

麻痹性贝类毒素常规检测分析方法比较与研究进展

张松山, 李庆鹏, 靳 静, 哈益明*

(中国农业科学院农产品加工研究所, 北京 100193)

摘 要: 麻痹性贝类毒素作为贝类产品中一种毒性最强、分布广泛的毒素, 不仅严重威胁人们的身体健康, 而且会造成相当大的经济损失。因此其监测检测方法的研究与改进一直是人们的研究热点。本文分析评述了麻痹性贝类毒素的三种常规检测分析方法的优缺点以及最新研究进展, 并探讨了小白鼠生物法、免疫测定法和色谱联用技术作为主要的检测方法由于原理不同, 结合不同的研究需求其应用的领域。其中, 小白鼠生物测定法虽然概括毒性有效, 但是其灵敏度低、误差大、并且需要大量活体动物而逐渐被色谱技术和免疫测定法所取代, 此外, 神经细胞分析法、毛细管电泳技术和表面等离子体共振传感器技术等方法也逐渐得到应用。不管怎样, 这些方法由于需要专业人员、成本高等问题仍需进一步完善。

关键词: 麻痹性贝类毒素; 小白鼠生物法; 酶联免疫分析; 色谱联用

Advances in conventional methods of assay of paralytic shellfish poisoning toxins

ZHANG Song-Shan, LI Qing-Peng, JIN Jing, HA Yi-Ming*

(Institute of Agro-products Processing Science and Technologies, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

ABSTRACT: Paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish as potent toxins are widely distributed, not only being a serious threat to people's health, but also causing considerable economic losses. Therefore researches and improving of their surveillance and testing methods have been one of the research focus. The advantages and disadvantages of the latest research progress of three conventional analytical methods to detect the most common marine toxins are reviewed in the paper. Mouse bioassay, immunoassay and chromatography technology as the primary due to different principles of detection, combining different research areas need of their applications. Although the mouse bioassay generalize toxicity is valid, its low sensitivity and requiring a lot of live animals is gradually being replaced by chromatographic immunoassay technology. In addition, nerve cell analysis, capillary electrophoresis and surface plasmon resonance sensor technology and other methods have gradually been applied. Anyway, because of the requiring professionals, cost issues still need to be improved.

KEY WORDS: paralytic shellfish poisoning toxins; mouse bioassay; ELISA; chromatography

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划(2012BAK17B13)、农业部公益性行业科研专项(201103007)

Fund: Supported by the National Science and Technology Program (2012BAK17B13) and the Special Fund for Agro-scientific Research in the Public Interest (201103007)

*通讯作者: 哈益明, 教授, 主要研究方向农产品保鲜与物流。E-mail: hayiming@hotmail.com

*Corresponding author: HA Yi-Ming, Professor, Institute of Agro-products Processing Science and Technologies, Chinese Academy of Agricultural Sciences, No.2 Yuanmingyuan West Road, Haidian District, Beijing 100193, China. E-mail: hayiming@hotmail.com

近年来,海洋环境污染日益严重,有害赤潮频发,致使藻类毒素在贝类中富集水平越来越高,同时随着人们生活水平的提高,对贝类产品不管是数量上还是品质安全上都有了更高的要求。因此,贝类毒素和藻类毒素的检测分析日益受到重视。麻痹性贝类毒素(paralytic shellfish poisoning toxins, PSPs)是一类分布十分广泛的海洋毒素,每年发生大概 2000 起由麻痹性贝类毒素引起的中毒事件,其中死亡率高达 15%^[1]。目前已经分离出 57 种毒素衍生物,大致可以分为七类,但是在贝类水生物中可以获得的,并具有毒性资料的类似物主要有四类,包括氨基甲酸酯类毒素[包括石房蛤毒素(STX)、新石房蛤毒素(NeoSTX)和膝钩藻毒素(GTX1-4)],*N*-磺基-氨基甲酸酯类毒素(GTX5-6、C1-4),去氨基甲酸酯类毒素(dcSTX、dc-NeoSTXdcGTX1-4)和羟基化石房蛤毒素(M1-4)^[2]。其中 STX 在 1957 年首先被提取纯化,目前也是发现毒性最强的 PSP 毒素,大约 1 mg 剂量可以使成人致命^[3]。联合国卫生组织规定,可食贝类的麻痹性贝类毒素限量为 80 μg STXeq/100 g 贝肉^[4]。麻痹性贝类中毒事件的发生不仅引发严重的安全问题,而且还会造成旅游业、水产行业等不可估量的经济损失^[5-6]。而麻痹性贝毒对生物神经系统或心血管系统有高度特异毒性从而使其在神经生物学、医学诊断、药物开发,甚至军事战剂等领域的应用越来越重要^[7-8]。因此,世界各国对其进行了大量的研究和分析。本文针对国内外麻痹性贝类毒素常规的生物分析法、免疫测试法和色谱技术测试法的应用现状以及最新研究进展进行探讨,为研究麻痹性贝毒提供理论帮助。

1 小白鼠生物法

早在 1978 年,小白鼠生物试验法就由世界卫生组织在西柏林召开的有关 PSP 的专家会议上确定为 PSP 毒素的检验方法。1980 年得到美国分析化学家协会 AOAC(Association of Official Analytical Chemists)推荐^[9],成为检测 PSP 的标准生物技术方法,并被许多国家接受和采用,我国国家标准《GBT 5009.213-2008 贝类中麻痹性贝类毒素的测定》,行业标准《SCT 3023-2004 麻痹性贝类毒素的测定 生物法》和《SN 0352-1995 出口贝类麻痹性贝类毒素检验方法》均采用该方法对贝毒进行检测。其原理是对体重为 20 g 的 ICR 雄性小鼠腹腔注射 1 mL 麻痹性

贝类毒素提取液,并记录小鼠死亡时间,查出鼠单位,并按小鼠体重校正鼠单位。所测定结果显示了存在于贝肉内各种化学结构的 PSP 毒素总量^[9-12]。虽然该方法在概括毒性方面相当有效,能够表达样品中实际毒性,而且不需要使用专门仪器,但也有较多的限制,如该法不能确定样品中毒素结构;毒素分子与受体亲和的错误率高($\pm 20\%$);灵敏度低且有很大的波动性(其检出限约为 40 μg STXeq/100 g 贝肉);提取液的 pH 值、盐含量以及其他金属离子均会对毒性判断产生影响^[13-15],不同小鼠的品系、批次、损伤程度和大小也对该法测定毒素有影响;需使用大量活体动物等。同时由于每年大量小白鼠被用于贝类毒素的日常检验,在学术界已引起是否有违科研道德的争论^[16]。因此,Cheng 等^[17]研究在腹腔注射小白鼠时并不令其致死,而是检测注射小白鼠不同时间血液中乙酰胆碱的水平来预测生物毒性。同时早期研究者利用家蝇、蝗虫、卤虫等生物方法测定麻痹性毒素毒性,最近灰色蟑螂、淡水枝角水蚤和微型裸腹蚤也用来检测毒素^[18,19]。这些研究的主要的目的是出于人道主义方面和经济方面取代小鼠生物检测法,虽然结果令人满意,但由于操作困难仍然没有被推广使用。

2 免疫测定法

免疫分析技术分为血球凝聚、放射免疫分析(RIA)和酶联免疫分析(ELISA),其中 ELISA 方法最为常用。我国在行业标准《SNT 1773-2006 进出口贝类中麻痹性贝类毒素检测方法 酶联免疫吸附试验法》规定此方法。其原理是通过测定酶催化底物生成有色产物的吸光度值绘制标准曲线进行定量计算。目前商业化的 ELISA 试剂盒主要针对的是麻痹性贝类毒素的主要成分 STX,但对 dcSTX、GTX 等衍生物也有交叉反应(见表 1)。

Dubois 等建立了间接竞争 ELISA 方法检测 STX,该方法用毒素的偶联物免疫产生的抗体,来检测贻贝、牡蛎和扇贝中的海洋生物毒素^[20]。在检测之前,用 90%的乙醇溶液将 STX 和与之相关的毒素从贝类组织里快速而简便地提取出来。这种 ELISA 方法的最低检测限为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,甚至更低。使用该方法在检测从比利时采集的 110 份实际样品中得到了理想的结果。到目前为止,最成功的现场检测形式是 Jellett 横向流动色谱法检测试纸条,该方法是通过样品中

的 PSP 毒素与结合到检测线上的毒素竞争结合标记的抗 STX 抗体来实现的。为了达到要求的敏感度水平, 试纸条上添加的抗体总量是一定的, 随着样品中毒素浓度的增加检测线逐渐消失。为了监测贝类中的 PSP 毒素, 将 25 μg STX/100 g 组织作为检测标准, 这样天然存在的毒素混合物的平均检出点与 MBA 的相似, 为 30~40 μg STXeq/100g 组织^[21]。这种检测方法 with neoSTX 和 GTX1/4 的交叉反应很高。通过与其它一系列的测定进行比较, 采用该方法检测贝类得出的结果与 MBA 有很好的相关性, 而使用该方法检测蓝藻细菌时, 结果的精确性和可重复性差(与 LC-MS 相比), 更进一步的研究对此进行了改善, 使其符合现场检测样本的要求。Handy 等人研究开发了 DNA 适配子用于毒素的酶联免疫检测方法, 取得较为理想的结果^[22]。

表 1 PSP 毒素在商品化抗体检测试剂盒检测中的交叉反应性

Table 1 Cross reactivity of PSP toxins antibody detection kit

	Ridascreen	Abraxis	Jellett
STX	100	100	100
neoSTX	12	1.3	21
GTX2/3	70	25	93
GTX1/4	—	小于 0.2	3
dcSTX	20	29	40
deneoSTX	—	0.6	—
dcGTX2/3	—	1.4	5
C1/2	—	2.0	7
GTX5	—	23	40

国内有人发明一种快速检测贝壳类食品中麻痹性贝类毒素的酶联免疫检测试剂盒。这种麻痹性贝类毒素酶联免疫检测试剂盒, 包括盒体和盒内的一块 96 孔的酶标板、11 瓶试剂和放试剂的下凹瓶位, 其特征是: 酶标板是采用 96 孔试剂板作为固相载体, 在试剂盒微孔条上预包被羊抗鼠的二抗的检测板, 所述的 11 瓶试剂分别为 6 瓶标准品溶液、1 瓶麻痹性贝类毒素酶标记物、1 瓶抗体工作液、1 瓶显色液、1 瓶停止液、1 瓶浓缩洗涤液, 所述试剂瓶都设有相应下凹瓶位。与仪器分析技术和小鼠生物法测定相比具有使用方便、高灵敏度等特点^[23]。胡盼利用 STX 和 STX 单抗为靶标分子, 通过 SELEX 技术筛选 STX

和 STX 单抗的特异性适配子, 建立基于适配子的 STX 无毒 ELISA 检测方法, 为深化我国海洋环境学研究和开发具有自主知识产权的无毒快速检测试剂盒提供试验基础^[24]。

3 色谱技术

液相色谱法和小白鼠生物检测法是目前应用最为广泛的两种检测麻痹性毒素的方法。而与后者相比具有灵敏、准确、可靠、能确定各种毒素成分、使用广泛、所需检测的样品量少等优点, 已被国际上广泛接受为标准方法。我国同样制定了国家标准《GBT 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》行业标准《SNT 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》。其原理主要是利用 PSP 毒素在碱性条件下氧化生成荧光物质的原理, 进行荧光检测, 通过对样品中毒素组分的定性定量分析, 得出毒性检测结果。HPLC 方法存在 PSP 分析标准品全球缺乏的普遍问题, 每种 PSP 类似物的毒性种类都是唯一的, 很多类似物很容易相互转化, 因此对样品中的原始或潜在总毒性作出判断较困难的。这是影响该法普遍推广的主要原因。

随着液质联用(LC-MS)技术的快速发展, 大气压化学离子源(APCI)和电喷雾离子源(ESI)的相继问世, 尤其是 1984 年电喷雾(ESI)的普遍化, 使得液质联用技术取得突破性进展, 成为海洋生物毒素检测和分析最具发展潜力的技术手段, 液质联用技术几乎可以分析所有的贝类毒素。液质联用依赖于高效液相色谱把贝毒成份通过界面装置带到质谱中。有两种界面技术可用, 一种是电喷雾电离(ESI), 另一种是大气压化学电离(APCI), 这两种技术都已经应用于贝毒分析。赵贵平等^[25]建立的 LC-MS/MS 检测方法, 其最低检出限为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。Hua 等^[26]用 LC-MS(ESI)法, 其检测限达到 10 ng/kg 。表 2 中对近十年研究人员利用 LC-MS 法中色谱柱、回收率、相对标准偏差以及检出限做了分析。目前, 使用亲水性的氨基酸色谱柱 TSK-Gel Amide80 建立的 HILIC-ESI-MS 系统能够一次同步分析 PSP 中的所有衍生物, SIM 和 SRM 模式检测 PSP 的检出限分别为 50~1000 nmol/L 和 5~30 nmol/L 。由于 PSP 的毒素极性极强、成分复杂, 异构体化合物较多, 对色谱分离条件要求苛刻, 因此在这方面的应用分析发展比较缓慢。

表 2 液质联用技术检测结果参数参考表
Table 2 Measurement parameter reference list for LC-MS

序号	年份	色谱柱	回收率	相对标准偏差	检出限	参考文献
1	2004	Zorbax XDB C ₁₈	84~92%	8~14%	0.1, 0.8 or 1.6 µg/g	27
2	2005	TSK-Gel Amide-80	-----	-----	5~30 nmol/L	28
3	2008	TSK-Gel Amide-80	70~112%	-----	-----	29
4	2008	Atlantis C ₁₈	80.9%~119.8%	小于 10%	5 µg/kg	30
5	2010	TSK-Gel Amide-80	90.7%~96.2%	小于 9.3%	0.12~0.24 ng/g	31
6	2010	TSK-Gel Amide-80	大于 40%	-----	20 µg/kg	32
7	2011	Acquity Uplc Ben C ₁₈	77.4~90.8%	3.87%~6.37%	10.0 g/kg	33
8	2013	Agilent XDB-C ₁₈	53.4%~68.0%	1.6%~4.6%	20~30 µg/kg	34
9	2013	TSK-Gel Amide-80	76.3~95.6	4.3%~13.2%	100~450 µg/kg	35
10	2013	TSK-Gel Amide-80	59.4~91.0%	-----	-----	36
11	2013	TSK-Gel Amide-80	86%~98%	小于 20%	12.9 µg/kg	37

4 其他方法

关于麻痹性贝类毒素的其他检测方法的研究不断被报道,细胞毒性试验是利用藜芦碱激活神经母细胞瘤细胞钠离子通道,使钠离子进入细胞,而在通道口的哇巴因会抑制钠离子的 ATP 酶,使细胞内离子不平衡,从而导致神经细胞的死亡。PSP 毒素能够抑制钠离子的内流避免细胞死亡。利用对正常形态细胞的计数来计算 PSP 毒素的含量^[38-40]。Jellett 对此方法进行了修改,利用细胞染色的吸收度确定毒素含量^[41]。细胞毒素试验与小鼠生物法相比,有更好的应用前景,但在 AOAC 的评估中结果不令人满意,导致此方法应用受到限制。平板电泳在使用了扫描荧光检测器后其方法的灵敏度得到了明显的提高,提高了其适用性^[42]。毛细管电泳技术在毒素检测方法也将会广泛的应用。该方法利用熔硅材质的毛细管代替电泳凝胶进行分离,再利用荧光检测器检测,其检测限达到了 1 pg/kg,目前国内也有使用此方法的相关研究^[43-47]。此外表面等离子体共振传感器技术用于此毒素的检测也进行了较为深入的研究,检测限达到 0.5 µg/L,而且每个样品的检测时间不到 10 min^[48-50]。

5 小结与展望

近年来,随着社会经济的发展,海洋环境污染日益严重,有害赤潮频发,致使藻类毒素在贝类中富

集水平越来越高。2012 年我国有 17 万 km² 的近海海域因受到污染,水质达不到国家一类海水水质标准。81% 实施监测的近岸河口、海湾等典型海洋生态系统处于亚健康和不健康状态,将近 700 多种养殖贝类不同程度富集藻类毒素^[51]。我国贝类产量名列世界第一,每年都有上千万吨,麻痹性贝类毒素作为贝类海产区常规监测项目,其快速准确的检测方法对沿海贝类养殖的发展及其食用安全具有重要意义。而在这三种方法中,小白鼠生物法是目前最常用的方法,但由于缺乏准确的定量且不能做定性研究,其应用受到了限制。而高效色谱技术具有灵敏度高、专一性强并且提供更多毒素信息等优势逐渐成为代替小鼠生物测定的国际标准方法。分子生物学手段尽管其检测原理各不相同,根据目前的研究现状来看具有不可比拟的优势而具有更广阔的应用前景。随着检测技术的发展,能够快速、准确、低成本的定量、定性仍是常规监测方法主要研究目标。

参考文献

- [1] Kellmann R, Mihali TK, Jeon YJ, *et al.* Biosynthetic intermediate analysis and functional homology reveal a saxitoxin gene cluster in cyanobacteria [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2008, 74(13): 4044-4053.
- [2] Wiese M, D'agostino PM, Mihali TK, *et al.* Neurotoxic alkaloids: saxitoxin and its analogs [J]. *Marine Drugs*, 2010, 8(7): 2185-2211.
- [3] Schantz EJ, Mold JD, Stanger DW, *et al.* Paralytic shellfish poi-

- son. VI. A procedure for the isolation and purification of the poison from toxic clam and mussel tissues [J]. *J Am Chem Soc*, 1957, 79(19): 5230–5235.
- [4] Zhao Y, Su HJ. Tianwei Adsorption behaviors of the aminated chitosan adsorbent Korean [J]. *Chem Eng*, 2007, 24(6): 1047–1052.
- [5] Baden D, Trainer V. Mode of action of toxins of seafood poisoning. In: Falconer, I. (Ed.), *Algal Toxins in Seafood and Drinking Water* [M]. London: Academic Press, 1993.
- [6] Chen CY, Chou HN. Accumulation and depuration of paralytic shellfish poisoning toxins by purple clam *Hiatula rostrata* Lightfoot [J]. *Toxicon*, 2001, 39, 1029–1034
- [7] 孟宪梅, 卢士英, 阎东明, 等. 石房蛤毒素研究及应用进展[J]. *食品科技*, 2010, (8): 150–154.
Meng X, Lu S, Yan D, *et al.* Progress of saxitoxin research and application [J]. *Food Sci Technol*, 2010, (8): 036.
- [8] 郝晖, 高炳森, 于海鹏, 等. 海洋生物毒素研究新进展[J]. *海南大学学报: 自然科学版*, 2011, 29(1): 78–85.
Bing H, Gao BM, Yu HP, *et al.* Research progresses of marine biotoxins[J]. *J Hainan Univ (Nat Sci)*, 2011, 29(1): 78–85.
- [9] Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Paralytic Shellfish Poison Biological Method [S]. In: *Official Methods of Analysis*. Washington, AOAC, 1980: 289–299.
- [10] GBT 5009.213-2008 贝类中麻痹性贝类毒素的测定[S].
GBT 5009.213-2008 Determination of paralytic shellfish poison in shellfish [S].
- [11] SCT 3023-2004 麻痹性贝类毒素的测定 生物法[S].
SCT 3023-2004 Determination of paralysis shellfish poison bioassay [S].
- [12] SN 0352-1995 出口贝类麻痹性贝类毒素检验方法[S].
SN 0352-1995 Method for the determination of paralytic shellfish poison in shellfish for export [S].
- [13] 许敏, 赵以军, 程凯. 水华和赤潮的毒素及其检测与分析[J]. *湖泊科学*, 2001, 13(4): 376–384 .
Xu M, Zhao Y, Cheng K. Algal Toxins of Blooms, Red Tides and Their Analysis Methods[J]. *J Lake Sci*, 2001, 13(4): 376–384.
- [14] Aune T, Stabell OB, Nordstoga K, *et al.* Oral toxicity in mice of algal toxins from the diarrhetic shellfish toxin(DST) complex and associated toxins [J]. *Nat Toxins*, 1998, 7(2): 41 .
- [15] Schantz EJ, McFarren EF, Schafer ML, *et al.* Purified shellfish poison for bioassay standardization[J]. *J AOAC*, 1958, 41(1): 160–168.
- [16] Hess P, Grune B, Anderson DB, *et al.* Three as approaches in marine biotoxin tes-ting. The Report and Recommendations of a Joint ECVAM/DG SANCO Workshop (ECVAM Workshop 54) [Z]. *Altern Lab Anim*, 2006, 34(2): 193–224.
- [17] Cheng JP, Pi SS, Ye SF, *et al.* A new simple screening method for the detection of paralytic shellfish poisoning toxins [J]. *Chin J Oceanol Limnol*, 2012, 30 (5): 786–790.
- [18] Aloysio S, Ferrão F, Maria S, *et al.* A rapid bioassay for detecting saxitoxins using a *Daphnia* acute toxicity test [J]. *Environ Pollut*, 2010, 158: 2084–2093.
- [19] Ruebhart DR, Radcliffe WL, Eaglesham GK. Alternative Bioassay for the Detection of Saxitoxin Using the Speckled Cockroach (*Nauphoeta cinerea*) [J]. *J Toxicol Environ Health*, 2011, 74 (10): 621.
- [20] Laycock MV, Donovan MA, Easy DJ. Sensitivity of lateral flow tests to mixtures of saxitoxins and applications to shellfish and phytoplankton monitoring [J]. *Toxicon*, 2010, 55(2–3): 597–605.
- [21] Dubois M, Demoulin L, Charlier C, *et al.* Development of ELISAs for detecting domoic acid, okadaic acid, and saxitoxin and their applicability for the detection of marine toxins in samples collected in Belgium [J]. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2010, 27(6): 859–868.
- [22] Handy SM, Yakes BJ, DeGrasse JA, *et al.* First report of the use of a saxitoxin–protein conjugate to develop a DNA aptamer to a small molecule toxin [J]. *Toxicon*, 2013, 61: 30–37.
- [23] 涿州市恒通达科贸有限公司. 麻痹性贝类毒素酶联免疫检测试剂盒: 中国, 201320026198[P]. 2013.01.18.
Hengtong Dakota Trade Co., Ltd., Zhuozhou. Paralytic shellfish toxin enzyme-linked immunosorbent assay kit: China, 201320026198 [P]. 2013.01.18.
- [24] 胡盼. 石房蛤毒素及其抗体适配子的制备与检测方法的建立 [D]. 吉林: 吉林大学, 2013.
Hu P. Preparation of aptamers against saxitoxin and tis antibody and establishment of saxitoxin detection [D]. Jilin: Jilin University, 2013
- [25] 赵贵平, 蒋宏健, 李丹. LC/MS/MS 检测海洋中贝类毒素[J]. *环境化学*, 2009, 28(6): 961–962.
Zhao G P, Jiang H J, Li D. Determination of shellfish toxin by LC/MS/MS [J]. *Environ Chem*, 2009, 28(6): 961–962.
- [26] Hua Y, Cole RB. Electrospray ionization tandem mass spectrometry for structural elucidation of protonated brevetoxins in red tide algae [J]. *Anal Chem*, 2000, 72(2): 376–83.
- [27] Fang X, Fan X, Tang Y, *et al.* Liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry for determination of saxitoxin and decarbamoylsaxitoxin in shellfish [J]. *Chromatogr A*, 2004, 1036(2): 233–237.

- [28] Aversano C, Hess P, Quilliam MA. Hydrophilic interaction liquid chromatography--mass spectrometry for the analysis of paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins [J]. *Chromatogr A*, 2005, 1081(2): 190–201.
- [29] Turrell E, Stobo L, Lacaze JP, *et al.* Optimization of hydrophilic interaction liquid chromatography/mass spectrometry and development of solid-phase extraction for the determination of paralytic shellfish poisoning toxins[J]. *J AOAC Int*, 2008, 91(6): 1372–1386.
- [30] 刘红河, 刘桂华, 毛丽莎. 麻痹性贝类毒素的高效液相色谱-串联质谱测定方法研究[J]. *实用预防医学*, 2008, 15(4): 1024–1028.
Liu HH, Liu GZ, Mao LS. Determination of paralytic shellfish poisoning by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Pract Prev Med*, 2008, 15(4): 1024–1028.
- [31] 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): 1328–1333.
Liu H, Yang J, Chen Y. Determination of paralytic shellfish poisoning toxins in sea foods by hydrophilic interaction liquid chromatography coupled with electrospray tandem mass spectrometry[J]. *Mod Prev Med*, 2010, 37(7): 1328–1333.
- [32] 余慧娟, 刘婷, 王勇为. <http://www.thermo.com.cn/Resources/201003/30114541422.pdf> [Z]. 2010:1-3.
Yu HJ, Liu T, Wang YW. <http://www.thermo.com.cn/Resources/201003/30114541422.pdf> [Z]. 2010:1-3.
- [33] 张小军, 陈雪昌, 郭远明, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定4种麻痹性贝类毒素[J]. *浙江海洋学院学报*, 2011, 30(2): 95–99.
Zang X, Chen X, Guo Y. Determination of Four Paralytic Shellfish Poisons by Ultra Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry [J]. *J Zhejiang Ocean Univ*, 2011, 30(2): 95–99.
- [34] 刘栋. 高效液相色谱-串联质谱法检测多种贝类毒素研究[D]. 沈阳: 辽宁大学, 2013.
Liu D. Studies on detection of multiple shellfish toxins by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [D]. Shenyang: Liaoning University, 2013.
- [35] 冯兵, 张晓玲, 于慧娟, 等. 液相色谱-串联质谱法同时测定贝类产品中8种麻痹性贝类毒素[J]. *中国渔业质量与标准*, 2013, 3(2): 43–49.
Feng P, Zhang XL, Yu HJ, *et al.* simultaneous determination of 8 paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish products by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Chin Fish Qual Stand*, 2013, 3(2): 43–49.
- [36] Song KC, Lee KJ, Hong S, *et al.* Paralytic shellfish poisoning (psp) analysis using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Korean J Fish Aquat Sci*, 2013, 46(2): 154–159.
- [37] Watanabe R, Matsushima R, Harada T, *et al.* Quantitative determination of paralytic shellfish toxins in cultured toxic algae by LC-MS/MS [J]. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2013, 30(8): 1351–1357.
- [38] Kogure K, Tamplin M L, Simidu U, *et al.* A tissue culture assay for tetrodotoxin, saxitoxin and related toxins [J]. *Toxicon*, 1988, 26(2): 191–197.
- [39] Gallacher S, Birkbeck TH. A tissue culture assay for direct detection of sodium channel blocking toxins in bacterial culture supernates [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 1992, 92(1): 101–107.
- [40] Manger RL, Leja LS, Lee SY, *et al.* Tetrazolium-based cell bioassay for neurotoxins active on voltage-sensitive sodium channels: semiautomated assay for saxitoxins, brevetoxins, and ciguatoxins [J]. *Anal Biochem*, 1993, 214(1): 190–194.
- [41] Jellett JF, Marks LJ, Stewart JE, *et al.* Paralytic shellfish poison (saxitoxin family) bioassays: automated endpoint determination and standardization of the in vitro tissue culture bioassay, and comparison with the standard mouse bioassay [J]. *Toxicon*, 1992, 30(10): 1143–1156.
- [42] Mak YL. Comparative proteomic study on paralytic shellfish toxins (PSTS) producing dinoflagellates [Z]. 2013.
- [43] Keyon ASA, Guijt RM, Gaspar A, *et al.* Capillary electrophoresis for the analysis of paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish: Comparison of detection methods [J]. *Electrophoresis*, 2014.
- [44] Bricelj VM, Cembella AD, Laby D. Temperature effects on kinetics of paralytic shellfish toxin elimination in Atlantic surfclams, *Spisula solidissima* [Z]. *Deep-Sea Res II*, 2013.
- [45] Zhang Z, Li X, Ge A, *et al.* High selective and sensitive capillary electrophoresis-based electrochemical immunoassay enhanced by gold nanoparticles [J]. *Biosens Bioelectron*, 2013, 41: 452–458.
- [46] Vasconcelos V. Emergent Marine Toxins in Europe: is there a new Invasion? [J]. *J Marine Sci Res Dev* 3: e117. doi: 10.4172/2155-9910.1000 e117
- [47] 陈晓燕, 张允奇, 张银辉. 高效毛细管电泳法测定膝沟藻毒素2和3[J]. *中国卫生检验杂志*, 2007, 3: 6
Chen XY, Zhang YQ, Zhang YH. Analysis of gonyautoxin-2&3 by high performance capillary electrophoresis [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2007, 3: 006.
- [48] 鲍军波, 李兴教, 罗昭锋, 等. 麻痹性贝毒的表面等离子体共振快速检测方法研究[J]. *海洋环境科学*, 2007, 25(4): 66–69.

- Bao JB, Li XJ, Luo SF, *et al.* rapid determination of the PSP toxins by surface plasmon resonance [J]. *Marine Environ Sci*, 2007, 25(4): 66–69.
- [49] van den Top HJ, Elliott CT, Haughey SA, *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.
- [50] Campbell K, Haughey SA, Top H, *et al.* Single laboratory validation of a surface plasmon resonance biosensor screening method for paralytic shellfish poisoning toxins [J]. *Anal Chem*, 2010, 82(7): 2977–2988.
- [51] 国家海洋局, 2012 年中国海洋环境状况公报 [EB]. http://www.mem.gov.cn/res_base/mem_gov_www/upload/article/image/2013_2/4_3/2012_zgzlgb.pdf. 2013.03
State oceanic administration people's republic of China. 2012 China Marine Environment Bulletin [EB]. <http://www.mem.gov>.

cn/res_base/mem_gov_www/upload/article/image/2013_2/4_3/2012_zgzlgb.pdf. 2013.03

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



张松山, 博士研究生, 主要研究方向农产品质量与安全。

E-mail: zhangsongshan_1997@163.com



哈益明, 教授, 长期从事辐射生物物理、农产品贮藏保鲜, 食品安全与质量控制领域的科研、教学工作。

E-mail: hayiming@hotmail.com