

实验技术与方法

固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定贝类中的脂溶性贝类毒素

陈剑刚¹,朱炳辉²,梁素丹¹,张瑰¹,吴西梅²

(1. 珠海市疾病预防控制中心, 广东 珠海 519060; 2. 广东省疾病预防控制中心, 广东 广州 511430)

摘要:目的 建立了测定贝类中大田软海绵酸(OA)、鳍藻毒素(DTX₁、DTX₂)、紫贻贝毒素(YTX)、原多甲藻酸贝毒素(AZA₁)、螺环内酯毒素(SPX₁)6种脂溶性贝类毒素的固相萃取-高效液相色谱-串联质谱方法。方法 匀浆贝类组织,用80%甲醇提取,Strata™-X固相萃取小柱净化,0.3%氨水甲醇溶液洗脱,离心超滤管离心纯化。采用XTerra® MS C₁₈柱(150 mm×2.1 mm,35 μm)分离,以含6.7 mmol/L氨水的90%乙腈-水溶液为流动相进行梯度洗脱,选择多反应监测模式检测,正、负离子切换扫描,基质标准校正外标法定量。结果 6种脂溶性贝类毒素的定量限为0.2~1.0 μg/kg,在相应浓度范围内线性良好,相关系数均>0.995;低、中、高3个添加水平的平均加标回收率在78.8%~116%之间;相对标准偏差(RSD)为3.8%~14.5%。应用建立的方法对多份贝类样品进行分析,均未检出目标组分。结论 方法选择性、灵敏性和准确度高,适用于贝类产品中脂溶性贝类毒素的确诊及定量分析。

关键词:液相色谱-串联质谱法;脂溶性贝类毒素;固相萃取;贝;毒素;食品;食品安全

中图分类号:R155;O657.63;O657.7 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2015)06-0624-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2015.06.005

Determination of lipophilic marine toxins in shellfish by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with solid phase extraction

CHEN Jian-gang, ZHU Bing-hui, LIANG Su-dan, ZHANG Gui, WU Xi-mei

(Zhuhai Center for Disease Control and Prevention, Guangdong Zhuhai 519000, China)

Abstract: Objective A solid-phase extraction coupled to high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) was developed for determination of six lipophilic marine toxins, including OA, DTX₂, YTX, DTX₁, AZA₁ and SPX₁ in shellfish. **Methods** Homogenised tissues were extracted twice with 80% methanol in water, and resulting extracts were cleaned-upon Strata™-X solid phase extraction column and eluted with MeOH solutions containing 0.3% NH₄OH, followed by filtering through a ultra-filter centrifuge tube. The target components were separated and gradient eluted on a XTerra® MS C₁₈ column using mobile phases of MeCN/water and water, both phase containing 6.7 mmol/L NH₄OH, and simultaneously quantified by switching alternatively between positive ions and negative ions under multiple reactions monitoring mode. The matrix-matched external standard calibration were carried out for the quantitative analysis. **Results** The limits of quantification ranged from 0.2 to 1.0 μg/kg for six marine lipophilic toxins. The calibration curves were linear in the respective concentration ranges, with the correlation coefficients >0.995. The average recoveries for toxins at three concentration levels were 78.8%~116%, and their relative standard deviation varied between 3.8% and 14.5%. The method was applied to analyze several shellfish samples, but no one was positive. **Conclusion** The method developed was selective, sensitive and accurate, and was suitable for analysis and confirmation of marine lipophilic toxins in shellfish.

Key words: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; lipophilic marine toxins; solid phase extraction; shellfish; toxins; food; food safety

贝类毒素(shellfish toxin)是由海洋中的有毒藻类通过食物链传递给藻食性的鱼、贝类等生物,并

在其体内蓄积形成的有毒生物活性物质^[1],人进食了含藻源毒素的贝类便会引起中毒。贝类毒素的结构和理化性质存在很大差异,根据溶解性可分为脂溶性贝类毒素和水溶性贝类毒素,尤以前者毒性更大。脂溶性贝类毒素主要包括大田软海绵酸(OA)及其衍生物鳍藻毒素(DTX)、紫贻贝毒素(YTX)、原多甲藻酸贝毒素(AZA)、螺环内酯毒素

收稿日期:2015-06-08

基金项目:珠海市科技计划项目(2013D0401990022)

作者简介:陈剑刚 男 主任技师 研究方向为食品违禁药物风险
监测检验与环境职业有机物分析

E-mail: davidchenjg@sina.com

(SPX)等常见藻毒素,这些脂溶性毒素,可通过食物链在贝类体内蓄积,给消费者的健康带来潜在威胁,受到国际社会的关注^[2]。

脂溶性贝类毒素的检测方法主要采用生物测定法^[3]、高效液相色谱法(HPLC)^[4-5]及液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)^[5-8]。生物测定法只能测定毒性大小,无法确定毒素的具体成分及其含量,测定干扰因素也多。HPLC法需要经过柱前或柱后衍生以提高灵敏度,前处理步骤复杂,定性准确度也较差。LC-MS/MS法灵敏度高、可同时进行确证及定量,已成为贝类产品中海洋生物毒素检测的首选分析方法。目前商品化的贝类毒素标准品稀少昂贵,至今尚无对应的同位素标记物作为内标物,国内文献报道的LC-MS/MS方法均采用空白基质液直接加标的外标法定量^[9-11],添加的标准物未能与样品同步进行提取、净化。尽管国内一些研究前处理采用了固相萃取(SPE)净化,然而LC-MS/MS技术本身对样品基质效应十分敏感,往往影响结果的准确性,导致部分目标组分的回收率偏低;同时经SPE后,仍然有极少的共流出组分对目标物的离子化效率产生抑制。本文采用80%甲醇提取样品,Strata™-X为SPE小柱,洗脱液经3 000 MW离心超滤管离心再次纯化,以空白基质加标、同步前处理的方式绘制定量工作曲线,建立了LC-MS/MS测定贝类产品中OA、DTX₂、YTX、DTX₁、AZA₁、SPX₁等6种脂溶性贝类毒素的确证及定量方法。经SPE与超滤离心管离心等前净化步骤,能最大程度地减少基质效应;采用空白基质加标工作曲线定量,有效地补偿了基质直接加标外标法因基质干扰造成的目标物损失,提高了结果的准确度。本研究的方法定性定量准确,重现性好,灵敏度高,6种脂溶性贝类毒素的定量限均在1.0 μg/kg以下,能满足实验室检测的技术要求。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

Alliance 2695 高效液相色谱仪、0.5 ml 3 000 MW 离心超滤管均购自美国 Waters, Waters Quattro Premier XE 三重四级杆质谱仪(英国 Micromass), Strata™-X 固相萃取柱(3 ml, 60 mg; 美国 phenomenx), Agilent Vacuum Manifold 12 孔固相萃取小柱装置(美国 Agilent), 氮吹仪, 低温高速离心机, 超声波仪。

贝类毒素标准品: OA (13.7 μg/ml)、DTX₂ (7.87 μg/ml)、YTX (5.5 μg/ml)、DTX₁ (15.1 μg/ml)、AZA₁ (1.24 μg/ml)、SPX₁ (7.04 μg/ml)均购自加拿大海洋生物科学研究所; 乙腈、甲醇均为色谱

纯, 乙酸铵(优级纯), 氨水(分析纯), 纯水由实验室的 Milli-Q 净化系统制备。

1.2 方法

1.2.1 样品前处理

称取 1 g 匀浆后的贝类组织样品于 15 ml 聚丙烯离心管中, 加入 4.0 ml 80% 甲醇提取, 漩涡振荡 2 min, 超声提取 5 min, 4 °C 8 000 r/min 离心 5 min, 分离出上清液, 重复上述操作一次, 合并上清液。40 °C 吹氮浓缩至近 1 ml, 加入 1 ml 水漩涡混匀, 待净化。

依次用 2 ml 甲醇、2 ml 30% 甲醇水溶液活化 Strata™-X 小柱, 全量加入上样液, 再用 1 ml 30% 甲醇水溶液淋洗, 最后用 4.0 ml 0.3% 氨水甲醇溶液(2:2, V/V)分两次洗脱。洗脱液于 40 °C 用氮气吹干, 准确加入 1.0 ml 甲醇, 漩涡 1 min, 装入 3 000 MW 离心超滤管中, 4 °C 13 000 r/min 离心 10 min, 过 0.22 μm PVDF 滤膜后上机测定。

1.2.2 标准溶液的制备

贝类毒素单标储备液(0.31 ~ 1.51 μg/ml): 准确吸取适量 OA、DTX₂、YTX、DTX₁、AZA₁ 及 SPX₁, 用甲醇稀释并定容至 10 ml, 分别配成 OA (1.37 μg/ml)、DTX₂ (0.78 μg/ml)、YTX (0.55 μg/ml)、DTX₁ (1.51 μg/ml)、AZA₁ (0.31 μg/ml) 及 SPX₁ (0.70 μg/ml) 单标储备液, -18 °C 避光保存; 贝类毒素混合标准中间溶液(31 ~ 151 μg/L): 准确吸取贝类毒素单标储备液(0.31 ~ 1.51 μg/ml) 各 0.10 ml, 用甲醇稀释并定容至 10 ml, 配成浓度范围在 31 ~ 151 μg/L 的混合标准中间液。

1.2.3 仪器条件

色谱条件: 采用 Waters XTerra® MS C₁₈ 质谱柱(150 mm × 2.1 mm, 3.5 μm), 流动相 A 为乙腈-水(90:10, V/V; 含 6.7 mmol/L 氨水), 流动相 B 为水(含 6.7 mmol/L 氨水), 流速 0.20 ml/min, 柱温 40 °C, 进样量 10 μl, 流动相梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	25	75
5.0	95	5
12.0	95	5
12.1	25	75
22.0	25	75

质谱条件: 正离子电喷雾(ESI⁺)模式, 毛细管电压 3.5 kV, 负离子电喷雾 ESI⁻模式, 毛细管电压 3.0 kV, 萃取电压 3.0 V, 射频透镜电压 0.4 V, 离子源温度 120 °C, 去溶剂气温度 350 °C, 去溶剂气流量 600 L/h, 锥孔气流量 50 L/h, 碰撞室压力(Ar)

3.99×10^{-4} Pa,采用多反应监测模式(MRM)检测,ESI⁺采集时间为5.0~8.0 min,ESI⁻采集时间为8.0~12.0 min,具体质谱分析参数见表2。

表2 6种脂溶性贝类毒素质谱分析参数

Table 2 MRM analytical parameters for six marine lipophilic toxins

化合物	保留时间 /min	母离子 /(m/z)	子离子 /(m/z)	锥孔电 压/V	碰撞能 量/eV	离子模式
OA	6.41	803.7	255.4 [*]	70	48	ESI ⁻
			113.4	70	55	ESI ⁻
DTX ₂	6.68	803.7	255.4 [*]	70	47	ESI ⁻
			113.5	70	58	ESI ⁻
YTX	6.87	570.5	396.4 [*]	45	34	ESI ⁻
			467.5	45	32	ESI ⁻
DTX ₁	7.81	817.8	255.5 [*]	69	48	ESI ⁻
			563.6	69	44	ESI ⁻
AZA ₁	8.60	842.6	824.6 [*]	47	30	ESI ⁺
			654.4	47	55	ESI ⁺
SPX ₁	11.34	692.6	674.6 [*]	50	30	ESI ⁺
			164.4	50	30	ESI ⁺

注: * 为定量离子

1.2.4 空白基质加标的工作曲线绘制

称取一组阴性的扇贝组织空白基质样品各1 g,向其中分别添加贝类毒素混合标准中间溶液12.5、25.0、100.0、200.0、400.0及600.0 μl,配制不同浓度系列的工作曲线浓度。以下操作分别按1.2.1和1.2.3进行提取净化前处理并依次上机测定,以待测物的峰面积为纵坐标,对应空白基质中的标准液质量浓度为横坐标,绘制工作曲线。

2 结果与分析

2.1 色谱条件优化

分别比较了XTerra® C₁₈、Atlantis® d-C₁₈反相色谱柱对目标物质的色谱分离效果。结果表明,在适宜的流动相体系下,6种脂溶性贝类毒素在XTerra® C₁₈柱(150 mm × 2.1 mm, 3.5 μm)均获得了理想的分离效果。对于Atlantis® d-C₁₈柱,除YTX组分未能流出外,其余5个组分也可良好分离。因流动相组成影响出峰的保留时间、峰形及离子化效率,考察了常用的流动相乙腈-水(两相均含甲酸-甲酸铵缓冲溶液)^[11-12]对脂溶性贝类毒素分离的效果。试验发现,虽然流动相中加入一定浓度的甲酸-甲酸铵缓冲溶液,可改善峰形,提高离子化效率,但甲酸铵浓度在2~10 mmol/L、甲酸浓度在2~50 mmol/L时,无论乙腈-水之间的比例如何调节,两个ESI⁺模式检测组分AZA₁、SPX₁的保留时间总是落在OA、DTX₂、YTX、DTX₁等ESI⁻模式检测的同一保留时间区间内,不利于MRM正、负离子切换扫描。考虑这6种贝类毒素中有4种组分采用ESI⁻模式检测,为改善不同模式检测的保留行为,

增加分离度,通过在90%乙腈-水流动相中添加不同浓度的氨水,考察其对色谱分离的影响。结果表明当两相中氨水浓度为6.7 mmol/L时,流动相90%乙腈-水的比例达到95:5时,6个目标组分彼此分离良好,不仅可实现正负离子切换扫描,ESI⁻模式检测的质谱信号明显增强,且ESI⁺模式检测信号不受影响,并对流动相梯度洗脱条件进行了优化(表1)。图1为空白扇贝样中添加6种贝类毒素的总离子流图(TIC)及其特征离子质量色谱图(MRM)。

2.2 质谱条件的优化

OA、DTX₂、YTX、DTX₁4种贝类毒素为多环聚醚化合物,宜采用ESI⁻电离模式分析;AZA₁是一类聚醚氨基酸,SPX₁分子中含有7,6-螺环亚胺机构,AZA₁、SPX₁宜选用ESI⁺离子化模式灵敏度较高。采用流动注射泵方式,以10 μl/min分别将OA、DTX₂、YTX、DTX₁、AZA₁、SPX₁贝类毒素单标储备液(0.31~1.51 μg/ml)注入离子源中。在负离子模式下对OA、DTX₂、YTX、DTX₁进行一级质谱母离子扫描,确定OA、DTX₂、YTX、DTX₁的分子离子峰[M-H]⁻m/z分别为803.7、803.7、570.5和817.8;在正离子模式下对AZA₁、SPX₁进行一级质谱扫描,确定AZA₁、SPX₁的[M+H]⁺m/z分别为842.6、692.6。然后分别以各自的母离子,用子离子扫描方式进行二级质谱扫描分析,找出丰度相对较强的两个特征碎片离子,以母离子和子离子组成监测离子对,在多反应监测(MRM)模式下对目标物进行定性定量分析。选择丰度最强、无干扰的监测离子对m/z 803.7/255.4、m/z 803.7/255.4、m/z 570.5/396.4、m/z 817.8/255.5、m/z 842.6/824.6和m/z 692.6/674.6分别用于OA、DTX₂、YTX、DTX₁、AZA₁、SPX₁的定量,其他离子对则用于辅助定性。图2为6种贝类毒素的ESI质谱图。另对毛细管电压、锥孔电压、射频透镜电压、碰撞能量、碰撞气压、离子源温度、去溶剂气温度及流量等质谱参数进行优化,优化后的质谱参数见1.2.3质谱条件。

2.3 提取和净化条件的选择

脂溶性贝类毒素测定的常用提取剂有甲醇、丙酮、80%甲醇^[9-10],本试验分别选用这3种提取溶剂进行比较。结果发现,甲醇、丙酮对各目标组分的提取效率虽能达到70%以上,但提取液中杂质较多,不利于随后的净化,且干扰目标物离子碎片丰度;以80%甲醇为提取剂经过二次提取,6种贝类毒素的提取效率均在70%~120%,且提取液中杂质减少。因此,本试验以80%甲醇为提取剂。

贝类样品中含有丰富的蛋白质、脂肪等杂质,选用80%甲醇提取,还有少量杂质同时被提取出

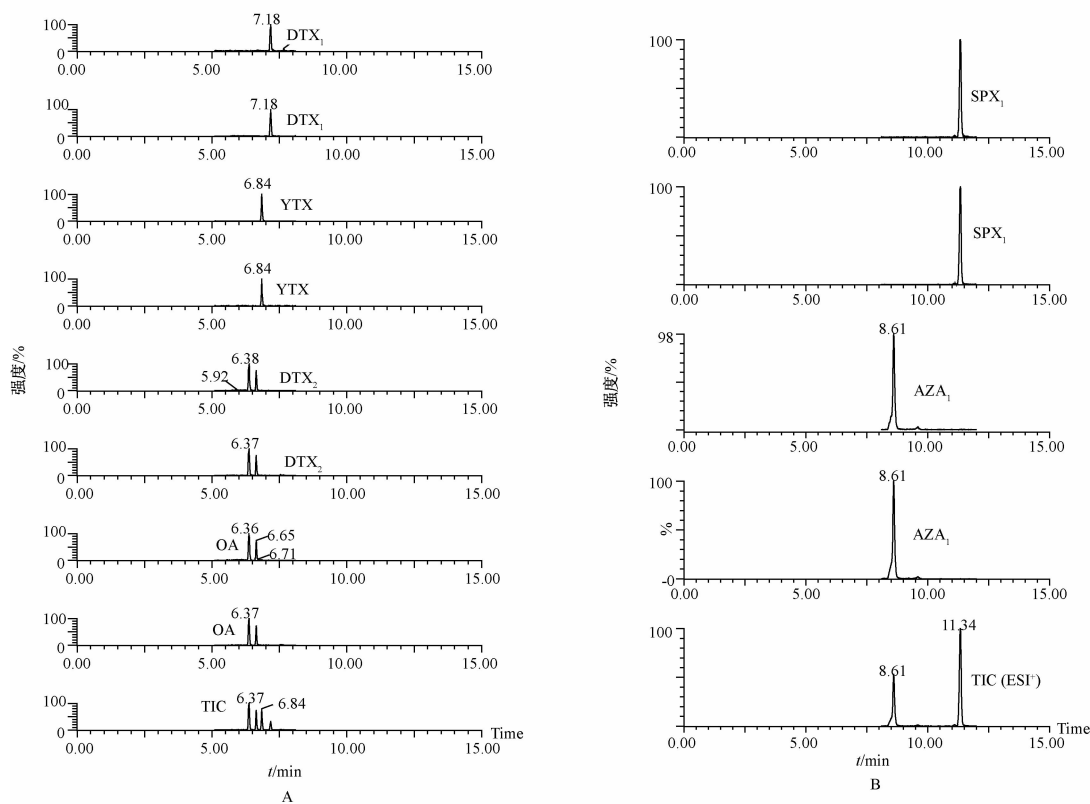
注:A为ESI⁺的TIC及其MRM;B为ESI⁻的TIC及其MRM

图1 空白扇贝加标样品的TIC及其MRM色谱图

Figure 1 TIC and MRM chromatograms of a blank shellfish spiked with mixed standards

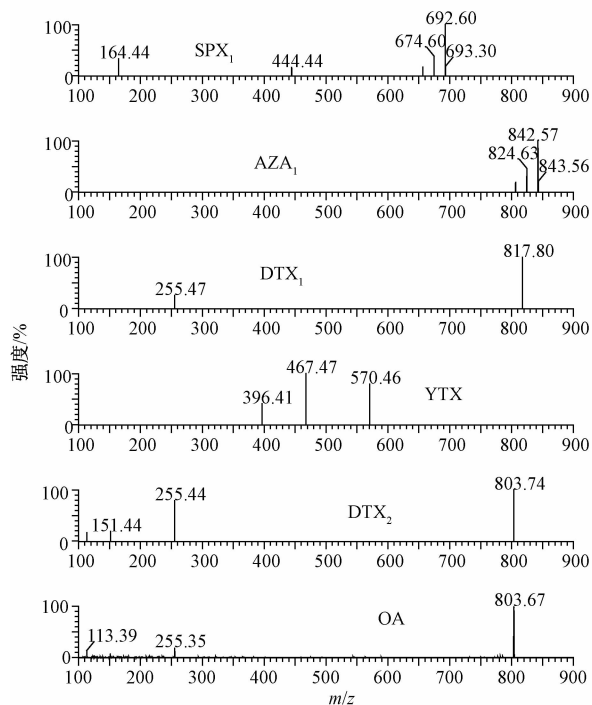


图2 6种脂溶性贝类毒素质谱图

Figure 2 Mass spectras of six marine lipophilic toxins

来,需对提取液做净化处理。通过参阅相关文献方法^[11-12],考察了C₁₈、MAX、oasis HLB和StrataTM-X不同SPE小柱对目标物的富集净化效果。在空白

样品的粗提取液中添加贝类毒素混合标准中间溶液(31~151 μg/L)50 μl,混匀后分别注入预先活化过的这4种固相萃取小柱,分别用适宜的洗脱剂洗脱后上机测定。平均回收效率见表3。试验结果表明,各毒素过StrataTM-X柱,经0.3%氨水甲醇溶液洗脱后取得了理想的净化效果,6种贝类毒素的平均回收率为86.6%~98.7%;C₁₈、HLB两柱对DTX₁组分的回收率均<60%,结果偏低;MAX柱对OA、DTX₂、YTX、DTX₁、AZA₁的回收也较为理想,但SPX₁的回收率稍低(67.3%)。因此本试验选择StrataTM-X为净化小柱。由于贝类样品基质复杂,即使经过SPE后,也很难保证样品完全净化,将SPE后的洗脱液再经离心超滤管高速离心进一步纯化,将样品基质效应降至最低。本研究通过试验表明,提取液经SPE再离心超滤管离心后的基质TIC图(采集时间0~22 min)比仅过SPE柱净化的基质TIC图效果理想,本方法DSP目标组分的信号采集时间段集中在5~12 min,尽管在此时间段内两种净化方法的基质效应差别不大,但在16~20 min内,仅过SPE净化的TIC图背景噪声水平明显增强,构成对质谱仪器的潜在污染。因此,本文采用SPE与离心超滤管离心相结合的净化技术,既保证了较高的回收率,又明显降低了基质效应的干扰。

表3 6种贝类毒素在4种固相萃取柱的回收率(%)

化合物	C ₁₈ 柱	MAX柱	Strata TM -X柱	HLB柱
OA	76.5	88.0	90.2	85.6
DTX ₂	60.0	94.0	92.4	65.5
YTX	81.9	83.8	98.7	89.1
DTX ₁	42.5	85.0	86.6	56.0
AZA ₁	74.4	78.6	91.5	101.3
SPX ₁	76.2	67.3	89.8	82.6

2.4 方法的线性与检出限

按1.2.4部分配制一系列工作曲线浓度,经提取、净化后,在本研究的色谱和质谱条件下进行测定,OA、DTX₂、YTX、DTX₁、AZA₁、SPX₁在各自适宜的浓度范围内线性系数良好,相关系数均>0.995。方法检出限(LOD)以3倍信噪比来估算,目标组分的检出限为0.06~0.33 μg/kg;以10倍信噪比来计算方法定量限(LOQ),6种贝类毒素的定量限为0.2~1.0 μg/kg。方法线性与检出限见表4。

表4 方法线性与检出限

Table 4 Linear equation and limit of detection

化合物	线性方程	相关系数	检出限 /(μg/kg)	定量限 /(μg/kg)	线性范围 /(μg/kg)
OA	$y = 162.937x + 27.119$	0.999 0	0.33	1.0	1.71~82.1
DTX ₂	$y = 109.525x + 16.0822$	0.999 7	0.26	0.8	0.98~46.8
YTX	$y = 429.13x - 164.811$	0.997 9	0.06	0.2	0.69~33.0
DTX ₁	$y = 77.343x + 0.477822$	0.998 8	0.33	1.0	1.89~90.4
AZA ₁	$y = 5098.12x - 1388.43$	0.995 0	0.10	0.3	0.39~18.6
SPX ₁	$y = 4000.73x - 4404.73$	0.997 8	0.08	0.3	0.88~42.0

2.5 方法的回收率和精密度

在1g空白扇贝组织中,分别添加贝类毒素混合标准中间溶液(31~151 μg/L)12.5、50.0、100 μl低、中、高3个水平的加标浓度,按1.2.1、1.2.3部分进行样品前处理及测定,每个加标水平平行测定6次,考察方法的回收率和精密度。6种贝类毒素的空白基质加标回收率分为78.8%~116%;变异系数在3.8%~14.5%。方法的回收率与精密度满足中毒应急检测的要求,试验结果见表5。采用StrataTM-X柱净化、离心超滤管高速离心,本文获得的平均回收率结果优于文献[9]中72.2%~101.9%水平,也优于文献[11-12]中报导的平均回收率水平。

2.6 实际样品测定

采用建立的方法,对市售的8份贝类样品进行脂溶性贝类毒素测定,6种脂溶性贝类毒素均未检出。

3 小结

本研究建立了固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定贝类产品中OA、DTX₂、YTX、DTX₁、AZA₁、SPX₁

表5 方法的回收率及精密度测定结果(n=6)

化合物	加标水平 /(μg/L)	平均测定值 /(μg/kg)	回收率 /%	变异系数 /%
OA	1.71	1.60	93.7	7.5
	6.84	6.10	89.2	4.8
	13.70	13.90	101.2	6.2
DTX ₂	0.98	0.79	79.3	14.5
	3.90	3.55	91.0	6.6
	7.80	6.85	87.8	4.0
YTX	0.69	0.80	116.0	9.7
	2.76	2.65	96.0	3.8
	5.50	5.53	100.5	5.3
DTX ₁	1.89	1.49	78.8	10.0
	7.56	6.55	86.6	6.8
	15.10	13.60	89.9	7.4
AZA ₁	0.39	0.40	102.6	8.7
	1.56	1.39	89.4	6.0
	3.10	3.04	98.1	4.8
SPX ₁	0.88	0.86	97.7	12.4
	3.50	3.10	88.5	7.1
	7.00	6.98	99.7	5.9

6种脂溶性贝类毒素的分析方法。通过对仪器色谱和质谱条件各项参数的调谐,在优化的试验条件下,经XTerra[®] C₁₈质谱柱分离,选择多反应监测(MRM)模式,正、负离子切换扫描,空白基质加标同步前处理校正,外标法定量分析。该法采用SPE与离心超滤管离心相结合,能最大程度地消除基质干扰;采用空白基质加标工作曲线定量,能有效地补偿基质直接加标外标法所带来的目标物非线性损失。通过以上措施,很好地消除了共流出组分对离子化效率的抑制,提高了定量的灵敏度和准确度。方法的回收率和重现性等方法学指标均能满足痕量贝类毒素的检测要求;同时本法采用高效分离、双离子监控模式,可准确地甄别样品中的目标组分,适用于贝类产品中6种脂溶性贝类毒素的确证及定量分析。

参考文献

- [1] 李勇,杨雁,史清文,等.海洋生物毒素研究进展[J].天然产物研究与开发,2011,23(3):582-589.
- [2] European Food Safety Authority. Marine biotoxins in shellfish—summary on regulated marine biotoxins[J]. The EFSA Journal, 2009,1306:1-23.
- [3] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会.GB/T 5009.212—2008 贝类中腹泻性贝类毒素的测定[S].北京:中国标准出版社,2008.
- [4] Morono A, Arevalo F, Fernandez M L, et al. Accumulation and transformation of DSP toxins in mussels *mytilus galloprovincialis* during a toxic episode caused by *Dinophysis acuminata* [J]. Aquatic Toxicology, 2003, 62(4): 269-280.
- [5] Gato-Martinez A, Pineiro N, Aguete E C, et al. Further improvement in the application of high-performance liquid

- chromatography to the analysis of algal toxins in the aquatic environment [J]. *J Chromatogr A*, 2003, 992(1):159-168.
- [6] Lehane M, Sáez M, Magdalena A, et al. Liquid chromatography-multiple tandem mass spectrometry for the determination of ten azaspiracids, including hydroxyl analogues in shellfish [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1024(1):63-70.
- [7] Regueiro J, Araceli E R, Gonzalo A, et al. Automated on-line solid-phase extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry for determination of lipophilic marine toxins in shellfish [J]. *Food Chemistry*, 2011(129):533-540.
- [8] Gerssen A, Mulder P J, McElhinney M A, et al. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the detection of marine lipophilic toxins under alkaline condition [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(9):1421.
- [9] 黄聪, 李晓晶, 彭荣飞, 等. 固相萃取-液相色谱-串联质谱检测贝类产品中7种脂溶性贝类毒素 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2011, 21(5):1075-1077.
- [10] 母清林, 方杰, 万汉兴, 等. 液相色谱-串联质谱法检测贝类产品中腹泻性贝类毒素 [J]. *分析化学*, 2011, 39(1):111-114.
- [11] 姚建华, 谭志军, 周德庆. 液相色谱-串联质谱检测贝类组织中5种脂溶性贝类毒素 [J]. *分析化学*, 2010, 38(12):1714-1720.
- [12] 郭萌萌, 谭志军, 吴海燕, 等. 液相色谱-串联质谱法同时测定贝类中大田软海绵酸、鳍藻毒素、蛤毒素和虾夷扇贝毒素 [J]. *色谱*, 2012, 30(3):256-261.

实验技术与方法

程序控温石墨消解/微波灰化-氢化物发生-原子荧光光谱法 测定食用海藻中总砷

张妮娜, 刘丽萍, 陈绍占

(北京市疾病预防控制中心, 北京 100013)

摘要:目的 建立采用程序控温石墨消解/微波灰化-氢化物发生-原子荧光光谱法分析测定食用海藻中总砷的方法。方法 样品加入 5 ml HNO₃, 190 °C 程序控温石墨预消解 30 min; 加入灰化辅助剂硝酸镁, 550 °C 微波灰化 5 min, 用 HCl 溶解灰分, 采用氢化物发生-原子荧光光谱法 (HG-AFS) 测定总砷含量。结果 方法检出限为 0.42 μg/L, RSD < 5.0%, 加标回收率为 96% ~ 109%。测定程序控温石墨消解/微波灰化后消解液中砷形态, 确认食用海藻中 99% 以上的有机砷均消解为无机砷。本方法测定了海带 (GBW08517) 和紫菜 (GBW10023) 标准物质, 分析结果均在标准值范围内。结论 本方法重现性好、结果准确可靠, 适用于食用海藻中总砷的测定。

关键词:程序控温石墨消解/微波灰化-氢化物发生-原子荧光光谱法; 原子荧光光谱法; 砷; 海藻; 食品安全; 食品污染物

中图分类号: R155; O614 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2015)06-0629-05

DOI: 10.13590/j.cjfh.2015.06.006

Determination of total arsenic in alga by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry with program temperature graphite digestion/microwave ashing for sample preparation

ZHANG Ni-na, LIU Li-ping, CHEN Shao-zhan

(Beijing Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100013, China)

Abstract: Objective A hydride generation-atomic fluorescence spectrometry (HG-AFS) method with program temperature graphite digestion/microwave ashing for sample preparation was developed for the determination of total arsenic in alga.

Methods The alga, into which 5 ml HNO₃ was added, was heated at 190 °C for 30 min with program temperature graphite digestion, then ashed at 550 °C for 5 min with microwave using magnesium nitrate as ashing auxiliary agent. The ashes were dissolved with hydrochloric acid and total arsenic was determined by HG-AFS. **Results** The detection limit was 0.42 μg/L, and the RSD was less than 5%. The recoveries were between 96% and 109%. The arsenic forms were detected in digested alga by program temperature graphite digestion/microwave ashing, the results confirmed that more than

收稿日期: 2015-03-30

作者简介: 张妮娜 女 主管检验师 研究方向为元素的光谱和质谱分析 E-mail: znnms@sina.com

通讯作者: 刘丽萍 女 主任技师 研究方向为光谱和质谱分析 E-mail: liulp@bjcdc.org