

海产品中麻痹性贝类毒素快速检测技术研究进展

吴益春, 郭海波, 罗海军, 祝世军, 鲁 华, 张 微, 王萍亚*

(舟山市食品药品检验检测研究院, 舟山 316013)

摘 要: 麻痹性贝类毒素是我国海洋赤潮中最常见的贝类毒素之一, 分布最广, 危害最大, 事故发生率也最高, 对人类健康构成了严重威胁, 加强对该类毒素的检测监控成为保障海产品安全的重要措施。传统的检测方法主要有小鼠生物检测法、液相色谱法、液相色谱-串联质谱法和酶联免疫法, 这些方法均有各自的优势, 但在实际应用中还缺少用于现场检测的快速筛查技术。因此, 开发快速、灵敏、准确、低成本的麻痹性贝类毒素检测技术具有重要的应用价值。本文主要介绍了麻痹性贝类毒素目前开发出来的快速检测方法, 主要包括免疫层析技术和生物传感器技术, 对各方法的特点进行分析。最后对未来麻痹性贝类毒素快速检测技术在实际应用中面临的主要问题进行了评述, 并对发展趋势进行了展望。

关键词: 海产品; 麻痹性贝类毒素; 快速检测

Research advance on rapid detection technologies of paralytic shellfish poisoning in seafood

WU Yi-Chun, GUO Hai-Bo, LUO Hai-Jun, ZHU Shi-Jun, LU Hua, ZHANG Wei, WANG Ping-Ya*

(Food and Drug Testing Institute of Zhoushan, Zhoushan 316013, China)

ABSTRACT: Paralytic shellfish poisoning is one of the most common shellfish toxins in marine red tide in China. It is one of the most widely distributed, frequently occurring and seriously harmful marine biotoxins and poses a serious threat to human health. Strengthening the detection and monitoring of these toxins has become an important measure to ensure the safety of seafood. The traditional detection methods mainly include the mouse bioassay, liquid chromatography, liquid chromatography-tandem mass spectrometry and enzyme-linked immunoabsorbent assay, these methods have their own advantages. However, there is still a lack of rapid screening technology for field detection in practical application. Therefore, the development of rapid, sensitive, accurate and low-cost detection technology for paralytic shellfish toxins has important application value. This paper mainly introduced the methods of rapid detection of paralytic shellfish poisoning, including immunochromatography and biosensor technology, and analyzed the characteristics of each method. Finally, the main problems of rapid detection of paralytic shellfish poisoning in practical application in the future were reviewed, and the development trend was prospected.

KEY WORDS: seafood; paralytic shellfish poisoning; rapid detection

基金项目: 浙江省科技计划项目(LGN18C200023)、舟山市科技计划项目(2016C31063)

Fund: Supported by the Science and Technology Project of Zhejiang (LGN18C200023), and the Science and Technology Project of Zhoushan (2016C31063)

*通讯作者: 王萍亚, 教授级高级工程师, 主要研究方向为食品安全检验检测技术。E-mail: zswpy666@sina.com

*Corresponding author: WANG Ping-Ya, Professor, Food and Drug Testing Institute of Zhoushan, No.49, Honglu Road, Dinghai District, Zhoushan 316013, China. E-mail: zswpy666@sina.com

1 引言

海产品因其味美、营养价值高深受人们喜爱,但近年来从原料生产、产品加工、流通到消费各个环节发生的一些质量问题也日渐凸显,例如2016年6月,新西兰初级产业部(Ministry for Primary Industries, MPI)消息称,在例行贝类毒素检查中发现该国部分海域内贝类的麻痹性贝类毒素高达 1.8 mg/kg,超出 MPI 设置的 0.8 mg/kg 的安全限。2017 年 6 月,中国福建地区发生了“淡菜中毒”事件,部分消费者因食用贻贝出现头晕、呕吐、四肢麻木等病例,经相关部门调查和实验室检测,证实为贻贝中麻痹性贝类毒素引起的食源性疾病。贝类毒素的污染不仅对海水养殖业造成巨大经济损失,更是对人类健康造成了严重威胁。民以食为天,食以安为先,食品安全问题越来越受到全社会的高度关注,麻痹性贝类毒素是贝类毒素中最常见的一种,其分布范围广泛而且危害也最大。因此开展对麻痹性贝类毒素的检测监控对保障人们的生命和健康安全和对各种海水贝类的开发利用至关重要。传统的检测方法主要有小鼠生物检测法、液相色谱法、液相色谱-串联质谱法和酶联免疫法,这些方法均有各自的优势,但在实际应用中还缺少用于现场检测的快速筛查技术,因此,开发快速、灵敏、准确、低成本的麻痹性贝类毒素检测技术具有重要的应用价值。

2 麻痹性贝类毒素的基本性质

麻痹性贝类毒素(paralytic shellfish poisoning, PSP)是一类水溶性带有胍基的三环氨基甲酸酯类化合物及其衍生物,主要由石房蛤毒素(saxitoxin, STX)及其天然衍生物如膝沟藻毒素(gonyantoxins, GTXs)、新石房蛤毒素(nerosaxitoxin, neoSTX)等组成,目前已经发现的该类毒素有 50 多种。PSP 是强极性生物碱,化学性质较稳定,耐高温,酸性条件下稳定(pH 值为 3~4 条件下最稳定),-18 °C 以下能够保存较长时间,且毒性不会降低。石房蛤毒素(STX)是麻痹性贝类毒素(PSP)中危害最大且最典型的一种毒素,人们研究的最多,其分子式为 $C_{10}H_{17}O_4$,分子量 299,结构见图 1。

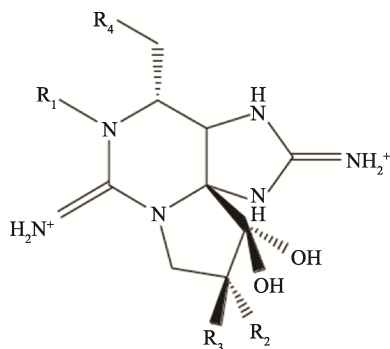


图 1 石房蛤毒素(STX)结构图
Fig.1 Structure of saxitoxin (STX)

麻痹性贝类毒素是我国海洋赤潮毒素中最常见的毒素之一。PSP 主要来自有毒赤潮海藻,以亚历山大藻为主,此外还有多种甲藻、蓝藻及与藻类共生的细菌等^[1-5]。这类毒素的致毒作用机制主要是特异性结合电压门钠离子通道受体,阻断细胞的钠离子通道,造成神经系统传输障碍而产生麻痹作用。因为毒素在贝类体内呈结合状态,贝类摄入此毒素对本身无害。该毒素遇热稳定,易被胃肠道吸收,且难以被人的消化酶所破坏,人一旦食用,很快释放并呈现毒性作用,引起人体神经肌肉麻痹,轻者出现口唇麻木和刺痛感、四肢肌肉麻痹等症状,重者可导致呼吸肌麻痹而死亡^[1]。全球许多国家及相关国际组织都对贝类等海产品进行了严格管理和控制,并制定了相应海产品及其制品的 PSP 限量标准,世界卫生组织(WHO)规定 100 g 贝类可食部分的 PSP 限量为 80 μ g,即 400 MU/100 g。目前大多数国家参照该限量进行管理和控制。

3 传统的麻痹性贝类毒素检测技术

目前用于麻痹性贝类毒素传统检测方法有小鼠生物检测法(mouse bioassay, MBA)、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)和酶联免疫(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)等方法。小鼠生物检测法(mouse bioassay, MBA)是用小白鼠进行生物分析的方法,该方法在 1978 年由 Yasumoto 建立,其将样品的提取液在小鼠腹腔注射,记录小鼠的死亡时间,根据 PSP 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(corrected mouse unit, CMU),计算得到每 100 g 样品中 PSP 的鼠单位。该方法的优点在于操作简单,比较直观,能够检测出待测物中 PSP 的总毒性,但也存在一些问题,如不能确定毒素的组成成分,检测周期长,小鼠个体差异大,存在假阳性现象,重现性差、还有涉及动物伦理问题^[6-13]。

HPLC 及 HPLC-MS/MS 方法的优点是可以准确测定样品中 PSP 各组成成分和含量,并实现高通量检测,欧盟等国际组织已初步确定将 HPLC-MS/MS 技术作为权威、统一的检测方法,以确保国际社会对 PSP 监控的一致性。但同时,这类方法也存在一些问题,如 HPLC 法前处理较复杂,需要进行柱后衍生,存在待测物共流出的现象,而 HPLC-MS/MS 需要专人操作,仪器设备昂贵,存在标准品难获得,样品基质干扰等问题,其应用受到一定的限制^[14-17]。

与 MBA 或 HPLC、HPLC-MS/MS 法比较,ELISA 检测原理是基于抗原-抗体特异性识别和结合作用,该方法操作简便,灵敏度高,无需昂贵的仪器设备,且与大型仪器分析法具有良好的重复性,比较适合实际样品的快速检测。目前已有多种商品试剂盒投入实际应用,但是利用

该方法也存在一些问题,如抗体的制备过程比较繁琐耗时,抗体只是针对某种毒素建立,对其他毒素存在交叉反应现象等,这些均限制了该方法的应用^[18-21]。

此外还有其他方法例如:细胞毒性测试法^[22-25]、受体结合分析法^[26,27]、酶蛋白抑制法^[28-30]等。传统的常规检测技术已经无法适应食品安全高效实时快速检测和评价需求,目前快速检测技术已得到世界范围内广泛重视和研究。

4 麻痹性贝类毒素快速检测技术

4.1 免疫层析技术

免疫层析技术是一种将免疫胶体金技术和色谱层析技术相结合的快速检测技术,其原理是将特异的抗体先固定于硝酸纤维素膜的某一区带,当该干燥的硝酸纤维素一端浸入样品后,由于毛细管作用,样品将沿着该膜向前移动,当移动至固定有抗体的区域时,样品中相应的抗原即与该抗体发生特异性结合,通过显色反应,短时间便可得到直观的实验结果。这种检测方法无需专业技术人员、大型仪器设备和繁琐的样品前处理,而且成本低、检测速度快、灵敏度高,适用于现场大批量样品的检测。钟隆洁等^[31]基于竞争性免疫原理的试纸条可以和 STX 产生特异性显色反应,采用研发的新型手持式分析仪进行检测分析。毒素分析仪采用智能手机作为光探测器,配合 3D 打印配件,再通过智能手机上研发的用于图像采集和数据处理的应用程序,可对显色后的试纸条进行分析处理并得出所测毒素的浓度,STX 的检出限: 5.2 ng/mL,检测范围: 5.2~100 ng/mL。但此类方法不足在于:胶体金纳米颗粒本身的一些特性限制了该技术的应用,如胶体金溶液稳定性较差,存放时间短等。将来,随着免疫胶体金新的标记物和制备方法的不断改进和完善,提高整体检验的灵敏度,海产品中 STX 的免疫层析检测技术将得到快速发展。

4.2 生物传感器技术

生物传感器是利用特定的生物敏感材料作为识别元件与待测物如贝类毒素产生相互作用,通过信号转化和信号放大构成的分析工具或系统。根据所采用的生物分子识别元件的不同,可以将目前用于麻痹性贝类毒素检测的生物传感器分为以下几类:组织生物传感器、细胞生物传感器、免疫生物传感器和核酸适配体生物传感器。

4.2.1 组织生物传感器

Cheun 等^[32]研制了一种可以检测 STX 组织生物传感器。该传感器由一个钠离子电极构成,电极头上覆盖有 3 层膜,即在 2 层醋酸纤维素膜之间夹一层蛙的膀胱膜,可以对 Na⁺通道阻断剂 STX 做出反应并记录,测定结果与小鼠生物检测法相比较,具有良好的相关性,并且检出限更低。组织生物传感器比小鼠生物检测法具有更低的检出限,作为 PSP 的初步筛选工具来应用还是合理的,但总体上组

织生物传感器的制备及测试过程较复杂,检测灵敏度也有待于进一步提高^[33-35]。

4.2.2 免疫生物传感器

免疫传感器是基于抗原抗体结合反应原理发展起来的生物传感器。近年来,免疫传感器的研究主要涉及信号放大、多组分检测、自动化、小型化及传感器再生等方面。Yakes 等^[36]采用免疫学分析方法的等离子体共振生物传感器检测 STX,该方法稳定性好,可实现高通量检测。Zhang^[37]采用一种基于免疫分析毛细管电泳的电化学传感器检测贝类样品中的 STX,结果表明:该方法线性范围在 0.8~66.6 ng/mL 之间,检出限为 4.3~9.2 μg/kg。赵涵等^[38]利用基于酶联免疫反应(ELISA)为原理的 STX 检测试剂盒在微流体免疫芯片-化学发光检测平台进行实验,该方法在羧基聚苯乙烯微球表面包被抗体并进行定性分析,然后对底物流速和底物溶液的稀释倍数等进行优化,得到 STX 检测限为 0.005675 ng/mL,检测时间由 3 h 缩短为 30 min,大大节约了试剂和检测时间。

4.2.3 细胞生物传感器

细胞传感器采用固定化的生物活细胞作为生物传感器的分子识别元件,细胞传感器能够更加真实地模拟出外界刺激与生物体作用的方式,在发现新毒素方面具有无法比拟的优势。Kulagina 等^[39]开发了神经网络生物传感器用于测定海水 STX,这种生物传感器将从小鼠胚胎的脊髓组织得到的神经元培养在 64 位微电极阵列基板上。利用 STX 抑制细胞动作电位的传播实现检测,STX 检测限在缓冲溶液中为 12 pg/mL,在稀释 25 倍的海水中为 28 pg/mL。Zou 等^[40]基于麻痹性毒素能够特异性结合细胞膜上钠离子通道的性质,建立了一种新的基于小鼠神经瘤细胞的阻抗传感器检测麻痹性贝类毒素的方法。当 STX 浓度在 0.1~1000 nmol 的范围内时,细胞的相对存活率与 STX 浓度的对数呈良好的线性关系,检出限为 0.03 ng/mL。此类细胞传感器也存在一些问题,如当需要进行现场检测时存在细胞传递和保藏技术问题,生物活体细胞根据其自身所含受体、离子通道的不同能够对多种物质做出综合响应,使得这类传感器的特异性受到影响,这些问题都亟待去研究解决。

4.2.4 核酸适配体生物传感器

核酸适配体(aptamer, apt)是利用指数富集的配基系统进化技术(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)从随机单链寡聚核苷酸文库中得到的、能特异结合蛋白质或其他小分子物质的单链寡聚核苷酸。作为一种新型的能够与靶分子特异性结合的敏感元件,核酸适配体被用于许多生物传感器研究中^[41,42]。与免疫法的所用抗体相比,制备核酸适配体不需要进行动物体内免疫实验,可以在体外进行筛选并进行大量、快速合成,不涉及任何动物或细胞。此外,核酸适配体对于靶分子的亲和

性高于传统抗体, 而且具有较好的稳定性, 保存时间长, 可以在室温下进行运输^[43,44]。

Handy 等^[45]首次筛选出一条核酸适配体, 可以与 STX 特异性结合, 有潜力作为一种识别元件用于 STX 的快速高通量检测中; Zheng 等^[46]在 Handy 等的基础上对原适配体进行了改造, 采用生物膜干涉法得到了一个新的适配体, 比原适配体亲和力提高了 30 倍, Kd 值为 7.44 $\mu\text{mol/L}$, 而且特异性较好, 不与河豚毒素结合; Cheng^[47]开发了一种荧光适配体生物传感器检测 STX, 检测限达到 1.8 ng/mL。核酸适配体生物传感器作为一种新型的贝类毒素检测手段在灵敏度方面不如 HPLC、HPLC-MS/MS 等大型仪器分析技术, 仅能用作定性和半定量分析, 精确定量还需要其他技术作为补充, 但其具有操作简单、快速、成本低, 不需要对样品进行复杂预处理, 更不需要昂贵的仪器和专业操作人员, 其灵敏度完全能满足日常检测需求, 实际应用可行性更高。

5 展 望

随着社会经济的不断发展, 海洋中赤潮的发生频率和危害程度均明显上升, 加强贝类毒素检测监控, 开发更便捷更有效的检测手段显得尤为重要。目前, 检测的手段和方法正向着多样化, 检测速度越来越快, 检测限越来越低, 检测范围越来越广, 以及便携、高通量、具“特异性”的方向发展。麻痹性贝类快速检测技术主要包括免疫层析分析技术和生物传感器技术, 这些技术为实现简单、快速、灵敏地检测贝类毒素提供了一个新的思路, 为最终实现贝类毒素的现场检测提供了一个发展方向。总的来说, 这些新的快速检测技术还不能完全取代目前存在的传统检测方法, 但是可作为一种初步筛选和补充分析检测手段。尽管目前关于麻痹性贝类毒素快速检测技术研究较多, 但是大多仍处于研究阶段, 商业化应用产品很少。目前已经报道的传感器、试纸条普遍存在重复性, 稳定性, 使用寿命和自动化程度低等问题。随着对麻痹性贝类毒素研究的不断深入以及分析技术的快速发展, 开发出一系列灵敏度高、响应时间短、稳定性好、使用寿命长且便携式商品化检测产品, 实现对麻痹性贝类毒素的现场快速自动化检测将具有广阔的应用前景。

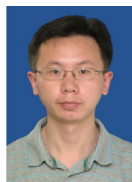
参考文献

- [1] Yasumoto T, Oshima Y, Yamaguchi M. Occurrence of a new type of shellfish poisoning in the Tohoku district [J]. Bull Jpn Soc Sci Fish, 1978, (44): 1249–1255.
- [2] Yasumoto T, Murata M, Oshima Y, *et al.* Diarrhetic shellfish toxins [J]. Tetrahedron, 1985, 41(6): 1019–1025.
- [3] Lago J, Santaclara F, Vieites JM, *et al.* Collapse of mitochondrial membrane potential and caspases activation are early events in okadaic acid-treated Caco-2 cells [J]. Toxicon, 2005, 46(5): 579–586.
- [4] Valdiglesias V, Laffon B, Pásaro E, *et al.* Okadaic acid induces morphological changes, apoptosis and cell cycle alterations in different human cell types [J]. J Environ Monit, 2011, 13(6): 1831–1840.
- [5] Cohen P. Sorting the protein phosphatases: okadaic acid led the way [J]. Biochem J, 2010, 2010(1): c1.
- [6] Lee JS, Yanagi T, Kenna R, *et al.* Fluorimetric determination of diarrhetic shellfish toxins by high-performance liquid chromatography [J]. Agric Biol Chem, 1987, 51(3): 877–881.
- [7] Takagi T, Hayashi K, Itabashi Y. Toxic effect of free unsaturated fatty acids in the mouse assay of diarrhetic shellfish toxin by intra-peritoneal injection [J]. Nippon Suisan Gakk, 1984, (50): 1413–1418.
- [8] Combes RD. The mouse bioassay for diarrhetic shellfish poisoning: A gross misuse of laboratory animals and of scientific methodology [J]. Atla-Alter Lab Anim, 2003, 31(6): 595–610.
- [9] Turrell EA, Stobo L. A comparison of the mouse bioassay with liquid chromatography-mass spectrometry for the detection of lipophilic toxins in shellfish from Scottish waters [J]. Toxicon, 2007, 50(3): 442–447.
- [10] FAO/IOC/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO/World Health Organization), Report of the Joint, 2004. [Z].
- [11] Lawrence JF, Chadha RK, Ratnayake WMN, *et al.* An incident of elevated levels of unsaturated free fatty acids in mussels from Nova Scotia and their toxic effect in mice after intraperitoneal injection [J]. Nat Toxins, 1994, 2(5): 318–321.
- [12] Gill S, Murphy M, Clausen J, *et al.* Neural injury biomarkers of novel shellfish toxins, spirolides: A pilot study using immunochemical and transcriptional analysis [J]. Neurotoxicology, 2003, 24(4-5): 593–604.
- [13] Vieites JM, Leira F, Botana LM, *et al.* Determination of DSP toxins: Comparative study of HPLC and bioassay to reduce the observation time of the mouse bioassay [J]. Arch Toxicol, 1996, 70(7): 440–443.
- [14] Marrouchi R, Dziri F, Belayouni N, *et al.* Quantitative determination of gymnodimine-A by high performance liquid chromatography in contaminated clams from Tunisia coastline [J]. Mar Biotechnol, 2009, 12(5): 579–585.
- [15] 黄聪, 李晓晶, 彭荣飞. 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法检测贝类产品 7 种脂溶性贝类毒素 [J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(5): 1075–1077.
- [16] Huang C, Li XJ, Peng RF, *et al.* Determination of 7 lipophilic shellfish toxins in shellfish by SPE and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Health Lab Technol, 2011, 21(5): 1075–1077.
- [17] Toshiyuki S, Akira M, Katsuhisa B, *et al.* LC-MS/MS analysis of okadaic acid analogues and other lipophilic toxins in single-cell isolates of several dinophysis species collected in Hokkaido, Japan [J]. Harm Algal, 2009, 8(2): 223–238.
- [18] Jorge R, Araceli ER, Gonzalo L, *et al.* Automated online solid-phase extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry for determination of lipophilic marine toxins in shellfish [J]. Food Chem, 2011, 129(2): 533–540.
- [19] Naar J, Bourdelais A, Tomas C, *et al.* A competitive ELISA to detect brevetoxins from *Karenia brevis* (formerly *Gymnodinium breve*) in seawater, shellfish, and mammalian body fluid [J]. Environ Health Persp, 2002, 110(2): 179–185.

- [19] Poli MA, Rivera VR, Neal DD, *et al.* An electrochemiluminescence-based competitive displacement immunoassay for the type-2 brevetoxins in oyster extracts [J]. *J AOAC Int*, 2007, 90: 173–178.
- [20] Zhou Y, Pan FG, Li YS, *et al.* Colloidal gold probe-based immunochromatographic assay for the rapid detection of brevetoxins in fishery product samples [J]. *Biosens Bioelectron*, 2009, 24(8): 2744–2747.
- [21] Zhou Y, Li YS, Pan FG, *et al.* Development of a new monoclonal antibody based direct competitive enzymelinked immunosorbent assay for detection of brevetoxins in food samples [J]. *Food Chem*, 2010, 118(2): 467–471.
- [22] Tubaro A, Florio C, Luxich E, *et al.* A protein phosphatase 2A inhibition assay for a fast and sensitive assessment of okadaic acid contamination in mussels [J]. *Toxicon*, 1996, 34(7): 743–752.
- [23] Bottein MYD, Fuquay JM, Munday R, *et al.* Bioassay methods for detection of N-palmitoylbrevetoxin-B₂ (BTXB₄) [J]. *Toxicon*, 2010, 55(2–3): 497–506.
- [24] Plakas SM, Dickey RW. Advances in monitoring and toxicity assessment of brevetoxins in molluscan shellfish [J]. *Toxicon*, 2010, 56(2): 137–149.
- [25] Dickey RW, Plakas SM, Jester ELE, *et al.* Multi-laboratory study of five methods for the determination of brevetoxins in shellfish tissue extracts [M]. *Harmful Algae*, 2002.
- [26] Gerssen A, McElhinney MA, Mulder PP, *et al.* Solid phase extraction for removal of matrix effects in lipophilic marine toxin analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2009, 394(4): 1213–1226.
- [27] Van-Dolah FM, Finley EL, Haynes GJ, *et al.* Development of rapid and sensitive high throughput pharmacologic assays for marine phycotoxins [J]. *Nat Toxins*, 1994, 2(4): 189–196.
- [28] Takai A, Mieskes G. Inhibitory effect of okadaic acid on the p-nitrophenyl phosphate phosphatase activity of protein phosphatases [J]. *Biochem*, 1991, 275(1): 233–239.
- [29] Tubaro A, Florio C, Luxich E, *et al.* A protein phosphatase 2A inhibition assay for a fast and sensitive assessment of okadaic acid contamination in mussels [J]. *Toxicon*, 1996, 34(7): 743–752.
- [30] González JC, Leira F, Fontal OI, *et al.* Interlaboratory validation of the fluorescent protein phosphatase inhibition assay to determine diarrhetic shellfish toxins: Intercomparison with liquid chromatography and mouse bioassay [J]. *Anal Chim Acta*, 2004, 466(2): 233–246.
- [31] 钟隆洁, 万梓健, 苏凯麒, 等. 基于智能手机的麻痹性贝毒现场快速检测试纸条分析仪[J]. *传感技术学报*, 2017, 30(12): 1787–1793.
- Zhong LJ, Wan ZJ, Su KL, *et al.* New handheld strip analyzer for on-site rapid detection of paralytic shellfish poisoning based on a smartphone [J]. *Chin J Sensors Actuators*, 2017, 30(12): 1787–1793.
- [32] Cheun B, Loughran M, Hayashi T, *et al.* Use of a channel biosensor for the assay of paralytic shellfish toxins [J]. *Toxicon*, 1998, 36(10): 1371–1381.
- [33] Marquette CA, Coulet PR, Blum LJ. Semi-automated membrane based chemiluminescent immunosensor for flow injection analysis of okadaic acid in mussels [J]. *Anal Chim Acta*, 1999, 398(2–3): 173–182.
- [34] Tang AXJ, Pravdam, Guilbault GG, *et al.* Immunosensor for okadaic acid using quartz crystal microbalance [J]. *Anal Chim Acta*, 2002, 471(1): 33–40.
- [35] Campas M, Jean-louis M. Enzyme sensor for the electrochemical detection of the marine toxin okadaic acid [J]. *Anal Chim Acta*, 2007, 605(1): 87–93.
- [36] Yakes BJ, Prezioso S, Haughey SA, *et al.* An improved immunoassay for detection of saxitoxin by surface plasmon resonance biosensors [J]. *Sensors Actuators B*, 2011, 156(2): 805–811.
- [37] Zhang X, Zhang Z. Capillary electrophoresis-based immunoassay with electrochemical detection as rapid method for determination of saxitoxin and decarbamoylsaxitoxin in shellfish samples [J]. *J Food Compos Anal*, 2012, 28(1): 61–68.
- [38] 赵涵, 孙帅, 董益阳, 等. 水产品中麻痹性贝类毒素的微流体免疫检测技术研究[J]. *北京化工大学学报(自然科学版)*, 2018, 45(1): 49–54.
- Zhao H, Sun S, Dong YY, *et al.* Detection of paralytic shellfish toxins by microfluidic immunoassay [J]. *J Beijing Univ Chem Technol (Nat Sci Ed)*, 2018, 45(1): 49–54.
- [39] Kulagina NV, Mikulski CM, Gray S, *et al.* Detection of marine toxins, brevetoxin-3 and saxitoxin in seawater using neuronal networks [J]. *Environ Sci Technol*, 2006, 40(2): 578–583.
- [40] Zou L, Wu CS, Wang Q, *et al.* An improved sensitive assay for the detection of PSP toxins with neuroblastoma cell-based impedance biosensor [J]. *Biosens Bioelectron*, 2015, 67: 458–464.
- [41] Tombelli S, Minunni M, Mascini M. Analytical applications of aptamers [J]. *Biosensors Bioelectron*, 2005, 20(12): 2424–2434.
- [42] Song S, Wang L, Li J, *et al.* Aptamer-based biosensors [J]. *TrAC Trend Anal Chem*, 2008, 27(2): 108–117.
- [43] Brody EN, Gold L. Aptamers as therapeutic and diagnostic agents [J]. *Rev Mol Biotechnol*, 2000, 74(1): 5–13.
- [44] Jenison RD, Gill SC, Pardi A, *et al.* High-resolution molecular discrimination by RNA [J]. *Science*, 1994, 263(5152): 1225–1229.
- [45] 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(1): 30–37.
- [46] Zheng X, Hu B, Gao SX, *et al.* A saxitoxin-binding aptamer with higher affinity and inhibitory activity optimized by rational site-directed mutagenesis and truncation [J]. *Toxicon*, 2015, 101: 41–47.
- [47] Cheng S, Zheng B, Yao DB, *et al.* Study of the binding way between saxitoxin and its aptamer and a fluorescent aptasensor for detection of saxitoxin [J]. *Spectrochim Acta A*, 2018, 204: 180–187.

(责任编辑: 武英华)

作者简介



吴益春, 博士研究生, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: 249437776@qq.com



王萍亚, 教授级高级工程师, 主要研究方向为食品安全检验检测技术。

E-mail: zswpy666@sina.com