

广西北部湾沿海市售贝类脂溶性毒素污染分析及食用风险评价

江姗姗¹, 张晨晓²

1. 广西大学 轻工与食品工程学院, 广西 南宁 530004

2. 北部湾大学 食品工程学院/广西高校北部湾海产品高值化利用与预制食品重点实验室, 广西 钦州 535011

摘要: 脂溶性贝类毒素分布广泛, 可通过食物链传递, 对消费者健康构成巨大威胁。广西北部湾海域是我国重要的海水养殖区, 其贝类产量占比超过一半。为评估广西北部湾沿海居民因摄食贝类而引起的脂溶性贝类毒素摄入风险, 并为建立毒素限量标准提供科学依据, 采用液相色谱串联质谱法 (LC-MS/MS) 分析脂溶性贝类毒素含量, 24 h 膳食回顾法调查居民连续 7 d 的海产品进食情况, 应用海洋生物毒素点评估方法, 计算膳食中每日毒素摄入量 (Estimated daily intake, ESI), 对照欧洲食品安全局推荐的急性参考剂量 (Acute reference dose, ARfD) 值, 评价其食用安全性。结果显示: 检出的 4 种毒素含量均低于欧盟规定的安全限量值。检出率由高到低依次为环亚胺类毒素 (Gymnodimine, GYM)(83.02%)、大田软海绵酸 (Okadaic acid, OA)(51.16%)、鳍藻毒素 (Dinophysis toxin, DTX-2)(40.91%) 和虾夷扇贝毒素 (Homo-yessotoxin, Homo-YTX)(8.6%), 检出的最高质量分数分别为 105.4、31.39、38.19 和 159.66 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$; 毒素含量存在季节和物种差异, 牡蛎秋季 GYM 含量最高, 冬季 OA 含量最高。DTX-2 更易在秋冬季样品中检出, Homo-YTX 仅在夏秋季扇贝和贻贝样品中检出。膳食调查结果显示当地居民贝肉日平均消费量为 45 $\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ 。以当地居民贝肉食用量和人体质量数据估算, OA 组毒素 ESI 值为 0.26 $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$, 小于欧盟规定的 ARfD 值 [0.3 $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$]。但若以欧盟提供的贝肉食用量和人体质量数据估算, ESI 值 [0.34 $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$] 则高于 ARfD 值。研究表明, 虽然广西北部湾沿海市售贝类产品中脂溶性贝类毒素检出值低于欧盟规定的安全限量值, 但当地居民存在 OA 组毒素膳食暴露风险。

关键词: 脂溶性贝类毒素; 膳食暴露风险评估; 北部湾

中图分类号: TS 254.2

文献标志码: A

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



Pollution analysis and dietary exposure risk assessment of lipophilic toxins in shellfish from Beibu Gulf seafood market in Guangxi Province

JIANG Shanshan¹, ZHANG Chenxiao²

1. College of Light Industry and Food Engineering, Guangxi University, Nanning 530004, China

2. College of Food Engineering, Beibu Gulf University/Guangxi College and University Key Laboratory of High-Value Utilization of Seafood and Prepared Food in Beibu Gulf, Qinzhou 535011, China

Abstract: Lipophilic shellfish toxins are widely distributed and will be transmitted to consumers through the food chain, posing a great threat to human health. The Beibu Gulf in Guangxi Province is an important mariculture area in China, accounting for more than half of the national output. To estimate the potential dietary exposure risk of coastal residents in that area, and to provide a scientific basis for the establishment of toxin limit standards, we analyzed the contents of lipophilic shellfish toxins by

收稿日期: 2023-02-17; 修回日期: 2023-02-24

基金项目: 广西重点研发计划项目 (桂科 AB19110020)

作者简介: 江姗姗 (1995—), 女, 硕士研究生, 研究方向为海洋贝类毒素。E-mail: jss15056254097@163.com

通信作者: 张晨晓 (1975—), 女, 教授, 博士, 研究方向为海产品加工与质量安全。E-mail: zhangcx@bbgu.edu.cn

liquid chromatography tandem mass spectrometry. We have used a 24-hour dietary review method to investigate the consumption of marine products by coastal residents for seven consecutive days. Then we calculated the value of estimated daily intake (ESI) of toxins in the diet by using the marine biological toxin point assessment method, and evaluated the edible safety by comparing with the acute reference dose (ARfD) recommended by the European Food Safety Agency. The proportion of samples contaminated with toxins followed a descending order of gyrodimine (GYM) (83.02%), okadaic acid (OA) (51.16%), dinophys toxin (DTX-2)(40.91%) and homo-yessotoxin (Homo-YTX) (8.6%), with the peak values of 105.4, 31.39, 38.19 and 159.6 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, respectively. The concentrations of toxins varied with different seasons and species. Among the six kinds of shellfish, the highest contents of OA and GYM were found in oyster samples, and the peak values were found in winter and autumn samples, respectively. The contents of DTX-2 in autumn and winter samples were significantly higher than those in spring and summer samples. Homo-YTX was only detected in scallop and mussel samples in summer and autumn. Dietary survey shows that the average daily shellfish consumption of coastal residents in Beibu Gulf was 45 $\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$. The ESI value in OA toxin was estimated to be 0.26 $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ based on the shellfish consumption and body masses of local residents, less than the ARfD value [0.3 $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$] set by the European Union (EU). However, based on the shellfish consumption and body masses of local residents provided by the EU, the ESI value [0.34 $\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$] was higher than the ARfD value. The results suggest that although the detection rate of lipophilic shellfish toxin in shellfish samples was lower than the safe limit value set by the EU, there is a risk of dietary exposure to OA toxin for the Beibu Gulf residents.

Keywords: Lipophilic shellfish toxins; Dietary exposure risk assessment; Beibu Gulf

海洋中存在产毒微藻, 双壳贝类由于其滤食性特征, 极易蓄积藻毒素, 进入贝类体内的藻毒素及其次生代谢产物通常称为贝类毒素^[1-2]。贝类毒素按化学结构分为8类: 石房蛤毒素 (Saxitoxin, STX)、软骨藻酸 (Domoic acid, DA)、原多甲藻毒素 (Azaspiracid, AZA)、短裸甲藻毒素 (Brevetoxin, BTX)、环亚胺 (Cyclic imines, CI)、大田软海绵酸 (Okadaic acid, OA)、扇贝毒素 (Pectenotoxin, PTX) 和虾夷扇贝毒素 (Yessotoxin, YTX), 根据其溶解性分为脂溶性贝类毒素和水溶性贝类毒素^[3-5]; 除 STX 和 DA 外, 其余均为脂溶性贝类毒素。脂溶性贝类毒素分布范围广, 易在贝类的脂肪内蓄积, 对消费者健康造成巨大危害。研究表明, OA 及其类似物鳍藻毒素 (Dinophysis toxin, DTXs) 可抑制蛋白磷酸酶, 导致中毒者出现腹泻、腹痛、呕吐等症状; AZAs 对肝脏、心肌产生毒性作用; 动物实验表明 CI 类毒素可作用于细胞的 L 型钙离子 (Ca^{2+}) 通道使动物快速死亡; YTXs 是一种较强的细胞毒素, 对肝脏有损伤作用^[6-10]。

广西北部湾海域是我国重要的海水养殖区, 其海水养殖产量位居中国沿海地区第五, 2020 年产量为 150 万吨, 其中贝类产量占比过半^[11]。近年来监测发现: 广西北部湾贝类中普遍存在脂溶性贝类毒素污染; 2017—2018 年钦州湾养殖的近江牡蛎 (*Crassostrea rivularis*) 普遍污染脂溶性贝类毒素^[12]。2018—2019 年对广西北部湾海域贝类中脂溶性藻

毒素污染调查发现, 环亚胺毒素 (Gymnodimine, GYM) 普遍存在, 牡蛎中检出率最高的毒素为 OA 和 GYM^[13]。物种不同、季节变化等因素均会影响脂溶性贝类毒素的蓄积。2014—2017 年, 欧盟监测的 18 862 个贝类样本中, OA 含量在春季达到最大值, 而 DTX-2 几乎仅在秋冬季检测到, YTXs 含量在 8—9 月最高^[14-15]; 在 2017—2020 年采自中国东南沿海的 1 338 份贝类样本中, 贻贝、扇贝对亲脂性毒素的蓄积水平高于牡蛎、蛤蜊, PTX-2 和 Homo-YTX 分别在 6 和 7 月达到最大值, OA 在 8 月达到最大值^[16]。

目前, 广西北部湾地区尚未见有因食用贝类而引发大范围中毒事件的报道, 但我国曾发生与贻贝中 OA 和 DTX-1 相关的中毒事件和有微藻暴发的记录^[17-18]。有害藻类事件数据库 (Harmful algae event database, HAEDAT) 中记录了太平洋和大西洋沿岸与脂溶性贝类毒素相关的中毒事件共 648 起^[17,19]。因此, 脂溶性贝类毒素监测是贝类食用安全性评估的重要内容之一。在分析深圳市市售贝类产品中脂溶性贝类毒素的基础上, 结合当地居民膳食调查数据发现, 深圳居民食用贝类产品的急性风险评估值均低于欧盟规定的急性参考值^[17]。有研究表明, 2017—2018 年钦州湾养殖的近江牡蛎食用安全风险较低, 但该评估是以欧盟成员国居民膳食数据为基础^[12]。由于各地饮食习惯不同, 所食贝类染毒情况存在差异, 目前尚缺乏根据本地居民

贝肉摄入量和本地居民人体质量等膳食数据进行的食用风险评估。贝类产品是北部湾沿海居民日常膳食的重要组成部分,调查广西北部湾沿海居民膳食中贝类产品摄入情况,分析贝类毒素污染特征,并对居民膳食贝类产品而引发的食用风险进行评价,可为建立毒素限量标准提供科学依据。本研究于2021年11月—2022年10月分别在春、夏、秋、冬四季收集北部湾沿海3市(钦州、北海、防城港)居民最常食用的6种贝类,共228份样品。对贝类中9种脂溶性毒素含量和分布特征进行分析,包括OA、DTX1/2、AZA1/3、GYM、SPX1和YTX、Homo-YTX。结合膳食调查数据,评估了当地居民脂溶性贝类毒素的急性和慢性暴露风险。

1 材料与方法

1.1 化学试剂与仪器

OA、DTX1/2、AZA1/3、GYM、SPX1和YTX、Homo-YTX标准品(加拿大海洋生物研究所);甲醇、乙腈(质谱纯,美国Sigma公司)。

TGL-16M台式高速冷冻离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司);VORTEX-6旋涡混匀器(上海五久自动化设备有限公司);液相色谱-质谱联用仪(Liquid Chromatograph Mass Spectrometer) UPLC-MS/MS Waters UPLC (I-class)(美国Waters公司);三重四级杆质谱 Waters Xevo TQ-S Micro (美国Waters公司);色谱柱: Waters ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 mm×50 mm)。

1.2 样品采集

2021年11月—2022年10月按季度从广西北部湾沿海3市、7个主要海鲜批发市场(钦州市:钦州港、东风、鸿发3个市场;北海市:侨港、南珠2个市场;防城港市:月亮湾、企沙镇2个市场)收集贝类样品。其中,钦州市90份样品,夏季24份,春、秋、冬季各22份;北海市72份样品,每季度采集18份;防城港市66份样品,冬季18份,春、夏、秋季各采集16份。贝类来源通过分销商收集。采集的贝类品种为牡蛎、贻贝、扇贝、平蛤蜊、栉江珧、蛏子6种,样品置于冰盒中,4 h内运回实验室进行处理。

1.3 样品制备与毒素提取

新鲜贝类样品用自来水清洗干净后,再用纯净水冲洗,去壳,沥干水分,全肉匀浆,匀浆处理后

的样品于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,直至毒素提取。

取待测样品 $[(1.00\pm 0.02)\text{ g}]$ 加入3 mL甲醇,涡旋混匀($300\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 3 min),混合物($4\text{ }^{\circ}\text{C}$, $8\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$)离心10 min,将上清液转移至10 mL容量瓶中,重复3次,合并的上清液定容至10 mL,通过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 聚酰胺尼龙过滤器过滤到进样瓶中, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储存直至进行LC-MS/MS分析。由于OA组毒素易发生酯化反应,需及时对贝肉毒素提取液水解后测定OA组毒素总量:取1 mL上述提取液于进样小瓶中,加入 $125\text{ }\mu\text{L}$ $2.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠(NaOH),涡旋0.5 min后 $76\text{ }^{\circ}\text{C}$ 加热40 min,待流水冷却至室温后用 $125\text{ }\mu\text{L}$ $2.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸(HCl)中和,通过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜后,于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,待进行LC-MS/MS分析。

1.4 LC-MS/MS测定条件与检测方法

毒素检测方法参考刘红河等^[20]和Qiu等^[21]。流动相A: 0.1% (体积分数) 甲酸+ $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲酸铵的水溶液;流动相B: 0.1% (体积分数) 甲酸+ $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲酸铵的乙腈溶液。流速: $0.35\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,进样量: $2\text{ }\mu\text{L}$,柱温: $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。质谱条件为:喷雾电压3.0 kV;锥孔电压30 V;脱溶剂温度 $400\text{ }^{\circ}\text{C}$;脱溶剂气(N_2) $1\,000\text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$,通过LC-MS/MS测定9种脂溶性贝类毒素,毒素质谱参数见表1。各毒素标准曲线的相关系数均大于0.99。

表1 9种脂溶性贝类毒素检测参数
Table 1 Detection parameters of nine lipophilic shellfish toxins

毒素 Toxin	电离模式 ESI mode	母离子 Precursor ion/(m/z)	子离子 Product ion/(m/z)	碰撞电压 Collision energy/eV
大田软海绵酸 OA	[M+H] ⁻	803.4	255, 563.2	-65, -55
鳍藻毒素1 DTX-1	[M+H] ⁻	817.5	255.1, 113.1	-65, -100
鳍藻毒素2 DTX-2	[M+H] ⁻	803.5	255.1, 563.2	-65, -55
虾夷扇贝毒素 YTX	[M+H] ⁻	1 141.5	1 061.5, 855.5	-65, -50
Homo-虾夷扇贝毒素 Homo-YTX	[M+H] ⁻	1 155.5	1 075.5, 869.5	-65, -50
环亚胺毒素 GYM	[M+H] ⁺	508.3	174.3, 490.3	50, 35
螺环内酯毒素 SPX1	[M+H] ⁺	692.5	444.4, 674.4	45, 45
原多甲藻酸1 AZA1	[M+H] ⁺	842.5	806.5, 824.5	40, 50
原多甲藻酸3 AZA3	[M+H] ⁺	828.5	810.4, 792.5	40, 50

1.5 膳食消费量调查

参照“中国居民营养与健康状况监测总体方案”^[22], 采用分层抽样方法对钦州、北海、防城港3市共450户家庭合计1204名常住成年居民进行24 h膳食回顾法调查, 问卷调查内容包括性别、年龄、体质量、摄入海产品的种类(鱼类、贝类、藻类、头足类、甲壳类)、食用频率、食用量等。膳食调查由经过培训的调查员入户访问, 对调查户成年家庭成员采用询问调查的方式, 让被调查者回忆调查24 h内进食海产品情况, 记录在家和在外所食用的全部海产品, 统计居民连续7 d海产品进食情况。

1.6 膳食暴露风险评估

广西北部湾沿海居民脂溶性贝类毒素暴露评估依据《食品中化学品风险评估的原则和方法》(WHO & FAO, 2009), 采用海洋生物毒素点评估方法, 分别计算膳食中每日毒素摄入量^[22-23]。单位体质量脂溶性贝类毒素每日摄入量(Estimated daily intake, ESI)按照公式(1)计算:

$$Q_{\text{ESI}} = (C_1 \times M / m_b) \times 10^{-3} \quad (1)$$

式中: Q_{ESI} 为每日单位体质量海洋生物毒素的摄入量 [$\mu\text{g} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$]; C_1 为某种水产品中某种海洋生物毒素的质量分数 ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$); M 为某种水产品日消费量 ($\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$); m_b 为人体质量 (kg)。将计算得到的 ESI 值与欧洲食品安全局推荐的急性参考剂量 (Acute reference dose, ARfD) 进行比较, 评价其安全性。ARfD 值指消费者在 24 h 或更短时间内从食物或饮水中摄取某种物质而对其健康无明显危害的估计量^[19,23]。

急性膳食暴露评估采用两组数据进行评估, 毒素浓度采用检出的最大值, 第一组采用广西北部湾沿海居民每日 P_{99} (去除 1% 的高值数据, 第 99% 分位的贝肉食用量) 贝肉消费量与居民平均体质量数据, 第二组采用欧盟食品安全委员会评估毒素急性参考剂量指定的数据 (贝肉 400 g, 人体质量 60 kg)。慢性膳食暴露评估采用毒素检出值的平均值, 第一组贝肉消费量为日均消费量, 第二组为每日 P_{99} 贝肉消费量。

1.7 数据处理

描述性统计相关图形通过 Origin 2021 软件生成, 采用 IBM SPSS 26.0 软件对毒素在贝类中的含量和季节性变化进行分析, 显著性水平设置为 0.05

($P < 0.05$), 所有实验均设置 3 个平行样 ($n=3$)。

2 结果

2.1 脂溶性毒素检出率及含量

所采集的 228 份贝类样品中, 203 份来自钦州、北海、防城港, 其余 25 份来自湛江、威海、广州; 牡蛎样品均来自广西北部湾。189 份样品检测到脂溶性贝类毒素, 73 份样品只检出 1 种毒素 (GYM), 116 份样品检出 2 种及以上脂溶性贝类毒素。在检测的 9 种毒素中, 检出了 GYM、OA、DTX-2、Homo-YTX 共 4 种毒素, 其余 5 种均未检出。GYM 尚无推荐参考值, OA、DTX-2、Homo-YTX 检出的最高含量均低于欧盟规定的限量值 (OA、DTX-2 的质量分数 $\leq 160 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, Homo-YTX 的质量分数 $\leq 1\,000 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[9,24]。检测结果见表 2, GYM 全年检出率最高, 在牡蛎、贻贝、蛤蜊中为 100%, 在栉江珧和扇贝中为 60%。

表2 贝中脂溶性贝类毒素检出率及含量
Table 2 Detection rates and contents of lipophilic shellfish toxins in shellfish samples

脂溶性贝类毒素 Lipophilic shellfish toxin	检出值范围/ Detection range/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	平均检出值 Mean/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	检出率 Detection rate/%
环亚胺毒素 GYM	0.12~105.54	33.1	83.02
螺环内酯毒素 SPX1	ND	ND	ND
大田软海绵酸 OA	0.34~31.39	7.97	51.16
鳍藻毒素1 DTX-1	ND	ND	ND
鳍藻毒素2 DTX-2	0.29~38.19	7.65	40.91
原多甲藻酸1 AZA1	ND	ND	ND
原多甲藻酸3 AZA3	ND	ND	ND
虾夷扇贝毒素 YTX	ND	ND	ND
Homo-虾夷扇贝毒素 Homo-YTX	3.83~159.66	47.97	8.60

注: ND 表示未检出。

Note: ND. Not detected.

2.2 脂溶性毒素的物种分布特征

如图 1 所示, 检出的 4 种贝类毒素在 6 种贝类的分布中呈现明显的物种差异, GYM 在贝类中的分布较为普遍, 所有的牡蛎、蛤蜊、贻贝样品均有检出, 75% 的扇贝有检出。牡蛎样品中的质量分数相差较大。OA 在 6 种贝类中的分布相似, 检出率为 46.15%~62.5%, 其在牡蛎、贻贝、扇贝、平

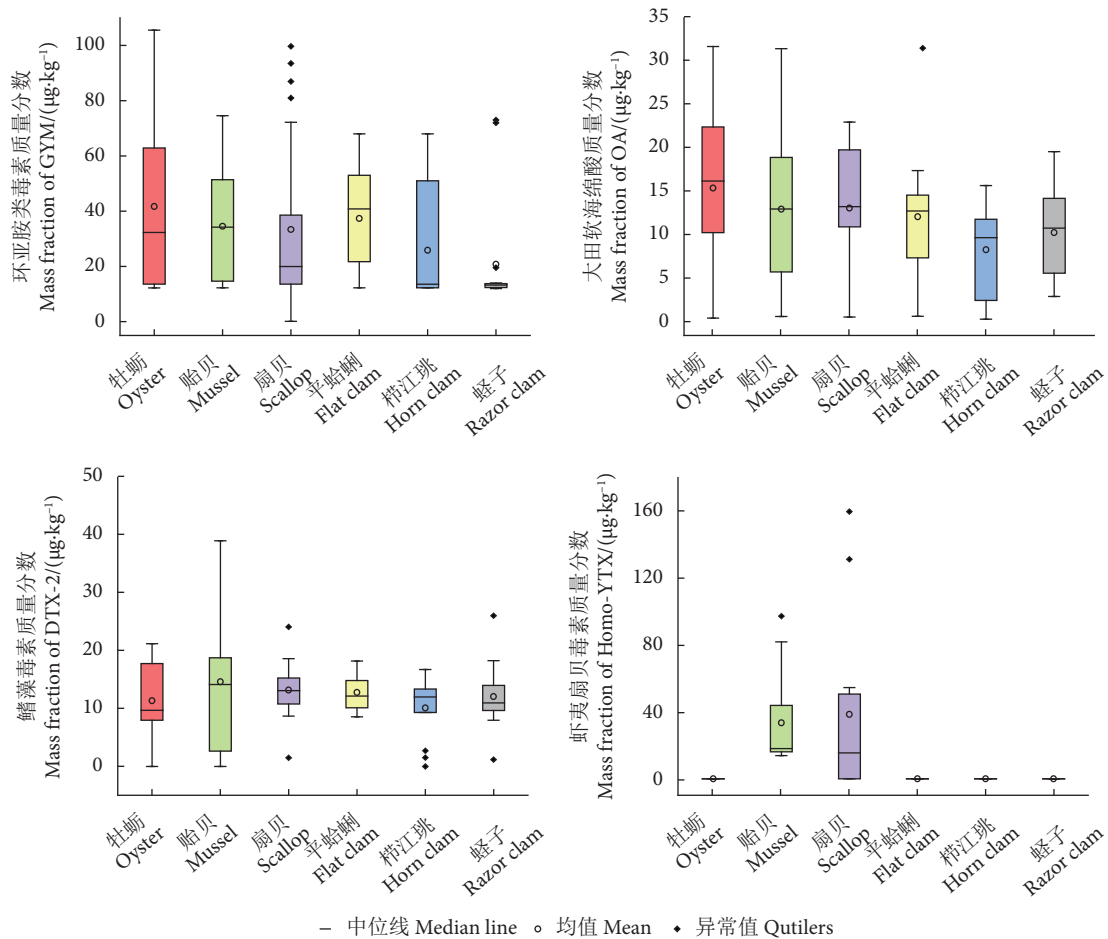


图1 贝类样品中脂溶性贝类毒素质量分数

Fig. 1 Mass fractions of lipophilic shellfish toxins in different shellfish samples

蛤蜊、栉江珧和蛭子检出的均值差值较小,分别为12.14、12.94、13.06、12.70、7.34和10.26 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。DTX-2在牡蛎和贻贝中的质量分数与其他贝类相比差异明显,在贻贝样品中检出的最高质量分数(38.19 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)是最低值(0.39 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)的近100倍,差异较大。Homo-YTX仅在扇贝和贻贝样品中检出。

2.3 脂溶性毒素季节变化特征

贝类样品中的脂溶性贝类毒素含量呈现出明显的季节性变化(图2)。秋冬季GYM的检出值普遍较高,而春夏季较低。春夏季,蛭子和栉江珧样品中GYM的检出值较低(1.22~1.29 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。秋季,牡蛎样品中GYM检出值最高(70.22 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$),扇贝和贻贝样品也达到最大值。冬季,平蛤蜊、牡蛎、扇贝和贻贝样品中GYM的检出值与其他季节相比有显著性差异($P<0.05$)。

春夏季样品中OA检出率及检出值较夏秋季的高。牡蛎、贻贝、扇贝、平蛤蜊、蛭子样品中OA检出值在冬季达到最高,分别为22.47、

20.53、15.98、16.74、15.23 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。春夏季样品中,牡蛎中OA的检出率分别为83.33%和87.5%,栉江珧检出率均为50%。贻贝冬季样品中OA检出率为50%。冬季贝类样品中OA检出值与夏季样品有显著性差异($P<0.05$)。

秋冬季样品与春夏季样品中DTX-2检出值有显著性差异($P<0.05$)。春夏季样品中,除贻贝外,DTX-2的检出率均在20%以下。贻贝春季样品检出率为66.67%,检出均值为1.43 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。Homo-YTX仅在扇贝和贻贝样品中检出,夏秋季贻贝样品中Homo-YTX的检出率为66%,检出均值分别为15.98、50.92 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。扇贝只在秋季样品检出Homo-YTX,检出最高值为159.66 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

2.4 广西北部湾沿海居民膳食中贝类摄入量

分别于2021年8月和10月对广西北部湾沿海钦州、北海、防城港3市共450户家庭,合计1204位常住成年居民的膳食开展问卷调查,年龄介于18~60岁,其中男性占比52%,女性占比48%。

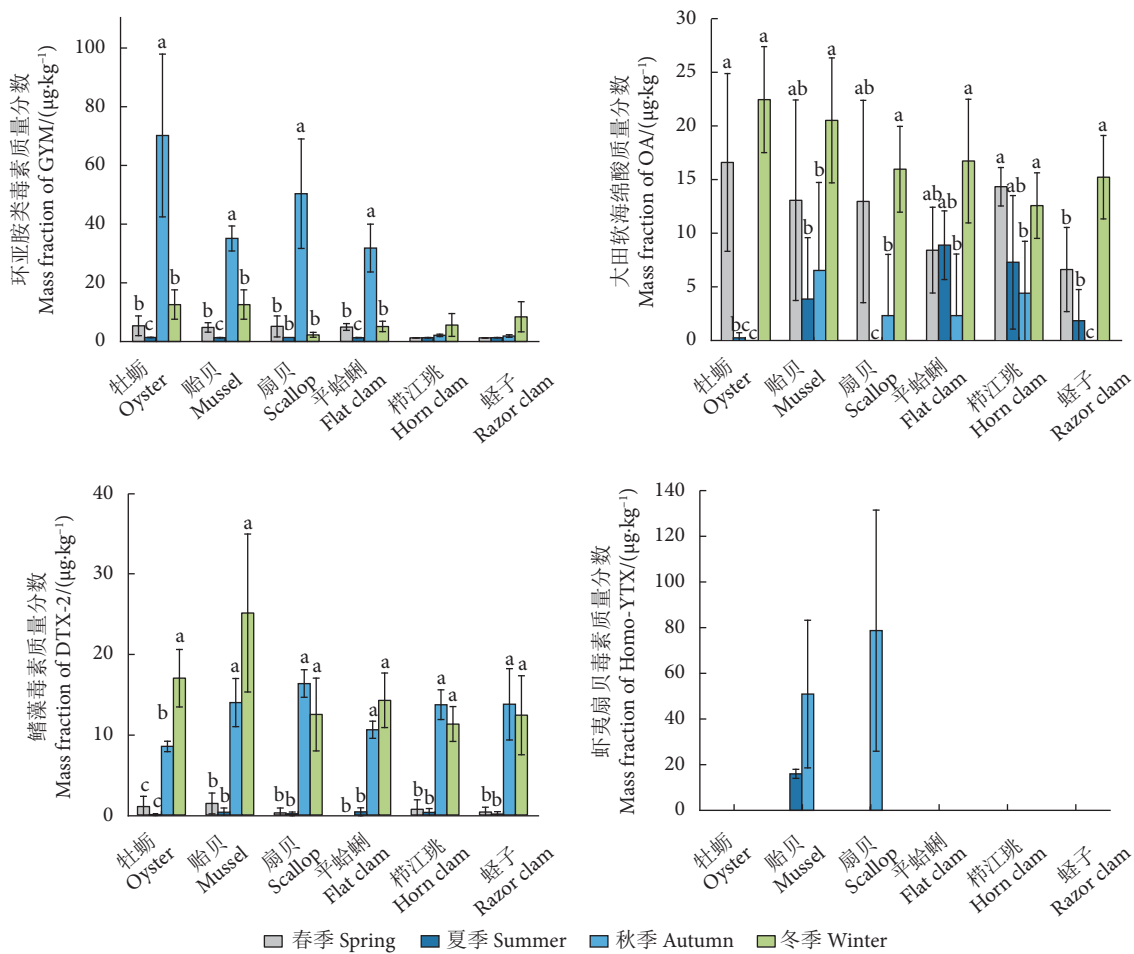


图2 不同季节脂溶性贝类毒素质量分数

注: 同一图中标有不同字母表示有显著性差异 ($P<0.05$)。

Fig. 2 Mass fractions of lipophilic shellfish toxins in shellfish in four seasons
Note: Different letters within the same figure indicate significant differences ($P<0.05$).

调查结果显示, 所调查居民的平均体质量为 54.5 kg, 海产品日均消费量为 122 g, 其中贝类消费占比为 36.9% (图 3), 所食贝类种类及食用量如图 4 所示。广西北部湾沿海居民所食贝类品种主要为牡蛎、扇贝、贻贝、蛏子、栉江珧和平蛤蜊, 牡蛎肉消费量为 $15.3\text{ g}\cdot\text{d}^{-1}$, 位列该地区居民所食贝类的首位。居民日均贝肉消费量为 45 g, 居民日贝肉 P_{99} (将居民每日贝肉消费量从低到高排序, 第 99 分位的消费量即为 P_{99} 值) 的消费量为 205 g。

2.5 居民脂溶性贝类毒素暴露风险评估

在国标 GB 2733—2015 中, 采用小鼠生物测试法限定了水产品中麻痹性毒素 (Paralytic shellfish poisoning, PSP)、腹泻性毒素 (Diarrhetic shellfish poisoning, DSP) 的限量值 ($\text{PSP}\leq 4\text{ MU}\cdot\text{g}^{-1}$, $\text{DSP}\leq 0.05\text{ MU}\cdot\text{g}^{-1}$), 并于 2016 年颁布了腹泻性贝类毒素的检测方法 (GB 5009.212—2016), 但目前对贝类中的毒素浓度尚无具体的参考值。在食品安全评估

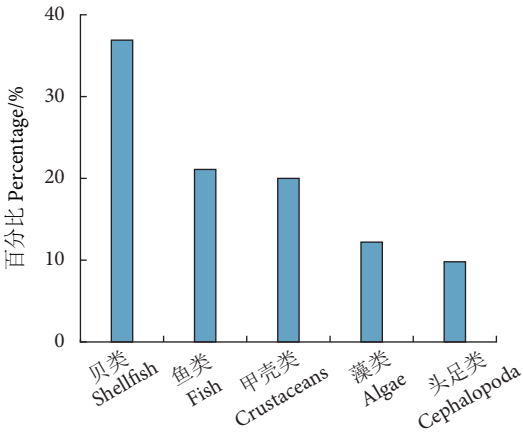


图3 广西北部湾沿海居民海产品摄入种类分布

Fig. 3 Distribution of seafood species intake by residents in Beibu Gulf in Gangxi Province

时往往参考欧洲食品安全委员会对脂溶性贝类毒素的监管限量和急性暴露参考值。部分参考值如表 3 所示。

急性暴露风险评估结果如表 4 所示, 第一组评

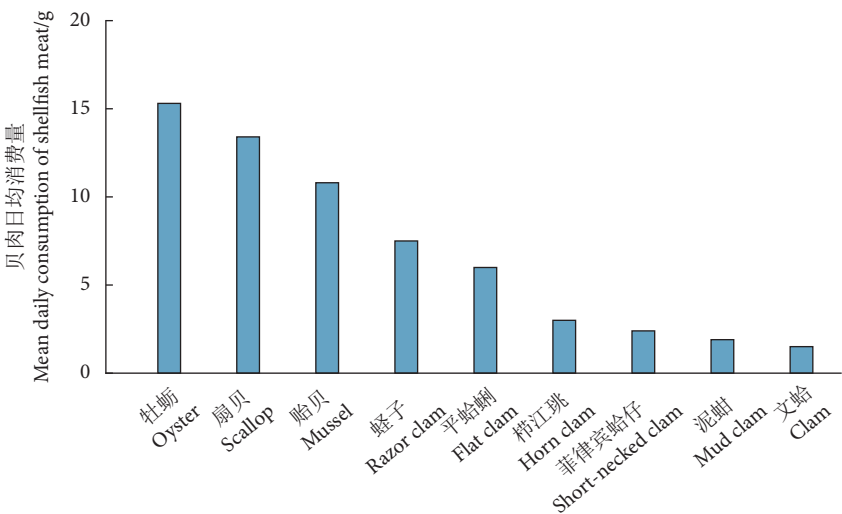


图4 广西北部湾沿海居民贝肉日均消费量

Fig. 4 Mean daily shellfish meat consumption of residents in Beibu Gulf in Guangxi Province

表3 脂溶性贝类毒素的毒性等效因子与急性参考值

Table 3 Toxic equivalent factors and ARfD of some shellfish toxins

毒素组 Toxin group	毒素 Toxin	毒性等效因子 Toxion equivalence factor	急性参考剂量 ARfD/[μg·(kg·d) ⁻¹]	参考文献 Reference
大田软海绵酸 OA	大田软海绵酸 TOA	1	0.3	[6, 25]
	鳍藻毒素1 TDTX-1	1		
	鳍藻毒素2 TDTX-2	0.6		
虾夷扇贝毒素 YTXs	Homo-虾夷扇贝毒素 THomo-YTX	1	25	[9, 25]
	45-OH-虾夷扇贝毒素 T45-OH-YTX	1		
	45-OH-Homo虾夷扇贝毒素 T45-OH-Homo-YTX	0.5		

估数据以本地居民膳食调查得到的贝肉消费量和人体质量估算，OA 组毒素 ESI 值为 $0.26\text{ }\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ ，小于欧盟规定的 ARfD 值 [$0.3\text{ }\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$]。第二组 ESI 值以欧盟提供的贝肉消费量和人体质量数据 (400 g, 60 kg) 估算，OA 组毒素 ESI 值为 $0.34\text{ }\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ ，超过欧盟规定的 ARfD 值，这些评估结果表明虽然贝肉中 OA 含量较低，但由于该地区居民贝类食用量大，一定程度上存在 OA 组贝类毒素的膳食暴露风险。YTXs 的两组 ESI 值 [0.60 、 $1.06\text{ }\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$] 远低于欧盟规定的 ARfD 值 [$25\text{ }\mu\text{g}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$]，说明目前该地区居民 YTXs 毒素暴露风险较低。

慢性暴露风险分别以贝肉的日均消耗量和 P_{99} 消费量计算，毒素含量采用平均值，结果如表 5 所示。慢性接触剂量为急性接触剂量的 3%~4%，评估值可为慢性暴露极限值提供参考。

3 讨论

脂溶性毒素污染存在明显的物种差异。本研究结果显示，牡蛎、贻贝和扇贝比其他贝类更易沾染毒素，且毒素水平较高。不同物种对毒素的蓄积有明显差异。GYM 在所有贝类中均有检出，检出率最高。根据对广西北部湾沿海海域为期 1 年的毒素监测，发现 GYM 类毒素的全年检出率为 46.6%，且在牡蛎中的检出率最高 (92%)^[13]。中国南海、东海和渤海的贝类样本中均检测出 GYM^[16,26-29]，说明贝类中 GYM 污染在我国已十分普遍。OA 和 DTX-2 易在牡蛎和贻贝中蓄积，Homo-YTX 仅在扇贝和贻贝样品中检出。不同贝类蓄积毒素的差异与其规格、解毒率和生物转化率密切相关^[30-32]，不同贝类摄食时的最大过滤速率不同也是可能原因之一^[8,33]。

表4 广西北部湾沿海居民脂溶性贝类毒素急性暴露评估

Table 4 Acute dietary exposure to some shellfish toxins of residents in Beibu Gulf in Guangxi Province

毒素 Toxin	贝肉日P ₉₉ 消费量 P ₉₉ daily shellfish consumption/g	毒素检出的最大值 Maximum toxin detection value/(μg·kg ⁻¹)	每日摄入量 ESI/[μg·(kg·d) ⁻¹]		急性参考剂量 ARfD/[μg·(kg·d) ⁻¹]
			第一组 First group	第二组 Second group	
大田软海绵酸 OA	205	31.39	0.26	0.34	0.3
虾夷扇贝毒素 YTX		159.66			

表5 广西北部湾沿海居民脂溶性贝类毒素慢性暴露评估

Table 5 Chronic dietary exposure to some shellfish toxins of residents in Beibu Gulf in Guangxi Province

毒素 Toxin	贝肉日均消费 Daily shellfish consumption/g	毒素检出的均值 Mean toxin detection value/(μg·kg ⁻¹)	贝肉日P ₉₉ 消费量 P ₉₉ daily shellfish consumption/g	每日摄入量 ESI/[μg·(kg·d) ⁻¹]	
				第一组 First group	第二组 Second group
大田软海绵酸 OA	45	7.97	205	6.58×10 ⁻³	0.03
鳍藻毒素2 DTX-2		7.65		3.79×10 ⁻³	0.017
Homo-虾夷扇贝毒素 Homo-YTX		47.97		0.04	0.18

季节变化对贝类脂溶性毒素含量影响显著。秋冬季贝类样品中 GYM 含量普遍较高, 春夏季较低。牡蛎、扇贝和贻贝中 GYM 含量最高的均为秋季样品。春冬季样品 OA 检出率及检出值较夏秋季样品高, 最高含量出现在冬季样品中。冬季样品中 DTX-2 检出率和检出值均较其他季节高。仅在夏秋季贻贝样品和秋季扇贝中可检出 Homo-YTX。不同季节水温、光照等环境因素的变化会影响贝类中脂质代谢相关酶的活性从而影响其对毒素的代谢速率^[33-36]。有研究发现, 钦州湾地区香港牡蛎 (*C. hongkongensis*) 中脂溶性贝类毒素在冬季检出含量最高, 海水中毒素在夏季检出含量最高, 说明牡蛎中的毒素含量较海水有延迟^[11]。

广西北部湾沿海市售贝类脂溶性毒素含量低于欧盟标准, 但当地居民存在 OA 毒素暴露风险。膳食调查结果显示, 广西北部湾沿海居民膳食中贝肉的日均消费量高于其他地区, 牡蛎为消费量最大的贝类。贝肉日均消费量是深圳市居民 (4.5 g)^[17] 的 10 倍, 这与该地区特殊的地理位置及丰富的贝类资源有关。以本地居民贝肉消费量和人体质量数据估算的 OA 组毒素 ESI 值, 小于欧盟规定的 ARfD 值, 但是以欧盟提供的贝肉消费量和人体质量数据估算, OA 组毒素 ESI 值超过欧盟规定的

ARfD 值。这些评估结果说明, 虽然贝肉中 OA 含量较低, 但由于该地区居民贝类消费量大, 一定程度上存在 OA 组贝类毒素膳食暴露风险。无论以本地膳食调查数据还是以欧盟提供的参考数据估算 YTXs 的 ESI 值, 均远低于欧盟规定的 ARfD 值, 说明目前该地区居民 YTXs 毒素暴露风险较低。本研究检测到广泛存在的 GYM 毒素, 最初于新西兰采集的牡蛎 (*Tiostrea chilensis*) 中发现, 由于缺乏 GYM 相关毒理研究数据^[2,10], 目前国内外尚未对其检出限量作出规定, 故无法对其暴露风险进行分析。

急性膳食风险评估适用于短时间内的高消耗量情况。研究表明, 长期接触环亚胺类毒素会对人脑造成不利影响, 如记忆衰退等^[10,37-38]。故长期食用含有低水平脂溶性贝类毒素的贝肉带来的慢性健康风险是一个不可忽视的问题。本研究提供的广西北部湾沿海城市居民脂溶性贝类毒素慢性暴露水平, 为今后慢性暴露极限值的建立提供了有益的探索。

牡蛎和贻贝中脂溶性毒素检出率及检出值较高, 说明这两种贝类更易沾染并蓄积毒素, 因此对牡蛎和贻贝的食用安全性风险评估更为迫切。脂溶性贝类毒素有多种结构类似物或代谢物, 本研究未对所有毒素进行检测, 贝类毒素含量和食用风险可能被低估, 因此应进一步开展对脂溶性贝类毒素衍

生物的研究。此外,本研究分析的样品为去壳后的全肉,没有对不同组织进行分离,有研究发现贻贝消化腺中的毒素含量是其他组织中的 5~10 倍,扇贝消化腺中的毒素含量也远高于肌肉^[39]。因此为降低毒素暴露风险,不同组织对毒素的蓄积情况也需进一步研究。同时,建议消费者尽可能不食用贝类消化腺。

参考文献:

- [1] KONOKI K, ONODA T, WATANBE R, et al. *In vitro* acylation of okadaic acid in the presence of various bivalves' extracts[J]. Mar Drugs, 2013, 11(2): 300-315.
- [2] 王亚军, 余新威, 方力, 等. 营养环境对微小亚历山大藻 C4 生长和产毒的影响 [J]. 水产学报, 2017, 41(10): 1588-1598.
- [3] VALDIGLESIAS V, PREGO-FARALDO M V, PÁ SARO E, et al. Okadaic acid: more than a diarrhetic toxin[J]. Mar Drugs, 2013, 11(11): 4328-4349.
- [4] MARTELLI F, CIRLINI M, DELLAFIORA L, et al. Mitigation of marine toxins by interactions with bacteria: the case of okadaic acid and tetrodotoxin[J]. Food Control, 2021(1): 108428.
- [5] AUNE T, ESPENES A, AASEN J, et al. Study of possible combined toxic effects of azaspiracid-1 and okadaic acid in mice via the oral route[J]. Toxicon, 2012, 60(5): 895-906.
- [6] EFSA. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on marine biotoxins in shellfish-pectenotoxin group[J]. EFSA J, 2009, 1109: 1-47.
- [7] BLAANCO J, ARÉVALO F, CORREA J, et al. Effect of the industrial steaming on the toxicity, estimated by LC-MS/MS, of mussels exposed for a long time to diarrhetic shellfish poisoning (DSP) toxins[J]. Food Chem, 2015, 177: 240-247.
- [8] OTERO A, CHAPELA M J, ATANASSOVA M, et al. Cyclic imines: chemistry and mechanism of action: a review[J]. Chem Res Toxicol, 2011, 24(11): 1817-1829.
- [9] EFSA. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on a request from the European Commission on marine biotoxins in shellfish-yessotoxin group[J]. EFSA J, 2008, 907: 1-62.
- [10] EFSA panel on contaminants in the food chain (CONTAM). Scientific opinion on marine biotoxins in shellfish-cyclic imines (spirolides, gymnodimines, pinnatoxins and pteriatoxins)[J]. EFSA J, 2010, 8(6): 1628.
- [11] 徐轶肖, 韦光领, 王玉, 等. 钦州湾海水和香港牡蛎体内脂溶性贝类毒素污染特征 [J]. 海洋与湖沼, 2021, 52(1): 144-152.
- [12] 柳阳, 郭伟, 黎全江, 等. 广西北部湾近江牡蛎脂溶性藻毒素污染状况与安全风险评估 [J]. 南方水产科学, 2020, 16(4): 108-113.
- [13] JI Y, YAN G W, WANG G X, et al. Prevalence and distribution of domoic acid and cyclic imines in bivalve mollusks from Beibu Gulf, China[J]. J Hazard Mater, 2022, 423: 127078.
- [14] WANG Z, DOUCETTE G J. Determination of lipophilic marine biotoxins by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in five shellfish species from Washington State, USA[J]. J Chromatogr A, 2021, 1639: 461902.
- [15] ROURKE W A, JUSTASON A, MARTIN J L, et al. Shellfish toxin uptake and depuration in multiple Atlantic Canadian mollusca species: application to selection of sentinel species in monitoring programs[J]. Toxins, 2021, 13(2): 168.
- [16] ZHENG R J, LIN S E, 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.
- [17] CHEN X, HUANG B Q, ZHAO Q H, et al. Shellfish contamination with lipophilic toxins and dietary exposure assessments from consumption of shellfish products in Shenzhen, China[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2021, 221: 112446.
- [18] 海洋讯. 自然资源部发布 2021 年度《中国海洋灾害公报》[J]. 自然资源通讯, 2022(10): 39-55.
- [19] MARTINS J C, DOMÍNGUEZ-PÉREZ D, AZEVEDO C B, et al. Molecular responses of mussel *Mytilus galloprovincialis* associated to accumulation and depuration of marine biotoxins okadaic acid and dinophysistoxin-1 revealed by shotgun proteomics[J]. Front Mar Sci, 2020, 7: 589822.
- [20] 刘红河, 秦道云, 廖仕成, 等. 超高效液相色谱-四极杆串联线性离子阱质谱法测定贝类中的脂溶性贝类毒素 [J]. 卫生研究, 2021, 50(6): 967-974.
- [21] QIU J B, CHEN H D, JI Y, et al. Evaluation of different strategies to minimize thematrix effects on LC-MS/MS analysis of multiple lipophilic shellfish toxins in both acidic and alkaline chromatographic conditions[J]. Toxicon, 2020, 188: 16-26.
- [22] 赵丽云, 马冠生, 朴建华, 等. 2010-2012 中国居民营养与健康状况监测总体方案 [J]. 中华预防医学杂志, 2016, 50(3): 204-207.
- [23] TWINER M J, EL-ADKI R, KILCOYNE J, et al. Comparative effects of the marine algal toxins azaspiracid-1, -2, and -3 on Jurkat T lymphocyte cells[J]. Chem Res Toxicol, 2012, 25(3): 747-754.
- [24] ALVES R N, RAMBLA-ALEGRE M, BRAGA A C, et al. Bioaccessibility of lipophilic and hydrophilic marine biotoxins in seafood: an *in vitro* digestion approach[J]. Food Chem Toxicol, 2019, 129: 153-161.
- [25] EFSA. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on a request from the European commission on marine biotoxins in shellfish-summary on regulated marine biotoxins[J]. EFSA J, 2009, 1306: 1-23.
- [26] 白志毅, 温鹏超, 袁立, 等. 我国淡水贝类种质资源现状与保护利用 [J]. 水产学报, 2022, 46(1): 149-157.
- [27] 丁剑楠, 张闪闪, 武旭跃, 等. 太湖贡湖湾水体中微囊藻毒素的时空分布及健康风险评估 [J]. 生态环境学报, 2018, 27(11): 2095-2101.
- [28] CHEN J H, HAN T Z, LI X T, et al. Occurrence and distribution

- of marine natural organic pollutants: lipophilic marine algal toxins in the Yellow Sea and the Bohai Sea, China[J]. *Sci Total Environ*, 2018, 612: 931-939.
- [29] 查道军, 李媛芳, 丁任业, 等. 大亚湾大鹏澳海域贝类和浮游植物中脂溶性毒素及软骨藻酸研究 [J]. *海洋环境科学*, 2022, 41(5): 753-760.
- [30] WU H Y, YAO J H, GUO M M, et al. Distribution of marine lipophilic toxins in shellfish products collected from the Chinese market[J]. *Mar Drugs*, 2015, 13(7): 4281-4295.
- [31] 韩蕾, 赵芮, 刘昭, 等. 大田软海绵酸和鳍藻毒素时间分辨荧光免疫层析试纸条的研制与应用 [J]. *海洋环境科学*, 2022, 41(5): 783-790.
- [32] 郑旭颖, 李兆新, 孙晓杰, 等. 渤海海域唐山贝类养殖区腹泻性和麻痹性贝类毒素的监测与风险评估 [J]. *渔业科学进展*, 2022, 43: 1-12.
- [33] BLANCO J, ARÉVALO F, CORREA J, et al. Lipophilic toxins in Galicia (NW Spain) between 2014 and 2017: incidence on the main molluscan species and analysis of the monitoring efficiency[J]. *Toxins*, 2019, 11(10): 612.
- [34] LEITE I do P, SANDRINI-NETO L, SQUELLA F L, et al. Toxin accumulation, detoxification and oxidative stress in bivalve (*Anodonta flexuosa*) exposed to the dinoflagellate *Prorocentrum lima*[J]. *Aquat Toxicol*, 2021, 232: 105738.
- [35] LEI L, NING W C, YG C, et al. Seasonal variability of *Protocera-tium reticulatum* and yessotoxins in Japanese scallop *Patinopecten yessoensis* in northern Yellow Sea of China[J]. *Toxicon*, 2017, 139: 31-34.
- [36] VILARIÑO N, LOUZAO M, ABAL P, et al. Human poisoning from marine toxins: unknowns for optimal consumer protection[J]. *Toxins*, 2018, 10(8): 324.
- [37] EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Statement on further elaboration of the consumption figure of 400 g shellfish meat on the basis of new consumption data[J]. *EFSA J*, 2010, 8(8): 1706.
- [38] MCCARRON P, KILCOYNE J, HESS P. Effects of cooking and heat treatment on concentration and tissue distribution of okadaic acid and dinophysistoxin-2 in mussels (*Mytilus edulis*)[J]. *Toxicon*, 2008, 51(6): 1081-1089.
- [39] DÍEZ-QUIJADA JIMÉNEZ L, GUZMÁNGUILLÉN R, CASCAJOSA LIRA A, et al. *In vitro* assessment of cyanotoxins bioaccessibility in raw and cooked mussels[J]. *Food Chem Toxicol*, 2020, 140: 111391.