

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240401011

贝类毒素检测方法研究进展及其国内外 限量要求比较分析

刘培海¹, 高尧华¹, 孙 灿¹, 卢志晓¹, 张彩丽¹, 李林杰¹, 苏 征¹, 雷质文^{2*}

(1. 日照海关综合技术服务中心, 日照 276826; 2. 青岛海关技术中心, 青岛 266002)

摘 要: 贝类毒素是贝类产品的重要危害因子, 其不仅对人类健康造成严重威胁, 也影响到海产品加工及出口贸易的健康发展。许多国家和地区制定了相应的贝类毒素检测方法, 并规定了贝类产品中毒素的限量要求。本文主要综述了小鼠生物法、酶联免疫吸附法、液相色谱法、液相色谱-串联质谱法、生物传感器法等5种常用的贝类毒素检测方法, 并分析了其发展趋势; 梳理了我国及美国、欧盟、日本、韩国、澳大利亚、新西兰、西班牙等国家和地区的贝类毒素官方检测方法和限量要求, 并对我国贝类毒素风险监测工作提出建议, 为我国贝类产品质量安全提供数据和资源支持, 对保障我国贝类产品养殖业及出口贸易的稳定发展具有重要意义。

关键词: 贝类毒素; 检测方法; 限量

Research progress on determination methods and comparative analysis on domestic and international limits requirement of shellfish toxin

LIU Pei-Hai¹, GAO Yao-Hua¹, SUN Can¹, LU Zhi-Xiao¹, ZHANG Cai-Li¹,
LI Lin-Jie¹, SU Zheng¹, LEI Zhi-Wen^{2*}

(1. Comprehensive Technology Service Center of Rizhao Customs, Rizhao 276826, China;
2. Qingdao Customs Technology Center, Qingdao 266002, China)

ABSTRACT: Shellfish toxins are important risk factors in shellfish products, which not only bring threats to the public health, but also affect the healthy development of the marine processing industry and export trade of shellfish products. Many countries and regions in the world have regulated their detection methods and limits requirement of shellfish toxins. In this paper, we summarize the detection methods of shellfish toxins, such as mouse bioassay, enzyme-linked immunosorbent assay, high performance liquid chromatography, liquid chromatography with tandem and biosensors, briefly analyzing the trend of detection methods. And we provide a summary of official detection methods, limits requirement of our country and main nations and regions including the United States, European Union, Japan, South Korea, Australia, New Zealand and Spain, giving some advice on the risk monitoring of shellfish toxins in our country. In a word, this paper provides data and technology support for shellfish quality safety of our country and is of great significance for the development of shellfish culture and related international trade.

KEY WORDS: shellfish toxin; detection method; limits

基金项目: 海关总署科研项目(2019HK028)、国家认监委认证认可行业标准项目(2017RB034)

Fund: Supported by the Scientific and Research Program of General Administration of Customs (2019HK028), and the Standard Development Project of National Certification and Accreditation Administration (2017RB034)

*通信作者: 雷质文, 硕士, 研究员, 主要研究方向为食品微生物检测和质量控制。E-mail: leizhw@sohu.com

*Corresponding author: LEI Zhi-Wen, Master, Professor, Qingdao Customs Technology Center, Qingdao 266002, China. E-mail: leizhw@sohu.com

0 引言

贝类毒素是海洋中有毒藻类产生的天然有机化合物,滤食性贝类摄入这些有毒藻类后,可在体内积累贝类毒素,人类食用含毒素的贝类后会引发中毒,贝类毒素已成为影响贝类水产品食品安全的重要污染物之一^[1]。根据贝类毒素导致人类引发的中毒症状,可分为麻痹性贝类毒素(paralytic shellfish poisoning, PSP)、腹泻性贝类毒素(diarrhetic shellfish poisoning, DSP)、神经性贝类毒素(neurotoxic shellfish poisoning, NSP)和记忆性缺失贝类毒素(amnesic shellfish poisoning, ASP)^[2-3]。随着海水污染日益严重,我国赤潮发生频率呈上升趋势,贝类毒素引起的中毒事件风险越来越大^[4]。贝类毒素严重威胁着消费者的身体健康和生命安全,并阻碍着贝类养殖业及贝类国际贸易的发展。当前世界各国政府及国际组织对贝类毒素的研究及管理相当重视,已有多个国家或国际组织专门制定了针对贝类毒素的管理法规^[5]。本文综述了贝类毒素的种类、主要检测技术方法、国内外官方检测标准和限量要求,简述了贝类毒素检测方法发展趋势,对我国贝类毒素风险监控提出了建议,对确保我国出口贝类产品的质量安全、促进我国贝类国际经济贸易健康发展有重要意义。

1 贝类毒素主要种类

1.1 PSP

PSP 是全球分布最广、危害最严重的贝类毒素,也是我国分布最为广泛的贝类毒素,主要源于有毒赤潮甲藻,以亚历山大藻类(*Alexandrium*)为主,最近的研究表明淡水中的蓝细菌也可产生 PSP^[6]。PSP 包括石房蛤毒素和 50 多种同系结构类似素,是一组神经毒素生物碱类物质^[7]。根据结构可将 PSP 分为 3 类:氨基甲酸酯类毒素,包括石房蛤毒素(saxitoxin, STX)、新石房蛤毒素(neosaxitoxin, neoSTX)和膝沟藻毒素(gonyautoxins1-4, GTX1-4);脱氨基甲酰基类毒素,包括脱氨基甲酰基石房蛤毒素(decarbamoyl saxitoxin, dcSTX)、脱氨基甲酰基膝沟藻毒素(decarbamoyl gonyautoxins, dcGTX1-4)和脱氨基甲酰基新石房蛤毒素(decarbamoyl neosaxitoxin, dcneoSTX);N-磺酰胺基甲酰基类毒素(GTX5, GTX6, N-sulfocarboylgonyautoxin, C1-4)。研究表明, PSP 毒性强烈,能够抑制神经的传导,人体中毒剂量为 600~5000 MU,致死量为 3000~30000 MU^[8]。PSP 的作用机制是阻断细胞 Na^+ 通道,具有高度的专一性,通过与膜上的特异性受体结合,从而阻断神经细胞的兴奋与传导,可引起神经性中毒,潜伏期数分钟或数小时, PSP 中毒症状为四肢肌肉麻痹、头痛恶心、流涎发烧、皮疹等,严重时会导致呼吸停止^[9]。

1.2 DSP

DSP 是我国分布的另一种重要的贝类毒素,是由原甲

藻属和有毒赤潮藻类鳍藻属产生的脂溶性多环醚类生物活性毒素^[10]。DSP 目前发现 12 种,9 种结构已确定,包括 3 大类:大田软海绵酸(domoic acid, OA)及其衍生物鳍藻毒素(dinophysistoxin, DTX);大环内脂类毒素(pinnatotoxin, PTX1、PTX2、PTX3、PTX6);磺化毒素、紫夷贝类毒素(yessotoxin, YTX)及其衍生物。DSP 是蛋白磷酸酶的抑制剂, DSP 中毒的主要症状包括腹泻、恶心、呕吐,下腹疼痛,目前还没有因 DSP 中毒致死的报道,但 DSP 中毒无治疗药物,若延误治疗会对健康造成较大伤害。

1.3 NSP

神经贝类毒素主要来自于短裸甲藻(*ptychodisus brevis*)、剧毒冈比甲藻(*gambierdiscus toxicus*)等藻类,属于脂溶性多醚类化合物,毒性相对较小。NSP 主要成分为短裸甲藻毒素(brevetoxin),从短裸甲藻细胞提取液中分离出 13 种 NSP 成分,其中 11 种成分的化学结构已确定,按照成分的碳骨架结构划分为 3 种类型。(1)由 11 个稠合醚环组成的梯形结构;(2)由 10 个稠合醚环组成;(3)其他成分。NSP 与 PSP 相似,作用于 Na^+ 通道,作用位点与石房蛤毒素不同,引起 Na^+ 通道维持开放状态,增强 Na^+ 向细胞内流动,使细胞膜持续处于去极化状态,进而引起平滑肌的收缩。主要症状是身体冷热无常、恶心、呕吐、腹泻、运动失常等。潜伏期较短,一般为数分钟至数小时。我国几乎无分布。主要分布在欧洲、新西兰、以及美国佛罗里达海岸、墨西哥湾沿岸。

1.4 ASP

ASP 是由某些拟菱形藻属(*Pseudo-nitzschia*)和菱形藻属(*Nitzschia Hassall*)的海洋硅藻产生的。主要毒素成分为软骨藻酸(domoic acid, DA),是一种强烈的神经毒性非蛋白氨基酸,由长链羽状硅藻代谢产生的一种物质。DA 是谷氨酸的一种异构体,能竞争性结合谷氨酸受体,作用于兴奋性的氨基酸受体和突出传递素,提高钙离子的渗透性,使细胞长时间处于去极化的兴奋状态导致死亡。主要症状是腹痛腹泻、呕吐、流涎,同时出现记忆丧失、意识混乱、平衡失调等症状,严重时处于昏迷状态。主要分布在美国、加拿大、新西兰等海域。

2 贝类毒素的检测方法

2.1 小鼠生物法

小鼠生物法(mouse bioassay, MBA)是国际海产品贸易中贝类毒素检测的常用方法,也是美国分析化学家协会(Association of Official Analytical Chemists, AOAC)确定的标准方法,国际上大多数国家采用该方法进行贝类毒素监测。基本原理是使用适当的溶剂将样品中的毒素提取出来,然后以腹腔注射的方式使小鼠染毒,通过观察小鼠的中毒症状以及平均致死时间来定性、定量毒素毒性的大小。小

鼠生物法可检测 DSP、PSP、ASP、NSP, 检测方法简单、不需要专业的仪器和技术人员, 能真正反映毒素的毒性, 但小鼠生物法不能准确定量、不能分析毒素的种类和浓度, 特别是使用动物进行实验涉及动物伦理问题, 此外所得的毒性和小鼠品系有关, 小鼠个体差异可能造成结果差异。

2.2 免疫学方法

免疫学方法是以抗原-抗体特异性反应为基础的检测方法, 免疫方法可用于分析不同的毒素, 已成为德国的官方分析方法, 并被 AOAC 采用。目前常用的方法为酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA), ELISA 是基于抗原抗体反应建立的方法, 微孔板包被有针对贝类毒素的捕捉抗体, 加入样品提取液及贝类毒素酶标记物, 游离的贝类毒素与贝类毒素标记物竞争贝类毒素抗体, 同时贝类毒素抗体与捕捉抗体连接, 再经过洗涤、发色、孵育显色等步骤, 在 450 nm 处测定样品与标准品的吸光度, 通过标准曲线进行计算^[11]。ELISA 方法检测时间短, 可实现大批量检测, 适合于贝类毒素的日常监测筛查, 但可能存在交叉反应, 容易产生假阳性。ELISA 方法因其简单、高通量等特点使用较为广泛, DSP、PSP 已经有商品化的试剂盒(如 R-Biopharm 的 RIDASCREEN、SAXITOXIN TEST、ABRAXIS、Beacon), NSP 已有单克隆抗体, ASP 目前没有商品化的试剂盒^[12]。

为了提高 ELISA 的特异性、降低假阳性风险, 研究人员对传统 ELISA 方法持续改进^[13-14]。CHAE 等^[15]建立了亲和肽直接竞争性 ELISA 方法, 用以检测样品中的 OA, 方法使用亲和肽代替抗体进行反应, 克服了抗体稳定性低、生产成本高的瓶颈。方法成本低、选择性高、灵敏度高、检出限为 5.41 ng/mL, 定量限为 18.03 ng/mL。CHAE 等^[16]建立了一种基于多肽印迹物多聚体的竞争性 ELISA 方法, 方法合成了具有较高活性的纳米酶, 使用 STX 特异性模版肽将多肽印迹多聚物固定在多孔板上, 与 STX 特异性信号肽反应, STX 信号肽与多肽印迹多聚物的反应可使用链霉素包被的纳米酶检测, 方法具有极高的灵敏度和选择性, 检出限为 3.17 ng/mL。

除 ELISA 方法外, 其他基于免疫技术的方法还有放射免疫测定(radioimmunoassay, RIA)、酶免疫测定(enzyme immunoassay, EIA)、固相免疫测定(solid phase enzyme immunoassay, SPEIA)、荧光偏振免疫分析技术(fluorescence polarization immunoassay, FPIA)^[17]、均相光激化学发光免疫分析技术(amplified luminescent proximity homogeneous assay linked immunosorbent assay, AlphaLISA)等。AlphaLISA 技术是一种以表面包被有亲和涂层的受体微球和供体微球为载体的均相免疫学技术, 适用于传统 ELISA 和其他化学发光技术可以检测的小分子, 更可以检测大分子的相互作用。YUAN 等^[18]基于 AlphaLISA 技术建立了

OA 检测方法, 方法不再需要清洗步骤, 而且对环境又好, 降低了样品水解过程中强酸强碱的使用, 且方法准确度高、灵敏度高、反应快速, 15 min 内即可完成检测, 对 OA 的检出限为 4.55×10^{-3} ng/mL, 定量限为 1.54×10^{-1} ng/mL, 对实际样品的检测能力与高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)方法结果一致。方法也有一些不足, 如与 OA 衍生物, DTX1 和 DTX2 有交叉反应, 尚需进一步研究。

2.3 液相色谱法

因小鼠生物法和酶联免疫法无法确定毒素的结构, 区分毒素的种类, 化学分析方法正逐渐成为毒素检测的可选择方法。液相色谱法(liquid chromatography, LC)是较常用的贝类毒素化学分析方法, 主要原理是利用合适的溶剂提取样品中的待测物质, 去除样品中一并提取的杂质, 使用色谱分离并检测。LC 包括紫外检测方法(liquid chromatography-ultra violet, LC-UV)和荧光检测方法(liquid chromatography-fluorescence detection, LC-FLD)两种检测方法, LC-FLD 用于测定 DSP、PSP 的检测, LC-UV 检测用于 ASP 的检测。

因贝类毒素没有发色基团, 需加入衍生化试剂, 通过衍生作用使得待测化合物在一定波长的激发光照射下能够产生荧光, 利用荧光强度计算含量, 从而进一步进行定性、定量研究。衍生过程可为柱前衍生和柱后衍生, 柱前衍生也称为劳伦斯法, 在欧洲可认可作为贝类样品中 PSP 的替代方法, 柱前衍生、柱后衍生方法均被 AOAC 认可, 柱前衍生是 2005 年获得 AOAC 认可(AOAC 2005.06), 柱后衍生是 2011 年获得 AOAC 认可(AOAC 2010.02)^[19], 两种方法各有优点和不足, 根据不同的环境选择适当的方法^[20]。LC 方法灵敏度高、专一性强, 能提供毒素的更多信息, 测定每种组分的具体含量及毒性大小, LC 是唯一能定性、定量检测各种毒素组分的技术^[21]。但对结构相似、保留时间接近的同系物贝类毒素定性能力差, LC-LFD 方法需进行氧化衍生, 必须严格控制条件才能获得理想的结果, 而且衍生试剂成本较高, 有些试剂不稳定, 需要现用现配。

2.4 液相色谱-串联质谱法

随着质谱技术的发展, 液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)在贝类毒素中的检测应用研究也越来越广泛。质谱分析是通过样品离子的质量和强度的测定, 来进行化学成分和结构分析, 不需要实现待测物质与干扰组分的完全色谱分离, 可从得到的质谱信息中筛选出各组分的离子峰质荷比, 得到单一组分的色谱图, 同时还可通过二级质谱分析对结构做进一步确定^[22]。

LC-MS/MS 作为最具潜力的检测技术, 目前在海洋生

物毒素的检测分析领域已表现出明显的优势,该方法几乎可以分析检测目前已确定的化学结构的所有贝类毒素,并对目标毒素进行单独筛选和检测,分析速度快、灵敏度高,具有很好的重现性^[23]。LC-MS/MS 样品前处理简单,可同时检测多种毒素,不需衍生过程,具有高特异性和高灵敏度的优点,且样品用量少。2011 年,欧盟发布指令(EU)No.15/2011,自 2015 年起,欧盟将使用 LC-MS/MS 作为替代 MBA 的检测方法^[24]。国内外贝类毒素 LC-MS/MS 研究报道较多,研究多集中在样品提取净化的试剂选择和

过程优化、色谱条件质谱条件优化以及基质效应影响方面。贝类样品基质复杂,含有大量色素、脂肪、蛋白质,样品提取和净化过程较为关键。样品提取使用的试剂主要有甲醇、乙腈、乙酸等,不同样品需对试剂进行优化选择使用。样品净化方法目前多采用固相萃取方式,一般选用成品的固相萃取小柱,因固相萃取小柱处理样品时需要多次活化、淋洗和洗脱,部分研究采用自制的纳米 TiO₂ 修饰磁性氧化石墨烯,实现一步萃取与净化。部分贝类毒素的 LC-MS/MS 研究情况见表 1。

表 1 近年来 LC-MS/MS 方法用于贝类毒素检测情况
Table 1 Research about detection of shellfish toxins with LC-MS/MS in recent years

序号	贝类毒素种类	基质类型	检出限/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	参考文献
1	PSP(GTX2、GTX3、GTX1、GTX4、GTX5、dcNEO-b、dcGTX2、dcGTX3)	牡蛎、菲律宾蛤仔、扇贝	/	300、100、300、100、100、100、450、100	[25]
2	DSP(OA、DTX-1)	贻贝	/	2.0/2.0	[26]
3	PSP(neoSTX、STX、dcSTX、GTX3、GTX2、GTX4、GTX1、dcGTX2、dcGTX3、GTX5)	贝类	6.01、1.02、2.36、0.86、0.73、0.79、0.76、5.11、5.87、2.28	20.0、3.40、7.86、2.86、2.43、2.63、2.53、17.0、19.5、7.59	[27]
4	DSP(OA、DTX2、DTX1、YTX、hYTX、AZA1、AZA2、AZA3、SPX1、PTX2)	贻贝、扇贝、牡蛎	0.5、0.4、0.3、0.3、0.2、0.7、0.4、0.7、0.6、1.0	1.5、1.5、1.0、1.0、0.7、2.1、1.3、2.4、2.0、3.0	[24]
5	DSP(OA、DTX1、DTX2)	贝类	0.5、0.5、1.0	/	[28]
6	PSP(STX、dcSTX、neoSTX、deneoSTX)	贻贝	10.0	10.0	[9]
7	DSP(OA、DTX1、DTX2、YTX、hYTX、PTX2、AZA1、AZA2、AZA3)	贝类	6.6、6.6、4.4、9.9、9.9、8.2、6.7、6.7、6.7	22.0、22.0、14.7、33.0、33.0、27.3、22.3、22.3、22.3	[29]
8	DSP(OA、DTX1、DTX2、PTX2、YTX、AZA1、AZA2、AZA3)	贝类	10.0、10.0、10.0、10.0、10.0、5.0、5.0、5.0	/	[6]
9	PSP(STX、dcSTX、neoSTX、deneoSTX、GTX5、GTX2、GTX1、dcGTX2、C1、GTX3、GTX4、dcGTX3、C2)	贻贝、扇贝、牡蛎	5.0、7.0、5.0、7.0、3.0、2.5、5.0、2.0、8.0、7.0、2.0、2.0、2.0、2.0	10.0、20.0、10.0、10.0、5.0、10.0、5.0、15.0、20.0、4.0、4.0、6.0、7.0	[30]
10	DSP(OA、DTX1、DTX2、AZA1、AZA2、AZA3)	牡蛎	0.8、0.8、0.8、0.2、0.2、0.2	2.8、2.8、2.8、0.6、0.6、0.6、	[31]
11	AZA1、AZA2、AZA3、OA、DTX1、DTX2、PTX2、GYM、SPX1	贝类	1.0、2.0、3.0、2.0、1.0、7.0、3.0、10.0、1.0	/	[32]
12	PSP(GTX1、GTX2、GTX3、GTX4、dcGTX2、dcGTX3、GTX5、STX、dcSTX、neoSTX)	蛤仔、扇贝牡蛎	25.0 50.0	50.0 100.0	[33]
13	PSP(C1、C2、GTX2、GTX3、GTX1、GTX4、dcGTX2、dcGTX3、GTX5、GTX6)	扇贝	0.09、0.53、6.6、4.5、11.8、2.8、3.0、2.2、0.69、0.58	0.27、1.6、19.9、13.7、35.6、8.8、9.1、6.6、2.1、1.8	[34]
14	DSP(OA、DTX-1、DTX-2)	贝类	0.83、0.96、0.91	0.11 nmol/kg、0.13/0.12	[35]
15	DSP(OA、DTX2、YTX、hYTX、45-OH-YTX、45-OH-hYTX、DTX1、AZA3、AZA1、AZA2、PTX2)	贝类	1~3	3~8	[36]
16	脂溶性贝类毒素(OA、DTX2、DTX1、AZA1、AZA2、AZA3、YTX、HomoYTX、PTX2、13desmSPXC、13,19didesmSPXC、20Methyl SPXG、GYMA、PnTXG)	贝类	3、9、9、9、9、9、22、24、7.3、0.2、0.035、1.1、1.2、0.4	10、29、29、29、29、29、72、74、25、0.67、0.12、3.8、3.9、1.3	[37]
17	脂溶性贝类毒素(DA、AZA1、AZA2、AZA3、BTX2、BTX3、OA、DTX-1、DTX-2)	贝类	17、2、2、2、11、12、6、6、5	58、7、7、7、36、39、19、19、15	[38]
18	NSP(BTX1-3)	贝类	1.5	5	[39]
19	脂溶性贝类毒素(AZA1-3、GYM、PTX2、OA、DTX1、DTX2、YTX、hYTX)	贻贝	0.102、0.104、0.116、0.421、2.03、1.45、1.69、1.45、3.33、3.87	0.400、0.347、0.387、1.40、6.77、4.83、5.63、4.83、11.1、12.8	[40]

注: /为文献中未涉及此类数据。

由表 1 可以看出, 目前 LC-MS/MS 贝类毒素检测方法研究主要集中于 DSP、PSP 等结构类似物较多的毒素, 可实现多种毒素同时检测, 提高检测效率。DSP 检出限在 0.2~10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间, 定量限在 0.6~33.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间。PSP 检出限在 0.09~25.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间, 定量限在 0.27~450.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间, 方法检出限和定量限满足我国的限量要求。

2.5 生物传感器法

近年来, 随着微纳米技术的发展, 生物传感器以其选择性强、灵敏度高、携带方便等优点在贝类毒素检测研究中得到广泛应用。相比化学分析方法, 生物传感器技术操作简便、可实现高通量检测、现场检测, 在贝类毒素检测及预警中发挥越来越重要的作用^[41]。根据传感器原理, 生物传感器可分为光学、电化学、电化学发光、场效应和声学传感器。

光学生物传感器根据检测原理不同分为 4 类: 比色生物传感器、荧光生物传感器、表面增强拉曼散射传感器 (surface-enhanced Raman scattering, SERS)、表面等离子共振传感器 (surface plasma resonance, SPR), 4 类传感器均已应用在贝类毒素检测方法的研究中^[42-45]。YOU 等^[46] 开发了装载有纳米银粒子的细菌纤维素膜 SERS 传感器, 用于超灵敏性地检测 DSPDTX-1, 该传感器以细菌纤维素膜为载体, 在其表面通过原位生长方式固定纳米银颗粒, 并利用细菌纤维素膜干燥体积收缩的特点, 提高了银颗粒的密度, 产生大量均匀分布的高活性 SERS 热点, 提高了 SERS 的灵敏度和信号的重复性。使用该传感器检测 DTX-1, 最低检出限为 9.5×10^{-10} mol/L, 回收率在 95.8%~108.2%。可用于实际样品的检测, 对实际样品检测结果与 LC-MS 结果相一致。

MARIANA 等^[47] 使用氨甲酰水解酶快速检测氨甲酰类 PSP 和 N-磺酰胺氨甲酰 PSP, 氨甲酰水解酶水解氨甲酰 PSP 和 N-磺酰胺氨甲酰 PSP。伴随着酶反应, 氨甲酰水解酶构象发生变化, 可通过中红外光谱和电化学阻抗谱来监测, 氨甲酰水解酶方法是利用酶反应期间的电极表面吸收和酶构象的变化作为分析信号。通过优化条件, 建立的阻抗电子舌传感器实现 N-磺酰胺氨甲酰 PSP 的定量检测, 检出限为 0.1 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 。建立的方法检出限接近官方限量。CHIKKILI 等^[48] 建立了多肽电化学生物传感器, 使用示差脉冲伏安法用以检测不同样品中的痕量 STX。研究者合成了 ZIF67 骨架纳米材料, 装有铂和钌两种金属纳米颗粒。带有丝网印刷电极的纳米成分可检测 STX, 检出限为 26.7 pg/mL , 定量限为 84.7 pg/mL , 建立的生物传感器稳定, 方法选择性强、灵敏度高。

除此之外, 电化学发光生物传感器、场效应生物传感器、表面声波传感器在贝类毒素检测中也有相关研究和技术开发报道^[49-51]。除了上述方法外, 对于贝类毒素的检测

方法还有薄层色谱法、气相色谱法、气相色谱串联质谱法、酶活性抑制检测技术、分子探针技术、荧光原位杂交技术、近红外技术等, 在贝类毒素的检测中也发挥了越来越重要的作用^[52-53]。

3 我国目前使用的检测方法及检出限量要求

3.1 我国的贝类毒素检测方法

2016 年前, 我国的贝类毒素检测方法多采用小鼠法和酶联免疫法, 标准多集中于国家标准、检验检疫行业标准、农业行业标准。2016 年食品标准整合后, 贝类毒素检测主要为食品安全国家标准, LC 和 LC-MS/MS 得到补充应用。目前, 我国的贝类毒素检测方法具体检测方法信息见表 2。

3.2 我国的贝类毒素检出限量要求

2015 年前, 我国的贝类毒素检出限量要求主要参考农业部颁布的 NY 5073—2006《无公害食品水产品中有毒有害物质限量》以及原国家质量监督检验检疫总局颁布的 GB/T 18406.4—2001《农产品安全质量无公害水产品安全要求》。2015 年, 我国以食品安全国家标准的形式制定了贝类毒素限量要求, 即 GB 2733—2015《食品安全国家标准 鲜、冻动物性水产品》, 具体信息见表 3。

由表 3 可以看出, 我国的贝类毒素限量规定与要求仅规定了 DSP 和 PSP, 对 NSP 和记忆缺损性贝类毒素没有标准限量要求。此外, 对 DSP 和 PSP 的限量, 3 个标准限量均不同, GB 2733—2015 限量要求单位为 MU/g, 即应采用小鼠生物法进行检测, 而 GB/T 18406.4—2001 限量要求单位为 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 可采用酶联免疫法、LC、LC-MS/MS 等, 因此对产品的检测应按照限量要求来选择不同的检测方法。

4 国外贝类毒素检测方法及其限量要求

4.1 国外贝类毒素检测方法

小鼠生物法是国际上大多数国家采用的方法, 如日本官方推荐的 DSP 检测方法为小鼠生物法^[12], 而且是 AOAC 官方认可的检测方法^[6]。

美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 通过执行国家贝类卫生计划 (National Shellfish Sanitation Program, NSSP) 评估双壳贝类的卫生控制水平, NSSP 是由联邦政府、州政府的合作计划, 目标是保护公众健康, 确保贝类流通市场的质量安全。采用方法是使用美国公共卫生协会 (American Public Health Association, APHA) 推荐的方法, 如 PSP、NSP 采用小鼠生物法, DSP 采用 LC-MS/MS 方法, ASP 采用 HPLC 方法。

表 2 我国贝类毒素检测标准方法及方法参数
Table 2 Detection methods and their parameters of shellfish toxins in our country

贝类毒素种类	检测标准	检测方法	适用毒素	检出限	定量限/($\mu\text{g}/\text{kg}$)
PSP	GB 5009.213—2016《食品安全国家标准 贝类中 PSP 的测定》	小鼠法	所有结构的毒素	400 MU/100 g	/
		ELISA	所有结构的毒素	/	50
			GTX4		16.7
			GTX1		50.7
			dcGTX3		4.8
			GTX5		31.9
		LC	dcGTX2	/	17.3
			GTX3		6.5
			GTX2		19.6
			neoSTX		15.7
			dcSTX		12.5
			STX		14.5
			GTX4		
			GTX1		
			GTX3	25.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	50.0
			GTX2		
			LC-MS/MS	dcGTX3	
				dcGTX2	
				GTX5	
				neoSTX	50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$
		dcSTX			
		STX			
DSP	GB 5009.212—2016《食品安全国家标准 贝类中 DSP 的测定》	小鼠法	所有结构的毒素	0.05 MU/g	/
		ELISA	所有结构的毒素	/	10
			OA		
		LC-MS/MS	DTX-1	10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	30.0
		DTX-2			
NSP	GB 5009.261—2016《食品安全国家标准 贝类中 NSP 的测定》	小鼠法	所有结构的毒素	0.1 MU/g	/
ASP	GB 5009.198—2016《食品安全国家标准 贝类中失忆性贝类毒素的测定》	ELISA	所有结构的毒素	/	1 $\mu\text{g}/\text{g}$
		LC	DA	0.3 $\mu\text{g}/\text{g}$	1.0 $\mu\text{g}/\text{g}$
		LC-MS/MS	DA	0.005 $\mu\text{g}/\text{g}$	0.02 $\mu\text{g}/\text{g}$

注: /表示标准未给出相关数据,下同。

表 3 我国的贝类毒素检出限量标准及限量要求
Table 3 Limits requirement of shellfish toxins in our country

贝类毒素种类	GB2733—2015	GB/T 18406.4—2001	NY 5073—2006
PSP	$\leq 4 \text{ MU}/\text{g}$	800 $\mu\text{g}/\text{kg}$	$\leq 400 \text{ MU}/100 \text{ g}$
DSP	$\leq 0.05 \text{ MU}/\text{g}$	600 $\mu\text{g}/\text{kg}$	不得检出
NSP	/	/	/
ASP	/	/	/

欧盟指令(EC) No 2074/2005 规定, PSP 的检测方法采用生物测试方法或其他国际认可的检测方法, 如检测结果可疑, 生物法作为参考方法。ASP 的检测方法采用 HPLC 或其他认可的方法进行检测, 如结果可疑, 使用 HPLC 作为参考方法。DSP 检测方法一般使用生物法检测, 也可使用 HPLC、LC-MS/MS、免疫分析方法等作为生物检测方法的补充方法。欧盟官方批准并验证的 PSP 检测方法是小鼠生物法^[54], 2019 年起, 欧盟更新了参考方法用于 PSP 的检测, 从小鼠生物法更新为柱前衍生氧化液相色谱法。该方法也已经使用许多贝类样品进行验证, 显示与小鼠法具有良好的线性相关^[55]。

(EU) No 15/2011 对(EC) No 2074/2005 进行了修订, 规定 LC-MS/MS 代替小鼠生物法作为脂溶性贝类毒素的参考方法, 其他方法如 LC-MS、HPLC、免疫方法可作为

LC-MS/MS 的补充, 小鼠生物法 2015 年 1 月 1 日后不再使用。

4.2 国外贝类毒素检出限量要求

国外关于贝类毒素的限量要求不尽相同, EC No.853/2004 规定了对 PSP、DSP、ASP、NSP 的限量要求, 美国由 FDA 规定贝类毒素的限量要求, 澳大利亚、新西兰由澳新食品标准局发布规定贝类毒素的限量要求, 日本由农林水产省规定贝类毒素限量要求, 韩国由食品药品管理处 (Ministry of Food and Drug Safety, MFDS) 发布贝类毒素限量要求。各国对贝类毒素的限量是基于各国风险评估水平及贝类毒素分布情况来确定, 并参考世界卫生组织规定及各大组织的限量要求来确定。以 PSP 为例, 欧盟规定 PSP 最大允许限量为 800 $\mu\text{g}/1000 \text{g}$ (以 STX 换算), 大多数其他地区也执行该限量^[56-57]。部分国家贝类毒素限量要求见表 4。

表 4 部分国家和地区贝类毒素限量要求

Table 4 Limits requirement of shellfish toxins in some countries and regions

贝类毒素种类	欧盟限量要求	NSSP	澳大利亚/新西兰限量要求	日本限量要求	韩国限量要求	西班牙限量要求
PSP	800 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (STX)	80 $\mu\text{g}/100 \text{g}$ (STX)	800 $\mu\text{g}/\text{kg}$	20 MU/g	800 $\mu\text{g}/\text{kg}$	800 $\mu\text{g}/\text{kg}$
DSP	160 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (OA)	160 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (OA)	200 $\mu\text{g}/\text{kg}$	160 $\mu\text{g}/\text{kg}$	160 $\mu\text{g}/\text{kg}$	不得检出
NSP	20 MU/100 g	20 MU/100 g	800 $\mu\text{g}/\text{kg}$	/	/	/
ASP	20 mg/kg (DA)	2 mg/100 g (DA)	20 mg/kg	20 mg/kg	/	200 $\mu\text{g}/\text{kg}$

注: /表示无相关限量要求。

5 结束语

贝类产品是我国重要的养殖海产品, 贝类产品产量占水产品产量的比重超过 20%。贝类产品也是我国出口水产品的重要组成部分, 年出口量超 3 万 t。贝类毒素作为贝类产品的重要风险因子, 严重威胁着贝类产品的海水养殖及出口贸易。一方面, 应加强对贝类毒素检测方法的研究, 特别是在小鼠生物法、酶联免疫吸附法等传统方法的基础上, 开发高通量、高特异性、高灵敏度的化学分析方法, 如 LC-MS/MS, 同时应结合现场检测及基层检测的特点, 建立酶联免疫法初筛 + LC-MS/MS 确认的检测体系, 既可以提高检测效率、克服大型仪器设备配备困难, 又可实现高效率筛查并准确定量的目标。另一方面我国虽然已经开展了海产品中贝类毒素的食品安全风险检测工作, 但是目前缺乏系统深入的基于空间分布于聚集性分析的风险评估研究^[58], 还应针对我国沿海区域贝类毒素要从时间、空间等不同维度进行风险监测, 掌握我国沿海贝类毒素的分布特点, 及时发现海洋变化对贝类毒素种类及分布的影响, 同时应加强对进口海产品贝类毒素的监控, 密切跟踪主要贸易国贝类毒素风险预警信息。此外, 应加强检测方法研究与开发, 以 PSP 为例, 我国国家标准 GB 5009.213—2016 将 LC-MS/MS 作为 PSP 的食品安全国家标准方法, 但只能

同时检测 10 种 PSP, 尚不能满足同系物的检测要求。最后, 应及时跟踪国内外方法研究及限量要求, 动态调整我国的检测方法及贝类毒素限量要求, 保持产品限量标准与检测方法标准的协调一致, 避免产品标准和方法标准的脱节。

参考文献

- [1] 方丽媛, 李代宗, 肖勤. 贝类毒素及其检测方法研究进展[J]. 中国渔业质量与标准, 2017, 7(1): 41-49.
FANG LY, LI DZ, XIAO Q. Advances on shellfish poisoning toxins and their detection technologies [J]. Chin Fish Qual Stand, 2017, 7(1): 41-49.
- [2] 刘智勇, 李燕俊, 江涛, 等. PSP 污染状况及检测方法的比对研究[J]. 中国热带医学, 2010, 10(11): 1426-1428.
LIU ZY, LI YJ, JIANG T, et al. Advance in the research of paralytic shellfish poison [J]. China Trop Med, 2010, 10(11): 1426-1428.
- [3] ZHAO YL, LI L, YAN XC, et al. Emerging roles of the Aptasensors as superior bioaffinity sensors for monitoring shellfish toxins in marine food chain [J]. J Hazardous Mat, 2022, 421: 126690.
- [4] 朱敬萍, 金雷, 张小军, 等. 小鼠生物法检测 PSP 技术探讨及应用[J]. 中国渔业质量与标准, 2017, 7(2): 30-35.
ZHU JP, JIN L, ZHANG XJ, et al. Investigation and application of mouse bioassay in the determination of paralytic shellfish poisoning [J]. Chin Fish Qual Stand, 2017, 7(2): 30-35.
- [5] 冯静, 王超, 华正罡. 超高效液相色谱-串联质谱法测定贝类中 8 种脂溶性贝类毒素[J]. 化学分析计量, 2019, 28(Z1): 23-27.
FENG J, WANG C, HUA ZG. Determination of 8 fat soluble shellfish toxins by UPLC-MS/MS [J]. Chem Anal Met, 2019, 28(Z1): 23-27.

- [6] PAULO V. Shellfish contamination with marine biotoxins in Portugal and spring tides: A dangerous health coincidence [J]. *Environ Sci Pollu Res*, 2020, 27: 41143–41156.
- [7] LIU Y, YU RC, KONG FZ, *et al.* Paralytic shellfish toxins in phytoplankton and shellfish samples collected from the Bohai Sea, China [J]. *Marine Pollu Bull*, 2017, 115: 324–331.
- [8] 邵彪, 许晶晶, 高利亭, 等. PSP 分析检测净化处理方法研究进展[J]. *中国水产*, 2023, (4): 77–79.
SHAO B, XU JJ, GAO LT, *et al.* Review on sample cleaning and processing in the detection of paralytic shellfish poisoning [J]. *China Fish*, 2023, (4): 77–79.
- [9] 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 PSP[J]. *浙江海洋学院学报(自然科学版)*, 2011, 30(2): 95–98.
ZHANG XJ, CHEN XC, GUO YM, *et al.* Determination of four paralytic shellfish poisons by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Zhejiang Ocean Univ (Nat Sci)*, 2011, 30(2): 95–98.
- [10] 杨维东, 彭喜春, 刘洁生, 等. DSP 研究现状[J]. *海洋科学*, 2005, 29(5): 66–72.
YANG WD, PENG XC, LIU JS, *et al.* Review on diarrhetic shellfish poisoning [J]. *Marine Sci*, 2005, 29(5): 66–72.
- [11] 胡雪莲, 俞漪, 曲勤凤, 等. DSP(DSP)的两种快速检测方法比较[J]. *食品研究与开发*, 2012, 33(12): 127–130.
HU XL, YU Q, QU QF, *et al.* The comparison of two screening detecting method of diarrhetic shellfish poisoning (DSP) [J]. *Food Res Dev*, 2012, 33(12): 127–130.
- [12] 曹际娟, 卫锋, 马惠蕊, 等. 贝类毒素检测技术及研究进展[J]. *检验检疫科学*, 2004, 14(1): 53–56.
CAO JJ, WEI F, MA HR, *et al.* Research progress on shellfish toxins and their detection technologies [J]. *J Inspect Quarant*, 2004, 14(1): 53–56.
- [13] PANG L, QUAN H, SUN Y, *et al.* A rapid competitive ELISA assay of okadaic acid level based on epoxy-functionalized magnetic beads [J]. *Food Agric Immunol*, 2019, 30(1): 1286–1302.
- [14] 王峥, 李佳钰, 匡佳妮, 等. 贝类毒素大田软海绵酸免疫分析检测技术研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(6): 100–107.
WANG Z, LI JY, KUANG JN, *et al.* Recent progress in immunoassay detection technology of shellfish-toxin okadaic acid [J]. *J Food Saf Qual*, 2023, 14(6): 100–107.
- [15] CHAE HC, CHAN YP, HYANG SC, *et al.* Antibody-free and selective detection of okadaic acid using an affinity peptide-based indirect assay [J]. *Food Chem*, 2023, 422: 136243.
- [16] CHAE HC, JI HK, NAVNATH SP, *et al.* Nanozyme-assisted molecularly imprinted polymer-based indirect competitive ELISA for the detection of marine biotoxin [J]. *Biosens Bioelectron*, 2024, 255: 116269.
- [17] YU O, MAO F, MOTOHIRO K, *et al.* Rapid determination of domoic acid in seafood by fluorescence polarization immunoassay using a portable analyzer [J]. *Anal Sci*, 2023, 39: 2001–2006.
- [18] YUAN Q, LI JY, KUANG JN, *et al.* Okadaic acid detection through a rapid and sensitive amplified luminescent proximity homogeneous assay [J]. *Toxins*, 2023, 15: 501.
- [19] FADILLAH PP, HEIDI P, AIDA ZM. Multi-toxin quantitative analysis of paralytic shellfish toxins and tetrodotoxins in bivalve mollusks with ultra-performance hydrophilic interaction LC-MS/MS—An in-house validation study [J]. *Toxins*, 2020, 12: 452.
- [20] VERONICA R, ANA MB, ALVARO A, *et al.* Rapid analysis of paralytic shellfish toxins and tetrodotoxins by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using a porous graphitic carbon column [J]. *Food Chem*, 2018, 269: 166–172.
- [21] 刘莹, 陈溪, 崔晗, 等. 贝类毒素检测中两种筛选方法的比较研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2012, 3(5): 495–501.
LIU Y, CHEN X, CUI H, *et al.* Comparison of two screening methods in detection of shellfish poisons [J]. *J Food Saf Qual*, 2012, 3(5): 495–501.
- [22] 马荣栓, 高彦, 万进, 等. 贝类毒素及检测技术的研究现状[J]. *食品研究与开发*, 2013, 34(22): 104–108.
MA RH, GAO Y, WAN J, *et al.* Research progress of shellfish toxin analysis and detection [J]. *Food Res Dev*, 2013, 34(22): 104–108.
- [23] 杨云辉. HPLC-MS/MS 法检测福建中部海域养殖贝类 PSP[J]. *渔业研究*, 2020, 42(5): 473–480.
YANG YH. Detection of paralytic shellfish toxins in the farming shellfish products collected from the middle of Fujian sea-area by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Fish Res*, 2020, 42(5): 473–480.
- [24] 何明珠, 秦道云, 刘桂华, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时检测贝类中 10 种脂溶性贝类毒素[J]. *中国卫生检验杂志*, 2021, 31(4): 397–403.
HE MZ, QIN XY, LIU GH, *et al.* Simultaneous detection of 10 lipophilic shellfish toxins in shellfish by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2021, 31(4): 397–403.
- [25] 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 PSP[J]. *中国渔业质量标准*, 2013, 3(2): 43–49.
FENG B, 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.
- [26] 母清林, 方杰, 万汉兴, 等. 液相色谱-串联质谱法检测贝类产品中 DSP[J]. *分析化学*, 2011, 39(1): 111–114.
MU QL, FANG J, WAN HX, *et al.* Determination of diarrhetic shellfish poisoning in shellfishes by liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2011, 39(1): 111–114.
- [27] 付振军, 赵永纲. 基质分散固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法测定贝类中 10 种 PSP[J]. *中国卫生检验杂志*, 2021, 31(21): 2581–2588.
FU ZJ, ZHAO YG. Detection of 10 paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish by matrix solid-phase coupled with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2021, 31(21): 2581–2588.
- [28] 许均图, 陈德斌, 陈燕, 等. 超高效液相色谱串联质谱法快速测定贝类中 3 种 DSP[J]. *食品安全导刊*, 2022, 12: 46–49.
XU JT, CHEN DB, CHEN Y, *et al.* Rapid determination of 3 kinds of DSP in shellfish by ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Chin Food Saf Magaz*, 2022, 12: 46–49.
- [29] 卢嘉丽, 郑仁锦, 管秋美, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定双壳贝类中 9 种 DSP[J]. *中国食品卫生杂志*, 2017, 29(6): 690–694.
LU JL, ZHENG RJ, GUAN QM, *et al.* Determination of nine diarrhetic shellfish poisonings in bivalve molluscs by ultra performance liquid chromatography-mass/mass spectrometry [J]. *Chin J Food Hyg*, 2017, 29(6): 690–694.
- [30] 何明珠, 袁冠湘, 秦道云, 等. 超高效液相色谱串联质谱法同时检测贝类中 13 种 PSP[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(9): 3465–6475.
HE MZ, YUAN GX, QIN XY, *et al.* Simultaneous detection of 13 kinds of paralytic shellfish poisoning toxins in bivalve by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(9): 3465–6475.
- [31] 杨妹丽, 余焘, 吴明媛, 等. QuEChERS-液相色谱-高分辨质谱法测定贝类中 6 种亲脂性贝类毒素[J]. *理化检验-化学分册*, 2020, 56(5): 596–600.
YANG SL, YU T, WU MY, *et al.* LC-High resolution MS detection of 6 lipophilic shellfish toxins in shellfish with QuEChERS [J]. *PTCA (Part B: Chem. Anal)*, 2020, 56(5): 596–600.
- [32] 王婷, 梁琼, 赵晓野, 等. 9 种 DSP 的高效液相色谱-串联质谱测定方法的建立[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(14): 362–370.
WANG T, LIANG Q, ZHAO XY, *et al.* Establishment of HPLC-MS/MS method for determination of nine diarrhoeal shellfish toxins [J]. *Sci*

- Technol Food Ind, 2022, 43(14): 362–370.
- [33] 于慧娟, 蔡友琼, 黄宣运, 等. 10 种 PSP 的固相萃取及液相色谱-串联质谱测定法[J]. 海洋渔业, 2015, 37(4): 364–371.
- YU HJ, CAI YQ, HUANG XY, *et al.* Determination of 10 paralytic shellfish poisoning toxins by SPE and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Marine Fish, 2015, 37(4): 364–371.
- [34] NAOKI O. Simultaneous determination of ten paralytic shellfish toxins and tetrodotoxin in scallop and short-necked clam by ion-pair solid-phase extraction and hydrophilic interaction chromatography with tandem mass spectrometry [J]. J Chromatography A, 2021, 1651: 462328.
- [35] YOHEI S, RINA K, ERINA N, *et al.* Selective analysis of the okadaic acid group in shellfish samples using fluoruous derivatization coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatography B, 2021, 1173: 122681.
- [36] TERESA DA, SONIA LM, VALERIA V, *et al.* Optimization and validation of a high throughput UHPLC-MS/MS method for determination of the EU regulated lipophilic marine toxins and occurrence in fresh and processed shellfish [J]. Mar Drugs, 2022, 20(3): 173.
- [37] ARACELI ER, CARMEN M, HELENA M, *et al.* Development of a fast liquid chromatography coupled to mass spectrometry method (LC-MS/MS) to determine fourteen lipophilic shellfish toxins based on fused-core technology: In-house validation [J]. Mar Drugs, 2021, 19(11): 603.
- [38] NAOKI O, TOSHIYUKI S. Determination of lipophilic marine biotoxins (azaspiracids, brevetoxins, and okadaic acid group) and domoic acid in mussels by solid-phase extraction and reversed-phase liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. J Chromatography A, 2024, 1720: 464795.
- [39] LI F, FENG MQ. Determination of neurotoxic shellfish poisoning toxins in shellfish by liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with dispersive solid phase extraction [J]. Heliyon, 2023, 9: e21610.
- [40] 万嘉峻, 孟凡华, 代先东, 等. 高效液相色谱串联质谱法同时测定 10 种脂溶性贝类毒素[J]. 分析科学学报, 2022, 38(2): 154–160.
- WAN JJ, MENG FH, DAI XD, *et al.* Simultaneous detection of 10 lipophilic shellfish toxins by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Anal Sci, 2022, 38(2): 154–160.
- [41] TIAN YL, DU LP, ZHU P, *et al.* Recent progress in micro/nano biosensors for shellfish toxin detection [J]. Biosens Bioelectron, 2021, 176: 112899.
- [42] LI L, ZHAO YL, YAN XC, *et al.* Development of a terminal-fixed aptamer and a label-free colorimetric aptasensor for highly sensitive detection of saxitoxin [J]. Sens Actuators B Chem, 2021, 344: 130320.
- [43] CHEN R, SUN Y, HUO B, *et al.* A copper monosulfide-nanoparticle-based fluorescent probe for the sensitive and specific detection of ochratoxin A [J]. Talanta, 2021, 222: 121678.
- [44] HASSAN MM, ZAREEF M, XU Y, *et al.* SERS based sensor for mycotoxins detection: Challenges and improvements [J]. Food Chem, 2021, 344: 128652.
- [45] KUWAHARA S, NARITA Y, MIZUNO L, *et al.* Localized surface plasmon resonance-induced welding of gold nanotriangles and the local plasmonic properties for multicolor sensing and light-harvesting applications [J]. ACS Appl Nano Mater, 2020, 3(6): 5172–5177.
- [46] YOU RY, WANG HN, WANG CY, *et al.* Bacterial cellulose loaded with silver nanoparticles as a flexible, stable and sensitive SERS-active substrate for detection of the shellfish toxin DTX-1 [J]. Food Chem, 2023, 427: 136692.
- [47] MARIANA R, SILVIA S, CATARINA M, *et al.* Carbamoylase-based impedimetric electronic tongue for rapid detection of paralytic shellfish toxins [J]. Anal Bioanal Chem, 2024, 416: 1983–1995.
- [48] CHIKKILI VR, VEERA MR, CHAE HC, *et al.* Highly sensitive electrochemical peptide-based biosensor for marine biotoxin detection using a bimetallic platinum and ruthenium nanoparticle-tethered metal-organic framework modified electrode [J]. Food Chem, 2023, 428: 136811.
- [49] PENG J, ZHAO Z, ZHENG M, *et al.* Electrochemical synthesis of phosphorus and sulfur co-doped graphene quantum dots as efficient electrochemiluminescent immunomarkers for monitoring okadaic acid [J]. Sensor Actuator B Chem, 2020, 304: 127383.
- [50] ANTUNES J, JUSTINO CIL, COSTA JPD, *et al.* Graphene immunosensors for okadaic acid detection in seawater [J]. Microchem J, 2018, 138: 465–471.
- [51] DENG Y, ZHENG H, YI X, *et al.* Paralytic shellfish poisoning toxin detection based on cell-based sensor and non-linear signal processing model [J]. Int J Food Prop, 2019, 22(1): 890–897.
- [52] 熊建芳, 刘瑶, 乔付, 等. 基于 LAD 降维方法的 DSP 检测研究[J]. 传感器与微系统, 2023, 42(5): 25–28.
- XIONG JF, LIU Y, QIAO F, *et al.* Research on DSP detection based on LDA dimensionality reduction method [J]. Trans Micro Technol, 2023, 42(5): 25–28.
- [53] 李芳, 李雪梅, 李献刚, 等. 贝类毒素检测方法研究概况[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(23): 184–186.
- LI F, LI XM, LI XG, *et al.* Research on progress of determination of shellfish toxin [J]. Food Res Dev, 2015, 36(23): 184–186.
- [54] JING L, KENNETH MP. Quick detection method for paralytic shellfish toxins (PSTs) monitoring in freshwater-A review [J]. Chemosphere, 2021, 265: 128591.
- [55] KARL JD, ROBERT GH, ANDREW DT. Performance characteristics of refined LC-FLD and HILIC-MS/MS methods for the determination of paralytic shellfish toxins in shrimp, whelk, and crab [J]. J AOAC Int, 2021, 104(4): 1022–1035.
- [56] ZHENG RJ, LIN S, YANG Y, *et al.* Variability and profiles of lipophilic marine toxins in shellfish from southeastern China in 2017–2020 [J]. Toxicon, 2021, 201: 37–45.
- [57] CAMPBELL K, RAWN DFK, NIEDZWIADK B, *et al.* Paralytic shellfish poisoning (PSP) toxin binders for optical biosensor technology: Problems and possibilities for the future: A review [J]. Food Add Cont, 2011, 28(6): 711–725.
- [58] 贺娇, 孙金芳, 杨欣, 等. 我国沿海地区市售贝类 DSP 污染及膳食暴露的空间分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2023, 35(8): 1166–1173.
- HE J, SUN JF, YANG X, *et al.* Spatial analysis of diarrhetic shellfish poison contamination and dietary exposure of commercially available shellfish in coastal areas of China [J]. Chin J Food Hyg, 2023, 35(8): 1166–1173.

(责任编辑: 蔡世佳 于梦娇)

作者简介



刘培海, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品微生物检测和质量控制。
E-mail: liuph_513@sina.com

雷质文, 硕士, 研究员, 主要研究方向为食品微生物检测和质量控制。
E-mail: leizhw@sohu.com