932$	76.6
溶剂(0.5%乙酸甲醇)	$Y=3.33821e4X-3542.97507, r^2=0.99996$	100.0

表 3 不同冷冻时间条件下基质标准曲线线性回归方程和基质效应

Table 3 Matrix standard curve linear regression equations and matrix effect under different freezing time

冷冻时间	回归方程(相关系数 $r^2$ )	基质效应/%
冷冻 10 min	$Y=13209.10399X+5948.59854, r^2=0.99976$	39.6
冷冻 60 min	$Y=12818.14553X+9790.31639, r^2=0.99720$	38.4
冷冻过夜	$Y=13502.16534X+5576.61359, r^2=0.99922$	40.4

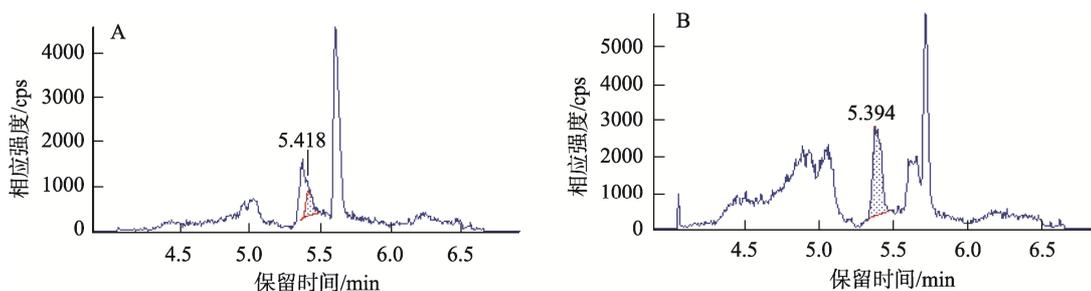


图 1 空白基质溶液(A)和空白基质加标(B)在 MRM 模式下的 TIC 图谱  
Fig.1 TIC spectra in blank matrix (A) and spiked blank matrix (B) in MRM mode

### 2.4 方法回收率和精密度

分别称取 18 份河豚毒素阴性的织纹螺样品, 分成 3 组, 分别加入适量的河豚毒素标准工作溶液, 使得每组样品中河豚毒素的加标量分别为 50、100、250  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。加标样品按照上述步骤进行提取, UPLC-MS/MS 测定, 基质匹配标准工作溶液进行定量。用河豚毒素阴性的织纹螺均质

样品进行回收率和室内精密度试验, 在添加水平为 50、100 和 250  $\mu\text{g}/\text{kg}$  时, 河豚毒素的回收率范围在 79.6%~118.1% 之间, 相对标准偏差在 7.7%~10.6% ( $n=6$ ) 之间。该方法的加标回收率和实验室内精密度符合 GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》中的相关规定, 能够满足检测需要。

## 2.5 闽东地区织纹螺样品的测定

应用该方法对闽东地区 14 份织纹螺样品河豚毒素含量进行测定, 检测结果见表 4。检测结果中有 3 份织纹螺样品中河豚毒素含量分别高达 25.7、6.50、和 1.35 mg/kg。另有 5 份织纹螺样品河豚毒素含量超过欧洲食品安全委员会规定的双壳贝类和腹足类中安全限量指标 44  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。织纹螺中河豚毒素超标率达到 57.1%, 检出率 84.6%。检出河豚毒素含量 25.7 mg/kg 的织纹螺样品 MRM 模式下的 TIC 图见图 2。河豚毒素保留时间在 5.420 min。目标峰左边有一个小峰, 推测可能为河豚毒素衍生物 4-epi TTX。TURNER 等<sup>[21]</sup>研究表明, TTX 和 4-epi TTX 具有相同的定量离子对( $m/z$  320.0/302.0)和定性离子对( $m/z$  320.0/162.0), 但是化学结构不同在色谱柱上的保留时间不一样。目前, 河豚毒素衍生物因为缺乏有证标准物质难以进行准确定量。TURNER 等<sup>[21]</sup>研究中采用河豚毒素检出值(25.1 $\pm$ 1.3)  $\mu\text{g}/\text{g}$  的阳性样品作为参照物进行定量。该研究中织纹螺河豚毒素最高检出值 25.7 mg/kg 可做后续河豚毒素衍生物研究使用。

表 4 闽东地区织纹螺样品中河豚毒素含量检测结果  
Table 4 Determined levels of tetrodotoxins in *Nassarius* samples

织纹螺样品编号	河豚毒素测定值/(mg/kg)	织纹螺样品编号	河豚毒素测定值/(mg/kg)
1#	25.7	8#	0.0679
2#	0.0721	9#	1.35
3#	<LOQ	10#	0.146
4#	0.191	11#	<LOQ
5#	6.50	12#	0.0862
6#	0.0355	13#	0.0411
7#	0.0426	14#	<LOQ

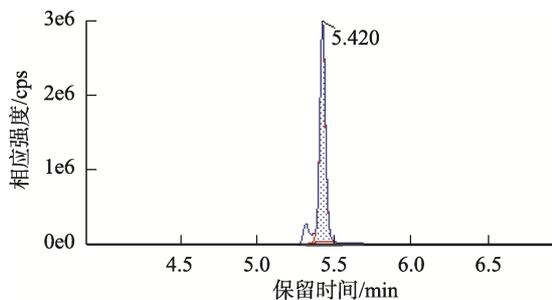


图 2 河豚毒素含量 25.7 mg/kg 的织纹螺样品 MRM 模式下 TIC 图谱

Fig.2 TIC spectra of *Nassarius* samples with the TTX levels of 25.7 mg/kg under MRM mode

## 3 结论与讨论

本研究建立了一种测定闽东地区织纹螺样品中河豚

毒素含量的 UPLC-MS/MS 检测方法, 织纹螺均质样品采用 1%乙酸水溶液提取, 提取液经过 0.5%乙酸甲醇稀释并使杂质蛋白变性, 冷冻沉淀蛋白, 离心后上清液过尼龙膜, 亲水作用色谱柱分离。与文献中固相萃取柱净化等方法相比, 该方法简化了净化步骤, 具有结果可靠、重现性好; 操作简单、低成本、省时高效的优点, 能够满足目前织纹螺样品中河豚毒素含量批量筛查的需要。

采用该方法对闽东地区 14 批次织纹螺样品中河豚毒素含量进行测定。结果检测出 3 份织纹螺样品中河豚毒素含量分别高达 25.7、6.5 和 1.35 mg/kg, 严重超出欧洲食品安全委员会对双壳贝类和腹足类中河豚毒素安全限量值的规定。虽然卫生部已明确规定禁止销售织纹螺。但是闽东地区沿海各县居民难以抵抗织纹螺肉的鲜美, 认为洗净的织纹螺安全可食, 当地仍然存在售卖、吃食织纹螺的现象, 中毒事件时有发生。因此, 针对闽东地区织纹螺中河豚毒素污染情况的调查研究十分重要。本研究采用的方法简单、高效、成本低, 适用于批量织纹螺样品中河豚毒素的检测。

该研究不足之处在于未考察织纹螺的肌肉和脏器组织中河豚毒素含量的分布特征。关于河豚毒素在织纹螺组织中的分布情况尚不清楚。已有研究对太平洋牡蛎中河豚毒素的分布情况进行报道<sup>[22]</sup>。后续研究将继续完善织纹螺样品制备方法, 去壳后将其肌肉组织和脏器组织进行有效地分离, 并对其各自的河豚毒素含量进行测定。研究织纹螺中河豚毒素的分布情况对分析河豚毒素的外源性和内源性产生机制具有一定的参考意义。

更进一步的研究旨在分析河豚毒素阳性样品中的多种河豚毒素衍生物, 并对其进行准确定量。研究表明, 河豚毒素存在多种衍生物, 但是大部分衍生物都缺乏有证标准物质<sup>[21]</sup>。因此, 难以对织纹螺阳性样品中的河豚毒素衍生物进行准确定量。该研究中, 织纹螺阳性样品中河豚毒素最高检出水平为 25.7 mg/kg。从该样品 MRM 模式的 TIC 色谱图上可以发现河豚毒素衍生物的存在。后续研究旨在对该样品中多种河豚毒素衍生物进行鉴定并准确定量。

## 参考文献

- [1] ALHATALI B, LAWATIA A, KHAMIS F, *et al.* A cluster of tetrodotoxin poisoning in Oman [J]. *Clin Toxicol*, 2021, 4(29): 1–5.
- [2] BANE V, LEHANE M, DIKSHIT M, *et al.* Tetrodotoxin: Chemistry, toxicity, source, distribution and detection [J]. *Toxins*, 2014, 6(2): 693–755.
- [3] OKABE T, SAITO R, YAMAMOTO K, *et al.* The role of toxic planoceric flatworm larvae on tetrodotoxin accumulation in marine bivalves [J]. *Aquat Toxicol*, 2021, 237(8): 105908.
- [4] ITOI S, SATO T, TAKEI M, *et al.* The planoceric flatworm is a main supplier of toxin to tetrodotoxin-bearing fish juveniles [J]. *Chemosphere*, 2020, 249: 126217.
- [5] WOOD SA, TAYLOR DI, MCNABB P, *et al.* Tetrodotoxin concentrations

- in *Pleurobranchaea maculata*: Temporal, spatial and individual variability from New Zealand populations [J]. *Mar Drugs*, 2012, 10(1): 163–176.
- [6] LUO X, YU RC, WANG XJ, *et al.* Toxin composition and toxicity dynamics of marine gastropod *Nassarius* spp. collected from Lianyungang, China [J]. *Food Addit Contam B*, 2012, 29(1): 117–127.
- [7] BIESSY L, BOUNDY MJ, SMITH KF, *et al.* Tetrodotoxin in marine bivalves and edible gastropods: A mini-review [J]. *Chemosphere*, 2019, 236(12): 124404.1–124404.10.
- [8] 卢嘉丽. 福建省双壳贝类中贝类毒素的检测技术、污染水平及膳食暴露评估研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2018.
- LU JL. Study on detection technology, pollution level and dietary exposure assessment of shellfish toxins in bivalve shellfish in Fujian province [D]. Fuzhou: Fujian Medical University, 2018.
- [9] 刘琳琳. 超高效液相色谱-串联质谱法检测织纹螺中多种海洋生物毒素的研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2016.
- LIU LL. Study on the detection of marine biotoxins in *Spirophilus chinensis* by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [D]. Fuzhou: Fujian Medical University, 2016.
- [10] 姚敬元, 金薇, 官长宝, 等. 我国近海河豚毒素的分布特征[J]. *海洋环境科学*, 2021, 40(2): 161–166.
- YAO JY, JIN W, GONG CB, *et al.* Distribution characteristics of tetrodotoxin in offshore China [J]. *Mar Environ Sci*, 2021, 40(2): 161–166.
- [11] 张晓艺, 张秀尧, 蔡欣欣, 等. 温州市织纹螺麻痹性贝类毒素和河豚毒素检测结果分析[J]. *预防医学*, 2019, 31(9): 936–939.
- ZHANG XY, ZHANG XY, CAI XX, *et al.* Analysis of paralytic shellfish poisons and tetrodotoxin in *Nassarius* [J]. *J Prev Med*, 2019, 31(9): 936–939.
- [12] MCNABB PS, TAYLOR DI, OGILVIE SC, *et al.* First detection of tetrodotoxin in the bivalve *Paphies australis* by liquid chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry with and without precolumn reaction [J]. *J AOAC Int*, 2014, 97(2): 325–33.
- [13] TURNER AD, MCNABB PS, TIM HD, *et al.* Single-laboratory validation of a multitoxin ultra performance LC-hydrophilic interaction LC-MS/MS method for quantitation of paralytic shellfish toxins in bivalve shellfish [J]. *J AOAC Int*, 2015, (3): 609.
- [14] HORT V, ARNICH N, T GUÉRIN, *et al.* First detection of tetrodotoxin in bivalves and gastropods from the French mainland coasts [J]. *Toxins*, 2020, 12(9): 599.
- [15] NORIYOSHI T, MARI YY. Selective blocking effects of 4,9-anhydrotetrodotoxin, purified from a crude mixture of tetrodotoxin analogues, on NaV1.6 channels and its chemical aspects [J]. *Mar Drugs*, 2015, 13(2): 984–995.
- [16] 孙博伦, 王旭峰, 李来好, 等. 多壁碳纳米管固相萃取-超高效液相色谱串联质谱法测定织纹螺中河豚毒素[J]. *南方水产科学*, 2018, 14(5): 103–108.
- SUN BL, WANG XF, LI LH, *et al.* Determination of tetrodotoxin in *Spirophilus chinensis* by multi-wall carbon nanotubes solid phase extraction coupled with ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Southern Fish Sci*, 2018, 14(5): 103–108.
- [17] 方力, 邱凤梅, 余新威, 等. 基质分散固相萃取净化-亲水液相色谱-串联质谱法检测织纹螺与贝类中河豚毒素[J]. *中国食品卫生杂志*, 2017, 29(4): 434–438.
- FANG L, QIU FM, YU XW, *et al.* Determination of fluxotoxin in *Conchia solanum* by matrix dispersed-solid phase extraction coupled with hydrophilic liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Food Hyg*, 2017, 29(4): 434–438.
- [18] 王兴龙, 蔡强, 诸寅, 等. 直接稀释/超高效液相色谱-串联质谱法测定河豚鱼与织纹螺中 2 种河豚毒素[J]. *分析测试学报*, 2020, 39(5): 640–645.
- WANG XL, CAI Q, ZHU Y, *et al.* Determination of two tetrodotoxins in pufferfish and *Spirophilus chinensis* by direct dilution/ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Anal Test*, 2020, 39(5): 640–645.
- [19] PATRIA FP, PEKAR H, ZUBEROVIC-MURATOVIC A. Multi-toxin quantitative analysis of paralytic shellfish toxins and tetrodotoxins in bivalve mollusks with ultra performance hydrophilic interaction LC-MS/MS-An in-house validation study [J]. *Toxins*, 2020, 12(7): 452.
- [20] KNUTSEN HK, ALEXANDER J, BARREGRD L, *et al.* Risks for public health related to the presence of tetrodotoxin (TTX) and TTX analogues in marine bivalves and gastropods [J]. *EFSA J*, 2017, 15(4): e04752.
- [21] TURNER AD, BOUNDY MJ, RAPKOVA MD. Development and single-laboratory validation of a liquid chromatography tandem mass spectrometry method for quantitation of tetrodotoxin in mussels and oysters [J]. *J AOAC Int*, 2017, 100(5): 1469–1482.
- [22] DHANJI-RAPKOVA M, TURNER AD, BAKER-AUSTIN C, *et al.* Distribution of tetrodotoxin in pacific oysters (*Crassostrea gigas*) [J]. *Mar Drugs*, 2021, 19(2): 84.

(责任编辑: 郑 丽 张晓寒)

## 作者简介



黄连琴, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品质量安全。

E-mail: 645376318@qq.com