

中国近海藻毒素及有毒微藻产 毒原因种调查研究进展*

梁玉波^{1,2} 李冬梅^{1,2} 姚敬元^{1,2} 金 薇^{1,2} 宫长宝^{1,2} 刘仁沿^{1,2}

(1. 国家海洋环境监测中心 大连 116023; 2. 大连市藻毒素重点实验室 大连 116023)

摘要 麻痹性贝类毒素在我国近海污染问题已十分突出,基本呈现逐年加剧的趋势。20 世纪 90 年代,南海麻痹性贝类毒素污染较重;21 世纪初,北黄海麻痹性贝类毒素污染较重;近几年,渤海和福建近海麻痹性贝类毒素污染较重;可产生麻痹性贝类毒素的微藻有亚历山大藻和裸甲藻等。采用小鼠生物法检测我国近海腹泻性贝类毒素超标率 32%左右,采用液相色谱/质谱法检测,仅有 3 起超标的研究报道;现行小鼠生物法检测腹泻性贝类毒素假阳性问题十分突出,应尽快废除;腹泻性贝类毒素均是脂溶性的,脂溶性海洋生物毒素在我国近海常年可检出,偶有虾夷扇贝毒素和鳍藻毒素超标现象。可产生脂溶性毒素微藻有鳍藻和原甲藻及网状原角藻等。失忆性贝类毒素在我国近海常有检出,但无超标现象;产毒微藻有拟菱形藻等。西加鱼毒素在我国南海污染较重,但毒素标准物质的匮乏,限制了西加鱼毒素的调查研究;至今尚未确定产生西加鱼毒素的微藻。酶联免疫吸附法和液相色谱串联质谱法相结合已成为藻毒素快速准确检测成熟的技术,逐渐代替小鼠生物法和液相色谱法。

关键词 中国近海;藻毒素;有毒微藻;毒素检测方法

中图分类号 P714+.5 doi: 10.11693/hyhz20181000233

海洋藻毒素主要是由海洋有毒微藻产生的活性物质,贝类等摄食了有毒微藻,就会将毒素富集于体内,人类食用了藻毒素污染的贝类等海产品就会中毒甚至死亡。按中毒症状,藻毒素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)、失忆性贝类毒素(Amnesic Shellfish Poisoning, ASP)和西加鱼毒(Ciguatera Fish Poisoning, CFP)。2004年,联合国粮农组织(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)、联合国政府间海洋学委会(Intergovernmental Oceanographic Commission, IOC)和世界健康组织(World Health Organization, WHO),按化学结构将贝类毒素分为8组,即石房蛤毒素组(saxitoxin, STX)、软骨藻酸组(domoic acid, DA)、大田软海绵酸毒素组(okadaic acid, OA)、氮杂螺环毒素

组(azaspiracid, AZA)、短裸甲藻毒素组(brevetoxin, BTX)、蛤毒素组(peccenotoxin, PTX)、虾夷扇贝毒素组(yessotoxin, YTX)和环亚胺类毒素(cyclic imine, CI),除STX和DA为水溶性的,其他毒素均为脂溶性的,具热稳定性,易溶解于甲醇和乙醚等有机试剂。

目前,我国是世界上海产品生产和消费第一大国,近海有毒赤潮频发。本文通过对我国近海藻毒素污染状况及有毒微藻进行系统综述分析,为促进我国海洋生态环境保护和海产品食用安全,提供可靠科学的依据。

1 我国近海麻痹性贝类毒素污染状况及其产毒微藻

1.1 我国近海麻痹性贝类毒素污染状况

早在 1978 年,就开始了长江口海域麻痹性贝类毒素的调查(林燕棠等, 1999)。尔后,在全国其他海域

*国家重点研发计划资助项目, 2017YFC1404303 号, 2016YFF0201104 号; 国家自然科学基金, 41576120 号, 41276099 号。梁玉波, 研究员, E-mail: ybliang@nmemc.org.cn

收稿日期: 2018-10-04, 收修改稿日期: 2018-10-21

相继开展了较多的调查研究, 2006—2015年, 进行了全国近岸海域麻痹性贝类毒素的系统性调查, 为全面评估我国近岸海域毒素污染状况, 提供了可靠的数据。

1.1.1 黄海 1996年首次在黄海连云港海域检出麻痹性贝类毒素(Zhou *et al.*, 1999), 2004—2015年, 黄海近岸海域麻痹性贝类毒素污染比较严重, 尤其是2003—2008年, 北黄海虾夷扇贝体中麻痹性贝类毒素污染较重, 消化腺中毒素可达65140 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 在每年4—6月份为毒素污染高峰期(夏远征等, 2010)。1991—2003年, 连云港的织纹螺体中的麻痹性贝类毒素污染严重, 可高达220000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (表1), 已引发多起中毒事件(林祥田等, 2005)。

1.1.2 渤海 1996年首次在渤海天津海域检出麻痹性贝类毒素(林燕棠等, 1999), 2006—2016年, 渤海近岸海域麻痹性贝类毒素逐年升高, 2015年夏季莱州湾的菲律宾蛤仔体中毒素可达60573 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 2016年春季, 秦皇岛海域的紫贻贝体中麻痹性贝类毒素可达40561 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (表2)。

1.1.3 东海 1996年首次在宁波织纹螺体中检出麻痹性贝类毒素, 至2003年每年均有毒素检出, 含量可高达97344 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (于梅等, 2004)。2015年夏季, 厦门竹蛭体内麻痹性贝类毒素含量可达23793 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 2017年福建近海贻贝体中毒素可高达34146 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。近几年来, 福建近海麻痹性贝类毒素污染呈明显加重趋势(表3)。

1.1.4 南海 1990年在广东贝类体中检出麻痹性贝类毒素(杨美兰等, 1999); 1998—2002年, 广东近海麻痹性贝类毒素污染比较严重, 1999年大亚湾扇贝消化腺中毒素含量可达227340 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (江天久等, 2000a); 2003年至今, 南海近海麻痹性贝类毒素污染较轻(表4)。

2013—2015年, 全国近海麻痹性贝类毒素调查结果表明, 甲壳动物体中麻痹性贝类毒素污染最为严重, 消化腺中毒素可高达453154 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 超标率最高, 为22.2%; 其次为棘皮动物, 超标率为16.7%; 再次为软体动物, 超标率为16.5%; 鱼类最低, 超标率为13.8%。春季超标率最高, 为24.8%; 其次是冬季, 为20.8%; 再次是夏季, 为14.4%; 秋季最低, 为12.6%; 不同海区有所差异, 如南海冬季毒素含量偏高。全国近海麻痹性贝类毒素超标率为17.4%, 其中北黄海、东海、南黄海、渤海、南海超标率依次为21.2%、20.0%、17.0%、15.6%和9.8%; 在相对外海的海域, 如黄海獐子岛和威海, 东海枸杞岛, 南海

三亚和东方等海域, 麻痹性贝类毒素含量明显偏高(图1)。

1.2 我国近海产生麻痹性贝类毒素的微藻

在我国近海发现产生麻痹性贝类毒素的常见微藻是亚历山大藻(*Alexandrium* spp.), 2002—2017年, 在全国近海形成24次赤潮(表5)。仅凭普通光学显微镜观察是难以确定亚历山大藻种类的, 其中塔玛亚历山大藻研究报道的较多(Wang *et al.*, 2005, 2008, 2011, 2014; Chen *et al.*, 2013; Gu *et al.*, 2013a)。根据5个不同的核糖体型, 塔玛亚历山大藻复合种已分为5个种: 芬迪亚历山大藻(*A. fundyense*)(I型)、地中海亚历山大藻(*A. mediterraneum*)(II型)、塔玛亚历山大藻(*A. tamarensis*)(III型)、太平洋亚历山大藻(*A. pacificum*)(IV型)和澳洲亚历山大藻(*A. australiense*)(V型)(John *et al.*, 2014)。其中在黄渤海域是芬迪亚历山大藻, 长江口以南海域是太平洋亚历山大藻(Genovesi *et al.*, 2015; Gao *et al.*, 2015a, b)。此外, 在渤海发现了奥氏亚历山大藻(*A. ostensfeldii*), 在室内培养条件下, 不产生麻痹性贝类毒素C1/C2, GTX1-4(Gu, 2011), 但是可以产生STX和NEO(Gu *et al.*, 2013a); 全球范围内, 一些地理种群的奥氏亚历山大藻还能产生spirocyclic等毒素(Kremp *et al.*, 2014; Salgado *et al.*, 2015)。

链状裸甲藻(*Gymnodinium catenatum*)在我国近海可产生麻痹性贝类毒素(Gu *et al.*, 2013b), 2005年至今, 已形成赤潮9次, 主要集中在渤海、江苏连云港和福建近海(表6)。

巴哈马梨甲藻(*Pyrodinium bahamense*)可产生麻痹性贝类毒素, 在南中国海(Usup *et al.*, 2012)及香港海域均有分布(Dickman *et al.*, 2002)。

1.3 麻痹性贝类毒素不同检测方法结果比较分析

依据《食品安全国家标准 贝类中麻痹性贝类毒素的测定》(中华人民共和国国家标准GB5009.213—2016), 我国现行麻痹性贝类毒素检测方法有: 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。小鼠生物法是测试所有麻痹性贝类毒素组分的毒性, 检出限低, 相当于300 μg STXeq/kg (Fernández *et al.*, 1995; Bricelj *et al.*, 1998), 难以确定毒素组分, 受测试动物的限制及检测程序繁琐, 不宜在基层监测单位推广应用。酶联免疫吸附法是应用检测试剂盒/试纸条, 可以快速、现场检测麻痹性贝类毒素, 既可定性又可定量, 易于在基层监测单位推广普及, 但目前国内外所有商品化麻痹性贝类毒素试剂

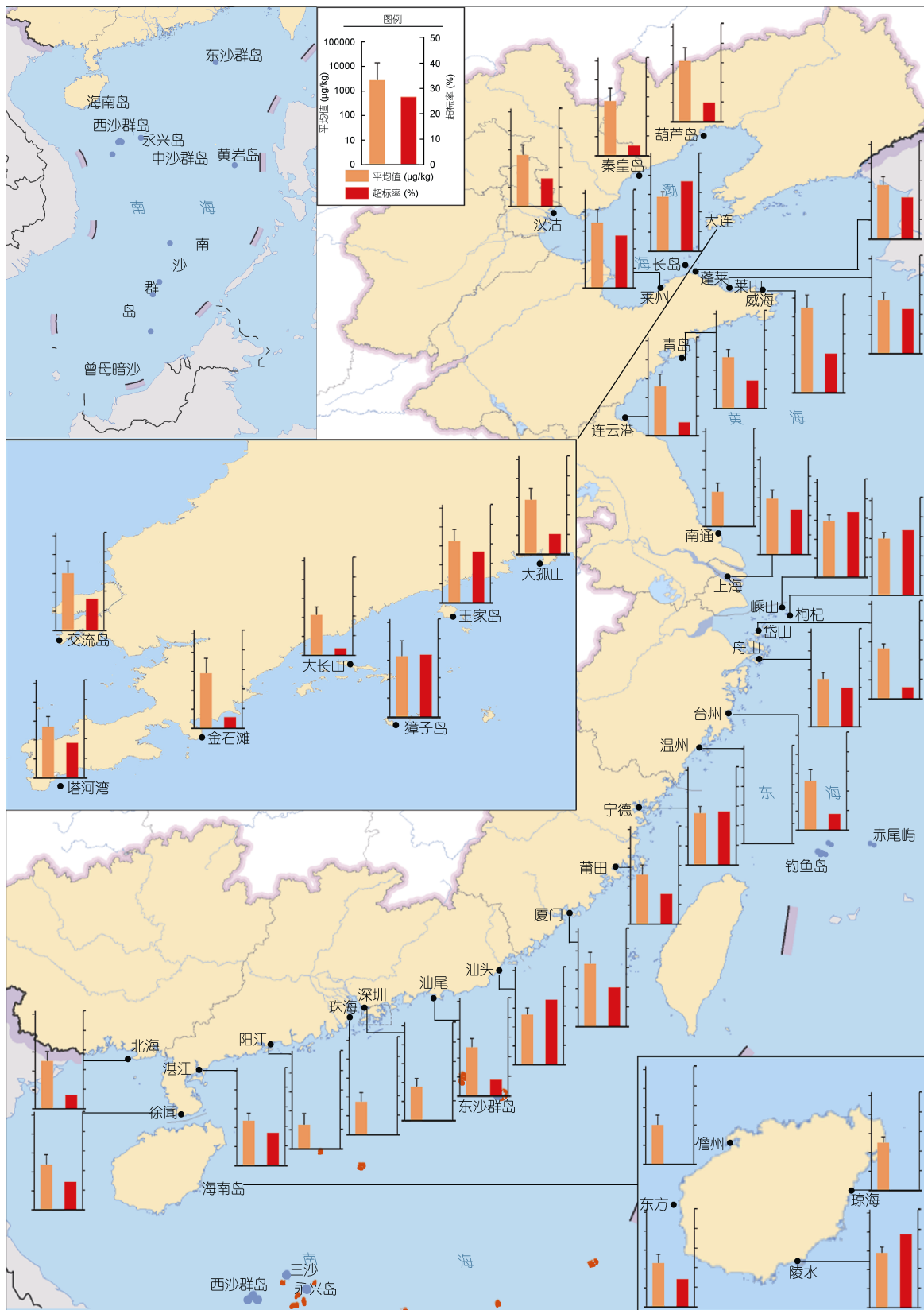


图 1 2013—2015 年我国近海麻痹性贝类毒素污染状况分布图

Fig.1 Map of paralytic shellfish poisoning (PSP) pollution in the coastal waters of China during 2013—2015

表 1 黄海近岸海域麻痹性贝类毒素调查结果统计
Tab.1 Statistics of the investigation results of PSP in the coastal waters of the Yellow Sea

海域	年份	样本数(个)	检出率(%)	超标率(%)	最高含量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	参考文献
青岛	1994—1996	805	0	0	0	李伟才等, 2000
烟台	1995—1997	429	0.2	0	0	李伟才等, 2000
大连、青岛、赣榆 等	1996	10	0	0	100	林燕棠等, 2001
	1999	16	8	0	460	林燕棠等, 2001
连云港	1996—1997	23	4.3	0	70	Zhou <i>et al.</i> , 1999
黄海近岸	1997	18	5.5	5.5	1152	关春江等, 1999
烟台	1997	21	9.5	4.7	1330	Zhou <i>et al.</i> , 1999
黄渤	2003—2005	97	6.1	2.1	801	孔凡洲等, 2007
大连黄海	2003—2004	14	57.1	7.1	3314	江天久等, 2007
连云港	2004	8	100	100	220000	林祥田等, 2005
大连黄海	2007—2008	72	70.8	26.3	65140	夏远征等, 2010
大连大窑湾*	2007—2008	24	100	33.3	5628	韩华等, 2012
大连大窑湾	2007—2008	24	75	25	1847	韩华等, 2012
北黄海**	2007—2008	4	100	100	8430	Li <i>et al.</i> , 2012a
大连	2007—2008	54		48.1	2041	宋普江等, 2011
大连	2007—2008	21	90.5	47.6	4291	杜克梅等, 2013a
江苏	2007—2008	21	0	0	0	杜克梅等, 2013a
山东蓬莱	2007—2008	19	5.3	0	277	杜克梅等, 2013a
北黄海*	2006—2008	120	45.8	4.2	1138	梁玉波, 2012
北黄海	2006—2008	120	35.8	3.3	1139	梁玉波, 2012
南黄海*	2006—2008	122	26.2	4.9	1567	梁玉波, 2012
南黄海	2006—2008	122	0.8	0.8	341	梁玉波, 2012
北黄海*	2013—2015	273	74	21.2	98996	本文
南黄海*	2013—2015	100	64	17	453154	本文
平均值			38.2	18.8	36300	

注: *为液相色谱法, **为液相色谱-质谱法, 其他为小鼠生物法

表 2 渤海近岸海域麻痹性贝类毒素调查结果统计
Tab.2 Statistics on the investigation results of PSP in the coastal waters of Bohai Sea

海域	年份	样本数(个)	检出率(%)	超标率(%)	最高含量($\mu\text{g}/\text{kg}$)	参考文献
秦皇岛	1993—1997	392	0	0	0	李伟才等, 2000
天津、莱州、营口	1996	16	18.8	0	460	林燕棠等, 1999
	1999	5	0	0	0	林燕棠等, 2001
渤海	1997	20	0	0	0	关春江等, 1999
渤海	2003—2005	57	0	0	0	孔凡洲等, 2007
渤海*	2006—2008	133	31.5	4.5	1741	梁玉波, 2012
渤海	2006—2008	133	8.333333	0	432	梁玉波, 2012
渤海*	2013—2015	186	73.6	15.6	60573	Liu <i>et al.</i> , 2017a, 本文
秦皇岛**	2016				10758	Ding <i>et al.</i> , 2017
秦皇岛*	2016	15	53.3	26.7	39209	本文
秦皇岛	2016	15	53.3	26.7	40561	本文
平均值			23.9	7.4	14298	

注: *为液相色谱法, **为液相色谱-串联质谱法, 其他为小鼠生物法

表 3 东海近岸海域麻痹性贝类毒素调查结果统计
Tab.3 Statistics on the investigation results of PSP in the coastal waters of East China Sea

海域	年份	样本数(个)	检出率(%)	超标率(%)	最高含量($\mu\text{g}/\text{kg}$)	参考文献
长江口	1978				33300	林燕棠等, 1999
宁波	1986—2003	127	100	48.8	97344	于梅等, 2004
舟山	1996—1997	16	6.3	0	10	Zhou <i>et al</i> , 1999
福建沿岸	1993—1996	53	3.8			李伟才等, 2000
宁波、温州、厦门等	1996	32	10.3	0	350	林燕棠等, 2001
	1997	17	5.5	0	440	林燕棠等, 2001
舟山	2002	22	13.6	0	306	江天久等, 2003
厦门海域	2002—2003	53	7.5	0	400	王雪虹等, 2007
厦门	2003—2004	19	5.3	0	414	江天久等, 2007
浙江中南海域	2003—2004	12	9.1		306	胡颢琰等, 2006
舟山海域	2003—2004	32	3.1		666	胡颢琰等, 2006
上海市场	2003	66	0-30		1108	Wu <i>et al</i> , 2005
南麂列岛	2006—2007	60	11.7	0	461	吴锋等, 2010
东海*	2006—2008	158	49.3	11.4	4240	梁玉波, 2012
东海	2006—2008	158	18.9	0.6	800	梁玉波, 2012
福建沿海	2007—2008	25	28	0	173	杜克梅等, 2013b
东海*	2013—2015	140	77.1	20	23793	本文
舟山市场	2015	60	15	0	540	何依娜等, 2016
福建沿岸	2017	23	56.5	43.5	34146	本文
平均值			24.8	8.9	11044	

注: *为液相色谱法, 其他为小鼠生物法

表 4 南海近岸海域麻痹性贝类毒素调查结果统计
Tab.4 Statistics on the investigation results of PSP in the coastal waters of South China Sea

海域	年份	样本数(个)	检出率(%)	超标率(%)	最高含量($\mu\text{g}/\text{kg}$)	参考文献
南海*	1990—1991	3	100	100	7234.6	Anderson <i>et al</i> , 1996
大亚湾	1990—1999			28	3513	杨美兰等, 1999, 2002
大鹏湾	1990—1999			25	2761	杨美兰等, 1999, 2002
珠江口	1990—1999			28	1742	杨美兰等, 1999, 2002
广东	1990—1992	90		35.5	2970	林燕棠等, 1994
香港	1996—1998	5	80	20	3200*	Zhou <i>et al</i> , 1999
广东	1996	19	42.1	0	540	林燕棠等, 2001
广东	1997	22	27.2	0	760	林燕棠等, 2001
广东大亚湾*	1998	6	100	100	10000	江天久等, 2000
广东	1999	35	17.1	0	648	林燕棠等, 2001
广东大亚湾	1998—1999	8	100	37.5	227340	江天久等, 2000a
广东大鹏湾	1998—1999	8	100	25	1566	江天久等, 2000b
广东*	2001—2002	60	66.7	65	1116	吴施卫等, 2005a
深圳	2002	30	33.3	3.3	918	江天久等, 2003
广东	2002—2003	22	0	0	0	杨美兰等, 2005
广西北海	2003—2004	22	0	0	0	江天久等, 2007
深圳	2003—2004	20	30	30	545	江天久等, 2007
广东	2005		10.8	0	356	吴施卫等, 2008
广东大亚湾*	2005—2006	4	100	0	383	冷科明等, 2014

续表

海域	年份	样本数(个)	检出率(%)	超标率(%)	最高含量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	参考文献
广东大鹏湾*	2005—2006	6	100	0	51.8	冷科明等, 2014
粤西*	2005—2006	9	100	0	560	冷科明等, 2013
广东东部*	2005—2006	10	100	20	1546	江天久等, 2010
南海*	2006—2008	179	37.4	8.3	5096	梁玉波, 2012
南海	2006—2008	179	0.6	0.6	800	梁玉波, 2012
广东海域	2007—2008	118	25.4	0	463	杜克梅等, 2013a
南海*	2013—2015	133	47.3	9.8	2702	本文
平均值			53.4	20.6	10944	

注: *为液相色谱法, 其他为小鼠生物法

表 5 我国近海亚历山大藻赤潮统计

Tab.5 Statistics on the *Alexandrium* red tide in the coastal waters of China

起始时间 (年-月-日)	结束时间 (年-月-日)	最大面积 (km^2)	赤潮发生近海	优势种
2002-04-13	2002-04-15	80	福建宁德霞浦四礵列岛	夜光藻/塔玛亚历山大藻
2002-05-06		3.5	浙江岱山赤潮监控区	东海原甲藻/亚历山大藻
2002-05-06	2002-05-11	800	浙江舟山虾峙门	东海原甲藻/亚历山大藻
2002-05-15	2002-05-26	100	浙江舟山嵊泗列岛	东海原甲藻/亚历山大藻
2003-04-28		30	浙江温州南麂上马鞍	东海原甲藻/亚历山大藻
2003-04-28	2003-04-30	100	浙江舟山嵊泗列岛北部	东海原甲藻/亚历山大藻
2003-05-08	2003-05-12	3	浙江温州南麂三盘尾	东海原甲藻/亚历山大藻等
2003-05-15	2003-05-16	1	浙江温州南麂新码头	东海原甲藻/亚历山大藻等
2004-09-25	2004-10-04	172	辽宁大连金石滩海水浴场	亚历山大藻
2004-10-04	2004-10-11	2	辽宁大连老虎滩石槽村	亚历山大藻
2005-05-22	2005-05-25		浙江舟山虾峙岛东部	亚历山大藻
2006-05-03	2006-05-08	1000	浙江舟山朱家尖东南	东海原甲藻/中肋骨条藻/米氏凯伦藻/亚历山大藻
2006-05-06	2006-05-12	10	浙江温州南麓大沙	三叶原甲藻/亚历山大藻
2006-09-14	2006-09-21	3	山东烟台长岛县南隍城乡	亚历山大藻
2007-09-25	2007-09-28	8	山东青岛沙子口湾	膝沟藻/亚历山大藻
2012-06-14	2012-06-18	80	浙江温岭石塘三蒜至钓滨	亚历山大藻/中肋骨条藻
2012-09-11	2012-09-13	40	辽宁大连龙王塘	亚历山大藻
2013-05-15	2013-06-05	10.4	浙江温州洞头	东海原甲藻/亚历山大藻
2013-05-18	2013-06-02	120	浙江台州玉环坎门	东海原甲藻/亚历山大藻
2016-04-30	2016-05-04	4.5	河北秦皇岛	亚历山大藻/夜光藻
2016-08-01	2016-08-15		天津临港经济区	亚历山大藻
2016-09-12	2016-10-24	630	天津渤海湾北部	伊姆裸甲藻/亚历山大藻
2017-07-20	2017-07-24	0.015	河北秦皇岛西浴场-金梦海湾	锥状斯克里普藻/海洋原甲藻/血红哈卡藻/亚历山大藻
2017-08-30	2017-09-04	37.8	广东汕尾后门港区及马宫港	锥状斯克里普藻/锥状斯克里普藻/亚历山大藻

注: 数据来源于《中国海洋生态环境状况公报》(2003-2017)

盒/试纸条, 对麻痹性贝类毒素GTX1/4组分很少能检出(Jellett *et al.*, 2002; 许道艳等, 2013; Harrison *et al.*, 2016; Dorantes-Aranda *et al.*, 2017), 而GTX1/4常常是海产品中的主要组分, 因此应用酶联免疫吸附检测

麻痹性贝类毒素, 其检测结果会偏低。液相色谱法可确定已有13种参考标准物质的麻痹性贝类毒素组分, 其检测结果与小鼠生物法有着非常好的相关性, 但检测结果常常高出小鼠生物法(Wong *et al.*, 2009), 可

高出 11.14%(江天久等, 2007) 或 49.36%(梁玉波, 2012)。这可能是小鼠生物法检测麻痹性贝类毒素的‘盐效应’及测试样品稀释比例不当所致(LeDoux *et al*, 2000), 毒素浓度可能被低估了 60% (McFarren, 1959; Park *et al*, 1986)。由于液相色谱法检测麻痹性贝类毒

素需要三种流动相检测程序, 十分繁琐, 现已逐渐被液相色谱-串联质谱法所取代, 液相色谱-串联质谱法检测灵敏度高, 操作简便(Zhuo *et al*, 2013; Mattarozzi *et al*, 2016; Shin *et al*, 2017), 其检测结果可高于小鼠生物法 5—7 倍(Li *et al*, 2012a)。

表 6 我国近海链状裸甲藻赤潮统计
Tab.6 Statistics on the *Gymnodinium catenatum* red tide in the coastal waters of China

起始时间(年-月-日)	结束时间(年-月-日)	最大面积(km ²)	赤潮发生近海	优势种
2005-10-29	2005-10-31	55	江苏连云港海州湾赤潮监控区	链状裸甲藻
2005-10-21	2005-10-23	200	江苏连云港海州湾赤潮监控区	链状裸甲藻
2006-01-02	2006-01-07	400	江苏连云港海州湾海域	短角弯角藻/链状裸甲藻
2007-08-21	2007-08-24	400	辽宁葫芦岛辽东湾芷锚湾	链状裸甲藻/柔弱伪菱形藻
2010-07-05	2010-07-07	100	江苏连云港海州湾海域	链状裸甲藻
2016-08-05	2016-08-15	2	天津临港经济区附近海域	链状裸甲藻
2017-05-17	2017-05-19	100	江苏连云港排淡河口至埭子河口	链状裸甲藻/中肋骨条藻
2017-06-06	2017-06-13	13.2	福建石狮、惠安	链状裸甲藻
2017-06-09	2017-06-12	40	福建龙海、漳浦佛昙	链状裸甲藻

注: 数据来源《中国海洋生态环境状况公报》(2003-2017)

2 腹泻性贝类毒素或脂溶性海洋生物毒素污染状况及产毒微藻

2.1 我国近海腹泻性贝类毒素不同检测方法结果比较分析

20 世纪 70 年代, 美国官方分析化学师学会 (Association of Official Agricultural Chemist, AOAC) 推荐小鼠生物法为检测腹泻贝毒的标准方法, 并在全球范围内广泛推荐使用。本世纪初, 随着液相色谱-串联质谱等检测技术的发展, 发现小鼠生物法检测腹泻性贝类毒素假阳性问题十分严重, 从 2015 年起欧盟不再使用小鼠生物法检测腹泻性贝类毒素(EU, 2011), 将液相色谱-串联质谱法确定为腹泻性贝类毒素或脂溶性毒素检测的标准方法(EU *et al*, 2015)。依据《食品安全国家标准 贝类中腹泻性贝类毒素的测定》(中华人民共和国国家标准 GB5009.212—2016), 我国现行腹泻性贝类毒素检测方法有: 小鼠生物法、酶联免疫吸附法、液相色谱-串联质谱法。从 1993 年至今, 应用小鼠生物法检测我国近海贝类体中腹泻性贝类毒素检出率/超标率为 32.3%, 应用酶联免疫吸附法超标率 9.2%, 应用液相色谱-串联质谱法超标率为 5%(表 7)。比较上述三种方法可以看出, 小鼠生物法检测我国近海贝类体中腹泻性贝类毒素超标率高出酶联免疫吸附法 3.5 倍; 高出液相色谱-串联质谱法 6.4 倍。

参照国际上以液相色谱-串联质谱法为检测腹泻

性贝类毒素的标准方法, 可以看出小鼠生物法检测我国近海腹泻性贝类毒素假阳性问题十分严重, 应尽快废除。基层监测单位可应用酶联免疫吸附法的试剂盒/试纸条, 能检出腹泻性毒素主要组分 OA 和鳍藻毒素(dinophysistoxin, DTX), 酶联免疫吸附法的检测结果与液相色谱-串联质谱法一致率为 79%—91%(刘仁沿等, 2008a, b; 刘丽等, 2016; Turner *et al*, 2016)。酶联免疫吸附法检出的超标样品, 再进行液相色谱-串联质谱法验证, 这样就可大幅度降低成本, 节省时间, 保证检测结果的可靠性。

2.2 我国近海脂溶性海洋生物毒素的污染状况

腹泻性贝类毒素是脂溶性海洋生物毒素主要组成部分, 采用液相串联质谱法除了可检出腹泻性贝类毒素 OA 和 DTX 外, 我国近岸海域还能检出的其他海洋生物毒素有, AZA、蛤毒素组 PTX、YTX、螺旋形亚胺(gymnodimine, GYM)、螺环内酯毒素(spirolides, SPX)、江瑶青毒素(pinnatoxins, PnTX)、(Pteriatoxin, PtTX)、prorocentrolide 和 spriocentrimine 等。在黄渤海海水中, 全年可检出 OA、DTX1、PTX2、YTX 等毒素(Li *et al*, 2014; 宋新成等, 2016; 宿志伟等, 2017; Chen *et al*, 2017, 2018; Li *et al*, 2017)。在渤海(Liu *et al*, 2017b)和南海浮游生物体(Jiang *et al*, 2017;)中, 可检出 OA、DTX1、PTX2、YTX、homo-YTX、AZA1、GYM 等毒素。在黄海和东海海域沉积物中检出 OA 和 PTX2 毒素(Wang *et al*, 2015; Chen *et al*, 2017)。

表 7 我国近岸海域贝类体中腹泻性贝类毒素调查结果统计
Tab.7 Statistics on the investigation results of DSP in shellfish in the coastal waters of China

检测方法	调查近岸海域范围	年份	样本数(个)	检出率(%)	超标率(%)	参考文献	
小鼠生物法	秦皇岛	1993—1994	53	1.8	1.8	李伟才等, 2000	
	秦皇岛	1995	65	21.5	21.5	李伟才等, 2000	
	秦皇岛	1997	274	0	0	李伟才等, 2000	
	青岛	1994—1996	805	5.6	5.6	李伟才等, 2000	
	福建	1994—1996	146	4.8	4.8	李伟才等, 2000	
	海南、广东、广西	2002—2004	55	56.4	56.4	吴施卫等, 2005b	
	上海市场	2003	66	22	22	Wu <i>et al.</i> , 2005	
	广州市场	2004—2005	36	27.8	27.8	杨莉等, 2006	
	广东近岸	2005	120	65	65	吴施卫等, 2008a,b	
	海南、广东、广西	2006	23	8.7	8.7	杨美兰等, 2009	
	海南、广东、广西	2006—2008	179	68.7	68.7	梁玉波, 2012	
	广东、广西	2007—2008	161	40.7	40.7	黄翔等, 2013	
	深圳海域	2007—2008	168	10.1	10.1	黄海燕等, 2010	
	珠江口、大亚湾	2008—2009	139	41	41	李嘉雯等, 2014	
	海南	2010—2011	95	46.3	46.3	胡蓉等, 2013	
	深圳市场	2011	64	18.8	18.8	王舟等, 2012	
	长江口海域	2004—2005	—	12	12	王金辉等, 2007	
	浙江、福建	2006—2008	158	60.1	60.1	梁玉波, 2012	
	浙江	2007—2008	200	9.5	9.5	郑重莺等, 2012	
	福建	2007—2008	13	54.5	54.5	黄翔等, 2013	
	江苏、山东、辽宁	2006—2008	242	65.3	65.3	梁玉波, 2012	
	江苏、山东、辽宁	2007—2008	61	44.3	44.3	黄翔等, 2013	
	辽宁、河北、天津、山东	2006—2008	133	57.9	57.9	梁玉波, 2012	
平均值				32.3	32.3		
酶联免疫吸附法	深圳海域	2007—2008	168	—	14.9	黄海燕等, 2010	
	深圳市场	2011—2014	386	—	18.1	孙焯等, 2016	
	深圳市场	2013—2014	186	100	12.9	潘柳波等, 2016	
	宁波市场	2012	122	2.5	0	徐奋奋等, 2013	
	江苏海州湾	2010—2012	42	80.4	0	宋向明等, 2013	
	平均值				61	9.2	
	浙江	2009	40	22.5	17.5	张树刚等, 2001	
	浙江	2010	29	0	0	母清林等, 2013	
	温州	2011	19	84.2	21.1	张秀尧等, 2012	
	全国近海	2006—2007	76	34	0	刘仁沿等, 2014	
液相色谱-串联质谱法	浙江	2007—2008	5	100	0	郑重莺等, 2012	
	北黄海	2011	15	100	6.6	陈建华等, 2014	
	广州市售	2012	60	11.7	0	李晓晶等, 2013	
	广东	2012—2013	100	16	0	彭荣飞等, 2014	
	福建省市售贝类	2013—2014	101	3.9	0	郑仁锦等, 2016	
	平均值				41.4	5.0	

注: —表示没有数据

在我国近海贝类体中, 常可检出 OA、DTX1、PTX2、YTX、GYM、AZA1、AZA2、SPX1 等毒素(刘

仁沿等, 2008c, 2014; 高春蕾等, 2010; 姚建华等, 2010; Li *et al.*, 2010, 2012b, 2017; Liu *et al.*, 2011,

2017c; Jiang *et al.*, 2017; Shen *et al.*, 2018)。2000 年至今, 我国近海仅有 3 起 OA 超出欧盟等国际限量标准 160 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的调查研究报道, 2000 年大连的菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 体中 OA 最高含量为 440 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (傅云娜等, 2003); 2009 年浙江南麂岛缢蛭 (*Sinonovacula constricta*) 体中 OA 最高含量为 2770 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 贻贝 (*Mytilus edulis*) 体中最高含量为 5850 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 泥蚶 (*Tegillarca granosa*) 体中最高含量为 1060 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (张树刚等, 2011); 2012 年宁波和宁德贻贝 (*Mytilus galloprovincialis*) 体中最高含量为 2111 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Li *et al.*, 2012b)。1997 年连云港四角蛤蜊 (*Macra veneriformis*) 中 DTX1 最高含量达 160 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Zhou *et al.*, 1999), 达到欧盟等国际限量标准 160 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。2011 年大连虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 消化腺中 YTX 最高含量达 6680 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (陈建华等, 2014) 和 5667.5 \pm 421.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Liu *et al.*, 2017), 超出欧盟限量标准 3750 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2.3 我国近海产生脂溶性生物毒素的微藻

在我国近海渐尖鳍藻 (*Dinophysis acuminata*) 等可产生 OA、DTX1 和 PTX2 等毒素(罗璇等, 2014; Li *et al.*, 2015); 利玛原甲藻 (*Prorocentrum lima*) 可产生 OA 和 DTX1 毒素, 凯匹林纳原甲藻 (*Prorocentrum caipirignum*) (Luo *et al.*, 2017a) 可产生 OA 毒素。慢原甲藻 (*Prorocentrum rhathymum*) 可产生 OA 等毒素(刘俏等, 2013, 勾玉晓等, 2018)。腹孔环胶藻 (*Azadinium poporum*) 可产生 AZAs 毒素(Gu *et al.*, 2013c; Krock *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2016; Luo *et al.*, 2017b)。网状原角藻 (*Protoceratium reticulatum*) 可产生 YTXs 毒素(Liu *et al.*, 2017)。SPX1 可由奥氏亚历山大藻 (*Alexandrium ostenfeldii*) 产生(Salgado *et al.*, 2015)。PnTX 可由削度伏尔甘藻 (*Vulcanodinium rugosum*) 产生(Selwood *et al.*, 2014)。GYM 在我国近海普遍检出, 鞍形凯伦藻 (*Karenia selliformis*) 可产生 GYM(Mountfort *et al.*, 2006), 但在我国近海至今尚未发现这一有毒微藻。

3 失忆性贝类毒素污染状况及产毒微藻

失忆性贝类毒素的主要成分为软骨藻酸(domoiic acid, DA)。依据《食品安全国家标准 贝类中失忆性贝类毒素的测定》(中华人民共和国国家标准 GB5009.198—2016), 失忆性贝类毒素的检测方法为: 酶联免疫吸附法、液相色谱法和液相色谱-串联质谱法。用酶联免疫吸附法可快速检出海水、贝类、浮游植物样品中的软骨藻酸(许道艳等, 2007; 刘仁沿等,

2009; 王茜等, 2012; 刘淑娟等, 2014; 赵芮等, 2015)。用液相色谱法检测渤海 14 个水产动物样品, 50% 检出软骨藻酸(陈西平等, 2001); 舟山附近海域贝类等水产品中检出率为 64%(王恒, 2011); 南海栉孔扇贝和钝齿短浆蟹也能检出软骨藻酸(吉薇等, 2011)。用液相色谱-串联质谱法在浙江近海文蛤(宋琳琳等, 2008)和广东大亚湾浮游植物及海水可检出软骨藻酸(Jiang *et al.*, 2017)。此外, 用毛细管电泳法, 在大连近海栉孔扇贝体中检出软骨藻酸(李大志等, 2002)。上述所有调查结果表明, 我国近海虽能检出失忆性贝类毒素, 但均不超出欧盟等限量标准 20 mg/kg 。

我国整个近海软骨藻酸产毒来源尚不清楚, 但从南海分离的拟菱形藻 (*Pseudo-nitzschia simulans*) 被证实可产软骨藻酸(Li *et al.*, 2017)。

4 我国近海西加鱼毒素污染状况及产毒微藻

根据分子结构及地域分布, 西加鱼毒素分为太平洋西加鱼毒素(Pacific ciguatoxin, P-CTXs)、加勒比海西加鱼毒素(Caribbean ciguatoxin, C-CTXs) 及印度洋西加鱼毒素(Indian ciguatoxin, I-CTXs)。从小型草食性鱼类到高营养级肉食性鱼类都已检出西加鱼毒素。全世界每年约有 50000—500000 人受西加鱼中毒影响(Friedman *et al.*, 2017)。依据《食品安全国家标准 水产品中西加毒素的测定》(中华人民共和国国家标准 GB 5009.274—2016), 西加鱼毒素的检测方法为小鼠生物法和液相色谱-串联质谱法。采用这两种方法, 2006—2008 年, 我国南海近海西加鱼毒素超出欧盟等国际限量标准(0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 达 17.4%(徐轶肖等, 2012)。2003—2013 年香港市场鱼类体内西加鱼毒素检出率为 85%(Wong *et al.*, 2014)。

西加鱼毒素前驱物为冈比亚毒素(gambiertoxin), 由底栖甲藻冈比亚藻属 (*Gambierdiscus*) 产生。至今全世界共纪录 14 种冈比亚藻以及 5 种冈比亚藻基因型(Dai *et al.*, 2017)。在我国近海已发现了 3 种冈比亚藻 *Gambierdiscus pacificus*, *G. australes* 和 *G. caribaeus*(Zhang *et al.*, 2016), 但其毒素成分还没有报道。

5 结语

(1) 麻痹性贝类毒素在我国近海污染十分严重, 基本呈现逐年加剧的趋势。20 世纪九十年代, 南海麻痹性贝类毒素污染较重; 21 世纪初, 北黄海麻痹性毒素污染较重; 近几年, 渤海和福建沿岸海域麻痹性贝类毒素污染较重。主要产毒微藻有亚历山大藻和链状

裸甲藻。

(2) 采用小鼠生物法检测我国近海腹泻性贝类毒素超标率 32.3%左右, 采用液相色谱/质谱法检测, 仅有 3 起腹泻性贝类毒素超标的研究报道; 现行小鼠生物法检测腹泻性贝类毒素假阳性问题十分突出, 应尽快废止。腹泻性贝类毒素均是脂溶性的, 脂溶性海洋生物毒素在我国近海常年可检出, 虾夷扇贝毒素和鳍藻毒素偶有超标现象。脂溶性海洋生物毒素产毒微藻有鳍藻和原甲藻及原角藻等。

(3) 失忆性贝类毒素在我国近海已常有检出, 但无超标现象。产毒藻为拟菱形藻等。

(4) 西加鱼毒素在我国南海污染较重, 但毒素标准物质的匮乏, 限制了我国对西加鱼毒素的调查研究。尚未确定产毒微藻种类。

(5) 藻毒素可先经酶联免疫吸附法检测, 需要验证的样品, 再经液相色谱-串联质谱法检测, 这样可大幅度降低成本, 缩短检测时间, 提高准确率, 已成为十分成熟配套的毒素检测技术。小鼠生物法检测毒素灵敏度低, 且受受试动物供应限制, 液相色谱法操作繁琐, 这两种方法已逐渐被淘汰。

参 考 文 献

于梅, 闫鹏, 徐景野, 2004. 宁波市 1986~2003 年织纹螺毒性检测结果分析. 实用预防医学, 11(6): 1267—1268

王舟, 黄薇, 潘柳波等, 2012. 2011 年深圳市水产品卫生状况及风险评估. 中国公共卫生管理, 28(5): 595—597

王茜, 程金平, 高利利等, 2012. 软骨藻酸直接竞争 ELISA 方法的建立及优化. 环境科学, 33(2): 647—651

王恒, 2011. 舟山海域贝类海产品中软骨藻酸含量调查. 中国卫生检验杂志, 21(12): 2986—2988, 2992

王金辉, 秦玉涛, 刘材材等, 2007. 长江口及邻近海域有毒藻类和赤潮毒素的本底调查. 海洋湖沼通报, (1): 52—61

王雪虹, 黄世玉, 2007. 厦门海域养殖区麻痹性贝毒污染的研究. 集美大学学报(自然科学版), 12(2): 114—117

勾玉晓, 刘磊, 李冬梅等, 2018. 北黄海慢原甲藻形态结构与腹泻性贝类毒素组成. 中国渔业质量与标准, 8(3): 11—18

孔凡洲, 徐子钧, 于仁成等, 2007. 黄渤海海域贝类麻痹性贝毒的检测与分析. 中国海洋大学学报, 37(2): 305—309

母清林, 王晓华, 余运勇等, 2013. 浙江近岸海域贝类中重金属和贝毒污染状况研究. 海洋科学, 37(1): 87—91

吉薇, 郑洁莹, 曾雪萍等, 2011. 南海海域软骨藻酸(DA)贝类毒素的 HPLC 方法检测. 现代食品科技, 27(1): 120—122, 116

刘丽, 刘磊, 赵芮等, 2016. 酶联免疫吸附分析检测鳍藻毒素 DTX1 和 DTX2. 分析科学学报, 32(4): 557—560

刘俏, 龙丽娟, 2013. 南海慢原甲藻的培养和毒性初探. 湖北农业科学, 52(5): 1113—1117

刘仁沿, 许道艳, 董玉华等, 2009. 海水和贝类中软骨藻酸的

酶联免疫吸附分析方法研究. 卫生研究, 38(5): 662—624

刘仁沿, 陈冰君, 梁玉波等, 2008a. 腹泻性贝毒软骨藻酸单克隆抗体的制备和酶联免疫检测方法的建立. 卫生研究, 37(4): 443—445

刘仁沿, 高春蕾, 梁玉波等, 2008c. Gymnodimine, 首次在我国北海缘齿牡蛎中发现的一种腹泻性贝毒组分. 海洋学报, 30(6): 171—176

刘仁沿, 梁玉波, 刘磊等, 2014. 液相色谱结合串联质谱方法研究中国沿海贝类中脂溶性藻毒素的种类结构和分布规律. 生态环境学报, 23(8): 1320—1326

刘仁沿, 梁玉波, 陈冰君等, 2008b. 胶体金免疫层析方法快速检测腹泻性贝毒软骨藻酸的初步研究. 分析试验室, 27(7): 26—29

刘淑娟, 赵晓祥, 程金平等, 2014. 快速检测软骨藻酸的间接 ELISA 方法. 环境科学学报, 34(2): 404—408

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, 2000b. 广东大亚湾和大鹏湾麻痹性贝类毒素研究. 中国环境科学, 20(4): 341—344

江天久, 尹伊伟, 黄伟建等, 2000a. 深圳大亚湾麻痹性贝类毒素成分特征. 暨南大学学报(自然科学版), 21(5): 65—69

江天久, 包财, 雷芳等, 2010. 广东东部沿海麻痹性贝类毒素成分特征分析. 中国水产科学, 17(1): 119—127

江天久, 江涛, 2007. 中国沿海部分海域麻痹性贝毒研究. 海洋与湖沼, 38(1): 36—41

江天久, 陈菊芳, 邹迎麟等, 2003. 中国东海和南海有害赤潮高发区麻痹性贝毒素研究. 应用生态学报, 14(7): 1156—1160

许道艳, 刘磊, 刘仁沿等, 2013. 麻痹性贝毒单克隆抗体的制备和酶联免疫检测方法的建立. 中国免疫学杂志, 29(1): 69—73

许道艳, 刘仁沿, 董玉华等, 2007. 失去记忆性贝毒 ASP 酶联免疫检测方法的研究. 海洋环境科学, 26(3): 237—240

孙焯, 刘威, 郑剑等, 2016. 2011—2014 年深圳市贝类产品生物毒素污染状况调查. 检测研究, 28(2): 149—150, 154

杜克梅, 江天久, 吴霓, 2013a. 黄海海域贝类麻痹性贝类毒素污染状况研究. 海洋环境科学, 32(2): 182—184

杜克梅, 雷芳, 吴霓等, 2013b. 我国东海和南海近岸海域麻痹性贝类毒素污染状况. 暨南大学学报(自然科学版), 34(3): 343—346

李大志, 祝文君, 朱文斌等, 2002. 记忆缺失性贝类毒素的主要成分——软骨藻酸的毛细管电泳分析. 色谱, 20(2): 125—128

李伟才, 栾刚, 李立等, 2000. 中国沿海部分海区贝类毒素的调查. 海洋科学, 24(9): 19—23

李晓晶, 彭荣飞, 于鸿等, 2013. 广州市市售水产品中多种脂溶性贝类毒素的监测. 中国卫生检验杂志, 23(10): 2317—2319

李嘉雯, 江涛, 吴锋等, 2014. 珠江口与大亚湾海域腹泻性贝毒污染状况分析. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 35(3): 228—234

杨莉, 杨维东, 刘洁生等, 2006. 广州市售贝类麻痹性贝毒和腹泻性贝毒污染状况分析. 卫生研究, 35(4): 435—439

杨美兰, 林钦, 吕晓瑜等, 2005. 广东重要渔业水域牡蛎水中的麻痹性贝类毒素. 海洋环境科学, 24(1): 48—50

- 杨美兰, 林燕棠, 全桂英, 1999. 广东沿海牡蛎体的麻痹性毒素与评价. 湛江海洋大学学报, 19(3): 38—42
- 杨美兰, 林燕棠, 贾晓平等, 2002. 珠江口及邻近海域贝类麻痹性毒素调查. 中国水产科学, 9(3): 283—285
- 杨美兰, 贾晓平, 林 钦等, 2009. 南海海域重要养殖水域牡蛎体中的腹泻性贝类毒素. 海洋环境科学, 28(4): 410—413
- 吴 锋, 江天久, 张 帆等, 2010. 浙江南麂列岛海域贝类中的麻痹性贝类毒素研究. 海洋环境科学, 29(3): 360—363
- 吴施卫, 卢楚谦, 朱小山等, 2005a. 广东沿海麻痹性贝类毒素的地理分布特征. 海洋环境科学, 24(3): 40—43
- 吴施卫, 张纯超, 卢楚谦等, 2005b. 南海近岸海域腹泻性贝类毒素分析. 海洋环境科学, 24(4): 48—51
- 吴施卫, 曾 森, 卢大鹏等, 2008a. 广东近岸海域 2005 年春季的腹泻性贝类毒素特征分析. 海洋环境科学, 27(2): 165—168, 181
- 吴施卫, 曾 森, 卢大鹏等, 2008b. 2005 年春季广东近岸海域麻痹性贝类毒素的特征分析. 海洋学研究, 26(4): 49—54
- 何依娜, 金 雷, 梅光明等, 2016. 舟山市海水养殖贝类质量安全现状评价. 安徽农业科学, 44(27): 122—123, 203
- 冷科明, 吴 霓, 杜克梅等, 2013. 粤西海域麻痹性贝类毒素成分特征分析. 生态科学, 32(5): 558—563
- 冷科明, 吴 霓, 杜克梅等, 2014. 粤中海域麻痹性贝类毒素成分特征分析. 海洋环境科学, 33(5): 666—671
- 宋向明, 谢小华, 赵冲厚等, 2013. 酶联免疫法测定牡蛎中腹泻性毒素的研究. 水产养殖, 34(1): 49—52
- 宋璐璐, 张海琪, 侯镜德等, 2008. 液相色谱-串联质谱法测定贝类毒素软骨藻酸的残留. 水产学报, 32(6): 950—956
- 宋普江, 张 伟, 王 刚等, 2011. 大连近岸海域经济贝类麻痹性贝毒分析. 海洋环境科学, 30(4): 533—535, 545
- 宋新成, 周德山, 尹华斌等, 2016. 海州湾近海海域海水中贝类毒素的检测与季节变化. 淮海工学院学报(自然科学版), 25(3): 83—87
- 张秀尧, 蔡欣欣, 2012. 从暴发腹泻的贻贝中同时检出腹泻性贝类毒素和扇贝毒素. 中国卫生检验杂志, 22(8): 1905—1907, 1911
- 张树刚, 邹 清, 陈 雷等, 2011. 浙南海域腹泻性贝毒分析. 海洋科学, 35(1): 44—47, 53
- 陈西平, 王成斌, 胡俊明等, 2001. HPLC 方法检测水及水生动物中软骨藻酸. 卫生研究, 30(4): 247—248
- 陈建华, 于仁成, 孔凡洲等, 2014. 北黄海海域虾夷扇贝体内脂溶性藻毒素分析. 海洋与湖沼, 45(4): 855—863
- 林祥田, 张明生, 王志坚等, 2005. 连云港海州湾麻痹性贝类毒素中毒分析. 中国食品卫生杂志, 17(3): 243—246
- 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, 25(2): 220—225
- 林燕棠, 贾晓平, 杨美兰等, 1999. 中国沿岸染毒贝类的麻痹性毒素. 热带海洋, 18(1): 90—96
- 林燕棠, 贾晓平, 杨美兰等, 2001. 我国海产贝类体内的麻痹性毒素及其来源. 水产学报, 25(5): 479—481
- 罗 璇, 于仁成, 周名江, 2014. 应用 LC-MS 联用方法分析青岛近海渐尖鳍藻(*Dinophysis acuminata*)细胞中的毒素成分. 海洋环境科学, 33(5): 781—787
- 郑仁锦, 李榕珊, 黄宏南等, 2016. 福建省市售水产品中河豚毒素及腹泻性贝类毒素污染状况. 职业与健康, 32(17): 2367—2370
- 郑重莺, 张海琪, 宋璐璐等, 2012. 浙江省市售主要食用贝类中麻痹性贝类毒素和腹泻性贝类毒素污染状况分析. 浙江农业科学, (2): 236—239
- 赵 芮, 刘 磊, 刘 丽等, 2015. 酶联免疫吸附法和液相色谱-质谱联用法分析海洋生物中记忆缺失性贝毒. 分析实验室, 34(8): 882—885
- 胡 蓉, 江天久, 2013. 海南岛近岸海域贝类中的腹泻性贝类毒素. 暨南大学学报(自然科学版), 34(5): 527—532
- 胡颖璇, 唐静亮, 王益鸣等, 2006. 浙江近岸有害赤潮发生区麻痹性贝类毒素研究. 海洋环境科学, 25(1): 63—65
- 姚建华, 谭志军, 周德庆等, 2010. 液相色谱-串联质谱法检测贝类产品中的原多甲藻酸贝类毒素. 色谱, 28(4): 363—367
- 夏远征, 王双双, 辛丘岩等, 2010. 大连海域贝类麻痹性贝毒的污染状况调查与分析. 食品与机械, 26(2): 54—56
- 徐奋奋, 吴蓓莉, 黄亚琴等, 2013. 宁波市市售海水产品腹泻性贝类毒素检测结果分析. 中国卫生检验杂志, 23(17): 3394—3395
- 徐轶肖, 王爱辉, 胡 蓉等, 2012. 中国南部沿海近岸西加鱼毒素研究. 中国环境科学, 32(2): 330—336
- 高春蕾, 刘仁沿, 梁玉波等, 2010. 虾夷扇贝毒素 yessotoxins(YTXs), 中国沿海贝类中首次发现的一组贝类生物毒素. 海洋学报, 32(3): 129—137
- 黄 翔, 江天久, 吴 霓, 2013a. 黄海海域贝类腹泻性贝类毒素污染状况研究. 海洋环境科学, 32(2): 178—181
- 黄 翔, 雷 芳, 江天久, 2013b. 我国东海和南海近岸海域腹泻性贝类毒素污染状况. 暨南大学学报(自然科学版), 34(1): 101—105
- 黄海燕, 黄爱君, 刘建军等, 2010. 深圳市海域贝类腹泻性毒素的污染状况分析. 中国卫生检验杂志, 20(3): 624—625
- 梁玉波, 2012. 中国赤潮灾害调查与评价(1933-2009). 北京: 海洋出版社, 543—659
- 宿志伟, 赵 峰, 姜 雪等, 2017. 桑沟湾养殖牡蛎中贝类毒素监测及预警. 食品科学, 38(6): 303—309
- 彭荣飞, 李晓晶, 于 鸿等, 2014. 广东省经济贝类中多种贝类毒素的监测分析. 中国卫生检验杂志, 24(21): 3129—3131
- 韩 华, 周 春, 于光磊等, 2012. 大窑湾海域虾夷扇贝体内麻痹性贝毒的周年变化. 海洋环境科学, 31(3): 436—438
- 傅云娜, 陈则玲, 2003. 腹泻性贝毒的高效液相色谱法测定条件改进及其运用. 海洋通报, 22(1): 92—95
- 潘柳波, 黄 薇, 王 舟等, 2016. 深圳市市售贝类的腹泻性贝类毒素污染状况分析. 职业与健康, 32(5): 630—632
- Anderson D M, Kulis D M, Qi Y Z *et al*, 1996. Paralytic shellfish poisoning in southern China. *Toxicon*, 34(5): 579—590
- Bricelj V M, Shumway S E, 1998. Paralytic shellfish toxins in bivalve molluscs: Occurrence, transfer kinetics, and biotransformation. *Reviews in Fisheries Science*, 6(4): 315—383
- Chen J H, Han T Z, Li X T *et al*, 2018. Occurrence and distribution of marine natural organic pollutants: Lipophilic marine algal toxins in the Yellow Sea and the Bohai Sea, China. *Science of the Total Environment*, 612: 931—939
- Chen J H, Li X, Wang S *et al*, 2017. Screening of lipophilic

- marine toxins in marine aquaculture environment using liquid chromatography-mass spectrometry. *Chemosphere*, 168: 32—40
- Chen J H, Yu R C, Gao Y *et al*, 2013. Tracing the origin of paralytic shellfish toxins in scallop *Patinopecten yessoensis* in the northern Yellow Sea. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 30(11): 1933—1945
- Dai X F, Mak Y L, Lu C K *et al*, 2017. Taxonomic assignment of the benthic toxigenic dinoflagellate *Gambierdiscus* sp. type 6 as *Gambierdiscus balechii* (Dinophyceae), including its distribution and ciguatoxicity. *Harmful Algae*, 67: 107—118
- Dickman M, Tang S M, Lai J, 2002. A comparison of eastern and western Hong Kong Phytoplankton from weekly samples (1997—1999). *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 20(1): 52—61
- Ding L, Qiu J B, Li A F, 2017. Proposed biotransformation pathways for new metabolites of paralytic shellfish toxins based on field and experimental mussel samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(27): 5494—5502
- Dorantes-Aranda J J, Campbell K, Bradbury A *et al*, 2017. Comparative performance of four immunological test kits for the detection of Paralytic Shellfish Toxins in Tasmanian shellfish. *Toxicon*, 125: 110—119
- EU, 2011. Commission Regulation N°15/2011 of 10 January 2011. Official Journal of the European Union. L6, 3—9
- EU, European Union Reference Laboratory for Marine Biotoxins (EU-RL-MB), 2015. EU-Harmonised Standard Operating Procedure for determination of Lipophilic marine biotoxins in molluscs by LC-MS/MS. Version 5
- Fernández M L, Cembella A D, 1995. Mammalian bioassays. In: Hallegraeff G M, Anderson D M, Cembella A D eds. *Manual on Harmful Marine Microalgae*. IOC Manuals and Guides. Paris: UNESCO, 33: 213—228
- Friedman M A, Fernandez M, Backer L C *et al*, 2017. An updated review of ciguatera fish poisoning: clinical, epidemiological, environmental, and public health management. *Marine Drugs*, 15(3): 72
- Gao H, An X, Liu L *et al*, 2017. Characterization of *Dinophysis acuminata* from the Yellow Sea, China, and its response to temperature and different *Mesodinium prey*. *Oceanology Hydrobiology Study*, 4(46): 439—450
- Gao Y, Yu R C, Chen J H *et al*, 2015a. Distribution of *Alexandrium fundyense* and *A. pacificum* (Dinophyceae) in the Yellow Sea and Bohai Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 96(1—2): 210—219
- Gao Y, Yu R C, Murray S A *et al*, 2015b. High specificity of a quantitative PCR assay targeting a saxitoxin gene for monitoring toxic algae associated with paralytic shellfish toxins in the Yellow Sea. *Applied Environmental Microbiology*, 81(20): 6973—6981
- Genovesi B, Berrebi P, Nagai S *et al*, 2015. Geographic structure evidenced in the toxic dinoflagellate *Alexandrium pacificum* Litaker (*A. catenella*-group IV (Whedon & Kofoid) Balech) along Japanese and Chinese coastal waters. *Marine Pollution Bulletin*, 98(1—2): 95—105
- Gu H F, 2011. Morphology, phylogenetic position, and ecophysiology of *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) from the Bohai Sea, China. *Journal of Systematics and Evolution*, 49(6): 606—616
- Gu H F, Liu T T, Vale P *et al*, 2013b. Morphology, phylogeny and toxin profiles of *Gymnodinium inusitatum* sp. nov., *Gymnodinium catenatum* and *Gymnodinium microreticulatum* (Dinophyceae) from the Yellow Sea, China. *Harmful Algae*, 28: 97—107
- Gu H F, Luo Z H, Krock B *et al*, 2013c. Morphology, phylogeny and azaspiracid profile of *Azadinium poporum* (Dinophyceae) from the China Sea. *Harmful Algae*, 21—22: 64—75
- Gu H F, Zeng N, Liu T T *et al*, 2013a. Morphology, toxicity, and phylogeny of *Alexandrium* (Dinophyceae) species along the coast of China. *Harmful Algae*, 27: 68—81
- Harrison K, Johnson S, Turner A D, 2016. Application of rapid test kits for the determination of paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins in bivalve molluscs from Great Britain. *Toxicon*, 119: 352—361
- Jellett J F, Roberts R L, Laycock M V *et al*, 2002. Detection of paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins in shellfish tissue using MIST AlertTM, a new rapid test, in parallel with the regulatory AOAC[®] mouse bioassay. *Toxicon*, 40(10): 1407—1425
- Jiang T, Liu L, Li Y *et al*, 2017. Occurrence of marine algal toxins in oyster and phytoplankton samples in Daya Bay, South China Sea. *Chemosphere*, 183: 80—88
- Jiang T, Xu Y X, Li Y *et al*, 2014. Seasonal dynamics of *Alexandrium tamarense* and occurrence of paralytic shellfish poisoning toxins in bivalves in Nanji Islands, East China Sea. *Marine and Freshwater Research*, 65(4): 350—358
- John U, R. Litaker R W, Montresor M *et al*, 2014. Formal revision of the *Alexandrium tamarense* species complex (Dinophyceae) taxonomy: the introduction of five species with emphasis on molecular-based (rDNA) classification. *Protist*, 165(6): 779—804
- Krock B, Tillmann U, Witt M *et al*, 2014. Azaspiracid variability of *Azadinium poporum* (Dinophyceae) from the China Sea. *Harmful Algae*, 36: 22—28
- LeDoux M, Hall S, 2000. Proficiency testing of eight French Laboratories in using the AOAC mouse bioassay for paralytic shellfish poisoning: Interlaboratory collaborative study. *Journal of AOAC International*, 83(2): 305—310
- Li Z X, Guo M M, Yang S G *et al*, 2010. Investigation of pectenotoxin profiles in the Yellow Sea (China) using a passive sampling technique. *Marine Drugs*, 8(4): 1263—1272
- Li Y, Huang C X, Xu G S *et al*, 2017b. *Pseudo-nitzschia simulans* sp. nov. (Bacillariophyceae), the first domoic acid producer from Chinese waters. *Harmful Algae*, 67: 119—130
- Li A F, Jiang B Z, Chen H D *et al*, 2016. Growth and toxin production of *Azadinium poporum* strains in batch cultures under different nutrient conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 127: 117—126
- Li X, Li Z Y, Chen J H *et al*, 2014. Detection, occurrence and

- monthly variations of typical lipophilic marine toxins associated with diarrhetic shellfish poisoning in the coastal seawater of Qingdao City, China. *Chemosphere*, 111: 560—567
- Li A, Ma J G, Cao J J *et al*, 2012a. Analysis of paralytic shellfish toxins and their metabolites in shellfish from the North Yellow Sea of China. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 29(9): 1455—1464
- Li A F, Ma J G, Cao J J *et al*, 2012b. Toxins in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) associated with diarrhetic shellfish poisoning episodes in China. *Toxicon*, 60(3): 420—425
- Li A F, Sun G, Qiu J B *et al*, 2015. Lipophilic shellfish toxins in *Dinophysis caudata* picked cells and in shellfish from the East China Sea. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(4): 3116—3126
- Li M H, Sun G, Qiu J B *et al*, 2017. Occurrence and variation of lipophilic shellfish toxins in phytoplankton, shellfish and seawater samples from the aquaculture zone in the Yellow Sea, China. *Toxicon*, 127: 1—10
- Liu R Y, Liang Y B, Wu X L *et al*, 2011. First report on the detection of pectenotoxin groups in Chinese shellfish by LC-MS/MS. *Toxicon*, 57(7—8): 1000—1007
- Liu R Y, Liu L, Xu Y L *et al*, 2016. The production, distribution and fate of yessotoxins, taking the northern Yellow Sea of China for example. *Environment and Ecology Research*, 4(6): 322—345
- Liu L, Wei N, Gou Y X *et al*, 2017. Seasonal variability of *Protoceratium reticulatum* and yessotoxins in Japanese scallop *Patinopecten yessoensis* in northern Yellow Sea of China. *Toxicon*, 139: 31—40
- Liu Y, Yu R C, Kong F Z *et al*, 2017a. Paralytic shellfish toxins in phytoplankton and shellfish samples collected from the Bohai Sea, China. *Marine Pollution Bulletin*, 115(1—2): 324—331
- Liu Y, Yu R C, Kong F Z *et al*, 2017b. Lipophilic marine toxins discovered in the Bohai Sea using high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Chemosphere*, 183: 380—388
- Luo Z H, Krock B, Mertens K N *et al*, 2017b. Adding new pieces to the *Azadinium* (Dinophyceae) diversity and biogeography puzzle: non-toxicogenic *Azadinium zhuanum* sp. nov. from China, toxigenic *A. poporum* from the Mediterranean, and a non-toxicogenic *A. dalianense* from the French Atlantic. *Harmful Algae*, 66: 65—78
- Luo Z H, Zhang H, Krock B *et al*, 2017a. Morphology, molecular phylogeny and okadaic acid production of epibenthic *Prorocentrum* (Dinophyceae) species from the northern South China Sea. *Algal Research*, 22: 14—30
- Mattarozzi M, Milioli M, Bianchi F *et al*, 2016. Optimization of a rapid QuEChERS sample treatment method for HILIC-MS² analysis of paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins in Mussels. *Food Control*, 60: 138—145
- McFarren E F, 1959. Report on collaborative studies of the bioassay for paralytic shellfish poison. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 42: 263—271
- Mountfort D, Beuzenberg V, MacKenzie L *et al*, 2006. Enhancement of growth and gymnodimine production by the marine dinoflagellate, *Karenia selliformis*. *Harmful Algae*, 5(6): 658—664
- Park D L, Adams W N, Graham S L *et al*, 1986. Variability of mouse bioassay for determination of paralytic shellfish poisoning toxins. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 69(3): 547—550
- Salgado P, Riobó P, Rodríguez F *et al*, 2015. Differences in the toxin profiles of *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) strains isolated from different geographic origins: Evidence of paralytic toxin, spirolide, and gymnodimine. *Toxicon*, 103: 85—98
- Selwood A I, Wilkins A L, Munday R *et al*, 2014. Pinnatoxin H: a new pinnatoxin analogue from a South China Sea *Vulcanodinium rugosum* isolate. *Tetrahedron Letters*, 55(40): 5508—5510
- Shen H H, Chen J H, Xu X L *et al*, 2018. Development of a high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for determination of lipophilic toxins in marine shellfishes and edible safety evaluation. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 46(6): 985—992
- Shin C, Jang H, Jo H *et al*, 2017. Development and validation of an accurate and sensitive LC-ESI-MS/MS method for the simultaneous determination of paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish and tunicate. *Food Control*, 77: 171—178
- Turner A D, Goya A B, 2016. Comparison of four rapid test kits for the detection of okadaic acid-group toxins in bivalve shellfish from Argentina. *Food Control*, 59: 829—840
- Usup G, Ahmad A, Matsuoka K *et al*, 2012. Biology, ecology and bloom dynamics of the toxic marine dinoflagellate *Pyrodinium bahamense*. *Harmful Algae*, 14: 301—312
- Wang Y L, Chen J H, Li Z Y *et al*, 2015. Determination of typical lipophilic marine toxins in marine sediments from three coastal bays of China using liquid chromatography-tandem mass spectrometry after accelerated solvent extraction. *Marine Pollution Bulletin*, 101(2): 954—960
- Wang D Z, Hsieh D P H, 2005. Growth and toxin production in batch cultures of a marine dinoflagellate *Alexandrium tamarense* HK9301 isolated from the South China Sea. *Harmful Algae*, 4(2): 401—410
- Wong C K, Hung P, Lee K L H *et al*, 2009. Effect of steam cooking on distribution of paralytic shellfish toxins in different tissue compartments of scallops *Patinopecten yessoensis*. *Food Chemistry*, 114(1): 72—80
- Wong C K, Hung P, Lo J Y C, 2014. Ciguatera fish poisoning in Hong Kong- A 10-year perspective on the class of ciguatoxins. *Toxicon*, 86: 96—106
- Wang D Z, Lin L, Gu H F *et al*, 2008. Comparative studies on morphology, ITS sequence and protein profile of *Alexandrium tamarense* and *A. catenella* isolated from the China Sea. *Harmful Algae*, 7(1): 106—113
- Wang Z H, Nie X P, Jiang S J *et al*, 2011. Source and profile of paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish in Daya Bay, South China Sea. *Marine Environmental Research*, 72(1—2):

53—59

- Wang L, Zhuang Y Y, Zhang H *et al*, 2014. DNA barcoding species in *Alexandrium tamarense* complex using ITS and proposing designation of five species. *Harmful Algae*, 31: 100—113
- Wu J Y, Zheng L, Wang J H, 2005. Contamination of shellfish from Shanghai seafood markets with paralytic shellfish poisoning and diarrhetic shellfish poisoning toxins determined by mouse bioassay and HPLC. *Food Additives & Contaminants*, 22(7): 647—651
- Zhang H, Wu Z, Cen J Y *et al*, 2016. First report of three benthic dinoflagellates, *Gambierdiscus pacificus*, *G. australes* and *G. caribaeus* (Dinophyceae), from Hainan Island, South China Sea. *Phycological Research*, 64(4): 259—273
- Zhuo L Y, Yin Y C, Fu W S *et al*, 2013. Determination of paralytic shellfish poisoning toxins by HILIC-MS/MS coupled with dispersive solid phase extraction. *Food Chemistry*, 137(1—4): 115—121
- 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
- Zou C, Ye R M, Zheng J W *et al*, 2014. Molecular phylogeny and PSP toxin profile of the *Alexandrium tamarense* species complex along the coast of China. *Marine Pollution Bulletin*, 89(1—2): 209—219

PROGRESSES IN INVESTIGATION AND RESEARCH ON PHYCOTOXINS AND TOXIC MICROALGAE IN THE COASTAL WATERS OF CHINA

LIANG Yu-Bo^{1,2}, LI Dong-Mei^{1,2}, YAO Jing-Yuan^{1,2}, JIN Wei^{1,2}, GONG Chang-Bao^{1,2}, LIU Ren-Yan^{1,2}
(1. National Marine Environmental Monitoring Center, Dalian 116023, China; 2. Dalian Phycotoxins Key Laboratory, Dalian 116023, China)

Abstract Phycotoxins and toxic microalgae have been investigated since early 1990s in coastal waters of China. Paralytic shellfish poisoning (PSP) pollution has been increasing year by year, which seriously harmed the coastal waters in South China Sea in 1990s, in the northern Yellow Sea in early 2000s, and in the Qinhuangdao and Fujian recently. PSP had been found produced by toxic species of genus *Alexandrium* and *Gymnodinium catenatum*. Diarrhetic shellfish poisoning (DSP) in the coastal waters of China has been increasing and about 32% of the samples exceeded the safety benchmark determined by mouse bioassay but only three cases were detected by HPLC and LC-MS/MS methods. Therefore, mouse bioassay for DSP test in China produced obviously false positive results and should be repealed. Lipophilic marine biotoxins have been detected in the coastal waters of China in all seasons, and the levels of yessotoxin (YTX) and dinophysistoxin-1 (DTX1) were occasionally reported high beyond the safety point. The lipophilic toxins have been found produced mainly by toxic *Dinophysis* spp, *Prorocentrum* spp, *Azadinium* spp, *Protoceratium reticulatum*, and *Vulcanodinium rugosum*. Domoic acid (DA), the main component of amnesic shellfish poisoning (ASP), had been confirmed secreted from diatom *Pseudo-nitzschia simulans* that frequently occurred recently in the coastal waters of China but remained within the safe level. Recently, ciguatera fish poisoning (CFP) polluted seriously the coastal waters of South China Sea but no microalga has yet been found to produce the toxin. The ELISA and LC-MS/MS methods for detecting marine biotoxins have become mature methods and expected to replace gradually the MBA and HPLC methods in China.

Key words coastal waters of China; phycotoxin; toxic microalga; toxins detection method