

# 浙南海域腹泻性贝毒分析

张树刚, 邹 清, 陈 雷, 郇钧璋

(国家海洋局 温州海洋环境监测中心站, 浙江 温州 325027)

**摘要:** 在浙南海域共采集了 10 种贝类 40 份样品。运用高效液相色谱方法检测腹泻性贝毒, 共检出 9 份样品含有腹泻性贝毒。染毒样品检出的腹泻性贝毒(软海绵酸, OA)质量比为 0.07~5.85  $\mu\text{g/g}$ , 共有 7 个样品含量超标, 超标率为 17.5%。无论是检出率还是超标率, 都呈现夏季>春季>秋季的规律。浙南海域的南部腹泻性贝毒检出率和超标率比北部和中部都高。紫贻贝、缢蛏、泥蚶和青蛤较其他种类易富集腹泻性贝毒。养殖的贝类检出率及超标率均高于野生的贝类。

**关键词:** 浙南海域; 高效液相色谱; 腹泻性贝毒

中图分类号: X835

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2011)01-0044-04

有毒赤潮作为一种海洋灾害, 对养殖业、海洋生态系统和人类健康的危害越来越大, 引起人们越来越多的关注。作为海洋藻毒素之一的腹泻性贝毒广泛存在于世界各地, 由其引起的中毒事件时有发生。腹泻性贝毒是一种脂溶性物质, 其化学结构是聚醚或大环内酯化合物。在中国引发腹泻性贝毒的藻类有: 渐尖鳍藻(*Dinophy sisacuminata*)、具尾鳍藻(*D. cuta*)、倒卵形鳍藻(*D. fortii*)、利马原甲藻(*Prorocentrum lima*)等。在贝类和其他动物的滤食或摄食过程中, 海水中产生腹泻性贝毒的藻类作为食物转移到它们的胃或食道中, 经胃和肠消化、吸收并导致 DSP 在贝体内的积累<sup>[1]</sup>。浙南海域海洋资源丰富, 水产养殖业发达, 是浙江省重要的水产品生产基地。但近年来该海域有毒赤潮爆发频繁<sup>[2-7]</sup>, 给当地的水产养殖以及海洋环境带来很大影响, 但有关该海域的腹泻性贝毒研究资料却很少。本研究选择浙南海域几个比较典型的海域, 采集经济型贝类样品, 用高效液相色谱法检测腹泻性贝毒, 了解腹泻性贝毒在浙南海域的变化规律, 为管理及有关研究提供基础数据, 也为相关部门制定适宜的腹泻性贝毒监测方案提供参考。

文蛤、青蛤、疣荔枝螺、藤壶、牡蛎等 10 种贝类 40 份样品(采样点如图 1)。贝类样品用现场海水冲洗干净后放入聚乙烯袋中, 压出袋内空气, 封紧袋口, 冷冻保存转移至实验室。毒素在贝类消化腺中含量最高, 但本研究考虑到人们在日常食用贝类时很少特意去除消化腺后才食用, 因此直接取全部软组织作为毒素分析部分, 具有现实经济意义。

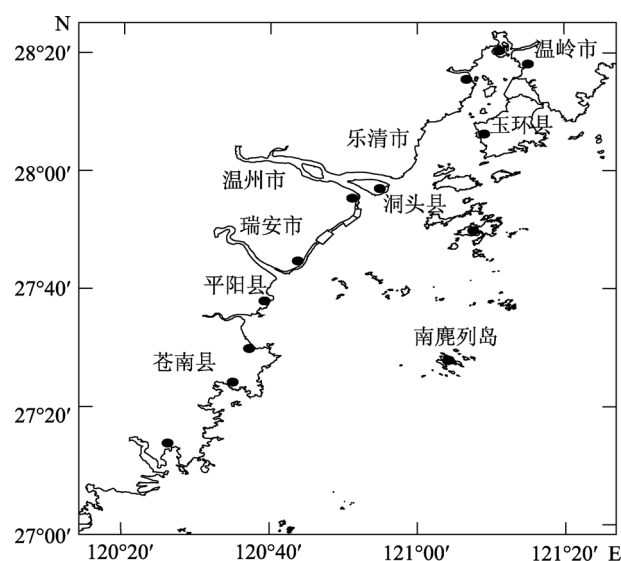


图 1 贝类样品采集点分布图

Fig. 1 Sampling stations of shellfishes

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集和预处理

于 2009 年 5 月至 2009 年 12 月, 在浙南海域的玉环、温岭、乐清、洞头、龙湾、灵昆岛、瑞安、平阳、苍南、南麂岛等地采集养殖或野生的主要经济贝类, 共采集了厚壳贻贝、紫贻贝、太平洋牡蛎、缢蛏、泥蚶、

收稿日期: 2010-01-15; 修回日期: 2010-05-26

基金项目: 浙江省海洋环保和生态资金资助项目(浙海渔计[2008]140号)

作者简介: 张树刚(1979-), 男, 安徽淮南人, 工程师, 主要从事海洋环境与有毒赤潮研究, 电话: 0577-88854079, E-mail: shugangzhang@sina.com

## 1.2 腹泻性贝毒的制备

贝类样品在实验室内室温自然解冻, 打开贝壳, 取贝体全部软组织作为测定对象。用纱布过滤掉多余的水分, 取一定量的软组织用分散匀质机匀浆。称取 2 g 匀浆组织加 4 mL 80% 的甲醇水溶液, 振荡 5 min, 悬浮液以 3000 r/min, 离心 10 min, 取 3 mL 上清液转移到分液漏斗中, 加入 3 mL 水和 8 mL 醋酸异丙酯, 振荡 1 min, 分层后, 将醋酸异丙酯相转到蒸发小瓶中, 水相再加 8 mL 醋酸异丙酯提取, 合并醋酸异丙酯相, 蒸干, 并用 3 mL 20% 的正己烷丙酮溶液溶解, 准备净化。

分别用 10 mL 丙酮, 10 mL 甲醇和 10 mL 20% 的正己烷丙酮溶液冲洗 C18- SPE 小柱, 完成活化。然后将上述提取液加到柱子上净化, 先后用 1 mL 20% 的正己烷丙酮溶液和 10 mL 3% 的甲醇丙酮溶液冲洗。弃去冲洗液, 用 10 mL 40% 的甲醇丙酮溶液洗脱, DSP 组分随着 10 mL 40% 的甲醇丙酮溶液洗脱液流出。

取 100  $\mu$ L 上述样品洗脱液, 转到棕色反应瓶中,  $N_2$  吹干, 加 100  $\mu$ L 0.1% 4-溴甲基 7-甲氧基香豆素(溶解在丙酮里)和 100  $\mu$ L 0.3% N, N-二异丙基乙胺(也溶在丙酮里), 暗处 50℃ 反应 2 h, 反应后即可用于 HPLC 测定。

## 1.3 高效液相色谱条件

流动相: 乙晴/甲醇/水(58 : 5 : 37); 流速: 1.2 mL/min; 柱温 30℃; 荧光检测器的激发波长 325 nm, 发射波长 390 nm。毒素分析所用高效液相色谱系统为 HP1200 系列(Agilent 公司, 美国); C18 反相色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 $\mu$ m); 软海绵酸(OA)标准毒素购自加拿大海洋生物研究所(NRC)。

# 2 结果

## 2.1 腹泻性贝毒检测结果

此次检测的 40 份样品中, 共检出 9 份样品含有腹泻性贝毒, 检出率为 22.5%, 检测结果见表 1。染毒样品检出的腹泻性贝毒(OA)为 0.07~5.85  $\mu$ g/g, 我国目前暂定的腹泻性贝毒警戒标准是针对小白鼠生物检测法<sup>[8]</sup>, 即 0.05 Mu/g, 相当于 0.2  $\mu$ g/g, 参照此标准, 共有 7 个样品含量超标, 超标率为 17.5%。其中 2009 年 8 月采于南麂岛的养殖紫贻贝贝毒(OA)高达 5.85  $\mu$ g/g。本方法的检出限为 0.02  $\mu$ g/g。

## 2.2 不同季节腹泻性贝毒分析结果

本实验采集的贝类包括三个季节的样品: 春季、夏季及秋季。其中春季样品 9 个, 有 2 个样品检测出含有腹泻性贝毒, 检出率为 22.2%, 超标 1 个, 超标率 11.1%; 夏季样品 25 个, 有 6 个样品检测出含有腹泻性贝毒且均超标, 检出率和超标率都为 24%; 秋季样品 6 个, 有 1 个样品检测出含有腹泻性贝毒, 检出率为 16.7%, 未超标。

## 2.3 不同海区腹泻性贝毒分析结果

浙南海域海岸线长, 海域辽阔, 从北往南可分为 3 个重点海域: 北部乐清湾海域(乐清、温岭、玉环等)、中部瓯江口海域(龙湾、灵昆岛、洞头岛等)、南部南麂列岛海域(瑞安、平阳、苍南等)。乐清湾海域共采集 15 个样品, 有 3 个样品检测出含有腹泻性贝毒, 检出率为 20%, 超标 2 个, 超标率 13.3%; 瓯江口海域共采集 13 个样品, 有 2 个样品检测出含有腹泻性贝毒且均超标, 检出率和超标率都为 15.4%; 南麂列岛海域共采集 12 个样品, 有 4 个样品检测出含有腹泻性贝毒, 检出率为 33.3%, 超标 3 个, 超标率 25%。

## 2.4 腹泻性贝毒敏感种及生态习性染毒比较

在检测的 10 种贝类中, 只在紫贻贝、缢蛏、泥蚶和青蛤中检测到腹泻性贝毒, 而其他几种贝类均未检出毒, 这说明紫贻贝、缢蛏、泥蚶和青蛤是腹泻性贝毒敏感种, 较其他种类易富集腹泻性贝毒。

此次检测的 40 个样品中, 生态习性为野生的样品有 9 个, 其中含腹泻性贝毒的有 1 个, 检出率为 11.1%, 未超标; 生态习性为养殖的样品有 31 个, 其中含腹泻性贝毒的样品有 8 个, 检出率为 25.8%, 超标 7 个, 超标率为 22.6%。

# 3 讨论

## 3.1 腹泻性贝毒季节性分布特征

本实验分析结果表明, 浙南海域腹泻性贝毒的检出率较高, 已检出的样品毒性也较高, 9 个检出样品中有 7 个超标。各季节都有检出腹泻性贝毒, 就整体检出率而言, 夏季>春季>秋季, 而超标率也呈现夏季>春季>秋季的特征。

软海绵酸是腹泻性贝毒的主要成分, 腹泻性贝毒检测方法也是以它为主要对象进行研究。本实验

表 1 浙南海域经济贝类腹泻性贝毒检测结果

Tab. 1 DSP in shellfishes collected from the coastal waters of south Zhejiang

| 采样时间<br>(年.月) | 采样地点 | 贝类种类  | 学 名                           | 生态习性 | DSP<br>( $\mu\text{g/g}$ ) |
|---------------|------|-------|-------------------------------|------|----------------------------|
| 2009.5        | 洞头岛  | 疣荔枝螺  | <i>Purpura davigera</i>       | 野生   | 未检出                        |
| 2009.5        | 洞头岛  | 藤壶    | <i>Balanus</i> sp.            | 野生   | 未检出                        |
| 2009.5        | 灵昆岛  | 文蛤    | <i>Meretrix meretrix</i>      | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.5        | 乐清清江 | 缢蛏    | <i>Sinnovaluca constricta</i> | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.5        | 乐清清江 | 泥蚶    | <i>Tegillarca granosa</i>     | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.5        | 乐清清江 | 青蛤    | <i>Cyclina sinensis</i>       | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.5        | 乐清清江 | 太平洋牡蛎 | <i>Crassostrea gigas</i>      | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.6        | 苍南霞关 | 缢蛏    | <i>Sinnovaluca constricta</i> | 养殖   | 0.47                       |
| 2009.6        | 苍南霞关 | 紫贻贝   | <i>Mytilus edulis</i>         | 野生   | 0.07                       |
| 2009.8        | 乐清东山 | 太平洋牡蛎 | <i>Crassostrea gigas</i>      | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.8        | 洞头岛  | 疣荔枝螺  | <i>Purpura davigera</i>       | 野生   | 未检出                        |
| 2009.8        | 洞头岛  | 牡蛎    | <i>Ostrea</i> sp.             | 野生   | 未检出                        |
| 2009.8        | 玉环   | 缢蛏    | <i>Sinnovaluca constricta</i> | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.8        | 西门岛  | 泥蚶    | <i>Tegillarca granosa</i>     | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.8        | 西门岛  | 缢蛏    | <i>Sinnovaluca constricta</i> | 养殖   | 2.77                       |
| 2009.8        | 洞头岛  | 泥蚶    | <i>Tegillarca granosa</i>     | 养殖   | 1.06                       |
| 2009.8        | 洞头岛  | 缢蛏    | <i>Sinnovaluca constricta</i> | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.8        | 龙湾   | 泥蚶    | <i>Tegillarca granosa</i>     | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.8        | 龙湾   | 缢蛏    | <i>Sinnovaluca constricta</i> | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.8        | 灵昆岛  | 泥蚶    | <i>Tegillarca granosa</i>     | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.8        | 灵昆岛  | 缢蛏    | <i>Sinnovaluca constricta</i> | 养殖   | 0.47                       |
| 2009.8        | 瑞安   | 泥蚶    | <i>Tegillarca granosa</i>     | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.8        | 瑞安   | 文蛤    | <i>Meretrix meretrix</i>      | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.8        | 平阳   | 泥蚶    | <i>Tegillarca granosa</i>     | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.8        | 平阳   | 缢蛏    | <i>Sinnovaluca constricta</i> | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.8        | 苍南   | 泥蚶    | <i>Tegillarca granosa</i>     | 养殖   | 0.73                       |
| 2009.8        | 苍南   | 缢蛏    | <i>Sinnovaluca constricta</i> | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.8        | 南麂岛  | 厚壳贻贝  | <i>Mytilus. coruscus</i>      | 野生   | 未检出                        |
| 2009.8        | 南麂岛  | 太平洋牡蛎 | <i>Crassostrea gigas</i>      | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.8        | 南麂岛  | 紫贻贝   | <i>Mytilus edulis</i>         | 养殖   | 5.85                       |
| 2009.8        | 温岭   | 厚壳贻贝  | <i>Mytilus. coruscus</i>      | 野生   | 未检出                        |
| 2009.8        | 温岭   | 疣荔枝螺  | <i>Purpura davigera</i>       | 野生   | 未检出                        |
| 2009.8        | 温岭   | 紫贻贝   | <i>Mytilus edulis</i>         | 养殖   | 0.42                       |
| 2009.9        | 苍南巴槽 | 厚壳贻贝  | <i>Mytilus. coruscus</i>      | 野生   | 未检出                        |
| 2009.11       | 灵昆岛  | 文蛤    | <i>Meretrix meretrix</i>      | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.12       | 灵昆岛  | 文蛤    | <i>Meretrix meretrix</i>      | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.12       | 乐清清江 | 缢蛏    | <i>Sinnovaluca constricta</i> | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.12       | 乐清清江 | 泥蚶    | <i>Tegillarca granosa</i>     | 养殖   | 未检出                        |
| 2009.12       | 乐清清江 | 青蛤    | <i>Cyclina sinensis</i>       | 养殖   | 0.18                       |
| 2009.12       | 乐清清江 | 太平洋牡蛎 | <i>Crassostrea gigas</i>      | 养殖   | 未检出                        |

也是以 OA 含量来表示腹泻性贝毒含量。考虑到可能存在其他成分的腹泻性贝毒如 DTX1, 实际腹泻性贝毒含量可能会更高。

腹泻性贝毒主要来源于鳍藻, 浙南海域分布着具尾鳍藻<sup>[9]</sup>, 这就为贝类富集腹泻性贝毒提供了条件。虽然在该海域具尾鳍藻不是优势种, 但因该海域

营养盐充足,具尾鳍藻相对于中肋骨条藻等优势浮游生物没有较高的细胞丰度,但其长期以一定数量存在时,客观上为贝类摄食提供了更为丰富的选择,腹泻性贝毒经食物链传递在贝体内吸收、富集的可能性也大为提高。另外浙南海域在不同季节受江浙沿岸流、台湾暖流和浙南上升流影响,不仅群落种类组成更迭频繁,群落中各生物种群之间的数量关系也经常变化,为群落中少数具有高度生态适应能力的种类提供繁殖生长的机会。这也可能造成具尾鳍藻在适宜的条件下间断性地成为优势种,贝类摄食后累积腹泻性贝毒的几率增大,这些都可能是浙南海域各季节都有腹泻性贝毒分布的重要原因。而春、夏季腹泻性贝毒检出率和超标率高于秋季的原因可能与春夏季赤潮爆发频繁有关。根据以往的资料显示<sup>[2-7]</sup>,浙南海域的赤潮主要发生在4~7月,也即春、夏季,此时毒素转移、积累在贝体内的几率相应也增大。

### 3.2 腹泻性贝毒地域分布特征

本次调查结果表明,不同海域的腹泻性贝毒分布是有差异的,南麂列岛海域腹泻性贝毒检出率和超标率比乐清湾海域和瓯江口海域都高。反应出该海区腹泻性贝毒分布最广,含量最高。

出现这种地域性分布特征可能与有毒藻的分布及丰度有关。南麂列岛海域有毒藻的丰度较其他海域为高。南麂列岛海域是浙江沿岸流与台湾暖流交汇和交替消长的区域,流系复杂,锋面发达,水色终年较清,这些独特而多样的生态环境为浮游植物的生长和繁衍提供了十分理想的条件。另外影响藻类地理分布的一个重要原因是温度。各种藻类都有其生长和繁殖的水温范围,海水温度常决定着藻类的地理分布。相对于乐清湾海域和瓯江口海域,南麂列岛海域的水温更适宜藻类的大量繁殖。

不可否认,贝类染毒是多种因素综合作用的结果,除了与毒素来源生物,生境的群落结构,水环境理化参数等外因有关外,还与贝类对藻类的摄食率、滤水率,对毒素的吸收代谢能力,贝类的个体生理差异等内因有关。腹泻性贝毒地域分布差异的确切原因仍需深入的研究。

### 3.3 腹泻性贝毒累积的种间特征

此次检测的10种40份贝类中,检测出腹泻性贝毒的分别是1份野生紫贻贝,1份养殖青蛤,2份养殖紫贻贝,2份养殖泥蚶,3份养殖缢蛏。后面三类覆盖了所有的超标样品。

可以看出,养殖的贝类无论检出率还是超标率均高于野生的贝类。养殖区多为浅海水域,水体交换速度慢,水体自净能力较弱。筏式养殖的高度发达,养殖排、架密度过大,使水流更不畅,分布更为集中<sup>[10]</sup>。这就造成一方面大量生物代谢物无法及时为底栖生物消耗和海水微生物分解,另一方面投放的饵料难以完全消化,导致沉积。长期密集养殖使这些海区积累大量的氮、磷等营养物质,致使局部地区出现富营养化,在这样的情况下,一旦受季风流、气候等影响,出现合适的水温、盐度条件,便会引起浮游生物的大量繁殖,引发赤潮<sup>[11]</sup>,上述原因造成养殖区贝类腹泻性贝毒检出率高于野生贝类的特征。

紫贻贝对腹泻性贝毒有良好的吸收富集能力,对毒素的累积较其他贝类更为优先<sup>[12]</sup>,因此在紫贻贝中的检出率和含量较高。腹泻性贝毒来源不仅仅限于营养型游动藻细胞,单细胞藻经常以孢囊的形式存在于海底沉积物中,这些有毒孢囊如果被生长在海底或滩涂上的贝类摄食,毒素相应地会转移到贝体中,这可能也是泥蚶、缢蛏和青蛤中贝毒检出率高的原因。

参考文献:

- [1] 杨维东,彭喜春,刘洁生,等. 腹泻性贝毒研究现状[J]. 海洋科学, 2005, 29(5): 66-72.
- [2] 温州市海洋与渔业局. 2003年温州市海洋环境质量公报[R]. 温州: 温州市海洋与渔业局, 2004.
- [3] 温州市海洋与渔业局. 2004年温州市海洋环境质量公报[R]. 温州: 温州市海洋与渔业局, 2005.
- [4] 温州市海洋与渔业局. 2005年温州市海洋环境质量公报[R]. 温州: 温州市海洋与渔业局, 2006.
- [5] 温州市海洋与渔业局. 2006年温州市海洋环境质量公报[R]. 温州: 温州市海洋与渔业局, 2007.
- [6] 温州市海洋与渔业局. 2007年温州市海洋环境质量公报[R]. 温州: 温州市海洋与渔业局, 2008.
- [7] 温州市海洋与渔业局. 2008年温州市海洋环境质量公报[R]. 温州: 温州市海洋与渔业局, 2009.
- [8] 中国标准化工作委员会. SN 0294-93 出口贝类腹泻性贝类毒素检验方法[S]. 北京: 北京标准出版社, 1993.
- [9] 陈舜,李扬,李欢,等. 南麂列岛海域浮游植物的群落结构研究[J]. 海洋环境科学, 2009, 28(2): 170-175.
- [10] 尤仲杰,徐善良,谢起浪. 浙江沿岸的贝类资源及其增养殖[J]. 东海海洋, 2000, 18(1): 50-56.
- [11] 吴施卫,张纯超,卢楚谦,等. 南海近岸海域腹泻性贝类毒素分析[J]. 海洋环境科学, 2005, 24(4): 48-51.
- [12] 戴红,李奶姜,陈国斌. 福建三都湾赤潮监控区的麻痹性贝毒和腹泻性贝毒研究[J]. 海洋环境科学, 2005, 24(1): 44-47.

(下转第 53 页)