



中华人民共和国国家标准

GB 5009.213—2016

食品安全国家标准

贝类中麻痹性贝类毒素的测定

2016-12-23 发布

2017-06-23 实施

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 发布

前 言

本标准代替 GB/T 5009.213—2008《贝类中麻痹性贝类毒素的测定》、GB/T 23215—2008《贝类中多种麻痹性贝类毒素含量的测定 液相色谱-荧光检测法》、SC/T 3023—2004《麻痹性贝类毒素的测定 生物法》、SN 0352—1995《出口贝类麻痹性贝类毒素检验方法》、SN/T 1735—2006《进出口贝类产品中麻痹性贝类毒素检验方法 高效液相色谱法》和 SN/T 1773—2006《进出口贝类中麻痹性贝类毒素检验方法 酶联免疫吸附试验法》。

本标准与 GB/T 5009.213—2008 相比,主要变化如下:

- 标准名称修改为“食品安全国家标准 贝类中麻痹性贝类毒素的测定”;
- 增加了酶联免疫吸附法;
- 增加了液相色谱-串联质谱法。

食品安全国家标准

贝类中麻痹性贝类毒素的测定

1 范围

本标准规定了贝类中麻痹性贝类毒素测定的小鼠生物法,酶联免疫吸附方法,液相色谱法和液相色谱-串联质谱法。

本标准适用于牡蛎、扇贝等贝类及其制品中麻痹性贝类毒素的检测。

小鼠生物法

2 原理

用盐酸提取贝类中麻痹性贝类毒素(PSP)。记录小鼠腹腔注射提取液后的死亡时间,根据麻痹性贝类毒素致小鼠死亡时间与鼠单位关系的对照表查出鼠单位(MU),并按小鼠体重对鼠单位进行校正得到校正鼠单位(CMU),计算得到每 100 g 样品中 PSP 的鼠单位。以石房蛤毒素作为标准,将鼠单位换算成毒素的微克数,计算每 100 g 贝肉中的 PSP 微克数。测定结果代表存在于贝肉内各种化学结构的 PSP 毒素总量。

3 试剂和材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 试剂

3.1.1 氢氧化钠(NaOH)。

3.1.2 盐酸(HCl)。

3.1.3 无水乙醇($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$)。

3.2 试剂配制

3.2.1 氢氧化钠溶液(0.1 mol/L):将 4.0 g 氢氧化钠溶于 1 L 水中。

3.2.2 盐酸溶液(0.18 mol/L):将 15.5 mL 盐酸用蒸馏水稀释至 1 L。

3.2.3 盐酸溶液(5 mol/L):将 45 mL 盐酸用水稀释至 100 mL。

3.2.4 酸性乙醇溶液:量取无水乙醇 200 mL,用水稀释至 1 000 mL,混匀,用盐酸溶液(5 mol/L)调节 pH 至 2.0~4.0。

3.3 标准品

石房蛤毒素标准品(STX, $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_4 \cdot 2\text{HCl}$, CAS 号 35554-08-6):纯度 $\geq 98.0\%$ 。

3.4 标准溶液的配制

3.4.1 石房蛤毒素标准储备液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$):准确称取适量 STX 标准品,用酸性乙醇溶液溶解并定容,

配制成 STX 的质量浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备液。

3.4.2 石房蛤毒素标准工作液(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$):准确吸取 1 mL 石房蛤毒素标准储备液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$),用水稀释,用盐酸溶液(5 mol/L)调节 pH 至 2.0~4.0,用水定容至 100 mL。该标准工作液于 0 $^{\circ}\text{C}$ ~4 $^{\circ}\text{C}$ 下可保存 30 d。

3.5 材料

3.5.1 小鼠:体重为 19 g~21 g 的健康 ICR 系雄性小鼠。

3.5.2 pH 计或 pH 试纸。

4 仪器和设备

4.1 均质器。

4.2 分析天平:感量为 0.1 g 和 0.000 1 g。

4.3 离心机:转速 \geq 2 000 r/min。

5 分析步骤

注:为避免毒素的危害,应戴手套进行操作。移液管及移液器吸头等用过的器材、废弃的提取液等应在次氯酸钠溶液(5%)中浸泡 1 h 以上以使毒素分解。对于动物实验过程中产生的污水、废弃物及动物尸体处理,应参照 GB 14925 执行。

5.1 样品采集

从 2 kg 以上样品中采取足够贝类个数,去壳使贝肉达 200 g 以上。不能及时送检的新鲜贝类,开壳将贝肉分离,将沥水后的 200 g 贝肉放入 200 mL 盐酸溶液(0.18 mol/L)中,置 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存,备检。

5.2 试样制备

5.2.1 牡蛎、蛤及贻贝

用清水将贝类样品外表彻底洗净,切断闭壳肌,开壳,用蒸馏水淋洗内部去除泥沙及其他异物。将闭壳肌和连接在胶合部的组织分开,仔细取出贝肉,切勿割破贝体。严禁加热或用麻醉剂开壳。收集约 200 g 贝肉分散置于筛子中沥水 5 min(不要使肉堆积),检出碎壳等杂物,将贝肉均质备用。

5.2.2 扇贝

取可食部分用作检测,按 5.2.1 均质后备用。

5.2.3 冷冻贝类

在室温下,使冷冻的样品(带壳或脱壳的)自然融化,按 5.2.1 开壳、淋洗、取肉、均质、备用。

5.2.4 贝类罐头

将罐内所有内容物(肉及液体)充分均质。如果是大罐,将贝肉沥水并收集沥下的液体分别称重并存放固体物和汤汁,将固体物和汤汁按原罐装比例混合,均质后备用。

5.2.5 用酸保存的贝肉

沥去酸液,分别存放贝肉及酸液,备用。

5.2.6 贝肉干制品

干制品可于等体积盐酸溶液(0.18 mol/L)中浸泡 24 h~48 h(4 ℃ 冷藏),沥去酸液,分别存放贝肉及酸液备用。

5.3 PSP 标准品对照试验

5.3.1 PSP 标准工作液的配制

用 10 mL、15 mL、20 mL、25 mL 和 30 mL 水分别稀释 10 mL 石房蛤毒素标准工作液,配制成系列浓度的标准稀释液。

5.3.2 中位数死亡时间的 PSP 标准工作液选择

取按 5.3.1 配制的系列浓度的标准稀释液各 1 mL,腹腔注射小鼠数只,选择中位数死亡时间为 5 min~7 min 的浓度剂量。如某浓度稀释液已达到要求,还需以 1 mL 水的增减量进行补充稀释试验。

每只小鼠试验前称重,以 10 只小鼠为一组,用中位数死亡时间在 5 min~7 min 范围内的两个浓度的标准稀释液注射小鼠,测定并记录每只小鼠腹腔注射完毕至停止呼吸的所需死亡时间。

5.3.3 毒素转换系数(CF)的计算

5.3.3.1 小鼠中位数死亡时间的选择

计算 5.3.2 中所选择浓度的标准稀释液受试组的中位数死亡时间。弃去中位数死亡时间小于 5 min 或大于 7 min 的受试组;选择中位数死亡时间在 5 min~7 min 的受试组,该受试组中可允许有个别小鼠的死亡时间可小于 5 min 或大于 7 min。

5.3.3.2 校正鼠单位(CMU)的计算

对于所选定的中位数死亡时间为 5 min~7 min 的受试组,根据附录 A 查得该组中每只小鼠死亡时间所对应的鼠单位(MU),再根据附录 B 查得组中每只小鼠体重所对应的体重校正系数,同一只小鼠的体重校正系数与鼠单位相乘得到该只受试小鼠的校正鼠单位(CMU)。

5.3.3.3 毒素转换系数(CF)的计算

单只小鼠的毒素转换系数(CF)按式(1)计算:

$$CF = \frac{c}{CMU} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

CF —— 毒素转换系数,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);

c —— 每毫升 STX 标准稀释液中的毒素含量,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);

CMU —— 校正鼠单位。

得到单只小鼠的毒素转换系数(CF)后,再计算每组 10 只小鼠的平均 CF 值,即为组内毒素转换系数(CF_1)。

5.3.3.4 组间毒素转换系数(CF_2)的计算

取不同受试组的组内毒素转换系数的平均值,即为组间毒素转换系数(CF_2)。以组间毒素转换系数进行试样毒力的计算。

5.3.3.5 CF 值定期检查

如 PSP 检测间隔时间较长,每次测定时要用适当的标准稀释液注射 5 只小鼠,重新测定 CF 值。如果一周有几次检测,则用中位数死亡时间 5 min~7 min 的标准稀释液每周检查一次,测得的 CF 值应在原测定 CF 值的±20%范围内。若结果不符,则用同样的标准稀释液另外注射 5 只小鼠,综合之前注射的 5 只小鼠的结果,计算出 CF 值。并用同样的标准稀释液注射第二组 10 只小鼠,将第二组求出的 CF 值和第一组的 CF 值进行平均,即为一个新的 CF 值。

重复检查的 CF 值通常在原结果的±20%之内,若经常发现有较大偏差,在进行常规检测前应调查该方法中是否存在可变影响因素。

5.4 试样提取

取 100 g 试样于烧杯中,加盐酸溶液(0.18 mol/L)100 mL 充分搅拌,均质,调节 pH 至 2.0~4.0,必要时,可逐滴加入盐酸溶液(5 mol/L)或氢氧化钠溶液(0.1 mol/L)调节 pH,加碱时速度要慢,同时需不断搅拌,防止局部碱化破坏毒素。将混合物加热煮沸 5 min,冷却至室温,移至量筒中并稀释至 200 mL,调节 pH 至 2.0~4.0。

将混合物倒回烧杯,搅拌均匀,自然沉降至上清液呈半透明状,不堵塞注射针头即可,必要时将混合物或上清液以 3 000 r/min 离心 5 min,或用滤纸过滤。收集上清液备用。

5.5 小鼠试验

取 19.0 g~21.0 g 健康 ICR 雄性小鼠 6 只,称重并记录重量。随机分为实验组和空白对照组两组,每组 3 只。

对每只实验组小鼠腹腔注射 1 mL 试样提取液,对每只空白对照组腹腔注射 1 mL 盐酸溶液(0.18 mol/L)。注射过程中若有一滴以上提取液溢出,须将该只小鼠丢弃,并重新注射一只小鼠。记录注射完毕时间,仔细观察并记录小鼠停止呼吸时的死亡时间(到小鼠呼出最后一口气止)。

若注射试样提取液后,1 只或 2 只小鼠的死亡时间大于 7 min,需再注射至少三只小鼠。

若小鼠的死亡时间小于 5 min,稀释试样提取液后,再注射 3 只小鼠,直至小鼠在 5 min~7 min 内死亡;稀释试样提取液时,需逐滴加入盐酸溶液(0.18 mol/L)调节 pH 至 2.0~4.0。

6 分析结果的表述

6.1 以质量分数计的 PSP 毒力的计算与结果表述

6.1.1 以质量分数计的 PSP 毒力的计算

每 100 g 试样中 PSP 的含量按式(2)计算:

$$X = \text{CMU}_1 \times \text{CF}_2 \times \text{DF} \times 200 \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中:

X ——每 100 g 样品中 PSP 的含量,单位为微克每百克($\mu\text{g}/100\text{g}$);

CMU_1 ——试样受试组小鼠的中位数校正鼠单位;

CF_2 ——组间毒素转换系数,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);

DF ——稀释倍数;

200 ——试样提取液的体积,单位为毫升(mL)。

注:根据检测样品受试组的小鼠死亡时间,查出附录 A 对应的鼠单位;根据附录 B 查出小鼠体重所对应的体重校正系数,两者相乘得到该只小鼠的 CMU。选取受试组中 3 只小鼠 CMU 的中位数,即为 CMU_1 。

6.1.2 以质量分数计的 PSP 毒力的结果表述

若空白对照组小鼠正常,则报告待测样品中 PSP 毒素含量为: $\times\times\times\mu\text{g}/100\text{ g}$ 。

6.2 以 MU 计的 PSP 毒力的计算与结果表述

6.2.1 以 MU 计的 PSP 毒力的计算

每 100 g 试样中以 MU 计的 PSP 毒力按式(3)计算:

$$Y = \text{CMU}_1 \times \text{DF} \times 200 \quad \dots\dots\dots(3)$$

式中:

Y ——每 100 g 样品的 MU 值,单位为鼠单位每百克(MU/100 g);

CMU_1 ——实验组小鼠的中位数校正鼠毒力单位;

DF ——稀释倍数;

200 ——试样提取液的体积,单位为毫升(mL)。

注:对于取得 PSP 标准品有困难的实验室,可按式(3)计算以 MU 计的 PSP 毒力。

6.2.2 以 MU 计的 PSP 毒力的判断与结果表述

在空白对照组小鼠正常的情况下进行如下判断和表述:

若实验组中位数死亡时间小于 5 min,则应对样品提取液进行稀释,再选取 3 只小鼠进行试验,直至得到中位数死亡时间为 5 min~7 min 为止,根据最后的稀释液实验结果计算样品的鼠单位毒力,报告该样品的鼠单位毒力为: $\times\times\times\text{ MU}/100\text{ g}$ 。

若实验组中位数死亡时间大于 7 min,则直接计算确定样品鼠单位毒力,报告该样品的鼠单位毒力为: $\times\times\times\text{ MU}/100\text{ g}$ 。

若实验组中所有小鼠在观察 15 min 内均不死亡,可报告该样品的鼠单位毒力小于 400 MU/100 g。

酶联免疫吸附法

7 原理

游离麻痹性贝类毒素与其酶标记物竞争麻痹性贝类毒素抗体,同时麻痹性贝类毒素抗体与捕捉抗体连接。没有被结合的酶标记物在洗涤步骤中被除去。结合的酶标记物将无色的发色剂转化为蓝色的产物。加入反应停止液后使颜色由蓝转变为黄色。用酶标仪在 450 nm 波长下测量微孔溶液的吸光度值,试样中麻痹性贝类毒素含量与吸光度值成反比,按绘制的标准曲线定量计算。

8 试剂和材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

8.1 试剂

8.1.1 盐酸(HCl)。

8.1.2 十二水合磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)。

8.1.3 氯化钠(NaCl)。

8.1.4 氯化钾(KCl)。

- 8.1.5 磷酸二氢钾(KH_2PO_4)。
- 8.1.6 吐温-20($\text{C}_{58}\text{H}_{114}\text{O}_{26}$)。
- 8.1.7 牛血清白蛋白(BSA)。
- 8.1.8 酶标记物。
- 8.1.9 麻痹性贝类毒素抗体。
- 8.1.10 过氧化氢(H_2O_2)。
- 8.1.11 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB, $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2$)。
- 8.1.12 硫酸(H_2SO_4)。

8.2 试剂配制

- 8.2.1 盐酸溶液(0.1 mol/L):量取 9 mL 盐酸,用水稀释至 1 000 mL。
- 8.2.2 盐酸溶液(5 mol/L):量取 450 mL 盐酸,用水稀释至 1 000 mL。
- 8.2.3 磷酸盐缓冲液(PBS 溶液,pH 7.4):分别称取磷酸二氢钾 0.20 g、十二水合磷酸氢二钠 2.90 g、氯化钠 8.00 g、氯化钾 0.20 g,加水溶解并定容至 1 000 mL。
- 8.2.4 抗体稀释液:称取 1.0 g BSA,加 PBS 溶液溶解并定容至 1 000 mL。
- 8.2.5 酶标记物工作液:用抗体稀释液将酶标记物稀释至工作浓度。
- 8.2.6 麻痹性贝类毒素抗体工作液:麻痹性贝类毒素抗体用抗体稀释液稀释至工作浓度。
- 8.2.7 洗脱液:吸取 0.5 mL 吐温-20,用 PBS 溶液稀释至 1 000 mL。
- 8.2.8 硫酸溶液(1 mol/L):吸取 53.2 mL 硫酸,缓缓加至盛有 500 mL 水的烧杯中,并用水定容至 1 000 mL,混匀。

8.3 标准品

石房蛤毒素(STX, $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_4 \cdot 2\text{HCl}$,CAS 号 35554-08-6)标准溶液。

8.4 标准溶液配制

标准系列工作液配制:准确吸取适量体积的石房蛤毒素标准溶液用 PBS 溶液(pH 7.4)稀释,配制成质量浓度分别为 0 $\mu\text{g}/\text{L}$,2.5 $\mu\text{g}/\text{L}$,5 $\mu\text{g}/\text{L}$,10 $\mu\text{g}/\text{L}$,20 $\mu\text{g}/\text{L}$,40 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的标准系列工作液。现用现配。

8.5 材料

包被有麻痹性贝类毒素捕捉抗体的微孔板。

注:商业化试剂盒若评价技术参数达到本标准的要求则也适合于本标准,参见附录 C。

9 仪器和设备

- 9.1 酶标仪。
- 9.2 均质器。
- 9.3 离心机:转速 $\geq 6\,000$ r/min。

10 分析步骤

10.1 样品采集

同 5.1。

10.2 试样制备

同 5.2。

10.3 试样提取

称取 10 g(精确至 0.1 g)试样,加入 70 mL 盐酸溶液(0.1 mol/L)[如为较干燥的贝肉,加入 140 mL 盐酸溶液(0.1 mol/L)],煮沸并搅拌 5 min,4 °C 条件下 6 000 r/min 离心 10 min,上清液用盐酸溶液(5 mol/L)调节 pH 至 4.0 以下。取 100 μL 提取液,加入 900 μL PBS 溶液(pH 7.4),混匀,取 50 μL 进行测定。

10.4 测定

将包被有麻痹性贝类毒素捕捉抗体的微孔条插入微孔架并做好标记,其中包括空白对照孔、标准液孔和样液孔,分别做平行孔。向空白对照孔加入 50 μL 磷酸盐缓冲液,标准液孔加入 50 μL 麻痹性贝类毒素标准系列工作液,样液孔加入 50 μL 样液。加入 50 μL 麻痹性贝类毒素酶标记物至每个微孔,轻轻混合;再加入 50 μL 麻痹性贝类毒素抗体至每个微孔,彻底混合,用黏胶纸封住微孔以防溶液挥发,20 °C~25 °C 黑暗避光处孵育 15 min。孵育结束后,倒去孔中液体,每个微孔注入 250 μL 洗脱液冲洗,翻转微孔板,倾去孔内液体,再重复以上洗板操作 5 次,在吸水纸上拍干。每孔加 100 μL 过氧化氢和 TMB,充分混合,20 °C~25 °C 黑暗避光处孵育 15 min。每孔加入 100 μL 硫酸溶液(1 mol/L)迅速混匀,终止反应,在 10 min 内测量并记录 450 nm 波长下的吸光度值。若测定的样液的质量浓度超出标准曲线的线性范围,可扩大稀释倍数后重新进行测定。

10.5 标准曲线的制作

以麻痹性贝类毒素标准系列工作液质量浓度以 10 为底的对数值为横坐标,以式(4)计算的百分比吸光度值为纵坐标,绘制标准曲线。

麻痹性贝类毒素标准液和样液的百分比吸光度值按式(4)计算:

$$A = \frac{S}{S_0} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(4)$$

式中:

A ——百分比吸光度值;

S ——麻痹性贝类毒素标准液或样液的平均吸光度值;

S₀ ——0 μg/kg 的麻痹性贝类毒素标准液的平均吸光度值。

11 分析结果的表述

试样中麻痹性贝类毒素的含量按式(5)计算:

$$X = \frac{\rho \times V \times f}{m} \quad \dots\dots\dots(5)$$

式中:

X ——试样中麻痹性贝类毒素的含量,单位为微克每克(μg/g);

ρ ——由标准曲线得到的试样待测液中麻痹性贝类毒素的质量浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);

V ——试样提取液的体积,单位为毫升(mL);

f ——稀释倍数;

m ——试样的质量,单位为克(g)。

注:任何麻痹性贝类毒素含量值大于 800 μg/kg 的样品即被认为是有害的,对人类食用不安全。

12 其他

本方法的定量限为 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

液相色谱法

13 原理

试样中的麻痹性贝类毒素经盐酸溶液(0.1 mol/L)提取, C_{18} 固相萃取柱和超滤离心净化,液相色谱分离,在线柱后衍生荧光检测,外标法定量。

14 试剂和材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

14.1 试剂

- 14.1.1 乙腈(CH_3CN):色谱纯。
- 14.1.2 无水乙酸(CH_3COOH)。
- 14.1.3 盐酸(HCl)。
- 14.1.4 庚烷磺酸钠($\text{C}_7\text{H}_{15}\text{NaO}_3\text{S}$)。
- 14.1.5 磷酸(H_3PO_4)。
- 14.1.6 二水合高碘酸($\text{HIO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)。
- 14.1.7 磷酸氢二钾(K_2HPO_4)。
- 14.1.8 氢氧化钾(KOH)。
- 14.1.9 氨水($\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)。

14.2 试剂配制

- 14.2.1 庚烷磺酸钠溶液(0.1 mol/L):称取 20.2 g 庚烷磺酸钠,用水溶解并稀释至 1 000 mL。
- 14.2.2 磷酸溶液(0.5 mol/L):称取 49.0 g 磷酸,用水溶解并稀释至 1 000 mL。
- 14.2.3 磷酸氢二钾溶液(0.25 mol/L):称取 43.5 g 磷酸氢二钾,用水溶解并稀释至 1 000 mL。
- 14.2.4 氢氧化钾溶液(1 mol/L):称取 56.1 g 氢氧化钾,用水溶解并稀释至 1 000 mL。
- 14.2.5 高碘酸溶液(0.5 mol/L):称取 114.0 g 二水合高碘酸,用水溶解并稀释至 1 000 mL。
- 14.2.6 乙酸溶液(1 mol/L):称取 60.0 g 无水乙酸,用水溶解并稀释至 1 000 mL。
- 14.2.7 乙酸溶液(0.01 mol/L):量取 10.0 mL 乙酸溶液(1 mol/L),用水稀释至 1 000 mL。
- 14.2.8 盐酸溶液(0.1 mol/L):量取 9.0 mL 盐酸,用水稀释至 1 000 mL。
- 14.2.9 流动相 A:量取 15.0 mL 庚烷磺酸钠溶液(0.1 mol/L)、8.5 mL 磷酸溶液(0.5 mol/L),用约 450 mL 水稀释,用氨水调 pH 至 7.2,用水定容至 500 mL,过 0.45 μm 水相微孔滤膜。
- 14.2.10 流动相 B:量取 20.0 mL 庚烷磺酸钠溶液(0.1 mol/L)、45.0 mL 磷酸溶液(0.5 mol/L),用约 450 mL 水稀释,用氨水调节 pH 至 7.2,用水定容到 500 mL,过 0.45 μm 水相微孔滤膜。
- 14.2.11 氧化液:量取 10.0 mL 高碘酸(0.5 mol/L)、100 mL 磷酸氢二钾溶液(0.25 mol/L),用约 450 mL 水溶解,用氢氧化钾溶液(1 mol/L)调节 pH 至 9.0,用水稀释至 500 mL。

14.3 标准品

麻痹性贝类毒素 GTX1,4、GTX2,3、dcGTX2,3、GTX5、neoSTX、STX、dcSTX 标准溶液,避光保存于一20 ℃以下。标准品相关信息参见附录 D。

14.4 标准溶液配制

14.4.1 麻痹性贝类毒素标准储备液:准确吸取适量麻痹性贝类毒素标准溶液,用乙酸溶液(0.01 mol/L)稀释并定容,配制成一定浓度的标准储备液,避光保存于一20 ℃以下。

14.4.2 麻痹性贝类毒素混合标准溶液:分别准确吸取适量各麻痹性贝类毒素标准储备液,用乙酸溶液(0.01 mol/L)稀释并定容,配制成所需质量浓度的混合标准溶液,现用现配。

14.4.3 麻痹性贝类毒素混合标准工作液:准确吸取适量麻痹性贝类毒素混合标准溶液,用乙酸溶液(0.01 mol/L)稀释并定容,配制成混合标准工作液,相关信息见附录 D。

14.5 材料

14.5.1 C₁₈固相萃取柱:500 mg/3 mL,或性能相当者。使用前依次用 6 mL 甲醇和 6 mL 水活化。

14.5.2 超滤离心管:4 mL,10KD。

14.5.3 微孔滤膜:0.45 μm,水相。

15 仪器和设备

15.1 液相色谱仪:配有荧光检测器,柱后衍生反应装置。

15.2 离心机:转速≥2 000 r/min。

15.3 固相萃取装置。

15.4 涡旋振荡器。

15.5 恒温水浴锅。

15.6 pH 计。

16 分析步骤

16.1 样品采集

同 5.1。

16.2 试样制备

同 5.2。

16.3 试样提取

称取 5 g(精确至 0.01 g)试样于 15 mL 具塞离心管中,加入 10 mL 盐酸溶液(0.1 mol/L),振荡均匀。将离心管置于 100 ℃的沸水浴中,加热 5 min,冷却后,以 5 000 r/min 离心 10 min,上清液待净化。

16.4 试样净化

将上清液过已活化好的 C₁₈固相萃取柱,收集流出液,用水定容至 10 mL。准确吸取 1 mL(相当于 0.5 g 试样)于超滤离心管中离心,滤液供液相色谱测定。

16.5 空白试验

除不加试样外,采用与试样相同的操作步骤,得到空白溶液。

16.6 仪器参考条件

16.6.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱: C_8 柱,柱长 250 mm,内径 4.6 mm,粒径 5 μm ,或性能相当者;
- b) 温度: 30 $^{\circ}\text{C}$;
- c) 流动相: 流动相 A、流动相 B 和流动相 C(乙腈);
- d) 流动相梯度洗脱,详见表 1;

表 1 流动相梯度洗脱

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%	流动相 C/%	流速/(mL/min)
0	100	0	0	1.0
20.0	100	0	0	1.0
20.5	0	93.5	6.5	0.9
45.0	0	93.5	6.5	0.9
45.5	100	0	0	1.0
60.0	100	0	0	1.0

- e) 柱后衍生: 反应温度为 50 $^{\circ}\text{C}$,反应液流速(单位为 mL/min),梯度见表 2;

表 2 柱后衍生反应液流速梯度

单位为毫升每分钟

反应液	时间					
	0 min	25 min	25.5 min	45 min	45.5 min	60 min
氧化液	0.4	0.4	0.8	0.8	0.4	0.4
乙酸溶液(1 mol/L)	0.4	0.4	0.8	0.8	0.4	0.4

- f) 荧光检测: 激发波长 330 nm,发射波长 390 nm;
- g) 进样量: 100 μL 。

16.7 标准曲线的制作

将不同浓度混合标准溶液分别注入液相色谱仪中,测定相应的峰面积,以标准溶液的质量浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。麻痹性贝类毒素标准溶液的液相色谱图见图 E.1。

16.8 试样溶液的测定

将试样溶液注入液相色谱仪中,得到相应的峰面积,根据标准曲线得到待测液中麻痹性贝类毒素的质量浓度。

17 分析结果的表述

17.1 试样中各种麻痹性贝类毒素含量的计算

试样中各种麻痹性贝类毒素的含量按式(6)计算:

$$X_i = \frac{\rho_i \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots(6)$$

式中:

X_i ——试样中各种麻痹性贝类毒素的含量,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

ρ_i ——从标准工作曲线得到的试样溶液中麻痹性贝类毒素的质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

V ——用于超滤的试样溶液体积,单位为毫升(mL);

1 000 ——换算因子;

m ——与超滤试样溶液相当的试样质量,单位为克(g)。

计算结果应扣除空白值。计算结果保留三位有效数字。

17.2 总毒力计算

试样中麻痹性贝类毒素总毒力(STX_{eq})按式(7)计算:

$$\text{STX}_{\text{eq}} = \sum_{i=1}^n X_i \cdot r_i \dots\dots\dots(7)$$

式中:

STX_{eq} ——试样中麻痹性贝类毒素总毒力,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

X_i ——各种麻痹性贝类毒素的含量,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

r_i ——麻痹性贝类毒素的毒性因子。

注:试样中各种麻痹性贝类毒素的含量需按照附录 F 中的毒性因子(TEFs),统一转换为总毒力(STX_{eq})。

18 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 15%。

19 其他

本方法的定量限: GTX4 为 $16.7 \mu\text{g}/\text{kg}$; GTX1 为 $50.7 \mu\text{g}/\text{kg}$; dcGTX3 为 $4.8 \mu\text{g}/\text{kg}$; GTX5 为 $31.9 \mu\text{g}/\text{kg}$; dcGTX2 为 $17.3 \mu\text{g}/\text{kg}$; GTX3 为 $6.5 \mu\text{g}/\text{kg}$; GTX2 为 $19.6 \mu\text{g}/\text{kg}$; neoSTX 为 $15.7 \mu\text{g}/\text{kg}$; dcSTX 为 $12.5 \mu\text{g}/\text{kg}$; STX 为 $14.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

液相色谱-串联质谱法

20 原理

试样经甲酸溶液(0.5%)提取,分别经乙酸乙酯和三氯甲烷液-液分配去脂,固相萃取柱净化后,再经乙腈除蛋白,超滤离心,液相色谱-串联质谱检测,外标法定量。

21 试剂和材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为色谱纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

21.1 试剂

21.1.1 乙酸乙酯($\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$)

21.1.2 三氯甲烷(CHCl_3)。

21.1.3 甲酸(HCOOH):分析纯。

21.1.4 甲酸铵(HCOONH_4):分析纯。

21.1.5 乙腈(CH_3CN)。

21.1.6 甲醇(CH_3OH)。

21.2 试剂配制

21.2.1 甲酸铵缓冲溶液(5 mmol/L):称取 0.315 g 甲酸铵,加入 5 mL 甲酸,用水溶解并稀释至 1 000 mL。

21.2.2 甲酸溶液(0.5%):吸取 500 μL 甲酸,用水稀释至 100 mL。

21.2.3 酸化乙腈(0.5%):量取 5 mL 甲酸,用乙腈稀释至 1 000 mL。

21.3 标准品

10 种麻痹性贝类毒素标准溶液:GTX1&4、GTX2&3、dcGTX2&3、neoSTX、STX、dcSTX、GTX5,相关分子式、CAS 号参见附录 D。

21.4 标准溶液配制

21.4.1 麻痹性贝类毒素混合标准中间液:准确移取适量各组分标准溶液,用水稀释定容,配制成 GTX4、GTX3、dcGTX3 质量浓度为 500 ng/mL,STX、dcSTX、neoSTX、GTX5 质量浓度为 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, GTX1 质量浓度为 1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、GTX2 质量浓度为 1.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、dcGTX2 质量浓度为 2.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合标准中间液,4 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存,有效期 3 个月。

21.4.2 麻痹性贝类毒素混合标准工作液:准确移取适量麻痹性贝类毒素混合标准中间液,于 45 $^{\circ}\text{C}$ 氮气吹干后,用空白试样基质液稀释并定容,配制成混合标准工作液参见附录 D。

21.5 材料

21.5.1 HLB 固相萃取柱:150 mg/6 mL,或性能相当者。使用前依次用 6 mL 甲醇、6 mL 水和 6 mL 甲酸溶液(0.5%)活化。

21.5.2 超滤离心管:4 mL,10KD。

22 仪器和设备

22.1 液相色谱-串联质谱仪:配电喷雾离子源(ESI)。

22.2 分析天平:感量为 0.1 mg 和 0.01 g。

22.3 高速冷冻离心机:10 000 r/min。

22.4 超声波清洗器。

22.5 涡旋振荡器。

- 22.6 均质器。
- 22.7 氮吹仪。
- 22.8 固相萃取装置。

23 分析步骤

23.1 样品采集

从 2 kg 以上样品中采取足够贝类个数,去壳使贝肉达 200 g 以上。不能及时送检的新鲜贝类,冷冻保存。

23.2 试样制备

同 5.2.1~5.2.4。

23.3 试样提取

称取 5 g(精确至 0.01 g)试样于 50 mL 塑料离心管中,加入 5 mL 甲酸溶液(0.5%),涡旋混匀 1 min,超声提取 5 min,10 000 r/min 离心 10 min,移出上清液至另一 50 mL 塑料离心管中,残渣中再加入 4.5 mL 甲酸溶液(0.5%)重复提取两次,合并上清液,用甲酸溶液(0.5%)定容至 15 mL。

23.4 试样净化

提取液中加入 20 mL 乙酸乙酯,涡旋混合 30 s,10 000 r/min 离心 10 min,弃去上层溶液。再向提取液中加入 20 mL 三氯甲烷,涡旋混合 30 s,10 000 r/min 离心 10 min;取 3 mL 上层溶液加入已活化的固相萃取柱中,过柱速度控制在 1 滴/s,收集流出液至 10 mL 刻度离心管中,再加 1 mL 甲酸溶液(0.5%)至固相萃取柱中,收集流出液至 3.5 mL。向流出液中再加入 4.5 mL 乙腈,混匀后放置 5 min,10 000 r/min 离心 10 min,取 1 mL 上清液(相当于 0.125 g 试样)至超滤离心管中,10 000 r/min 离心 20 min,所得滤液供液相色谱-串联质谱测定。

23.5 空白试验

23.5.1 试剂空白试验

除不加试样外,采用与试样相同的操作步骤,得到空白溶液。

23.5.2 空白试样基质液制备

称取空白试样,采用与试样相同的操作步骤,得到空白试样基质液。

23.6 仪器参考条件

23.6.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱:亲水性氨基甲酰键合凝胶柱,柱长 250 mm,内径 2.0 mm,粒径 5 μ m,或性能相当者;
- b) 流动相:流动相 A 为甲酸铵缓冲溶液(5 mmol/L),流动相 B 为酸化乙腈(0.5%),梯度洗脱条件见表 3;
- c) 流速:0.25 mL/min;
- d) 柱温:30 $^{\circ}$ C;
- e) 进样量:20 μ L;
- f) 样品盘温度:5 $^{\circ}$ C。

表 3 流动相梯度洗脱条件

时间/min	A/%	B/%
0.0	30	70
3.0	30	70
3.1	40	60
16.0	40	60
19.0	94	6
23.0	94	6
27.0	30	70
35.0	30	70

23.6.2 质谱参考条件

- a) 离子源:电喷雾离子源;
- b) 扫描方式:正离子扫描;
- c) 监测方式:多反应监测模式,麻痹性贝类毒素的母离子、子离子和碰撞能量见表 4;
- d) 喷雾电压:4 500 V;
- e) 离子传输毛细管温度:300 ℃;
- f) 锥孔电压:−10 V;
- g) 雾化气流速:11.7 L/ min;
- h) 辅助气流速:1.7 L/ min;
- i) 碰撞气压力:1.5 mTorr。

表 4 10 种麻痹性贝类毒素母离子、子离子和碰撞能量

目标化合物	母离子/(m/z)	子离子/(m/z)	碰撞能量/eV
GTX2	396.1	* 316.1	20
		298.0	25
GTX3	396.1	* 298.1	19
		316.1	13
GTX1	412.1	* 332.1	19
		313.9	13
GTX4	412.1	* 313.9	23
		332.1	19
GTX5	380.1	* 300.1	7
		282.1	15
neoSTX	316.1	* 298.0	20
		220.0	25

表 4 (续)

目标化合物	母离子/(<i>m/z</i>)	子离子/(<i>m/z</i>)	碰撞能量/eV
STX	300.1	* 204.0	21
		282.0	22
dcSTX	257.1	* 221.9	21
		126.0	22
dcGTX2	353.3	* 254.9	18
		272.9	18
dcGTX3	353.3	* 272.9	18
		254.9	18
* 定量离子。			

23.7 基质标准曲线的制作

将基质匹配的不同浓度混合标准工作液分别注入液相色谱-串联质谱仪中,测定相应的峰面积,以混合标准工作液中各麻痹性贝类毒素的质量浓度为横坐标,以相应的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。麻痹性贝类毒素标准溶液的多反应监测色谱图参见图 G1。

23.8 试样溶液的测定

将试样溶液注入液相色谱-串联质谱仪测定,得到试样溶液中各麻痹性贝类毒素的峰面积,由基质标准曲线得到试样溶液中各麻痹性贝类毒素的质量浓度。

试样溶液中麻痹性贝类毒素的保留时间与基质标准工作液中麻痹性贝类毒素的保留时间之间的偏差应在±2.5%以内。且检测到的麻痹性贝类毒素的定性离子的相对丰度应当与质量浓度接近的基质标准溶液中麻痹性贝类毒素的定性离子的相对丰度一致,其偏差应符合表 5 规定的范围,则可判定试样中存在被测化合物。

表 5 定性离子相对丰度的最大允许偏差

定性离子相对丰度	>50%	>20%~50%	>10%~20%	≤10%
允许的相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

24 分析结果的表述

24.1 试样中各麻痹性贝类毒素含量的计算

试样中各麻痹性贝类毒素的含量按式(8)计算:

$$X_i = \frac{\rho_i \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots (8)$$

式中:

X_i ——试样中各麻痹性贝类毒素的含量,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

ρ_i ——由基质标准工作曲线得到的试样溶液中各麻痹性贝类毒素的质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

V ——用于超滤的试样溶液体积,单位为毫升(mL);

1 000 ——换算因子;

m ——与超滤试样溶液相当的试样质量,单位为克(g)。

计算结果应扣除空白值。计算结果保留三位有效数字。

24.2 总毒力计算

同 17.2。

25 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 15%。

26 其他

本方法 GTX1、GTX4、GTX2、GTX3、dcGTX2 和 dcGTX3 的检出限为 25.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$; GTX5、STX、dcSTX 和 neoSTX 的检出限为 50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 100.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

附 录 A

麻痹性贝类毒素致小鼠死亡时间与鼠单位的关系

麻痹性贝类毒素致小鼠死亡时间与鼠单位的关系见表 A.1。

表 A.1 麻痹性贝类毒素致小鼠死亡时间与鼠单位的关系

时间 分秒	鼠单位 MU	时间 分秒	鼠单位 MU
1:00	100	4:20	2.26
1:10	66.2	4:25	2.21
1:15	38.3	4:30	2.16
1:20	26.4	4:35	2.12
1:25	20.7	4:40	2.08
1:30	16.5	4:45	2.04
1:35	13.9	4:50	2.00
1:40	11.9	4:55	1.96
1:45	10.4	5:00	1.92
1:50	9.33	5:05	1.89
1:55	8.42	5:10	1.86
2:00	7.67	5:15	1.83
2:05	7.04	5:20	1.80
2:10	6.52	5:30	1.74
2:15	6.06	5:40	1.69
2:20	5.66	5:45	1.67
2:25	5.32	5:50	1.64
2:30	5.00	6:00	1.60
2:35	4.73	6:15	1.54
2:40	4.48	6:30	1.48
2:45	4.26	6:45	1.43
2:50	4.06	7:00	1.39
2:55	3.88	7:15	1.35
3:00	3.70	7:30	1.31
3:05	3.57	7:45	1.28
3:10	3.43	8:00	1.25
3:15	3.31	8:15	1.22
3:20	3.19	8:30	1.20
3:25	3.08	8:45	1.18
3:30	2.98	9:00	1.16
3:35	2.88	9:30	1.13
3:40	2.79	10:00	1.11
3:45	2.71	10:30	1.09
3:50	2.63	11:00	1.075
3:55	2.56	11:30	1.06
4:00	2.50	12:00	1.05
4:05	2.44	13:00	1.03
4:10	2.38	14:00	1.015
4:15	2.32	15:00	1.000

表 A.1 (续)

时间 分秒	鼠单位 MU	时间 分秒	鼠单位 MU
16:00	0.99	23:00	0.942
17:00	0.98	24:00	0.937
18:00	0.972	25:00	0.934
19:00	0.965	30:00	0.917
20:00	0.96	40:00	0.898
21:00	0.954	60:00	0.875
22:00	0.948		

附 录 B
小鼠体重校正系数表

小鼠体重校正系数见表 B.1。

表 B.1 小鼠体重校正系数表

小鼠体重/g	校正系数
10	0.50
10.5	0.53
11	0.56
11.5	0.59
12	0.62
12.5	0.65
13	0.675
13.5	0.70
14	0.73
14.5	0.76
15	0.785
15.5	0.81
16	0.84
16.5	0.86
17	0.88
17.5	0.905
18	0.93
18.5	0.95
19	0.97
19.5	0.985
20	1.000
20.5	1.015
21	1.03
21.5	1.04
22	1.05
22.5	1.06
23	1.07

附 录 C
商业化试剂盒评价技术参数

C.1 定量限

定量限为 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

C.2 回收率

回收率为 85%~90%。

C.3 重现性

标准品变异系数 $\leq 10\%$,样品变异系数 $\leq 15\%$ 。

C.4 交叉反应率

检测 STX 特异性达到 100%;检测 dcSTX 特异性达到 29%;检测 GTX 2/3 特异性达到 23%;检测 GTX 5B 特异性达到 23%;
与其他海藻毒素没有交叉反应。

附录 D

10 种麻痹性贝类毒素标准品的相关信息分子式、CAS 号及标准工作液质量浓度信息

10 种麻痹性贝类毒素标准品的分子式、CAS 号及标准工作液质量浓度信息见表 D.1。

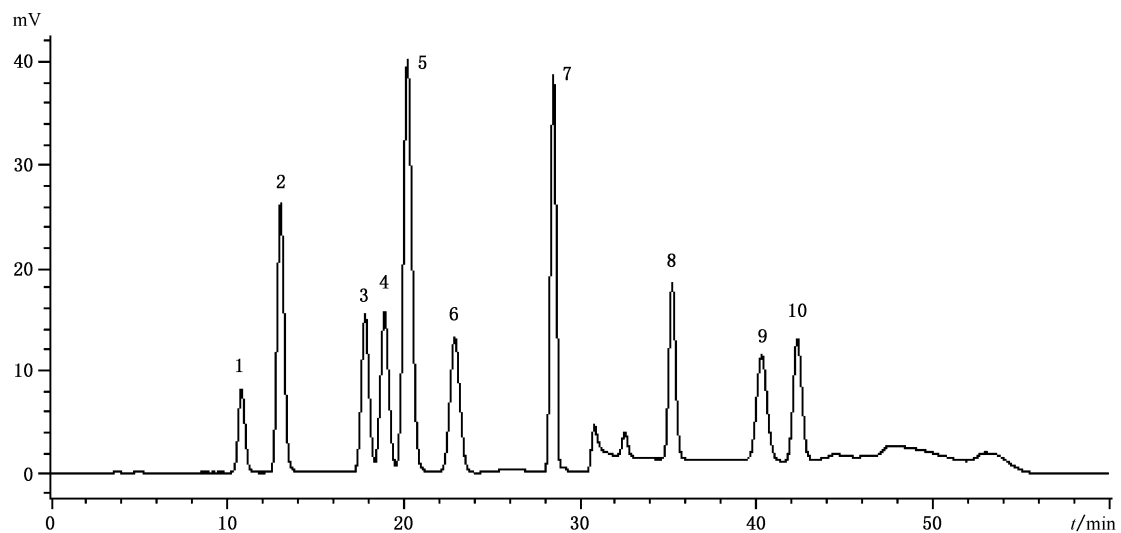
表 D.1 10 种麻痹性贝类毒素标准品的分子式、CAS 号及标准工作液质量浓度信息

毒素	分子式	CAS 号	液相色谱法		液相色谱-串联质谱法	
			质量浓度 $\mu\text{g/mL}$	标准工作液/(ng/mL)	质量浓度 $\mu\text{g/mL}$	标准工作液/(ng/mL)
GTX1	$\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_9\text{S}_1$	60748-39-2	25.4	0、25.4、50.7、101、 254、507、1 014	24.8	15.3、30.6、61.2、 150、306
GTX4	$\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_9\text{S}_1$	64296-26-0	8.35	0、8.35、16.7、33.4、 83.5、167、334	8.1	5、10、20、50、100
GTX2	$\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_8\text{S}_1$	60508-89-6	39.2	0、9.8、19.6、39.2、98、 196、392	45.2	13.2、26.3、52.6、131.5、 263
GTX3	$\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_8\text{S}_1$	60537-65-7	13.0	0、3.25、6.5、13、32.5、 65、130	17.2	5、10、20、50、100
dcGTX2	$\text{C}_9\text{H}_{17}\text{N}_6\text{O}_7\text{S}_1$	86996-87-4	34.6	0、8.65、17.3、34.6、 86.5、173、346	40.9	22.2、44.5、89、222.5、 445
dcGTX3	$\text{C}_9\text{H}_{17}\text{N}_6\text{O}_7\text{S}_1$	87038-53-7	9.60	0、2.4、4.8、9.6、24、 48、96	9.2	5、10、20、50、100
GTX5	$\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_7\text{S}_1$	64296-25-9	16.0	0、16、31.9、63.8、 160、319、638	21.1	10、20、40、100、200
neoSTX	$\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_7\text{O}_5$	64296-20-4	15.7	0、7.85、15.7、31.4、 78.5、157、314	20.7	10、20、40、100、200
STX	$\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{N}_7\text{O}_4\text{Cl}_2$	35554-08-6	29.0	0、7.25、14.5、29、 72.5、145、290	24.7	10、20、40、100、200
dcSTX	$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{N}_6\text{O}_3\text{Cl}_2$	58911-04-9	25.0	0、6.25、12.5、25、 62.5、125、250	21.4	10、20、40、100、200

附录 E

10 种麻痹性贝类毒素标准溶液的液相色谱图

10 种麻痹性贝类毒素标准溶液的液相色谱图见 E.1。



说明：

- 1 —— 麻痹性贝类毒素 GTX4, 16.7 $\mu\text{g/L}$;
- 2 —— 麻痹性贝类毒素 GTX1, 50.7 $\mu\text{g/L}$;
- 3 —— 麻痹性贝类毒素 dcGTX3, 4.8 $\mu\text{g/L}$;
- 4 —— 麻痹性贝类毒素 GTX5, 31.9 $\mu\text{g/L}$;
- 5 —— 麻痹性贝类毒素 dcGTX2, 17.3 $\mu\text{g/L}$;
- 6 —— 麻痹性贝类毒素 GTX3, 6.5 $\mu\text{g/L}$;
- 7 —— 麻痹性贝类毒素 GTX2, 19.6 $\mu\text{g/L}$;
- 8 —— 麻痹性贝类毒素 neoSTX, 15.7 $\mu\text{g/L}$;
- 9 —— 麻痹性贝类毒素 dcSTX, 12.5 $\mu\text{g/L}$;
- 10 —— 麻痹性贝类毒素 STX, 14.5 $\mu\text{g/L}$ 。

图 E.1 10 种麻痹性贝类毒素标准溶液的液相色谱图

附 录 F
麻痹性贝类毒素毒性因子

麻痹性贝类毒素毒性因子见表 F.1。

表 F.1 麻痹性贝类毒素毒性因子

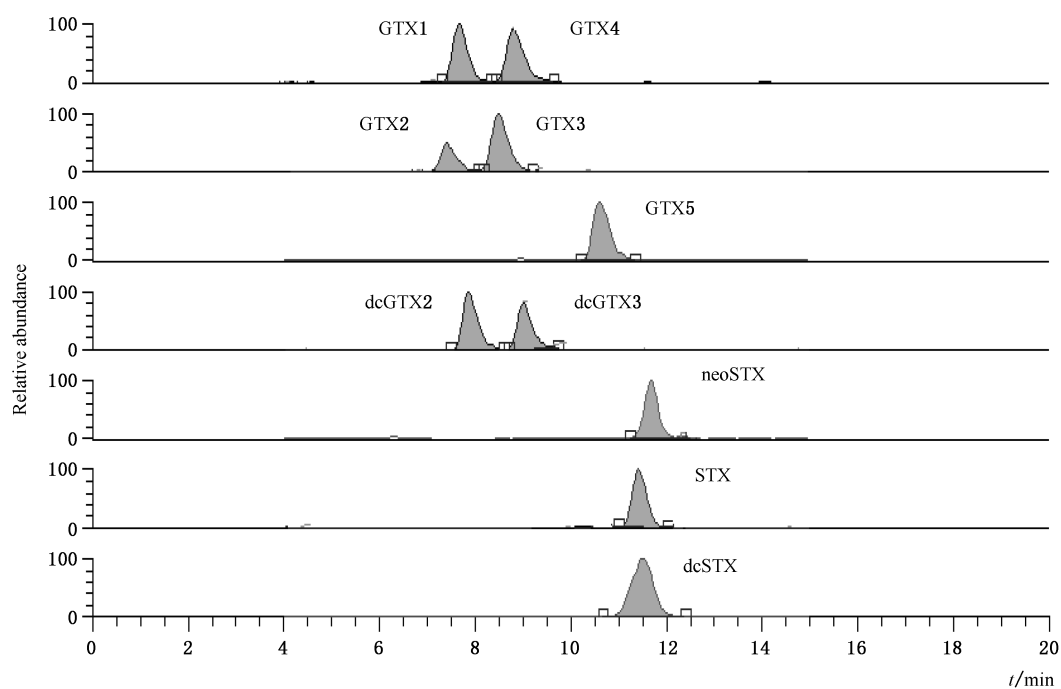
毒素	GTX1	GTX4	GTX2	GTX3	dcGTX2	dcGTX3	GTX5	neoSTX	STX	dcSTX
毒性因子	0.99	0.73	0.36	0.64	0.65	0.75	0.06	0.92	1	0.51

附录 G

10 种麻痹性贝类毒素标准溶液的多反应监测色谱图

10 种麻痹性贝类毒素标准溶液的多反应监测色谱图见图 G.1。

RT:0.00-20.00 SM:9G



说明:

- 1 —— 麻痹性贝类毒素 GTX1, 61.2 ng/mL;
- 2 —— 麻痹性贝类毒素 GTX4, 20.0 ng/mL;
- 3 —— 麻痹性贝类毒素 GTX2, 52.6 ng/mL;
- 4 —— 麻痹性贝类毒素 GTX3, 20.0 ng/mL;
- 5 —— 麻痹性贝类毒素 GTX5, 50.0 ng/mL;
- 6 —— 麻痹性贝类毒素 dcGTX2, 89.0 ng/mL;
- 7 —— 麻痹性贝类毒素 dcGTX3, 20.0 ng/mL;
- 8 —— 麻痹性贝类毒素 neoSTX, 50.0 ng/mL;
- 9 —— 麻痹性贝类毒素 dcSTX, 50.0 ng/mL;
- 10 —— 麻痹性贝类毒素 STX, 50.0 ng/mL。

图 G.1 10 种麻痹性贝类毒素标准溶液的多反应监测色谱图