

广东沿海麻痹性贝类毒素的研究*

林燕棠 杨美兰 陈瑞雯 胡石金 金桂英

(中国水产科学研究院南海水产研究所, 广州 510300)

提要 于 1990—1992 年间在广东沿海采集 24 种贝类, 用麻痹性贝类毒素小白鼠生物测定法对所采样品进行毒素分析研究。结果表明, 所检测的大部分生物体均不同程度的积累了麻痹性毒素; 大亚湾和大鹏湾 2 种贝体内存在着 12 或 13 种麻痹性毒素的成分; 贝体中麻痹性毒素存在着一定的季节差异。还对贝体中的毒素和有藻毒素的出现进行了简单的讨论。

关键词 麻痹性贝类毒素 鼠单位

食用贝类引起人类的中毒身亡是个久未解开的谜。直至 1937 年 Sommer 等人的工作初步揭示了贝类毒素的问题。自本世纪 40 年代开始, 研究者进行了石房蛤毒素的分离和纯化工作。Schantz (1957) 等首先从加州贻贝中分离提纯到该毒素。1975 年他们经 X-射线衍射分析确定其分子结构式。石房蛤毒素结构类似物中有 18 个化合物的结构已得到确定及阐明。不同学者从各个领域或侧面对毒素进行了研究, 涉及到麻痹性毒素的化学性质、成分、毒力及来源, 麻痹性贝类毒素和藻毒素之间以及藻毒素和细菌间的关系, 麻痹性毒素致毒的效应和作用机制, 以及更为快速、简便和有效分析方法的确立等。国内有关人员亦开展了贝、藻毒素的工作(赵瑞生等, 1984; 林金美等, 1988; 郑淑贞等, 1990; 林燕棠等, 1989)。贝、藻类毒素影响着海洋环境、沿海养殖业、渔业和食品卫生。因此开展这一研究, 有其重要的现实及理论意义。

1 样品的采集与测定

于 1990—1992 年间, 在广东的碣石湾、红海湾、考洲洋、大亚湾、大鹏湾、深圳湾、唐家湾、镇海湾 8 个海湾和博贺港、汕头、湛江海域共采集 24 种贝类, 并对这些种类进行胃含物及麻痹性毒素的分析测定。采样频率: 重点区按 4 个季节进行, 非重点区每年采样 2—4 次。

以美国分析化学家协会推荐的“麻痹性贝类毒素小白鼠的生物测定法”对贝类进行 paralytic shellfish poisons (以下简称 PSP) 的分析测定。每组实验小白鼠数量一般为 5 只, 每只重量在 18.5—22g 之间。

鼠单位 (Mouse unit 简称 Mu) 和石房蛤毒素 (saxitoxin) 的当量 ($\mu\text{g STX}$) 是国际上用于表示麻痹性贝类毒素毒力的单位。一个鼠单位是使一只重 20g 的小白鼠在 15min 内死亡所需腹腔注射的剂量。1Mu 相当于 0.16—0.22 $\mu\text{g STX}$ 。本文用 Mu 或

* 国家自然科学基金资助, 938900 号。

收稿日期: 1993 年 6 月 17 日, 接受日期: 1993 年 11 月 27 日。

µg STX 表示 PSP 的毒力。

2 结果

2.1 不同种、属贝类 PSP 的毒力测定结果 测定结果表明, 广东沿海 24 种贝类 PSP 含量范围为 >2Mu/g 肉—50.4Mu/g 肉。用联合国粮农组织和美国、日本对本国新鲜、冰冻销售贝类 PSP 含量的最高限定值 4Mu/g 肉来衡量, 所测种类 PSP 幅度和均值, 可分为以下 3 个不同的量值组。

第一量值组 种类 PSP 的范围 (除一个样次外) 和均值都 <4Mu/g 肉。有 7 个种, 即丽文蛤 (*Meretrix lusoria*)、文蛤 (*Meretrix meretrix*)、鳞杓拿蛤 [*Chione (Anomalodiscus) squamosa*]、曲崎心蛤 (*Anomalocardia flexuosa*)、寻氏短齿蛤 (*Brachydontes senhousei*)、镜蛤 (*Dosinia sp.*)、马氏珍珠贝 [*Pteria (Pintada) martenesii*] 等。总之, 本组种类 PSP 的含量不高。

第二量值组 每一种类 PSP 的最高值都 >4Mu/g 肉, 而均值都 <4Mu/g 肉。属该毒力状况的种类有翡翠贻贝 (*Perna viridis*)、泥蚶 [*Arca (Anadara) granosa*]、结蚶 [*Arca (Anadara) nodifera*]、胀毛蚶 (*Scapharca globosa*)、古蚶 (*Anadara antiquata*)、角毛蚶 (*Scapharca cornea*)、近江牡蛎 (*Ostrea rivularis*)、僧帽牡蛎 (*Ostrea cucullata*)、青蛤 (*Cyclina sinensis*)、牡蛎 (*Ostrea sp.*)、紫蛤 (*Sanguinolaria violcea*)、泥东风螺 (*Babylonia lutosa*)、方斑东风螺 (*Babylonia areolata*)、栉江珧 (*Pinna pectinata*) 等 14 种。在这些种类中, 虽然贻贝 PSP 含量一般不高, 但在有毒赤潮水体中, 贻贝可保留或积累较多数量的毒素。如 1991 年 3 月 28 日大亚湾发生了食用赤潮区贻贝, 造成 4 人中毒 2 人身亡的事件。20d 后, 即 1991 年 4 月 17 日在同一地点采集的贻贝 PSP 毒力达 29.9Mu/g 肉。栉江珧有时亦可保留或积累较多的 PSP。如在南海海域发生的食用贝类中毒事件中有 2 起均因食用栉江珧所致。

第三量值组 每一种类最高值和种类 PSP 的均值都 >4Mu/g 肉 (图 1)。这些种

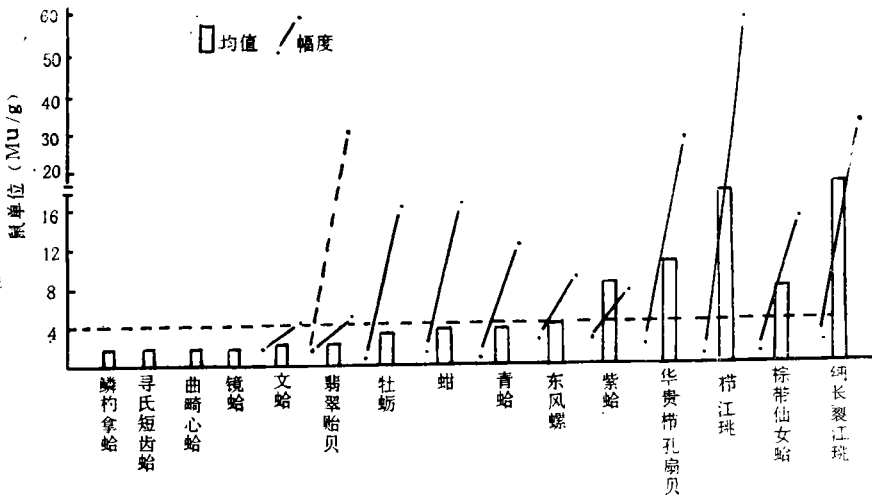


图 1 贝类 PSP 含量均值和幅度

Fig. 1 Average and range of PSP in Shellfish from Guangdong coast

类有华贵栉孔扇贝 (*Chlamys nobilis*)、棕带仙女蛤 (*Callista chinensis*)、细长裂江珧 (*Pinna attenuate*) 等。检测结果,3 种贝类 PSP 毒力均值的大小依次为细长裂江珧 (18.5) > 华贵栉孔扇贝 (10.2) > 棕带仙女蛤 (4.7 $\mu\text{g/g}$ 肉),其幅度分别为 1.8—35.1, 2—50.4 和 <2—14.4 $\mu\text{g/g}$ 肉。

2.2 大亚湾和大鹏湾贝类 PSP 成分的测定结果 24 种贝类共制备了 294 份贝类抽样液,经作者用 AOAC 生物测定法检测后,选其中 3 份 PSP 毒力较高的抽样液,用高效液相色谱分析,结果表明 (表 1), 大鹏湾华贵栉孔扇贝、大亚湾翡翠贻贝和华贵栉孔扇贝 PSP 的毒力(以 STX 当量表示)分别为 2.1 459, 5.1 460 和 3.9 057 $\mu\text{g/g}$ 。从表 1 看出,这 3 种贝类中存在着 12—13 种 PSP 毒素成分。在这些成分中又以氨基甲酸盐毒素(carbamate toxins) 即 STX, neo STX, GTX₁₋₄ 为主要成分。上述 3 种贝类氨基甲酸盐毒素分别占 PSP 总量的 86%, 93% 和 59.1%。在大亚湾华贵栉孔扇贝中虽然氨基甲酸盐毒素只占总毒素量的 59.1%, 但该种类中的脱氨基甲酰石房蛤毒素(dcSTX) 亦有一定的数量,为 1.0 825 $\mu\text{g/g}$ 肉;在该贝中二者合计占总毒素的 86.8%。据 Genenah 等(1981), PSP 不同成分毒性大小顺序依次为 GTX₃ > STX > GTX₁ > neoSTX > GTX₂ > GTX₄ > GTX₅。从不同成分的比毒性来看,大鹏湾、大亚湾二种贝类中,毒性效能较高的几种成分均占相当的比例。

表 1 大鹏湾、大亚湾贝体内麻痹性毒素的成分 ($\times 10^{-2}\mu\text{g STX/g}$ 肉)

Tab. 1 PSP Compounds of Shellfish in Dapeng Bay and Daya Bay

地 点	大 鹏 湾		大 亚 湾	
	华贵栉孔扇贝		翡翠贻贝	
种 类	1990 年春		1991 年春	
采样季节	1990 年春		1991 年春	
c ₁	0.29	0.92	0.92	0.92
c ₂	1.11	2.95	6.44	6.44
c ₃	1.38	0.41	3.53	3.53
c ₄	0.95	0.00	0.71	0.71
CTX ₁	40.53	76.87	9.75	9.75
CTX ₂	60.98	195.68	21.52	21.52
CTX ₃	30.62	91.10	26.47	26.47
CTX ₄	5.28	4.94	11.93	11.93
dcGTX ₂	8.09	9.48	14.56	14.56
dcGTX ₃	5.98	6.55	25.12	25.12
neoSTX	16.31	11.54	31.92	31.92
dcSTX	12.18	14.90	108.25	108.25
STX	30.88	99.25	129.40	129.40
Total	214.0	514.0	390.0	390.0

2.3 贝类 PSP 含量的季节差异 由于分析种类的不同和采样频率的差异, PSP 含量的季节差异分广东沿海和大鹏湾海域二部分叙述。

2.3.1 广东沿海 于 1991 年 4 个季节 13 个采样点对近江牡蛎(个别点为僧帽牡蛎) PSP 的测定结果表明,除碣石湾、湛江和程村海域外,1991 年广东大部分海域或海湾牡蛎体内 PSP 的毒性以夏季为高,其它 3 个季节毒性相对较低。测定结果超过 4 $\mu\text{g/g}$ 肉限

定值的现象,亦多出现在该季。夏季在 13 个检测样中有 9 个样的分析结果均不同程度的超过上述的限定值。

2.3.2 大鹏湾海域 于 1990—1991 年二周年间对该海域华贵栉孔扇贝、翡翠贻贝 PSP 调查结果表明,1990 年 4 季中华贵栉孔扇贝 PSP 的毒性,以春季为最高,秋季为最低,到冬季 PSP 毒力回升。1991 年秋季又出现了华贵栉孔扇贝 PSP 最低值,冬季再次出现回升现象。从图 2 看出,该湾翡翠贻贝 PSP 毒力也有春高秋低的现象。总的说来,大鹏湾 2 种贝类 PSP 毒力有秋低春高的季节差异。

2.4 贝类胃含物镜检结果 在进行贝类 PSP 含量分析的同时,对其胃含物采用镜检法进行分析。结果表明,胃含物中一般以硅藻种类的出现率最高、数量最多。此外,不同海域各种贝类胃含物中还出现一些其它类别的生物体如甲藻、金藻,小型桡足类、原生动物、无脊椎动物的幼体和有机碎屑等。虽然在冬、春季大鹏湾华贵栉孔扇贝胃含物鉴定出有闪光原甲藻 (*Prorocentrum micas*)、反曲原甲藻 (*Prorocentrum signoides*)、具尾鳍藻 (*Dinophysis caudata*) 和甲藻孢囊等,春季大亚湾翡翠贻贝和华贵栉孔扇贝胃含物中出现有闪光原甲藻、原甲藻 (*Prorocentrum* sp.) 和原膝沟藻 (*Prorogonyaulax* sp.), 但至今在已分析过的胃含物中,除只鉴定出大鹏湾海域存在着可产生腹泻性毒素 DSP 的鳍藻外,而未能确定可产生 PSP 的甲藻种类。

3 结语与讨论

3 结语与讨论

在上述 24 种贝类中,从检测样品次数多寡这一角度分析,以牡蛎(29 样次)、蚶(15 样次)、翡翠贻贝(13 样次)、栉江珧(12 个样次)、华贵栉孔扇贝(12 个样次)、青蛤(8 个样次)等的检测结果最有代表性。在这 6 种贝类中,牡蛎、蚶和青蛤 PSP 含量较低,均值分别为 3.7, 3.9 和 3.8 Mu/g 肉,最高值分别为 16.1, 16.5 和 12.5 Mu/g, 超过 4 Mu/g 肉限定值的百分率则分别为 17%, 20% 和 11.1%。华贵栉孔扇贝、栉江珧和翡翠贻贝均值分别为 10.7, 17.8 和 5.4 Mu/g 肉,最高值分别为 50.4, 35.1 和 29.9 Mu/g 肉,而超过上述限定值的百分率则分别为 66.7%, 16.7% 和 23.1%。可见,华贵栉孔扇贝 PSP 的毒力一般较高。但至今中国未见有食用扇贝引起中毒事件的报道,而世界一些国家则有食用染毒扇贝发生中毒,甚至身亡事件的记载 (Gonzales, et al., 1990)。栉江珧、翡翠贻贝样次检测结果变幅较大,有时二者体内 PSP 含量较高,食用后引起中毒事件,这在中国南海海域及一些国家均有报道 (Santiago Fraga, et al., 1985; Karunasagar, et al., 1990; 林燕棠等, 1992)。在中国,人们因食用了被染毒的贝类,而发生中毒事件并有身亡现象,除上述致毒生物种类外,还有菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinensis*)、红带织纹螺 (*Nassarius succinctus*) 和织纹螺 (*Nassarius* sp.) 等。其他国家记载的染毒种类还有牡蛎 (*Crassostrea gigas*)、文蛤、*Meretrix casta*、舟蚶 (*Anadara* sp.)、榧螺 (*Oliva* sp.) 和虾类等 (Joseph Wang et al., 1984; Alexander, 1984)。

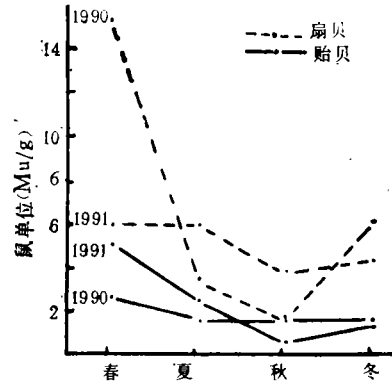


图 2 大鹏湾华贵栉孔扇贝、翡翠贻贝 PSP 的季节差异

Fig. 2 Seasonal variation of PSP in *Chalmys nobilis*, *Perna viridis* in Dapeng Bay

麻痹性贝类毒素来源于有毒的甲藻,这已为国外许多学者的研究所证实。在所检测的 24 种贝类胃含物中,除鉴定出可产生 DSP 的具尾鳍藻一种外,还鉴定出原甲藻属和原膝沟藻属的一些种类,但未能确定可产生 PSP 的甲藻种类。对大鹏湾翡翠贻贝、华贵栉孔扇贝和栉江珧分析结果表明,其 PSP 幅度(均值)分别为 $<2-5.2(2.4)$, $2-15.3(6.2)$ 和 $1.8-3.8(2.3)$ Mu/g 肉。这表明,在某些时刻,大鹏湾 3 种贝体保留或积累了 PSP。而这些贝体内的毒素来源于什么藻类?齐雨藻等(1991)对大鹏湾单细胞藻类研究结果表明:大鹏湾海域存在有海洋褐胞藻 (*Chattonella marina*)、多纹膝沟藻 (*Gonyaulax polyedrea*) 2 种有毒藻类,并从该湾底泥中鉴定出 (*Alexandrium tamarensis*)、(*Prorogonyaulax tamarensis*)、短裸甲藻 (*Gymnodinium breves*) 等有毒藻类的孢囊。由此可见,大鹏湾海域存在着可产生麻痹性毒素的藻类 2 种 *Alexandrium tamarensis* 和多纹膝沟藻。因此该湾贝类中存在的 PSP,可能来源于上述 2 种有关的有毒藻类。此外,在大鹏湾还存在着可产生神经性毒素 (neurotoxins) 的短裸甲藻孢囊和海洋褐胞藻的游动细胞及可产生腹泻性毒素的具尾鳍藻等有毒藻类。

麻痹性毒素为一类水溶性的小分子物质,一般情况下, PSP 的存在对贝类是无害的,但人们食用后可引起麻痹性的中毒效应。它对人类影响的危害在于,这类毒素可使人致命,并且在治疗上没有特殊的解药,一般只能根据症状进行治疗。

据资料,在非赤潮期水体中,当有毒双鞭毛藻的浓度变为 $10-200\text{cell/ml}$ 时,该水体的贻贝就会变得有毒。而当 PSP 毒力大于 4Mu/g 肉时,食用这些贝类对人体是有害和不安全的 (Carmichael, et al., 1985; Wu, R. S. S. 1989)。对人体的中毒量各学者报道的差异较大。Sommer 等 (1937) 报道对人体的中毒量为 $1\ 000-20\ 000\text{Mu}$, 最小致死量在 $20\ 000\text{Mu}$ 以上。Carmichael 等 (1985) 报道不同个体中毒量变化较大,其范围从 $3\ 000-20\ 000\text{Mu}$ 。而 Prakash 等 (1971) 报道, $1\ 000\mu\text{g}$ (约 $5\ 000\text{Mu}$) 可引起轻度中毒; $1\ 900\mu\text{g}$ (约 $9\ 500\text{Mu}$) 为重度中毒。综上所述,不同研究者报道对人体的中毒量和致死量差异较大,总的中毒范围从 $600-5\ 000\text{Mu}$, 致死量的范围从 $3\ 000-30\ 000\text{Mu}$ 。调查结果,广东沿海有部分样品中 PSP 含量大于 600Mu/g 肉,少数样品 PSP 含量大于 $3\ 000\text{Mu/g}$ 肉。因此广东沿海一些贝类其体内保存或积累了一定量的 PSP,食用了这些贝类可能会造成一些人的不适。

在我国海、淡水藻毒素的研究已有一个良好的开端,并已取得了一定的进展。鉴于藻毒素引起的食源性中毒,对人们的健康已构成了重要的卫生学问题,有关部门应把麻痹性毒素的分析定为我国常规性监测项目,并进一步开展诸如毒素成分,藻毒与贝毒以及藻毒与细菌之间的关系,不同类型藻毒素的基础内容的研究。

参 考 文 献

- 齐雨藻等,1991,中国东南沿海赤潮发生机理的研究,海洋信息,10: 25-36。
林金美等,1988,一起与赤潮有关的贝类中毒事件的调查,海洋环境科学,7(1): 22-25。
林燕棠等,1989,几种贝类及赤潮生物的毒性测定,暨南大学学报,赤潮研究专刊: 83-85。
林燕棠等,1992,广东沿海麻痹性贝类的研究,渔业环境保护,2: 10-17。
郑淑贞等,1990,江瑶毒素的分离及其生物活性,中国海洋药物,1: 33-35。
赵瑞生等,1984,织纹螺中毒原因的探讨,海洋环境科学,3(3): 29-31。
简洁莹等,1991,一起由栉江瑶引起的食物中毒分析,南海开发与研究,4: 42-45。

- Alexander, A. J., 1984, Status of shellfish toxicity and related problems in Malaysia, *In Toxic Red Tides and Shellfish Toxicity in Southeast Asia*, ed. by Alan, W. W., Anraku, M., Kok, K. H., pp. 33.
- Carmichael, W. W. et al., 1985, Algal toxin and water-based diseases, *CRC Critical Reviews in Environmental Control.*, **15**(3): 283, 301.
- Genanah, A. A. and Shimiau, Y., 1981, Specific toxicity of paralytic shellfish poisons, *J. Agr. Food Chem.*, **29**:1 289—1 291.
- Gonzales, C. L. et al., 1990, Red tide: the Philippine experience, *In Red Tides—Biology, Environmental Science and Toxicology*, ed. by Okaichi, T. et al., Elsevier (New York, Amsterdam, London), pp. 45—48.
- Joseph Wang, T. S. and Ting, Th. M., 1984, Red tide and paralytic shellfish poisoning in Sabah, Malaysia, 1984, *In Toxic Red Tide and Shellfish Toxicity in Southeast Asia*, ed. by Alan, W. W., Anraku, M., Kok K. H., pp. 35.
- Karunasagar, In., Segar, K. and Karunasagar, 1990, Incidence of PSP and DSP in Shellfish along the coast of Karnataka State (India), *In Red Tides—Biology, Environmental Science and Toxicology*, ed. by Okaichi, T., et al., Elsevier (New York, Amsterdam, London), pp. 61—64.
- Prakash, A., et al., 1971, Paralytic shellfish poisoning in eastern Canada, *Bull. Fish. Res. Board Can.*, **117**: 15.
- Santiago Fraga and Francisco J. Sanchez, 1985, Toxic and potentially toxic dinoflagellates found in Calician Rias (NW Spain), *In Toxic Dinoflagellates*, ed. by Anderson, D. M. et al., Elsevier (New York, Amsterdam, Oxford), pp. 51—55.
- Schantz, E. J. et al., 1957, Paralytic shellfish poisoning a procedure for the isolation and purification of the poison from toxic clam and mussel tissue, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**: 5 230.
- Sommer, H. and Meyer, K. F., 1937, Paralytic shellfish poisoning, *Arch. Pathol.*, **24**: 560—598.
- Wu, R. S. S., 1989, Toxic red tide and shellfish in Hong Kong, *Mar. Poll. Bull.* **20** (8): 363—364.

STUDY ON PARALYTIC SHELLFISH POISON IN SHELLFISH FROM GUANGDONG COAST

Lin Yantang, Yang Meilan, Chen Ruiwen, Hu Shijin, Jin Guiying
(South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of
Fisheries Sciences, Guangzhou 510300)

ABSTRACT

This paper present the results of using the AOAC method to detect paralytic shellfish poison (PSP) in 24 species of shellfish collected from the Guangdong Coast. PSP was accumulated to different extent in these species. There were seasonal variations of PSP in shellfish and 12 or 13 PSP components in shellfish collected from Daya Bay and Dapeng Bay. The relationship between the PSP in shellfish and that in the toxic dinoflagellates in Dapeng Bay is also discussed.

Key words Paralytic shellfish poison Mouse unit