

## 实验技术与方法

## 高效液相色谱-串联质谱法测定双壳类水产品麻痹性贝类毒素

岳亚军,张律,曾丽兰

(深圳市罗湖区疾病预防控制中心,广东深圳 518020)

**摘要:**目的 采用 Supelco ENVI-Carb 柱净化双壳类水产品中的麻痹性贝类毒素(PSP),建立高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)法检测双壳类水产品中的PSP,为水产品中的PSP检测提供方法依据。方法 选用色谱柱 TSK-GEL Amide-80(2.0 mm×250 mm,5 μm),以2 mmol/L 甲酸铵-50 mmol/L 甲酸水和95%乙腈水(含2 mmol/L 甲酸铵-50 mmol/L 甲酸)为流动相,采用梯度洗脱进行分离。样品用1%乙酸溶液进行提取,上清液加入氨水后(pH=4.0)经 Supelco ENVI-Carb 柱净化,将洗脱液抽干收集,上机测定。多重反应监测(MRM)模式检测。结果 PSP的线性范围为8.1~705.0 μg/kg,检出限为10~35 μg/kg,回收率在47.0%~91.3%之间。结论 本方法提取效果好、基质效应小,适用于双壳类水产品中麻痹性贝类毒素的痕量检测。

**关键词:**双壳类;麻痹性贝类毒素;生物毒素;高效液相色谱-串联质谱;固相萃取;基质效应;检测;食品安全  
中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2017)05-0571-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2017.05.010

### Determination of paralytic shellfish poisoning in bivalves aquatic products by high performance liquid chromatography-mass spectrometry

YUE Ya-jun, ZHANG Lyu, ZENG Li-lan

(Luohu Center for Disease Control and Prevention, Guangdong Shenzhen 518020, China)

**Abstract: Objective** To extract paralytic shellfish poisoning (PSP) with Supelco ENVI-Carb cartridge, develop a high performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS/MS) method for determination of PSP in bivalves aquatic products, and provide proof for the detection of PSP in aquatic products. **Methods** PSP was extracted by 1% acetic acid solution, supernatant added with ammonia (pH = 4.0) was loaded on Supelco ENVI-Carb cartridge, and the eluent was dried up. Then the sample was separated on a TSK-GEL Amide column (2.0 mm×250 mm, 5 μm) with water contained 2 mmol/L ammonium formate-50 mmol/L formic acid and 95% acetonitrile contained 2 mmol/L ammonium formate-50 mmol/L formic acid was mobile phase for gradient elution. Detection was carried out by multiple reaction monitoring. **Results** PSP had a good linear result in the range of 8.1-705.0 μg/kg with detection limit of 10-35 μg/kg in bivalves aquatic products. The recovery was 47.0%-91.3%. **Conclusion** This method had good performance of extraction and with low matrix inhibition effect. The assay was suitable for trace detection of paralytic shellfish poisoning in bivalves aquatic products.

**Key words:** Bivalves; paralytic shellfish poisoning; biotoxin; high performance liquid chromatography-mass spectrometry; solid phase extraction; matrix effect; test; food safety

贝类毒素是海洋毒素中对人类健康影响最大的一大类毒素的总称,其主要是由水体中产毒藻类或微生物通过食物链的传递,富集在双壳类、鱼、虾、蟹等水产中,食用这些水产对人体健康有潜在的危害风险。贝类毒素按照中毒症状可分为麻痹性贝类毒素(paralytic shellfish poisoning, PSP)、腹泻性贝类毒素(diarrhetic shellfish poisoning, DSP)、记忆缺失性贝类毒素(amnesic shellfish poisoning, ASP)、

神经性贝类毒素(neurotoxic shellfish poisoning, NSP),其中PSP的危害最大、分布范围最广、事故发生频率最高<sup>[1]</sup>。食入少量PSP即可引起神经系统的疾病,严重时会导致呼吸系统麻痹甚至死亡,由其引发的死亡事件每年超过2000起,死亡率达到15%,且呈逐年上升趋势(未发表)。目前已分离出20多种PSP,分为石房蛤毒素(STX)、新石房蛤毒素(neo-STX)、膝沟藻毒素(GTX)3大类。PSP是一类神经性毒素,为二代盐,分子量低,白色固体粉末,极性比较高,不挥发,易溶于水、微溶于甲醇和乙醇,不溶于非极性溶剂。在酸性条件下稳定,在碱

收稿日期:2017-05-25

作者简介:岳亚军 男 副主任技师 研究方向为环境监测及食品卫生、生物毒素检测 E-mail:yueyajun1978@126.com

性条件下可发生氧化,导致毒性降低甚至消失。遇热稳定,不能被人体中的消化酶所破坏<sup>[2]</sup>。

目前国内外检测 PSP 的方法主要有生物小鼠法<sup>[3-4]</sup>、酶联免疫法<sup>[5-6]</sup>、高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)法。生物小鼠法是针对毒素功能而不是毒素结构,只能检测毒素的有无和强弱,且由于小鼠个体差异导致试验重复性差、操作过程繁琐、结果不可靠<sup>[3]</sup>;酶联免疫方法只能根据待测物结构表位进行测定,而非针对其结构,由于贝类毒素种类繁多,因此其类似物有干扰作用,导致检测结果假阳性多和对毒素含量测定不准确;HPLC-MS/MS法由于其检测限低、稳定性好、抗干扰能力强,定性定量结果准确等特点,已逐步应用到贝类毒素检测领域<sup>[7-10]</sup>。

目前检测水产品中 PSP 的液相色谱-质谱联用法中仍存在样品提取回收率较低、基质抑制效应大、同分异构体之间难以单独定性定量等问题,本试验针对以上存在的问题,通过优化样品前处理方法和仪器条件,采用高效液相色谱-串联质谱技术建立一套灵敏度好、准确可靠的双壳类水产品中 PSP 的检测方法。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

#### 1.1.1 样品来源

样品采自深圳市罗湖区某水产市场,包括扇贝、贻贝、牡蛎、带子、花甲、沙白、生蚝、马刀贝、青蛤 9 种双壳类水产,共 111 份样品,于 -20 ℃ 下保存于冰箱。

#### 1.1.2 主要仪器与试剂

6410BTriple Quad 高效液相色谱-质谱联用仪[配备 1200 高效液相色谱仪和电喷雾离子源(ESI),美国 Agilent]、TSK-GEL Amide-80 色谱柱(2.0 mm × 250 mm, 5 μm, 日本 TOSOH)、Envi-Carb SPE 小柱(250 mg/3 ml, 美国 Supelco)、高速低温离心机、GDX-271 型全自动固相萃取仪(法国吉尔森)。

超纯水(美国 Millipore Q),乙腈、甲醇、甲酸、甲酸铵均为色谱纯,冰乙酸、氨水均为分析纯,PSP 标准品:STX(CAS:35554-08-06)、脱氨甲酰基石房蛤毒素(CAS:58911-04-9, dcSTX)、neo-STX(CAS:64296-20-4)、脱氨甲酰基新石房蛤毒素(CAS:68683-58-9, dcneo-STX)、膝沟藻毒素 1(CAS:60748-39-2, GTX1)、膝沟藻毒素 2(CAS:60508-89-6, GTX2)、膝沟藻毒素 3(CAS:60537-65-7, GTX3)、膝沟藻毒素 4(CAS:64296-26-0, GTX4)、N-磺酰氨甲

酰基类毒素 5(CAS:64296-25-9, GTX5)、脱氨甲酰基膝沟藻毒素 2(CAS:86996-87-4, dcGTX2)、脱氨甲酰基膝沟藻毒素 3(CAS:87038-53-7, dcGTX3),纯度均 >99.0%,均购自加拿大 CRMs。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 标准溶液的配制

标准储备液:由于购买的 PSP 标准品均为液体且仅有 0.5 ml,且浓度低,用超纯水按一定比例进行稀释,浓度范围为 1.0 ~ 4.5 μg/ml,0 ~ 4 ℃ 保存。

标准工作使用液:将样品空白基质与标准储备液按一定比例进行稀释,得到浓度范围在 1.0 ~ 705.0 ng/ml 的标准工作使用液。

#### 1.2.2 样品前处理

用超纯水冲洗净样品上的泥沙,用纸巾吸干表面的水分,称取 5 g(精确到 0.001 g)样品于 50 ml 试管中,加入 5 ml 的 1% 乙酸水,均质,沸水加热 5 min,流水冷却至室温,4 ℃ 4 500 r/min 离心 10 min,取上清 1 ml,加入 5 μl 氨水,混匀,取 500 μl 上清液过 Supelco ENVI-Carb 萃取柱。Supelco ENVI-Carb 萃取柱依次用 2 ml 乙腈、2 ml 20% 乙腈水(含 0.1% 乙酸)、2 ml 0.1% 氨水活化,用 700 μl 超纯水淋洗,抽干,用 1 ml 75% 乙腈水(含 0.25% 甲酸)洗脱,过 0.22 μm 滤膜,上机测定。

#### 1.2.3 仪器条件

质谱:正电喷雾离子源(ESI+),干燥气温度 350 ℃、干燥气流量 10.0 L/min、雾化压力 38 psi(262 kPa),毛细管电压 4 000 V,多重反应监测(MRM)模式,母离子、子离子、碎片电压(FV)、碰撞能量(CE)参数见表 1。

表 1 PSP 的 MRM 参数

Table 1 MRM parameters of PSP

毒素名称	极性	母离子 /(m/z)	子离子 /(m/z)	FV/V	CE/V
STX	正离子	300.1	282.0/204.1*	130	15/25
dcSTX	正离子	257.1	222.0/125.8*	120	20/20
neo-STX	正离子	316.2	298.1*/220.0	130	15/25
dcneo-STX	正离子	273.1	180.2/126.0*	120	20/20
GTX1	正离子	412.2	332.2*/314.2	110	15/15
GTX2	正离子	396.2	316.3*/298.2	120	5/15
GTX3	正离子	396.2	316.3/298.2*	120	5/15
GTX4	正离子	412.2	332.2/314.2*	110	10/15
GTX5	正离子	380.1	300.2*/282.2	100	10/20
dcGTX2	正离子	353.2	272.7*/255.2	110	10/15
dcGTX3	正离子	353.2	272.7/255.2*	110	10/15

注:\*为定量离子

色谱:色谱柱为 TSK-GEL Amide-80(2.0 mm × 250 mm, 5 μm)。流动相:A 为 2 mmol/L 甲酸铵-50 mmol/L 甲酸水,B 为 95% 乙腈水(含 2 mmol/L 甲酸铵-50 mmol/L 甲酸),流动相流速 0.4 ml/min、

柱温 40 ℃、进样量 20 μl,梯度洗脱程序见表 2。

表 2 梯度洗脱程序

Table 2 Gradient elution program

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%	流速/(ml/min)
0.00	20	80	0.4
2.00	20	80	0.4
6.00	60	40	0.4
8.00	60	40	0.4
8.01	20	80	0.4
13.00	20	80	0.4

## 2 结果与分析

### 2.1 前处理方法的优化

由于 PSP 易溶于弱酸性溶液,在碱性环境中易发生氧化降解,故提取溶液选用乙酸溶液,通过比较不同浓度(0.1%、0.5%、1%、2%)的乙酸溶液对加标样品的提取效果发现:以 STX 为例说明,乙酸浓度从 0.1% 上升至 1% 的过程中,提取回收率从 30% 增加至 70% 左右,2% 乙酸溶液虽与 1% 乙酸溶液提取回收率相当,但样品提取液中的杂质增多,不利于消除基质效应和色谱分离,其余 10 种 PSP 的提取效果趋势相同,因此采用 1% 的乙酸溶液作为提取液。通过比较 HLB 和 Supelco ENVI-Carb 固相萃取柱的提取效果,发现加标样品中的 PSP 经 HLB 柱净化后无出峰且基质效应很大,这与 GB/T 5009.213—2016《食品安全国家标准 贝类中麻痹性贝类毒素的测定》<sup>[11]</sup>方法中的试验结果似有相悖,可能是由于不同品牌的质谱离子源的抗干扰能力不同所致;采用 Supelco ENVI-Carb 柱经过 PSP 加标样品后各个毒素都有出峰,该净化柱可有效吸附目标化合物并去除盐分,降低液相色谱-质谱分析时基质的抑制效应。为了降低基质的抑制效应,同时满足检出限的要求且防止上样量过载,适当减少样品上柱体积,控制在 0.5 ml 左右;针对 PSP 中 dcneo-STX 通过 Supelco ENVI-Carb 柱净化回收率较低的情况,过柱前样品提取液中加入适量的氨水进行中和(pH = 4.0 左右),dcneo-STX 的回收率由 30% 提高至 50% 左右,而对其余 10 种 PSP 的回收率影响不大,可能是因为 dcneo-STX 在弱酸环境中更容易被净化柱所保留;在洗脱液中添加甲酸可明显提高 PSP 在质谱上的响应值,且能优化峰型。

### 2.2 色谱条件优化

PSP 是强极性化合物,在弱极性 C<sub>18</sub> 色谱柱上没有保留,难以进行分离检测,而且在 11 种 PSP 化合物中 GTX1 和 GTX4、GTX2 和 GTX3、dcGTX2 和 dcGTX3 之间互为同分异构体,它们的质谱特征碎片几乎一致,如果在色谱上其基线不能分离,将无法单独准确定量。本试验选用亲水性色谱柱并

比较了 MerckZic-Hilic (150 mm × 2.1 mm, 5 μm) 和 TSK-GEL Amide-80 (2.0 mm × 250 mm, 5 μm) 两款色谱柱,结果 PSP 在 TSK-GEL Amide-80 色谱柱上分离效果较好,且 3 组同分异构体的基线基本能够分离,能够单独进行定性定量。流动相中加入适当的甲酸铵能够改善峰型,加入甲酸可以提高 PSP 在质谱上的离子化效率从而提高检测的灵敏度。

### 2.3 定性和定量结果

11 种 PSP 化合物在 ESI+ 电离形成 [M + H]<sup>+</sup>, 经过能量碰撞形成特征碎片,选取两组离子对,其中信号响应较强的子离子作为定量离子,信号响应相对较弱的子离子作为辅助定性离子,PSP 混合标准溶液总离子(TIC)色谱图及各毒素定量离子 MRM 色谱图见图 1。

### 2.4 方法特异性

取牡蛎样品按 1.2.2 方法处理后,空白样品与空白基质加标样品进行分析,结果空白牡蛎基质中在 PSP 出峰位置上无目标化合物母离子出峰(图 2),说明空白基质无干扰,方法特异性较好。

### 2.5 方法的线性方程、检出限和定量限结果

用牡蛎空白基质将 PSP 标准储备液进行稀释,得到浓度范围为 8.1 ~ 705.0 μg/kg 的标准工作溶液。以各个毒素的浓度为横坐标(x),峰面积为纵坐标(y)进行线性回归。以 PSP 在空白牡蛎基质中响应值的 3 倍信噪比对应的浓度作为检出限(LOD),以 10 倍信噪比对应的浓度作为定量限(LOQ)。牡蛎中 PSP 在 8.1 ~ 705.0 μg/kg 范围内呈良好的线性关系,线性相关系数 r > 0.995,部分毒素的检出限和定量限低于 GB 5009.213—2016<sup>[11]</sup> 中的值,能够满足双壳类水产中 PSP 的痕量检测要求,见表 3。

### 2.6 方法的回收率结果

在空白牡蛎中添加适量的 PSP 混合标准溶液,配制成含 PSP 高、低 2 个浓度的质控样品各 6 份,按照 1.2.2 处理后进行分析。以当日工作曲线计算各样品中 PSP 的含量,计算 6 份加标样品的相对标准偏差(RSD),作为批内精密度。同法重复测定 6 次,计算 RSD 值,作为批间精密度,结果见表 4。

### 2.7 实际样品检测

本课题组从深圳市罗湖区某水产市场中抽采共 111 份双壳类水产样品,其中扇贝 25 份、贻贝 35 份、牡蛎 34 份、生蚝 8 份、带子 4 份、青蛤 2 份、花甲、沙白、马刀贝各 1 份。采用本方法进行了 PSP 检测,其中 GTX2 有 12 份检出,检出样品主要为贻贝和扇贝;GTX5 有 4 份检出,检出样品为 2 份贻贝

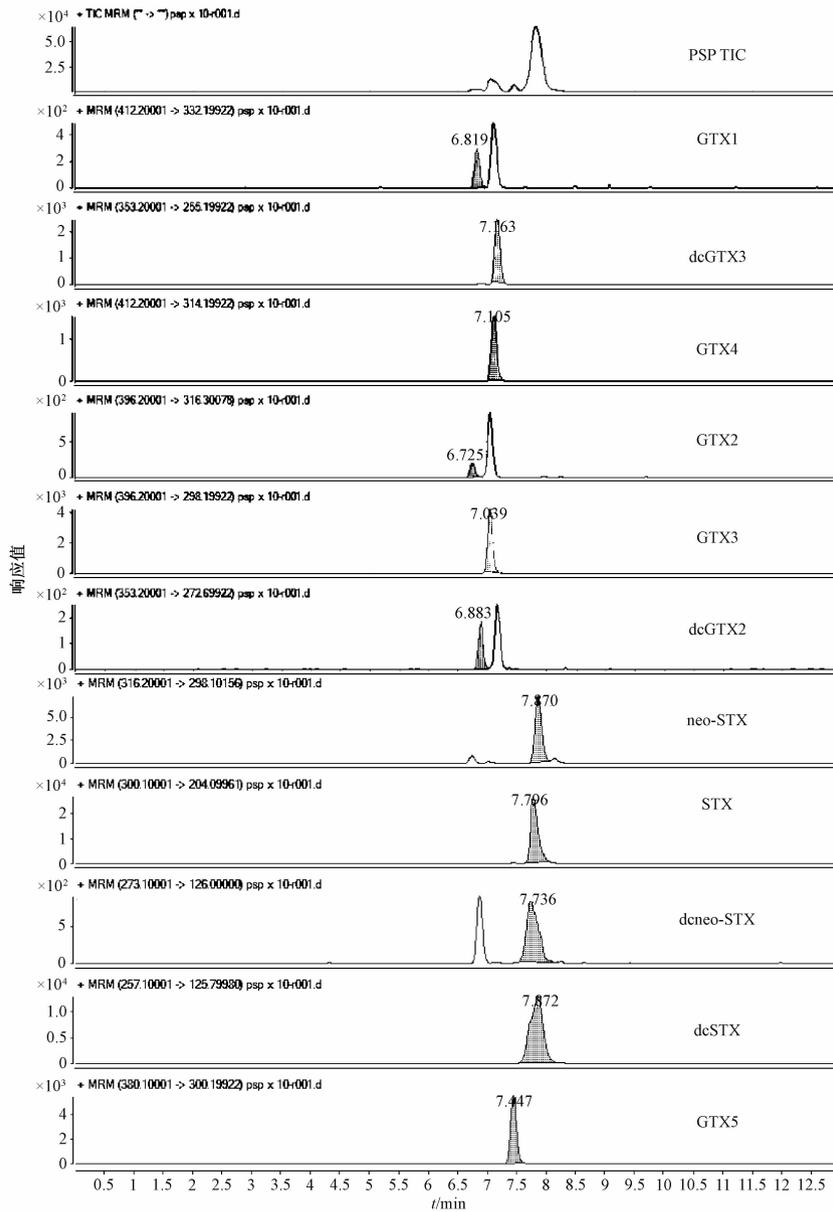
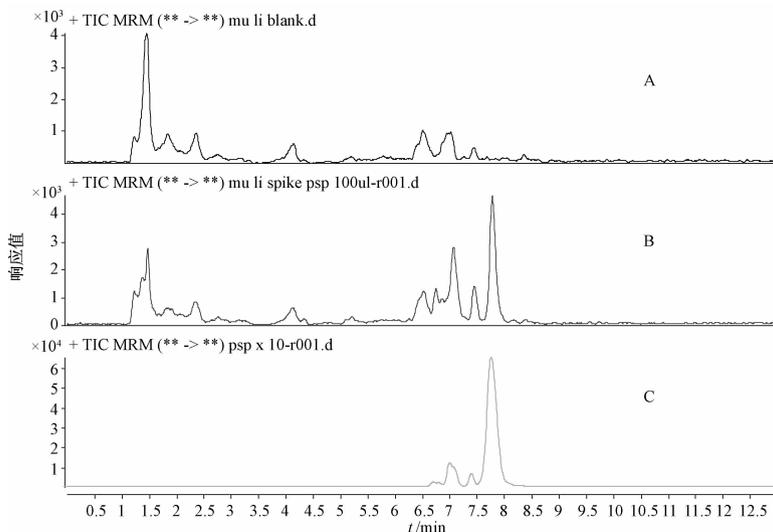


图1 PSP总离子和11种PSP MRM色谱图

Figure 1 PSP TIC and MRM chromatogram of 11 paralytic shellfish poisonings



注:A为空白牡蛎样品;B为空白牡蛎加标样品;C为PSP混合标准溶液

图2 MRM质谱结果

Figure 2 Results of MRM chromatogram

表3 PSP在牡蛎中的线性范围、检出限、定量限

Table 3 Linear range, LOD, LOQ of PSP in oyster

毒素	线性方程	r	线性范围/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	LOD/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	LOQ/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
STX	$y = 775.4317x + 3852.3128$	0.995 4	12.3 ~ 123.0	35	100
neo-STX	$y = 306.5715x + 3025.1860$	0.998 3	10.3 ~ 206.0	20	60
dcSTX	$y = 538.3655x - 4253.8293$	0.997 4	10.6 ~ 106.5	35	100
dcneo-STX	$y = 107.8708x + 64.4046$	0.999 6	10.1 ~ 202.0	20	60
GTX1	$y = 11.6756x - 55.7044$	0.999 7	24.8 ~ 496.0	15	50
GTX2	$y = 8.6258x - 246.7419$	0.999 2	45.2 ~ 452.0	15	50
GTX3	$y = 288.1844x - 1032.3083$	0.999 4	8.6 ~ 172.0	10	35
GTX4	$y = 238.5499x - 420.1955$	0.999 6	8.1 ~ 162.0	10	35
GTX5	$y = 166.5614x + 706.4231$	0.999 1	10.5 ~ 210.0	35	100
dcGTX2	$y = 5.7293x + 48.9007$	0.999 2	35.2 ~ 705.0	30	100
dcGTX3	$y = 317.9601x + 361.5801$	0.999 5	10.3 ~ 206.0	10	35

表4 牡蛎中PSP的回收率和精密度( $n=6$ )

Table 4 Recovery and RSD of PSP in oyster

毒素	添加浓度 /( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	回收率/%		RSD/%		毒素	添加浓度 /( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	回收率/%		RSD/%	
		批间	批内	批间	批内			批间	批内		
STX	24.7	70.0	72.4	5.8	3.5	GTX3	34.3	49.0	50.8	7.6	6.1
	49.4	65.5	68.2	4.7	2.8		68.6	50.6	51.7	6.4	5.3
neoSTX	41.3	48.0	49.5	6.1	4.1	GTX4	16.2	51.5	52.9	8.1	6.9
	82.7	51.0	51.6	5.5	2.1		32.4	52.0	53.4	7.0	4.9
dcSTX	42.8	50.0	51.4	7.1	4.7	GTX5	42.3	50.4	51.8	5.6	3.8
	85.6	47.0	47.8	6.6	3.0		84.5	48.2	49.7	6.7	3.7
dcneoSTX	20.3	49.5	50.7	7.7	5.2	dcGTX2	70.5	65.0	65.8	5.8	4.6
	40.6	51.0	52.3	6.1	3.3		141.1	63.1	62.9	5.1	3.6
GTX1	49.7	73.4	72.4	5.9	4.4	dcGTX3	20.7	60.6	61.8	8.7	6.1
	99.4	64.8	65.6	6.7	5.4		41.4	58.9	59.3	6.6	4.7
GTX2	90.3	89.6	90.8	7.8	5.9						
	180.6	90.5	91.3	6.2	4.2						

和2份扇贝; GTX1和dcGTX2均有1份检出, 检出样品为扇贝和生蚝, 具体检测结果见表5。

表5 部分双壳类水产中PSP检测结果( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

Table 5 Results of PSP determination in some in bivalves aquatic products

样品	STX	neo-STX	dcSTX	dcneo-STX	GTX1	GTX2	GTX3	GTX4	GTX5	dcGTX2	dcGTX3
贻贝 01	ND	ND	ND	ND	ND	176.0	ND	ND	ND	ND	ND
贻贝 02	ND	ND	ND	ND	ND	81.5	ND	ND	ND	ND	ND
贻贝 03	ND	ND	ND	ND	ND	52.7	ND	ND	ND	ND	ND
贻贝 04	ND	ND	ND	ND	ND	224.0	ND	ND	ND	ND	ND
贻贝 05	ND	ND	ND	ND	ND	291.0	ND	ND	ND	ND	ND
贻贝 06	ND	ND	ND	ND	ND	466.0	ND	ND	21.4	ND	ND
贻贝 07	ND	ND	ND	ND	ND	586.0	ND	ND	22.8	ND	ND
贻贝 08	ND	ND	ND	ND	ND	87.6	ND	ND	ND	ND	ND
扇贝 01	ND	ND	ND	ND	ND	238.0	ND	ND	ND	ND	ND
扇贝 02	ND	ND	ND	ND	ND	380.0	ND	ND	89.6	ND	ND
扇贝 03	ND	ND	ND	ND	ND	341.0	ND	ND	ND	ND	ND
扇贝 04	ND	ND	ND	ND	79.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
扇贝 05	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	40.1	ND	ND
青蛤	ND	ND	ND	ND	ND	140.0	ND	ND	ND	ND	ND
生蚝	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	317	ND

注: ND 为未检出

### 3 小结

本试验采用 Supelco ENVI-Carb 石墨碳黑柱固相萃取技术对样品中PSP进行净化提取, 建立了双壳类水产中PSP的HPLC-MS/MS检测方法, 该方法样品前处理基质效应较小、灵敏度高, 能够对PSP

中各个毒素单独定性定量, 为水产中PSP的食品风险监测提供可靠的技术依据。实际样品检测提示双壳类水产中存在PSP的污染状况, 其中GTX2含量较多, 希望有关监管部门加强监测, 以保障消费者的饮食健康。

## 参考文献

- [1] CHANG F H, KULIS D M, TILL D G, et al. Toxin production of *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) from the Bay of Plenty, New Zealand[J]. *Toxicon*, 1997, 35(3): 393-409.
- [2] 李芳, 李雪梅, 李猷刚, 等. 贝类毒素检测方法研究概况[J]. *食品研究与开发*, 2015, 36(23): 184-186.
- [3] 付金花, 沈和定, 何培民, 等. 温度对麻痹性贝毒含量的小鼠生物测定法的影响[J]. *环境与健康*, 2008, 25(10): 914-916.
- [4] 黄爱君, 黄海燕, 刘建军. 麻痹性和腹泻性贝类毒素的检测方法研究进展[J]. *环境与健康*, 2010, 27(1): 84-86.
- [5] VAN DEN TOP H J, ELLIOTT C T, HAUGHEY S A, et al. Surface plasmon resonance biosensor screening method for paralytic shellfish poisoning toxins: a pilot interlaboratory study[J]. *Anal Chem*, 2011, 83(11): 4206-4213.
- [6] 胡晓玲, 陈剑刚, 张瑰. ELISA快速测定带子中麻痹性贝类毒素含量[J]. *现代预防医学*, 2012, 39(18): 4799-4802.
- [7] 陈裕华, 刘红河. 高效液相色谱-串联质谱联用测定水产中麻痹性贝类毒素[J]. *中国热带医学*, 2012, 12(6): 656-659.
- [8] 陈剑刚, 朱炳辉, 梁素丹, 等. 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[J]. *中国食品卫生杂志*, 2015, 27(6): 624-629.
- [9] 陈剑刚, 朱炳辉, 梁素丹, 等. 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法测定贝类中的麻痹性贝类毒素[J]. *中国卫生检验杂志*, 2016, 26(1): 4-8.
- [10] 刘红河, 杨俊, 陈裕华, 等. 亲水作用液相色谱-串联质谱联用法测定海产品中麻痹性贝类毒素[J]. *现代预防医学*, 2010, 37(7): 1328-1332.
- [11] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 贝类中麻痹性贝类毒素的测定: GB 5009.213—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.

## 实验技术与方法

## 转基因鲑鱼 AquAdvantage 品系特异性实时荧光聚合酶链式反应检测方法的建立

刘二龙<sup>1</sup>, 卢丽<sup>2</sup>, 吕英姿<sup>1</sup>, 蒋湘<sup>1</sup>, 李立夏<sup>1</sup>, 李嘉琪<sup>1</sup>, 杜雅萍<sup>1</sup>, 郑高彬<sup>1</sup>

(1. 黄埔出入境检验检疫局, 广东 广州 510730; 2. 广东出入境检验检疫局技术中心, 广东 广州 510623)

**摘要:**目的 实现转基因鲑鱼 AquAdvantage 的标识管理, 建立其品系特异性实时荧光聚合酶链式反应(PCR)检测方法。方法 针对转基因鲑鱼的品系特异性序列设计引物和 TaqMan 探针, 建立转基因鲑鱼实时荧光 PCR 检测方法, 并对该方法的特异性、灵敏度和重复性进行检测。结果 建立的转基因鲑鱼实时荧光 PCR 方法特异性强, 在 600 000~60 拷贝范围内呈良好的线性关系, 其线性回归方程为  $y = -3.2194x + 40.805$ ,  $R^2 = 0.997$ , 检测限为 60 拷贝, 检测重复性良好。结论 建立的品系特异性实时荧光 PCR 方法可应用于转基因鲑鱼 AquAdvantage 的鉴定。

**关键词:** 转基因鲑鱼; AquAdvantage; 实时荧光聚合酶链式反应; 品系特异性; 检测

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2017)05-0576-05

DOI: 10.13590/j.cjfh.2017.05.011

## Event-specific real-time polymerase chain reaction detection method of genetically modified AquAdvantage salmon

LIU Er-long<sup>1</sup>, LU Li<sup>2</sup>, LYU Ying-zi<sup>1</sup>, JIANG Xiang<sup>1</sup>, LI Li-xia<sup>1</sup>, LI Jia-qi<sup>1</sup>,  
DU Ya-ping<sup>1</sup>, ZHENG Gao-bin<sup>1</sup>

(1. Huangpu Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Guangdong Guangzhou 510730, China; 2. Guangdong Inspection and Quarantine Technology Center, Guangdong Guangzhou 510623, China)

**Abstract: Objective** For implementation of labeling regulations, an event-specific real-time polymerase chain reaction (PCR) method for the detection of genetically modified AquAdvantage salmon was established in this study. **Methods**

收稿日期: 2017-05-05

基金项目: 广东出入境检验检疫局科技项目(2017GDK41)

作者简介: 刘二龙 男 高级兽医师 研究方向为动植物检验检疫技术 E-mail: erlongliu@126.com