

质谱鸟枪法非靶向快速初筛青鱼中微囊藻毒素残留

崔益玮¹, 林亚楠¹, 李诗言², 戴志远^{1,3}, 王 扬², 沈 清^{1,3}

(1. 浙江工商大学海洋食品研究院, 浙江 杭州 310012;

2. 浙江省水产质量检测中心, 浙江 杭州 310023;

3. 浙江省水产品加工技术研究联合重点实验室, 浙江 杭州 310012)

摘要: 母离子扫描(PreIS)是一种功能强大的扫描模式,但较少受到质谱工作者关注。本实验利用 PreIS 的功能特性和微囊藻毒素(MCs)的分子结构特征,建立了一种鸟枪法用于非靶向快速初筛青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)中 MCs 残留。通过优化固相萃取条件和质谱参数,选取 m/z 135 ($[C_9H_{11}O+H]^+$) 为特征碎片峰,快速初步定性筛查了所有含该基团的 MCs。实验发现,MCs 在质谱气相环境内更容易形成双电荷离子,且谱图较纯净,以 $[M+2H]^{2+}$ 为主。通过方法学验证,该方法的线性关系良好,相关系数 R^2 介于 0.992 5~0.997 1 之间;灵敏度较高,检出限和定量限分别低于 1.25 $\mu\text{g/L}$ 和 3.99 $\mu\text{g/L}$;日内、日间精密度的相对标准偏差分别为 6.8%~8.6%和 7.2%~9.1%,重现性较好;方法回收率为 68.2%~83.4%,RSD 为 4.5%~6.8%,能够满足一般分析测试的要求。采用该方法对市售青鱼进行 MCs 快速初筛,阳性检出率为 15%,MCs 总浓度为 3.4~15.8 $\mu\text{g/kg}$,主要检出的种类为微囊藻毒素 RR(MC-RR)和 LR(MC-LR)。该方法能够快速检测青鱼中 MCs 残留,可以为相关部门提供依据和参考,从而为消费者食品安全提供保障。

关键词: 母离子扫描(PreIS);鸟枪法;微囊藻毒素(MCs);质谱(MS);青鱼

中图分类号:O657.63

文献标志码:A

文章编号:1004-2997(2019)02-0159-08

doi:10.7538/zpxb.2017.0177

Mass Spectrometry Based Shotgun Method for Untargeted Fast Screening of Microcystin Residues in *Mylopharyngodon piceus*

CUI Yi-wei¹, LIN Ya-nan¹, LI Shi-yan², DAI Zhi-yuan^{1,3}, WANG Yang², SHEN Qing^{1,3}

(1. Institute of Seafood, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310012, China;

2. Aquatic Products Quality Inspection Center of Zhejiang Province, Hangzhou 310023, China;

3. State Key Laboratory of Aquatic Products Processing of Zhejiang Province, Hangzhou 310012, China)

Abstract: Precursor-ion scan (PreIS) is a versatile scanning mode but not commonly used by mass spectrometry analyzers. In this study, a shotgun method was developed

收稿日期:2017-11-13;修回日期:2017-12-15

基金项目:浙江省水产品质量安全技术支撑团队项目(QS2016001)资助

作者简介:崔益玮(1992—),女(汉族),甘肃人,硕士研究生,水产品加工与贮藏专业。E-mail: cdeyxzh@qq.com

通信作者:沈 清(1986—),男(汉族),浙江人,研究员,从事水产品加工与安全贮藏。E-mail: leonqshen@163.com

网络出版时间:2018-03-22;网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2979.TH.20180321.1857.002.html>

for fast untargeted screening of MCs in *Mylopharyngodon piceus* (*M. Piceus*) on the basis of the specific functions of PreIS and the structural characteristics of MCs. The performance of this method was improved by optimizing the conditions of solid-phase extraction and parameters of mass spectrometry. Three types sorbent were compared, including florisil, HLB, and C18. The HLB (68.2%-83.4%) performed best, followed by C18 (63.5%-78.5%) and florisil (ca. 60%). 2% and 80% methanol were used as washing and eluting solvents, respectively. The MCs were easily ionized as doubly charged ions $[M+2H]^{2+}$. Under product-ion scan, all the MCs can generate fragment ions like m/z 375, 213 and 135, where m/z 135 is the most intensive one. Therefore, m/z 135 was selected for conducting PreIS of MCs. The standard solution of five MCs mixture was detected, and all the doubly charged ions of MCs were observed. Finally, the proposed shotgun method was validated in terms of linearity, sensitivity, precision and recovery. The results indicated that the calibration curves are linear with R^2 of 0.992 5-0.997 1. The LOD and LOQ are not more than 1.25 and 3.99 $\mu\text{g/L}$, respectively. The RSDs of intra-day and inter-day precision are 6.8%-8.6% and 7.2%-9.1%, respectively. All the MCs can be well recovered with recovery of 68.2%-83.4%, and RSDs of 4.5%-6.8%. This method was applied to the *M. Piceus* samples from local market, and 15% samples were detected to be positive. MC-RR and MC-LR are the two frequently detected MCs in these samples, with concentrations of 3.4-15.8 $\mu\text{g/kg}$. The shotgun method is robust and efficient in detecting MCs in *M. Piceus*. The data are important references for related functional department to ensure the food safety of domestic consumers.

Key words: precursor-ion scan (PreIS); shotgun method; microcystins (MCs); mass spectrometry (MS); *Mylopharyngodon piceus*

青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)又称黑鲢、乌鲢,是长江中下游和沿江湖泊的重要渔业资源^[1],具有肉质细嫩、味道鲜美、饲料系数低、生长速度快等诸多特点,一直深受广大消费者的青睐^[2]。近年来,由于环境、饲料等因素导致的青鱼病害问题不断发生,尤其是水体富营养化污染容易急性大范围暴发,造成青鱼大规模死亡,带来巨大的经济损失。

微囊藻毒素(microcystins, MCs)是一类由水体富营养化引起的蓝藻水华产生的肝脏毒素,具有较大的毒害性^[3]。MCs具有单环七肽分子结构,为环-(D-丙氨酸-L-R1-赤- β -甲基-D-异天冬氨酸-L-R2-Adda-D-异谷氨酸-N-甲基脱氢丙氨酸),其中 R1 和 R2 在不同的 MC 异构体中代表不同的 L-氨基酸,并以此命名该毒素^[4]。MCs 异构体种类多,且性质稳定,煮沸后不失活,耐酸碱变化。MCs 进入肝细胞后,甲基脱氢丙氨酸(methyldehydroalanine,

Mdha)的不饱和羧基可与 C 亚基活性位点的半胱氨酸的巯基共价连接形成蛋白加合物,从而抑制蛋白磷酸酶 2A (protein phosphatase 2A, PP2A) 的活性^[5]。其中,微囊藻毒素 LR(MC-LR)是公认的肝毒素和促癌剂,目前已知的生理毒性仅次于二噁英^[6]。MCs 主要通过饮用水和被污染的水产品(鱼虾、软体动物及藻类制品等)进入人体,严重威胁人类健康,世界卫生组织设定临时可耐受的每日摄取量为 0.04 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ^[7]。

MCs 常用的检测手段主要包括小鼠腹腔注射生物分析法、化学分析法、酶联免疫法、蛋白磷酸酶抑制法等^[8-10]。Kaya 等^[11]将 MCs 氧化生成 2-甲基-3-甲氧基-4-苯基丁酸(MMPB),经甲酯化衍生后用气相色谱-质谱(GC/MS)测定 MCs 总含量。郭坚等^[12]采用固相萃取-液相色谱/紫外检测法(SPE-HPLC/DAD)测定水体、土壤等样品中的 MCs。近年来,因液相

色谱-串联质谱技术(HPLC-MS/MS)既可以准确定量,又能够提供化合物的结构信息,被广泛用于食品中兽药残留等污染物的检测分析^[13-15]。但上述方法普遍存在操作复杂,且无法实现不同种类 MCs 分析鉴定等缺点。“鸟枪法”是在电喷雾电离质谱技术基础上改进后,利用源内分离原理,创立的无需色谱分离就可直接分析的质谱技术。这不仅可以避免液相色谱法中经常存在的样品残留问题,还简化了操作步骤,且能够同时检测多种 MCs。

本研究针对 MCs 的分子结构特征,通过优化前处理及检测条件,以 MCs 的共有特征官能团为线索,拟建立一种基于串联质谱技术的鸟枪法非靶向快速筛查青鱼中 MCs,希望为开展青鱼中 MCs 污染研究提供技术支持。

1 实验部分

1.1 仪器与装置

1200 高效液相色谱系统:美国 Agilent 公司产品;4000Qtrap 串联飞行时间质谱仪:美国 AB Sciex 公司产品,配有 Harvard Pump11 恒流注射泵、电喷雾离子源(ESI)及 Analyst1.5 数据处理系统;高速冷冻离心机:美国 Thermo Scientific 公司产品;MDF-382E 超低温冰箱:日本 Sanyo 公司产品;Millipus 2150 超纯水处理系统:美国 Millipore 公司产品。

1.2 材料与试剂

鲜活青鱼样品:购自杭州本地市场,经鉴定为青鱼(*Mylopharyngodon piceus*);微囊藻毒素 RR(MC-RR)、YR(MC-YR)、LR(MC-LR)、LA(MC-LA)、LF(MC-LF)、LY(MC-LY)及 LW(MC-LW)标准品(纯度>95.0%);中国台湾 Algal Science 公司产品;Oasis HLB 固相萃取柱:美国 Waters 公司产品;甲醇、乙腈和甲酸:均为色谱纯,德国 Merck 公司产品;纯净水:由 Milli-Q 超纯水处理系统制得;其他试剂均为分析纯。

1.3 实验条件

1.3.1 样品处理 新鲜青鱼经去鳞、去头、去内脏后取背部和胸部肌肉,切成小块,剔除明显骨刺;组织肌肉经斩拌成鱼糜后,置于 4℃ 冰箱冷藏,备用。

各取 0.01 g MCs 标准品,甲醇溶解,定容

至 10 mL 棕色容量瓶,制得 1.0 g/L 的 MCs 标准品溶液,于 4~6℃ 冷藏,备用。

1.3.2 MCs 提取 取 1 g 青鱼肌肉组织肉糜于 15 mL 离心管中,加入 5 mL 乙醇-水-甲酸萃取液(90:9.9:0.1, V/V/V),剧烈振荡 20 min,随后用探头式超声(25 kHz, 60% 变幅)辅助提取 10 min,混合物在 4℃ 下以 8 000 r/min 冷冻离心 15 min。用移液枪转移离心管中上清液至新移液管,并继续向沉淀中加入 5 mL 萃取液,重复上述操作,提取 2 次。合并 3 次提取的上清液,氮气吹干,用甲醇-水溶液(90:10, V/V)复溶至 1 mL。

依次用 6 mL 甲醇和水活化 Oasis HLB 固相萃取柱。萃取液均匀上样,并依次用 6 mL 超纯水和乙醇-水淋洗液(5:95, V/V)淋洗,弃去淋洗液,用 5 mL 纯甲醇洗脱吸附在 HLB 柱上的 MCs,控制流速约为 1 滴/秒,收集洗脱液。氮气吹干,用甲醇复溶至 1 mL,过 0.22 μm 有机滤膜,待质谱分析。

1.3.3 质谱条件 注射泵进样流速 10 μL/min;质量扫描范围 m/z 400~1 200;电喷雾离子源(ESI),正离子模式;Q1 全扫描和母离子扫描(precursor ion scan, PreIS)模式,特征碎片离子 m/z 135.2;喷雾电压 5.5 kV;干燥温度 550℃;源内碰撞诱导解离气为氮气。具体质谱参数列于表 1。

1.3.4 数据处理和统计分析 采用 Analyst QS v2.0 软件进行数据采集与分析,用 Excel 对 MCs 提取中 6 组平行数据进行标准差分析,并用 Origin 软件作图。

2 结果与讨论

2.1 固相萃取优化

由于青鱼组织样品的基质较复杂,选取合适填料的固相萃取柱对降低基质效应和提高 MCs 回收率至关重要。实验比较了 Florisil 柱(10 mm×1 mm)、HLB 柱(10 mm×1 mm)和 C18 柱(10 mm×1 mm)的富集、净化效果,结果示于图 1。由图可见,HLB 对 MCs 的回收率最高(68.2%~83.4%),其次为 C18(63.5%~78.5%),而 Florisil 对 MCs 的固相萃取效果不佳,回收率仅为 60% 左右。HLB 柱的吸附剂是由亲脂性二乙烯苯和亲水性 N-乙烯基吡咯

表 1 5 种 MCs 质谱参数
Table 1 Mass spectrometry parameters of MC species

化合物 Compounds	单电荷母离子 Singly charged	双电荷母离子 Double charged	质量参数 Mass parameters			
	precursor ions [M+H] ⁺	precursor ions [M+2H] ²⁺	去簇电压	射入电压	碰撞电压	碰撞室射出电压
			DP	EP	CE	CXP
MC-RR	1039.0	520.3	70	10	45	8
MC-YR	1046.0	523.8	65	8	20	14
MC-LR	996.1	498.7	40	10	16	10
MC-LF	987.2	494.1	35	10	16	10
MC-LW	1024.9	513.8	35	8	20	8

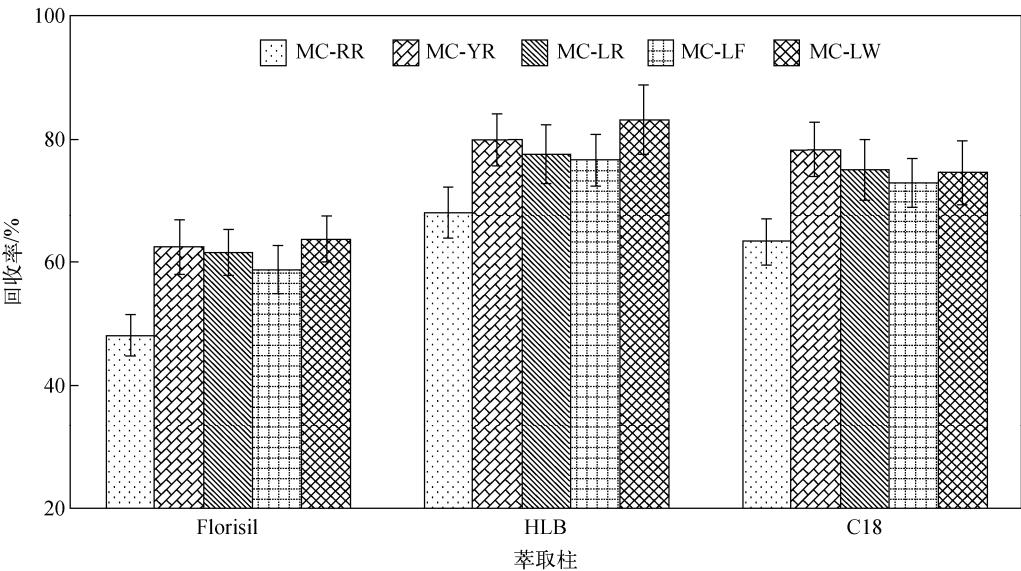


图 1 不同固相萃取填料对 MCs 回收率的影响
Fig. 1 Effect of sorbent types on the recovery of MCs

烷酮两种单体按一定比例聚合而成的大孔共聚物,对极性污染物的富集效率高,且具有相对较高的容量因子^[16]。考虑到样品中 MC 种类多且复杂,实验选用 HLB 固相萃取柱富集净化样品中 MCs。

青鱼组织样品基质较复杂,在洗脱 MCs 前有必要对 SPE 柱进行淋洗,通常是在淋洗液中加入一定比例的甲醇或乙腈以去除色素等干扰物质,但会造成目标化合物一定程度的损失。本实验分别用 2%、5%、10% 和 15% 的甲醇-水溶液淋洗 SPE 固定相。结果发现,5% 甲醇会造成 MCs 流失,且流失程度随甲醇比例的提高而增加,因此选用 2% 甲醇-水溶液作为淋洗液。本实验还考察了 80%、90% 和纯甲醇作为

洗脱液的洗脱效果。实验发现,80% 甲醇作为洗脱液时,MCs 回收率较低,无法将吸附在 HLB 填料上的 MCs 解吸完全;而用纯甲醇作为洗脱液时,会同时洗脱一些杂质,造成质谱峰干扰。因此,选用 90% 甲醇作为洗脱液。

2.2 质谱条件的优化

将 MCs 母液稀释 100 倍得到 10 mg/L 的工作液,通过直接进样的方式优化母离子和子离子参数。由于 MC 是一类环肽化合物,且 ESI 离子源是一种软电离方式,因此 MCs 会同时形成 +1 价、+2 价离子以及其他钠、钾等加合离子。在 Q1 全扫描模式下,化合物质谱峰主要集中在低分子质量段 (m/z 450 ~ 550), MCs 母离子以双电荷母离子 $[M+2H]^{2+}$ 为主,

其中信号响应最强的为 m/z 520.3 ($[RR+2H]^{2+}$), 其次为 m/z 523.8 ($[YR+2H]^{2+}$)。将高分子质量段窗口放大后, 可观察到 MCs 的单电荷母离子, 如 m/z 996.1 ($[LR+H]^+$)、 m/z 1 024.9 ($[LW+H]^+$) 以及 m/z 1 046.0 ($[YR+H]^+$) 等, 但其信号响应强度比双电荷母离子小 2 个数量级, 示于图 2。因此, 本实验选取双电荷母离子 $[M+2H]^{2+}$ 为主要研究对象。

在子离子扫描 (product-ion scan, PIS) 模式下分析各个 MC 的裂解规律与碎片特征。以

MC-RR 为例, 选取 m/z 520.3 ($[RR+2H]^{2+}$) 为母离子进行碰撞诱导解离, 通过编辑 Ramp 观察碰撞电压 (CE) 动态变化过程中的碎片特征。结果发现, 在不同 CE 下, MC-RR 的典型碎片峰包括 m/z 375、213 和 135 等, 其中 m/z 135 为 MC 的共有基团 Adda 的甲氧键断裂形成的特征碎片峰 ($[C_9H_{11}O+H]^+$), 示于图 3a; m/z 213 是基团 D-Glu 断裂形成的特征碎片峰 ($[C_9H_{14}O_4N_2+H]^+$); m/z 375 为 ($[C_{11}H_{15}O+Glu+Mdha+H]^+$)。这 3 种离子为大部分 MC 共有结构的特征碎片, 本实验所检测的

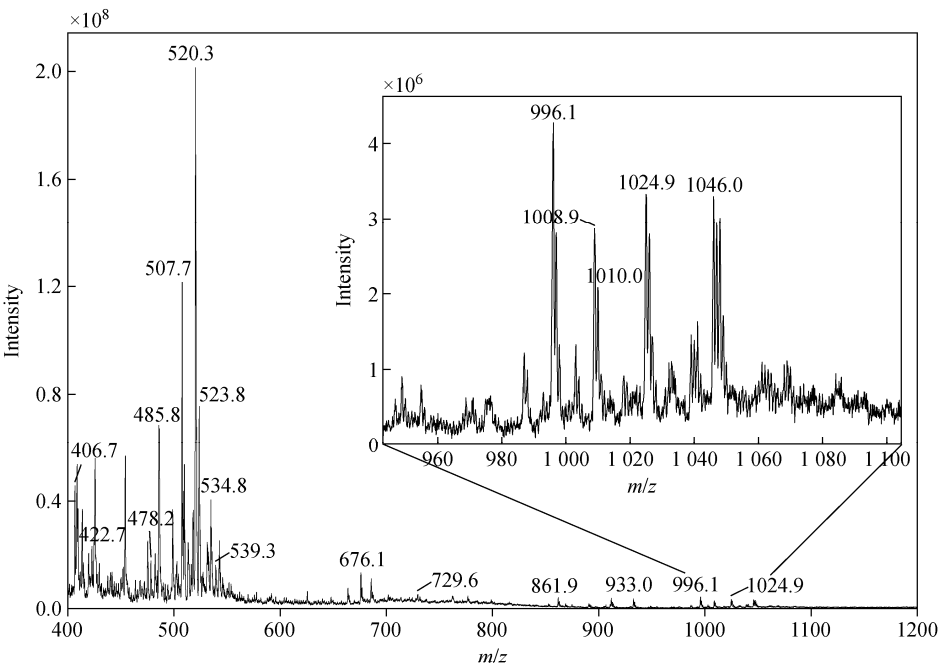


图 2 Q1 全扫描模式下, MCs 的质谱图

Fig. 2 Mass spectrum of MCs under Q1 full scan

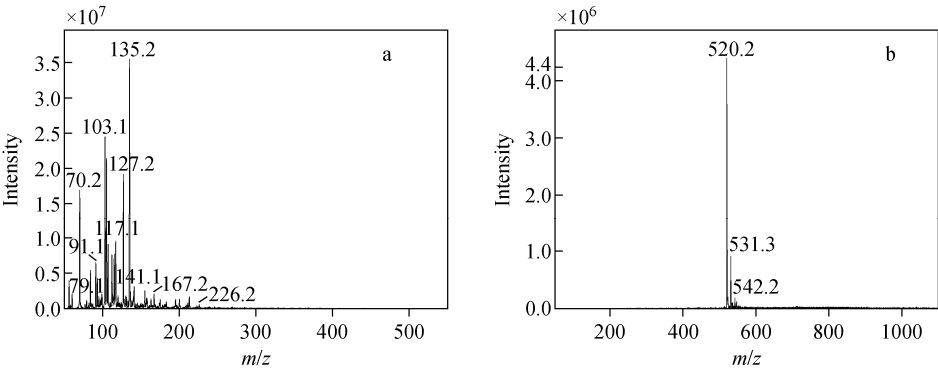


图 3 MC-RR 的二级质谱图 (a) 和以 m/z 135.2 为特征碎片的母离子扫描图 (b)

Fig. 3 MS² mass spectrum of MC-RR (a) and precursor ion scan of m/z 135.2 (b)

5 种 MCs 子离子谱图中均产生这 3 种特征碎片峰。通过优化 CE 能量,在各个碎片峰最优能量下, m/z 135 信号强度最大,达 3.5×10^7 。因此,本实验选择 m/z 135 为 MCs 的特征碎片进行 PreIS 扫描。

使用 MC-RR 标准工作液直接进样,以 m/z 135 为特征碎片进行 PreIS 扫描,示于图 3b。可见,质谱图较为纯净, m/z 520.2 $[\text{RR}+2\text{H}]^{2+}$ 为信号响应最强峰,除此之外,也可观察到少量的 m/z 531.3 $[\text{RR}+\text{H}+\text{Na}]^{2+}$ 和 m/z 542.2 $[\text{RR}+2\text{Na}]^{2+}$;在 m/z 1 039.0 处未检测到单

电荷离子峰 $[\text{RR}+\text{H}]^+$ 。MC-YR、MC-LR、MC-LF 和 MC-LW 的质谱碎裂特征与 RR 相似。使用 5 种 MCs 混合标准工作液直接进样后的结果示于图 4。虽然进样浓度相同,但是各个 MC 的离子化效率不同,导致信号响应强度差异较大,MC-YR 和 MC-LR 较容易离子化,因此离子峰强度相对较高,达到了 2.5×10^5 ,而 MC-RR、MC-LF 和 MC-LW 信号相对较弱。该结果进一步验证了 MCs 离子化后更倾向于生成双电荷离子,以 m/z 135 为特征碎片离子的 PreIS 扫描几乎不产生单电荷 $[\text{MCs}+\text{H}]^+$ 。

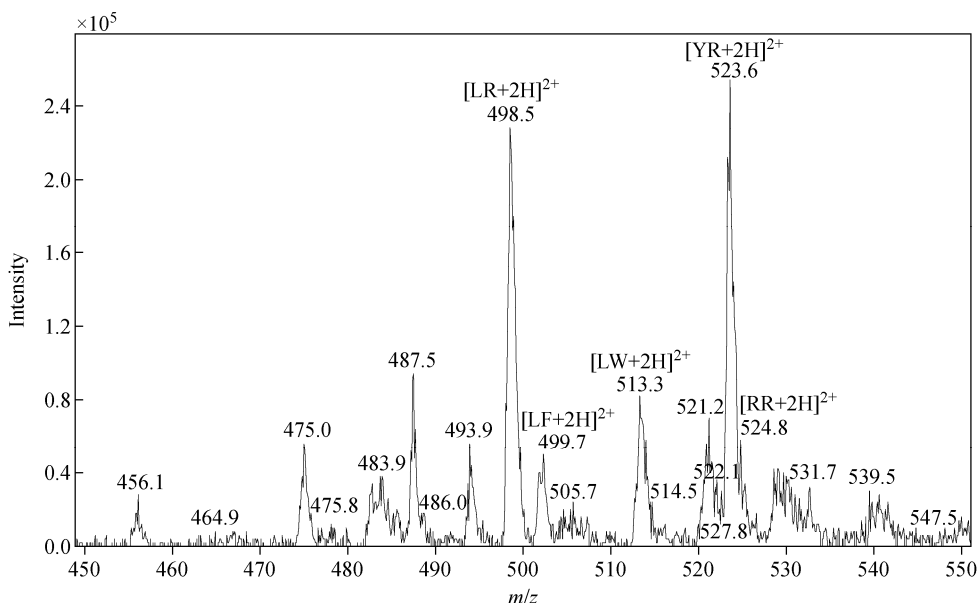


图 4 母离子扫描模式下 5 种 MCs 质谱图

Fig. 4 Mass spectrum of MC species using precursor ion scan mode

2.3 基质对方法线性的影响

MCs 鸟枪法没有将样品经色谱分离即直接进样,因此混合物成分较复杂。基质效应主要来自两方面:1) 样品中的杂质分子会对 MCs 的离子化产生干扰;2) 不同种类 MCs 之间存在离子化竞争效应,会影响信号的强度和稳定性^[17]。通常以基质对目标化合物回收率的增强和减弱效应评价基质效应的影响。本实验采用实际样品基质加入混合标准品的方法同时建立 5 种 MCs 标准曲线,通过标准曲线的线性关系间接反映基质效应的影响,结果列于表 2。可见,在线性范围内,各个 MC 的相关系数 R^2 介于 0.992 5~0.997 1 之间,各个数据点的基

质效应在拟合标准曲线的过程中部分抵消,线性关系良好,能够满足一般分析测试需求。

2.4 方法学验证

采用标准添加法测定方法灵敏度,根据 3 倍和 10 倍信噪比(S/N)确定 MCs 的方法检出限(LOD)和定量限(LOQ),结果列于表 2。可知,该方法的灵敏度较高,检出限和定量限分别不大于 $1.25 \mu\text{g/L}$ 和 $3.99 \mu\text{g/L}$,能够满足 MCs 高灵敏度检测的要求。在空白青鱼样品中添加 MCs 标准品工作溶液,制成 100、200 $\mu\text{g/L}$ 的加标样品,按 1.3 节方法进行精密度和回收率实验,每个添加水平做 6 次平行测定,结果列于表 3。可知,MCs 的日内精密度和日间

表 2 鸟枪法非靶向快速筛查 MCs 的线性和灵敏度

Table 2 Linearity and sensitivity of shotgun untargeted screening of MCs using mass spectrometry					
化合物 Compounds	线性范围 Linear ranges	标准曲线 Calibration curves	相关系数 Correlation coefficients(R^2)	检出限 LODs/($\mu\text{g/L}$)	定量限 LOQs/($\mu\text{g/L}$)
MC-RR	10~500	$y=2\times10^7x+12336$	0.9925	0.82	2.55
MC-YR	5~500	$y=8\times10^7x+15220$	0.9971	0.13	0.42
MC-LR	5~500	$y=8\times10^7x+12392$	0.9934	0.21	0.71
MC-LF	10~500	$y=10^7x+18152$	0.9958	1.25	3.99
MC-LW	10~500	$y=3\times10^7x+13617$	0.9925	0.51	1.68

表 3 鸟枪法非靶向快速筛查 MCs 的灵敏度、精密度和回收率

Table 3 Sensitivity, accuracy and recovery of shotgun untargeted screening of MCs using mass spectrometry						
化合物 Compounds	添加量 Spiked levels/($\mu\text{g/L}$)	日内精密度 Intra-day precisions		日间精密度 Inter-day precisions/%	回收率 Recoveries	
		测定值	RSDs/%		测定值	RSDs/%
		Mean/($\mu\text{g/L}$)			Mean/%	
MC-RR	200	136	7.2	7.9	68.2	6.8
MC-YR	100	80.1	6.8	7.2	80.1	5.7
MC-LR	100	77.8	7.1	7.8	77.8	4.5
MC-LF	200	153	7.5	8.0	76.9	6.1
MC-LW	200	166	8.6	9.1	83.4	5.9

精密度的相对标准偏差分别为 6.8%~8.6%和 7.2%~9.1%，说明该方法的重现性较好；回收率为 68.2%~83.4%，RSD 为 4.5%~6.8%，能够满足一般分析测试的要求。

2.5 样品检测

为了解市场上青鱼中 MCs 污染情况,采用建立的质谱鸟枪法快速初筛市售 20 个青鱼样品,并对结果进行数理统计分析。结果发现,20 个青鱼样品中,共计 3 个样品检出 MCs 为阳性,检出率为 15%,主要检出的 MCs 种类为 MC-RR 和 MC-LR,MCs 总浓度为 3.4~15.8 $\mu\text{g/kg}$,其余样品均未检出 MCs。青鱼喜好以螺蛳等贝类为食,而螺蛳常以泥土中的微生物和腐殖质、水中浮游植物、幼嫩水生植物、青苔等为食,因此 MCs 较容易通过食物链富集到青鱼体内。

3 结论

本研究建立了一种鸟枪法非靶向快速筛查

青鱼中 MCs 残留。该方法在准确度、回收率等方面略逊于常规的 LC-MS/MS MRM 模式,但鸟枪法的检测速度极快,可靠性和线性基本满足要求,尤其适合在待检样品数量巨大的情况下快速初步筛查 MCs 阳性样品,然后通过 HPLC-MS/MS 对阳性样品进行准确定量,可显著提高工作效率,提高检测通量。

参考文献:

[1] SUN S, YE J, CHEN J, et al. Effect of dietary fish oil replacement by rapeseed oil on the growth, fatty acid composition and serum non-specific immunity response of fingerling black carp, *Mylopharyngodon piceus*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2011, 17(4): 441-450.

[2] FAN H, LUO Y, YIN X, et al. Biogenic amine and quality changes in lightly salt-and sugar-salted black carp (*Mylopharyngodon piceus*) fillets stored at 4 C[J]. *Food Chemistry*, 2014, (159): 20-28.

[3] 苏雅玲,邓一荣. 富营养化湖泊中微囊藻毒素及

- 其控制去除技术[J]. 环境科学与技术, 2013, (6): 62-66.
- SU Yaling, DENG Yirong. Microcystins in eutrophic lakes and their controlling and removing methods[J]. Environmental Science & Technology, 2013, (6): 62-66(in Chinese).
- [4] CHRISTIANSEN G, FASTNER J, ERHARD M, et al. Microcystin biosynthesis in Planktothrix: genes, evolution, and manipulation[J]. Journal of Bacteriology, 2003, 185(2): 564-572.
- [5] SABLINA A A, CHEN W, ARROYO J D, et al. The tumor suppressor PP2A α regulates the ralA GTPase[J]. Cell, 2007, 129(5): 969-982.
- [6] NISHIWAKI-MATSUSHIMA R, OHTA T, NISHIWAKI S, et al. Liver tumor promotion by the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin-LR[J]. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, 1992, 118(6): 420-424.
- [7] CHRISTOFFERSEN K, KAAS H. Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring, and management[J]. Limnology & Oceanography, 2000, 45(5): 255-258.
- [8] 盛建武, 何苗, 施汉昌, 等. 水环境中微囊藻毒素检测技术研究进展[J]. 环境污染与防治, 2006, 28(2): 132-136.
- SHENG Jianwu, HE Miao, SHI Hanchang, et al. Review on detection technologies of microcystins in aquatic environment[J]. Environmental Pollution & Control, 2006, 28(2): 132-136 (in Chinese).
- [9] 李诗言, 王扬, 王鼎南, 等. 通过型固相萃取-液相色谱-串联质谱法同时快速测定鱼肉中 7 种微囊藻毒素[J]. 色谱, 2017, 35(8): 794-800.
- LI Shiyang, WANG Yang, WANG Dingnan, et al. Rapid and simultaneous determination of seven microcystins in fish meat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with pass-through solid phase extraction[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2017, 35(8): 794-800(in Chinese).
- [10] 王蕾, 李小艳, 薛文通, 等. 微囊藻毒素检测方法研究进展[J]. 食品科学, 2005, 26(增刊 1): 135-138.
- WANG Lei, LI Xiaoyan, XUE Wentong, et al. Review on research progress of microcystins detection[J]. Food Science, 2005, 26(Suppl 1): 135-138(in Chinese).
- [11] KAYA K, SANO T. Total microcystin determination using erythro-2-methyl-3-(methoxy-d 3)-4-phenylbutyric acid (MMPB-d 3) as the internal standard[J]. Analytica Chimica Acta, 1999, 386(1): 107-112.
- [12] 郭坚, 杨新磊, 叶明立. 全自动在线固相萃取-高效液相色谱法测定水体中痕量微囊藻毒素[J]. 分析化学, 2011, 39(8): 1 256-1 260.
- GUO Jian, YANG Xinlei, YE Mingli. Determination of trace level microcystins in water by fully automated online solid phase extraction coupled with high performance liquid chromatography[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2011, 39(8): 1 256-1 260(in Chinese).
- [13] JIN R, LI L, GUO L, et al. A graphene tip coupled with liquid chromatography tandem mass spectrometry for the determination of four synthetic adulterants in slimming supplements[J]. Food Chemistry, 2017, (224): 329-334.
- [14] SHEN Q, JIN R, XUE J, et al. Analysis of trace levels of sulfonamides in fish tissue using micro-scale pipette tip-matrix solid-phase dispersion and fast liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2016, (194): 508-515.
- [15] ORTELLI D, EDDER P, COGNARD E, et al. Fast screening and quantitation of microcystins in microalgae dietary supplement products and water by liquid chromatography coupled to time of flight mass spectrometry[J]. Analytica Chimica Acta, 2008, 617(1): 230-237.
- [16] 李彦文, 黄献培, 吴小莲, 等. 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法同时测定土壤中 3 种微囊藻毒素[J]. 分析化学, 2013, 41(1): 88-92.
- LI Yanwen, HUANG Xianpei, WU Xiaolian, et al. Simultaneous extraction and determination of three microcystins from soil using solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2013, 41(1): 88-92(in Chinese).
- [17] SHEN Q, GONG L, BAIBADO J T, et al. Graphene based pipette tip solid phase extraction of marine toxins in shellfish muscle followed by UPLC-MS/MS analysis[J]. Talanta, 2013, 116(22): 770-775.