

# 中国沿海部分海域麻痹性贝毒研究\*

江天久<sup>1,2</sup> 江涛<sup>1,3</sup>

(1. 暨南大学生命科学技术学院 广州 510632; 2. 华南师范大学生命科学技术学院 广州 510632;  
3. 中国科学院海洋研究所海洋生态与环境科学重点实验室 青岛 266071)

**提要** 采用美国分析化学家协会推荐的小白鼠生物检测法,对产于大连、深圳、广西北海和福建厦门海域的贝类进行麻痹性贝毒检测,选取部分有毒样品进行高效液相色谱毒素成分分析。小白鼠生物检测法检测结果表明,样品消化腺毒素含量为0—25.3MU/g,剔除消化腺的其他贝类软组织均没有检测到PSP的存在。消化腺和其他软组织的毒力加权平均值为0—2.6MU/g,低于联合国粮农组织制定的贝类安全食用标准的限定值4MU/g。大连海域染毒样品的检出率为50%,在四个海域中最高,福建海域检出率则最低。高效液相色谱毒素成分分析结果表明,深圳和广西北海海域贝类所含PSP成分相似,包含有C毒素(C1/2), GTX毒素(GTX1—4)和STX,而大连海域贝类含有的毒素组分与前两者有较大差异,且随贝类采集的不同时期而变化。

**关键词** 贝类, 麻痹性贝类毒素 PSP, 小白鼠生物检测法, 高效液相色谱法, 中国沿海  
**中图分类号** X55

麻痹性贝毒(paralytic shellfish poisoning, PSP)是一类阻断神经细胞钠离子通道,对人体神经系统产生麻痹作用的海洋生物毒素。海洋中的麻痹性贝类毒素主要由有毒的甲藻产生,在全球近岸海域分布广泛,许多食用贝类对其有很强的累积能力,该毒素对人体毒性极强,当人们误食染毒的贝类时就可能发生中毒,因而对人类健康影响很大。在我国近海可食用贝类中含有麻痹性贝毒,福建省东山县、广东省大亚湾及台湾省近年都发生因食用染毒贝类而引起多人中毒或死亡事件(Zhou *et al.*, 1999; 林燕棠等, 1994; 江天久等, 2000)。鉴于贝毒对人类健康的危害,我国有关部门已经制定了相应的贝毒素卫生质量标准 and 发生有毒赤潮事件后的应对措施,通过政府行政手段尽量减少食用贝类的中毒事件发生。但是,由于多种原因,我国尚未建立完整的PSP监测体系。科研工作者已对我国局部海域中贝类PSP进行了调查,毒素的检测主要为小白鼠生

物法,缺乏对贝类毒素进行定性及成分分析。

为了进一步研究我国沿海麻痹性贝毒现状,作者于2003年春季—2004年春季采集了大连、深圳、广西北海和福建东山海域的几种经济贝类,在小白鼠生物检测后对测定结果为阳性的贝类样品进行高效液相色谱(HPLC)分析,通过对来自不同海区贝类的毒素定性和定量分析,比较不同海区贝毒素成分特征差异,为弄清我国沿海的PSP分布,制定适宜的贝毒素监测方案提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 贝类样品采集处理和前处理

自2003年3月—2004年5月,从大连、福建厦门和广西北海海域采集或在其近岸市场购买贝类样品,购买时需确定所购贝类为新鲜捕捞产品,广东深圳样品取自深圳东部海域贝类吊养区。在取样现场冲洗干净贝类外壳,用纱布吸去多余水分,小心将贝的消化腺与其他软组织分开,然后将样品分装于密封的塑料袋内,低温冷

\* 国家重点基础研究发展规划项目资助,2001CB409709号; 国家高技术研究发展计划项目资助,2002AA635150号; 广东省科技计划项目资助,2003C20412号; 浙江省温州市科技计划项目资助, S2006A007号。江天久, 副研究员, E-mail: tjiantj@jnu.edu.cn

收稿日期:2005-08-21, 收修改稿日期:2006-01-26

冻储藏,运送到暨南大学实验室后进行麻痹性贝毒测定。

## 1.2 麻痹性贝毒的小白鼠生物检测与高效液相色谱荧光检测(HPLC-FD)

采用美国分析化学家协会(AOAC)推荐的麻痹性贝毒小鼠生物测定法对贝类样品的毒素进行提取和测定,实验小白鼠为昆明种,雄性,体重17—21g。

鼠单位(MU)是指将一只重20g的雄性小白鼠在15min杀死所需腹腔注射的毒素剂量,1个鼠单位相当于0.18—0.22 $\mu$ g的石房蛤毒素(STX),为方便计算,本文中定义1MU相当于0.20 $\mu$ g STX。

采用Oshima方法(Oshima,1995)对贝类毒素的成分和含量进行分析,实验用高效液相色谱为Hp1100型(Hewlett Packard生产),色谱柱为Inertsil C8反相硅胶柱,4.6mm $\times$ 150mm(Alltech Associates生产),柱后反应温度为85 $^{\circ}$ C,荧光检测器发射波长和激发波长分别为330nm和390nm。待测样品提取液均经10000道尔顿的超滤膜离心管(Millipore公司生产)过滤。

麻痹性贝毒标准溶液购自加拿大海洋生物科学研究所(NRC)及日本东北大学Oshima教授,香港科技大学谢显堂教授的馈赠。

## 2 结果与讨论

### 2.1 各海域贝类样品中的麻痹性贝类毒素分析

**2.1.1 大连海域** 大连海域的贝样为华贵栉孔扇贝(*Chlamys Mimachlamys nobilis*)和嵌条扇贝(*Pecten albicans*)。在所检测的14份样品中(表1),剔除消化腺的其他软组织提取液经小白鼠检测均未检测出PSP存在;7份贝样的消化腺提取液检测结果呈现阳性,样品阳性检出率50%,毒力在1.81—18.41MU/g之间,贝样消化腺和其他软组织毒力加权平均值最高为2.59MU/g。

**2.1.2 深圳海域** 深圳海域检测贝样为华贵栉孔扇贝和翡翠贻贝(*Perna viridis*)。在所检测的20份样品中(表1),剔除消化腺的其他软组织提取液经小白鼠检测均未检测出PSP存在;8份贝样的消化腺提取液检测呈现阳性,染毒样品检出率40%,毒力在1.56—3.03MU/g之间,贝样消化腺和其他软组织毒力加权平均值最高为0.70MU/g。

**2.1.3 广西北海和福建厦门海域** 广西北海和福建厦门海域检测贝样包括华贵栉孔扇贝、嵌条扇贝、织纹螺(*Nasarius siquijorensis*)、青蛤(*Cy-*

*clina sinensis*)、近江牡蛎(*Crassostrea rivularis*)等5种经济贝类(表1)。广西北海检测贝样24份,剔除消化腺的其他软组织提取液经小白鼠检测未检测出PSP存在;2003年5、9月的栉孔扇贝消化腺提取液小白鼠检测呈现阳性(毒力分别为14.5MU/g、2.2MU/g),消化腺和其他软组织毒力加权平均值分别为1.84MU/g和0.52MU/g,染毒样品检出率为8.3%。福建海域贝样20份,剔除消化腺的其他软组织未检测出PSP存在;2003年10月的栉孔扇贝消化腺提取液小白鼠检测呈现阳性(毒力为2.3MU/g),消化腺和其他软组织毒力加权平均值为0.33MU/g,染毒样品检出率为5%。

**2.1.4 贝类PSP在各海域分布分析** 对4个海区78份贝类样品PSP含量检测结果表明,消化腺与其他软组织毒力的加权平均值均没有超过联合国粮农组织(FAO)规定的限定值4MU/g肉,显示出整体毒力较低。麻痹性贝毒的检出率以大连为最高,对此应该引起足够重视,加强对该海域的贝类PSP监测,其次是深圳和广西北海,福建贝样染毒检出率最低。大连附件海域贝类PSP含量的调查报告较少(关春江等,1999;林燕棠等,2001),结果也与本实验验证的染毒生物种类和染毒检出率存在较大差异。关春江等(1999)曾在大连附近海域对菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)、紫贻贝(*Mytilus galloprovincialis*)等进行PSP检测,未检测出PSP存在。林燕棠等(2001)对黄海包括大连海域在内的11种贝类进行PSP检测,仅在栉江瑶(*Atrina pectinata*)和毛蚶(*Acaparca subcrenata*)两种贝类中发现染有麻痹性贝毒,且染毒样品检出率不高。根据贝类毒素排出的速率可将其分为两类:快中速排毒者和慢速排毒者,多数贻贝和牡蛎与少数扇贝以及蛤属于前者,而大多数蛤与扇贝属于后者。对于慢速排毒贝类来说,染毒后可能会较长时间存在一定的毒力。以往对大连海域的PSP检测中,较少以栉孔扇贝和嵌条扇贝为检测对象,检测对象生物种类的差异可能是导致上述差别的一个重要因素。另一个原因可能与贝样的采样地点差异、时间变化等综合因素有关。以往检测样品往往分布于黄、渤海沿岸多处海域,重点针对大连海域的检测不多,采样的频率与本文也有较大差异,且以上调查与本次检测时间相距较长,该海域的海洋环境可能已经发生较大改变,而贝类PSP积累能力受水体污染状况、盐度、光照强度尤

其是周围有毒藻的种类和密度等诸因素的影响。

深圳海域样品染毒检出率也较高,但检测结果表明翡翠贻贝没有染毒现象。关于深圳海域贝类 PSP 的调查报道较多(林燕棠等,1994;江天久等,2000;Anderson *et al*,1996),总的来说深圳

海域贝类 PSP 检出率一直较高。以往研究认为南海是麻痹性贝毒高发区(林燕棠等,1994;江天久等,2000),但是对广西北海缺少检测;而本次实验结果显示该海区贝类染毒率和毒力均不高。

表 1 贝类样品中麻痹性贝毒素含量

Tab.1 PSP contents in shellfish samples

采样日期 (年.月)	生物种类	产 地	小鼠检测毒力(MU/g)		
			消化腺	贝肉	加权平均
2003.03	栉孔扇贝、 翡翠贻贝、嵌条扇贝、栉孔扇 贝、青蛤、近江牡蛎、织纹螺	深圳 深圳、大连、北海、 北海、北海、北海	2.3 UD	UD UD	0.7 UD
2003.04	栉孔扇贝(4月17日)、栉孔扇 贝(4月27日) 翡翠贻贝、嵌条扇贝、栉孔扇 贝、近江牡蛎、青蛤、织纹螺	深圳、深圳 深圳、大连、北海、 北海、厦门、厦门	2.71、2.11 UD	UD、UD UD	0.43、0.31 0
2003.05	栉孔扇贝、栉孔扇贝 翡翠贻贝、嵌条扇贝、近江牡 蛎、青蛤、织纹螺	深圳、北海 深圳、大连、北海、 厦门、厦门	1.75、14.5 UD	UD、UD UD	0.25、1.84 0
2003.06	栉孔扇贝 翡翠贻贝、嵌条扇贝、近江牡 蛎、织纹螺、青蛤	深圳 深圳、大连、北海、 北海、厦门	1.93 UD	UD UD	0.28 0
2003.07	栉孔扇贝、嵌条扇贝 栉孔扇贝、近江牡蛎、青蛤、 织纹螺	深圳、大连 北海、北海、厦门、 厦门	1.56、3.36 UD	UD、UD UD	0.26、0.56 0
2003.08	栉孔扇贝、栉孔扇贝 近江牡蛎、青蛤、织纹螺	深圳、大连 北海、厦门、厦门	1.81、2.02 UD	UD、UD UD	0.26、0.24 0
2003.09	嵌条扇贝、栉孔扇贝 栉孔扇贝、织纹螺、近江牡蛎	大连、北海 深圳、北海、厦门	1.96、2.20 UD	UD UD	0.33、0.52 0
2003.10	嵌条扇贝、栉孔扇贝 栉孔扇贝(10月9日)、栉孔扇贝 (10月21日)织纹螺、近江牡蛎	大连、厦门 深圳、深圳、北海、 厦门	3.35、2.30 UD	UD、UD UD	0.70、0.33 0
2003.11	嵌条扇贝 栉孔扇贝、栉孔扇贝、近江牡 蛎、青蛤、织纹螺	大连 深圳、北海、北海、 厦门、厦门	3.33 UD	UD UD	0.86 0
2003.12	栉孔扇贝、嵌条扇贝 栉孔扇贝、近江牡蛎、青蛤、 织纹螺	深圳、大连 北海、北海、厦门、 厦门	3.03、3.21 UD	UD、UD UD	0.33、0.54 0
2004.01	栉孔扇贝、嵌条扇贝、近江牡 蛎、栉孔扇贝、青蛤、织纹螺	深圳、大连、北海、 北海、厦门、厦门	UD	UD	0
2004.02	嵌条扇贝、近江牡蛎、栉孔扇 贝、青蛤、织纹螺	大连、北海、北海、 厦门、厦门	UD	UD	0
2004.03	栉孔扇贝、嵌条扇贝 栉孔扇贝	大连、大连 深圳	1.81、18.41 UD	UD、UD UD	0.22、2.59 0
2004.04	栉孔扇贝(4月10日)、栉孔扇 贝(4月20日)	深圳、深圳	UD	UD	0

注:UD表示没有检测出毒素

## 2.2 PSP 成分差异比较

对部分染毒贝类样品的消化腺进行了 HPLC 分析(表 2),结果表明大连海域与深圳、广西北海海域样品所含 PSP 成分有很大差异。深圳和广西北海的染毒样品 PSP 成分以 C1/2、GTX1—4 为主,存在少量 STX 等成分,毒素成分比较多。Anderson 等(1996)通过比较大亚湾的染毒贝样和该海域的亚历山大藻(*Alexandrium tarmarensis*)的 PSP 成分,认为在大亚湾是该藻导致贝类染

毒,同时也可能存在其他有毒藻。

本次检测结果显示,深圳和广西北海染毒样品 PSP 成分与江天久等(2000)、Anderson 等(1996)对深圳海域贝类 PSP 成分检测的结果相似,表明深圳海域可能长期存在同种类的有毒藻;广西北海海域的有毒藻类和贝类一直缺少 PSP 成分的分析报道,该海域与深圳海域同属于南海海域,海洋环境相似,可能主要有毒藻为相同种属。

表 2 消化腺中的麻痹性贝毒毒素成分( $\mu\text{mol/g}$ )

Tab. 2 PSP components in digest gland( $\mu\text{mol/g}$ )

成分	嵌条扇贝 (大连) 2003.07	嵌条扇贝 (大连) 2003.09	嵌条扇贝 (大连) 2003.11	嵌条扇贝 (大连) 2004.03	栉孔扇贝 (大连) 2004.03	栉孔扇贝 (深圳) 2003.07	栉孔扇贝 (深圳) 2003.08	栉孔扇贝 (广西北海) 2003.05
C1	0	0	0	0	11.48	1.12	1.60	1.38
C2	0	0	0	0	5.2	0.06	0.04	0.58
GTX1	0.56	0	0	3.12	0	0.20	0.24	1.67
GTX2	0.36	0	0	3.28	0	1.14	0.96	1.74
GTX3	1.22	0	0	4.02	0	0.66	0.48	0.84
GTX4	0.51	0	0	4.62	0	0.14	0.16	0.04
neoSTX	0	0	0	0	0	0	0	0
dcSTX	0	0	2.20	0	0	0	0	0
STX	0	1.91	1.20	0	0	0.11	0	0.75
成分总和	2.65	1.91	3.32	15.04	16.68	3.43	3.48	7.02

大连染毒贝样 PSP 成分特殊,最明显的特征是不同的贝样所含 PSP 成分呈现分组现象:染毒贝样消化腺只含有 C 毒素(1 份样品)、GTX 毒素(2 份样品)和 STX 毒素(2 份样品)中的一组毒素。通常,由于食物链传递,贝类所含的 PSP 成分和所摄食的有毒藻是相近的。林燕棠等(2001)认为,我国海域存在塔玛亚历山大藻(*A. tarmarensis*),微小亚历山大藻(*A. minutum*)和链状亚历山大藻(*A. catenella*)等 5 种可产生 PSP 的有毒甲藻。我国近岸水体中的 *A. tarmarensis* 和 *A. catenella* 含有较高比例的 C 毒素,GTX1—4 也占有相当的比例,*A. minutum* 则通常只含有 GTX1—4,C 和 STX 毒素少见(Anderson *et al*,1996;邹迎麟等,2001;Hong *et al*,2004),例如我国台湾海域主要分布有 *A. minutum*,由于食物链的传递,当地出产的贝类主要含有 GTX1—4,所以不同的染毒贝类所含 PSP 毒素会因摄食藻类不同呈现出成分分组现象。大连样品从市场购得,产地来源不

一,怀疑不同地点有毒藻种类的分布不一样。在大连海域可能同时存在多种可产生 PSP 的有毒藻,藻毒素的成分也与南海海域的有毒藻不同。另外,贝类摄食有毒藻后部分 C 毒素在体内可快速转化成 GTX 毒素,因此在贝体内单独存在 C 毒素的现象也很少见。对大连海域有毒藻的调查报道不多,更缺少对该海域有毒藻类 PSP 成分的分析研究,鉴于大连海域贝类 PSP 检出率较高,且毒素成分特殊,应加强对该海域贝类 PSP 研究。

## 2.3 麻痹性贝毒小白鼠生物检测法与高压液相色谱(HPLC)检测法检测结果比较

部分染毒样品经小白鼠检测存在一定毒性,但经 HPLC 分析发现均不含 PSP 成分,包括栉孔扇贝(大连,2003 年 8 月)、嵌条扇贝(大连,2003 年 9 月)、栉孔扇贝(深圳,2003 年 12 月)、栉孔扇贝(北海,2003 年 9 月)、栉孔扇贝(厦门,2003 年 10 月)(表 1),造成这种小白鼠生物检测与 HPLC

检测结果差异的原因尚不能确定,怀疑样品中含有 HPLC 未检出的 PSP 毒素成分或者其他水溶性毒素的存在,例如脱氧甲酰基类毒素(dcSTX 除外)和脱氧脱氨甲酰基类毒素均无对应标准品进行检测,同时,由于贝毒素提取方法采用稀

盐酸溶液沸水浴提取,其他水溶性毒素如河豚毒素等则同样被提取出来,例如在河豚中能够同时检出 PSP 和 TTX 两种毒素(Shigeru *et al.*, 2000),这些因素可能是造成小白鼠检测呈现阳性的原因。

表 3 麻痹性贝毒小鼠生物检测与 HPLC 检测毒力比较

Tab. 3 Comparison of PSP detection between mouse bioassay and HPLC analysis

毒力	嵌条扇贝 (大连) 2003.07	嵌条扇贝 (大连) 2003.09	嵌条扇贝 (大连) 2003.11	嵌条扇贝 (大连) 2004.03	栉孔扇贝 (大连) 2004.03	栉孔扇贝 (深圳) 2003.07	栉孔扇贝 (深圳) 2003.08	栉孔扇贝 (广西北海) 2003.05
HPLC 检测 PSP 成分 加和毒力(MU/g)	4.6	4.1	5.8	25.3	1.4	3.1	2.5	9.0
小鼠检测毒力 (MU/g)	3.4	2.0	3.3	18.4	1.8	1.6	1.8	14.5

小白鼠生物检测法和高效液相色谱法(HPLC)是目前两种应用最广泛的检测麻痹性贝毒的方法。小白鼠生物检测法操作简单、灵活,可检测出染毒贝类 PSP 各毒素组分的总毒力,但此方法测得的结果误差大,重现性差,可比性低,而且不能确定具体的毒素成分;HPLC 法具有灵敏、高效的特点,虽然运行成本高、费时,但是能够对每一种毒素成分进行定性定量。作者对部分有毒消化腺提取液同时采取两种方法进行检测,分别计算出 PSP 毒力后,对比两结果,发现两者存在一定差异(表 3)。两组数据的相关方程为  $Y = 1.114X$ , 其中  $Y$  为 HPLC 检测结果(MU/g),  $X$  为小白鼠生物检测结果(MU/g), HPLC 检测结果和小白鼠生物检测结果之间相关显著( $r = 0.89$ ,  $P > 0.01$ )。Chen 等(2002)和 Oshima(1995)均通过实验证实了 HPLC 检测结果高于小白鼠生物检测结果,本实验中两者相关方程表明 HPLC 检测结果比小白鼠生物检测结果高 11.14%。

### 参 考 文 献

关春江,冯志权,马明辉等,1999. 长江以北沿海经济贝类中的麻痹性贝毒. 海洋环境科学,18(2):49—52  
江天久,尹伊伟,骆育敏等,2000. 大亚湾麻痹性贝类毒素 HPLC 分析. 海洋环境科学,19(3):16—19  
邹迎麟,朱明远,2001. 两种亚历山大藻产毒过程和毒素

特征研究. 黄渤海海洋,19(3):65—70  
林燕棠,杨美兰,陈瑞雯等,1994. 广东沿海麻痹性贝类毒素的研究. 海洋与湖沼,21(2):220—225  
林燕棠,贾晓平,杨美兰等,2001. 我国海产贝类体中的麻痹性毒素及其来源. 水产学报,25(5):479—481  
Anderson D M, David M K, Yuzao Qi *et al.*, 1996. Paralytic shellfish poisoning in southern China. *Toxicon*, 34(5): 579—590  
Chen C Y, Chou H N, 2002. A modified high-performance liquid chromatography method for analysis of PSP toxins in dinoflagellate, *Alexandrium minutum*, and shellfish from Taiwan. *Food Research International*, 35:715—720  
Hong N Ch, Yih M Ch, Chih Y Ch *et al.*, 2004. Variety of PSP toxins in four culture strains of *Alexandrium minutum* collected from southern Taiwan. *Toxicon*, 43:337—340  
Oshima Y, 1995. Post-Column derivatization HPLC methods for Paralytic Shellfish Poisons. In: Hallegraef G M, Anderson D M, Cembella A D ed. *Manual on Harmful Marine Microalgae*. IOC Manuals and Guides No. 33. UNESCO, 81—94  
Shigeru S, Takehiko O, Valeriano B *et al.*, 2000. Frequent occurrence of paralytic shellfish poisoning toxins as dominant toxins in marine puffer from tropical water. *Toxicon*, 38:1102—1109  
Zhou M J, Li J, Luckas B *et al.*, 1999. A recent shellfish toxin investigation in China. *Marine Pollution Bulletin*, 39(1—12):331—334

## DETECTION AND ANALYSIS OF PSP TOXINS IN SHELLYFISH IN COASTAL AREAS OF CHINA

JIANG Tian-Jiu<sup>1,2</sup>, JIANG Tao<sup>1,3</sup>

(1. College of Life Science and Technology, Jinan University, Guangzhou, 510632;

2. College of Life Science and Technology, South China Normal University, Guangzhou, 510632;

3. Key Laboratory of Marine Ecology & Environmental Sciences, Institute of Oceanology,

Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071)

**Abstract** As PSP (paralytic shellfish poisoning) toxins is a biological toxins causing nervous-system damage and generated in some members of *Pyrrophyta*. It commonly can be absorbed and enriched by shellfish in marine environments. Incidents of human poisoning or death by taking polluted shellfish in some coastal regions were often reported in recent years in China. To ensure the safety and prevent the case from happening again, Chinese government has formulated corresponding sanitary standards and preventative measures. However, duo to underdevelopment in complete surveillance system on PSP, as a part of the system, this project was carried out between 2003—2004 in four representative regions including Dalian, Shenzhen, Beihai, and Xiamen, to screen on the toxicity and its distribution in the shellfish in these areas. 78 samples were collected.

Subsamples were taken from digest gland and flesh tissues. The PSP toxicity in them was determined by the AOAC mouse bioassay and HPLC (high performance liquid chromatography methods). The results showed that 7 out of 14 samples in Dalian including *Chlamys Mimachlamys nobilis* and *Pecten albicans* were contaminated with the toxicity in digest gland at between 1.81 and 18.41 MU/g. Fortunately, no PSP has been detected in the flesh. Eight out of 20 samples from Shenzhen area were contaminated from 1.56 to 3.03 MU/g in digest gland. Only two of 24 samples from Xiamen and one of 20 from Beihai ones in digest gland were found contaminated with PSP toxins. The PSP in the shellfish of Dalian was the highest among the four and the lowest in Xiamen.

The HPLC profile shows that the compositions of the toxins were different from place to place which may be resulted from different toxin generators that lived in these areas. Further study is needed to reveal the spectra of them.

The authors compared the detection methods in the last part of the paper. HPLC was proved to be an effective method that better than mouse assay in the case.

**Key words** Shellfish, Paralytic shellfish poisoning toxins (PSP), Mouse bioassay method, High performance liquid chromatography (HPLC), Coastal areas of China