

海洋生物毒素检测技术研究进展

张 玲

宁波鸿蒙检测有限公司 浙江 宁波 315000

摘 要: 海洋生物毒素种类丰富, 如PSP、DSP、TTX等, 通过食物链危害人类健康。本文概述其类型、产生机制与传播途径, 介绍传统的生物学和化学检测法, 以及新兴的免疫、微纳传感、分子生物学检测技术, 分析高通量、智能化等未来趋势, 为相关研究和食品安全监管提供参考。

关键词: 海洋生物毒素; 检测技术; 研究进展

1 海洋生物毒素概述

海洋生物毒素是海洋生物在代谢过程中产生的一类具有强烈毒性的天然物质, 其化学结构多样, 毒性作用机制复杂。它们广泛分布于海洋生态系统的各个环节, 从微型藻类到大型海洋生物体内都可能存在。这些毒素不仅会对海洋生物的生存和繁衍造成影响, 破坏海洋生态平衡, 还会通过海产品进入人类食物链, 对人类健康构成严重威胁。全球范围内, 因食用受海洋生物毒素污染的海产品而导致的中毒事件时有发生, 因此, 对海洋生物毒素的研究和检测至关重要。

1.1 主要毒素类型

1.1.1 麻痹性贝类毒素 (PSP)

海洋生物毒素的种类丰富, 不同类型的毒素来源、毒性及危害各不相同, 了解主要毒素类型有助于更好地进行检测和防控。麻痹性贝类毒素主要由亚历山大藻属、膝沟藻属等浮游藻类产生, 当贝类摄食这些有毒藻类后, 毒素会在其体内蓄积。该毒素属于小分子胍类生物碱, 具有极强的神经毒性, 进入人体后能迅速阻断神经细胞膜上的钠离子通道, 抑制神经冲动的传导。中毒者会出现口唇麻木、四肢无力、呼吸困难等症状, 严重时因呼吸肌麻痹而死亡。其毒性稳定, 在高温和酸性环境下不易被破坏, 常规的烹饪方法无法有效去除。

1.1.2 腹泻性贝类毒素 (DSP)

腹泻性贝类毒素主要来源于鳍藻属和原甲藻属等甲藻, 常存在于贻贝、扇贝等贝类中。这类毒素化学结构多为聚醚类化合物, 毒性相对较弱, 主要作用于人体胃肠道^[1]。人食用受污染的贝类后, 通常在30分钟至几小时内出现腹痛、腹泻、恶心、呕吐等急性胃肠道症状, 一般不会导致死亡, 但会对人体健康造成较大不适。该毒素脂溶性强, 在有机溶剂中溶解性好, 对热稳定, 普通加热处理难以使其失活。

1.1.3 河豚毒素 (TTX)

河豚毒素是一种著名的神经毒素, 最早发现于河豚鱼体内, 后来在章鱼、海星、蛸蛎等生物中也有发现。其化学结构为一种笼形原酸酯类生物碱, 毒性极强, 毒

性比剧毒的氰化钾还要高数百倍。河豚毒素能特异性地阻断神经和肌肉细胞膜上的钠离子通道, 导致神经传导障碍, 使肌肉失去收缩能力。中毒症状表现为口唇发麻、四肢瘫痪、血压下降、呼吸衰竭等, 死亡率较高。该毒素化学性质极为稳定, 无论是高温煮沸、油炸还是腌制等加工方式, 都难以破坏其毒性。

1.1.4 其他毒素

除了上述主要毒素外, 海洋中还存在多种其他重要毒素。西加鱼毒素 (CTX) 主要由岗比甲藻产生, 通过食物链在热带和亚热带海域的珊瑚礁鱼类体内积累, 人食用后会出现神经系统和消化系统症状, 如四肢疼痛、冷热感觉颠倒、腹泻等, 症状可持续数周甚至数月。失忆性贝类毒素 (ASP) 由拟菱形藻属硅藻产生, 其主要成分为软骨藻酸, 食用受污染的贝类后, 会引发腹痛、呕吐, 严重者会出现短期记忆丧失、昏迷甚至死亡。此外, 还有雪卡毒素、神经性贝类毒素等, 也会对人类健康产生不同程度的危害。

1.2 毒素产生机制与传播途径

海洋生物毒素的产生和传播是一个复杂的过程, 受到多种因素的综合影响, 了解其机制有助于从源头进行防控。毒素产生机制方面, 多数海洋生物毒素是由藻类等浮游生物在特定环境条件下合成的。藻类产生毒素的原因目前尚未完全明确, 可能与自身防御、竞争资源等生态策略有关。环境因素如水温、盐度、光照强度、营养盐浓度等对毒素的产生影响较大。例如, 在水温适宜、营养丰富的季节, 藻类容易大量繁殖形成赤潮, 同时伴随毒素的大量产生。部分海洋动物自身也能合成毒素, 如河豚鱼的肝脏、卵巢等器官可合成河豚毒素, 其合成机制可能与体内的特定酶系有关。传播途径主要以食物链传递为主, 藻类作为初级生产者, 被浮游动物摄食后, 毒素进入浮游动物体内; 浮游动物又被小型鱼类、贝类等摄食, 毒素在这些生物体内进一步富集; 大型鱼类等捕食者摄食小型生物后, 毒素浓度继续升高。人类食用处于食物链较高营养级的海产品时, 就可能摄入高浓度的毒素引发中毒。另外, 某些毒素可通过海水

直接接触人体皮肤或黏膜,引起局部刺激或中毒反应,如某些藻类毒素可导致皮肤过敏。

2 传统海洋生物毒素检测技术

传统海洋生物毒素检测技术经过多年的实践和发展,在过去的毒素检测工作中发挥了重要作用,为保障食品安全提供了一定的技术支持。

2.1 生物学检测法

生物学检测法是利用生物有机体对毒素的生理反应来检测毒素的方法,其中应用最广泛的是小鼠生物测定法。该方法的操作流程是将待检测样品经过提取、净化等前处理后,制备成一定浓度的提取液,然后腹腔注射到小白鼠体内,观察小白鼠在规定时间内中毒表现和死亡情况。根据小白鼠的死亡时间和剂量反应关系,可计算出样品中毒素的大致含量。这种方法的优点是操作相对简便,不需要复杂的仪器设备,对多种毒素都有一定的检测能力^[2]。但它也存在明显的局限性,如灵敏度较低,无法检测出低浓度的毒素;特异性差,不同毒素可能引起相似的中毒症状;需要使用大量实验动物,不符合动物保护伦理;检测周期较长,通常需要数小时甚至数天才能得到结果,难以满足快速检测的需求。

2.2 化学检测法

化学检测法是基于毒素的化学性质,通过对其进行分离、鉴定和定量分析的方法,常见的有薄层色谱法和高效液相色谱法等。薄层色谱法是将样品提取液点样到涂有固定相的薄层板上,用适当的展开剂展开,利用毒素与固定相和展开剂之间的吸附、分配作用实现分离,然后通过显色剂显色,根据斑点的Rf值(比移值)与标准品对比来鉴定毒素种类,根据斑点的面积或颜色深浅进行定量。该方法操作简单、成本低廉、分析速度较快,但灵敏度不高,定量准确性较差,适用于初步筛查。高效液相色谱法是在经典液相色谱的基础上发展起来的,它采用高压输液泵将流动相泵入色谱柱,样品在色谱柱内通过与固定相和流动相的相互作用而分离,然后进入检测器进行检测。该方法具有分离效率高、灵敏度高、定量准确等优点,能对多种毒素进行同时检测。然而,高效液相色谱法对样品前处理要求较高,需要进行复杂的净化和衍生化处理;仪器设备价格昂贵,维护成本高;对操作人员的专业技能要求也较高,限制了其在基层实验室的广泛应用。

3 新兴海洋生物毒素检测技术

随着现代科技的飞速发展,新兴的海洋生物毒素检测技术不断涌现,这些技术在灵敏度、特异性和检测速度等方面都有了显著提升,为海洋生物毒素的检测带来了新的突破。

3.1 免疫检测技术

免疫检测技术是基于抗原与抗体的特异性结合反应

原理建立起来的检测方法,具有灵敏度高、特异性强、操作简便、检测快速等特点。酶联免疫吸附测定法是目前应用最广泛的免疫检测技术之一,其原理是将抗原或抗体包被在固相载体表面,加入待检测样品和酶标记的抗体或抗原,形成抗原-抗体-酶复合物,然后通过酶催化底物产生显色反应,根据颜色的深浅来确定样品中毒素的含量。该方法可实现对微量毒素的检测,且能批量处理样品,广泛应用于实验室检测。放射免疫测定法是将放射性同位素标记与免疫反应相结合的检测技术,具有极高的灵敏度,但由于使用放射性同位素,存在辐射危害,需要特殊的防护设备和操作环境,其应用受到一定限制^[3]。免疫层析法是一种快速检测技术,将特异性抗体固定在硝酸纤维素膜上,样品中的毒素与胶体金或其他标记物标记的抗体结合后,在膜上移动并与固定抗体结合形成可见的条带,可在几分钟内得到检测结果,适用于现场快速检测和基层筛查。

3.2 微纳传感技术

微纳传感技术是利用微纳米材料的独特物理、化学和生物学特性制作传感器,用于检测海洋生物毒素的技术。微纳米材料具有比表面积大、表面活性高、生物相容性好等优点,能与毒素分子发生特异性相互作用,从而产生可检测的信号变化。基于纳米金颗粒的比色传感器是一种常见的微纳传感技术,当纳米金颗粒与毒素结合后,其聚集状态发生改变,导致溶液颜色发生明显变化,通过肉眼或光谱仪即可实现对毒素的定性和定量检测。量子点荧光传感器则利用量子点独特的荧光特性,将毒素的识别元件与量子点结合,当毒素存在时,会引起量子点荧光强度的变化,通过检测荧光信号的变化来确定毒素的含量,具有灵敏度高、稳定性好、发光颜色可调等优点。另外,微纳传感技术还可以与微流控芯片技术相结合,将样品处理、反应和检测等步骤集成到芯片上,实现微型化、自动化和快速检测,大大提高了检测效率和便携性。

3.3 分子生物学检测技术

分子生物学检测技术是基于核酸分子的特性,通过检测与毒素产生相关的基因来间接判断毒素存在的技术。聚合酶链反应(PCR)技术是其中的代表,其原理是通过引物特异性识别并结合目标基因片段,在DNA聚合酶的作用下,经过变性、退火、延伸等步骤,实现目标基因的快速扩增,然后通过电泳或荧光检测等方法判断目标基因是否存在。如果检测到产毒生物的特异性基因,说明样品中可能存在相应的毒素。该技术具有极高的灵敏度,能够检测到微量的基因片段;特异性强,可通过设计特异性引物准确识别目标基因;检测速度快,通常几个小时内就能得到结果。但该技术也有一定的局限性,它只能检测产毒生物的基因,不能直接检测毒素

本身,无法确定毒素的实际含量和毒性;而且对实验条件要求严格,需要防止污染,操作人员需要具备专业的分子生物学实验技能。

4 海洋生物毒素检测技术的未来趋势

随着海洋生物毒素污染问题日益严峻,以及科技的不断进步,海洋生物毒素检测技术正朝着更高效、更智能、更全面的方向发展,以满足日益增长的检测需求。

4.1 高通量、快速、实时检测技术的发展

当前,食品贸易的全球化 and 海产品消费的增加,对海洋生物毒素检测的效率和速度提出了更高要求。传统检测技术一次只能检测少量样品或单一毒素,难以应对大规模样品的筛查。未来,高通量检测技术将成为发展重点,通过整合多种检测原理和技术,实现同时对多个样品中的多种毒素进行检测。例如,将芯片技术与质谱技术相结合,可在短时间内完成大量样品的多毒素检测,大幅提高检测效率。同时,快速、实时检测技术也将得到进一步发展,通过优化检测试剂和仪器设计,缩短检测时间,实现对毒素的即时监测。例如,开发便携式实时检测设备,可在海产品生产、运输、销售等环节进行现场快速检测,及时发现受污染的产品,防止其流入市场。

4.2 智能化、自动化检测系统的研发

人工操作的检测过程容易受到人为因素的影响,导致检测结果的准确性和重复性降低,同时也限制了检测效率的提高。未来,智能化、自动化检测系统将成为发展趋势。通过将机器人技术、自动化控制技术与检测技术相结合,实现样品的自动采集、前处理、检测、数据分析和结果报告等全流程自动化操作,减少人为干预,提高检测的准确性和稳定性。结合人工智能和大数据技术,建立毒素检测数据库和预测模型,对检测数据进行智能分析和解读,实现对毒素污染趋势的预测和预警。例如,利用机器学习算法对大量的检测数据进行训练,可快速识别异常数据,提高检测结果的判读效率和准确

性,为食品安全监管部门提供科学的决策支持。

4.3 针对新型海洋生物毒素的检测技术的开发

随着海洋环境的变化,如全球气候变暖、海洋污染加剧等,新的海洋生物毒素不断被发现,这些新型毒素的结构和毒性可能与已知毒素存在差异,给检测工作带来了新的挑战。因此,开发针对新型海洋生物毒素的检测技术是未来的重要研究方向。首先,需要加强对新型海洋生物毒素的基础研究,明确其化学结构、来源、毒性作用机制等特性,为检测技术的开发提供理论基础^[4]。其次,建立新型毒素的标准样品库和数据库,为检测方法的建立和验证提供参考。然后,研发特异性强的识别元件,如新型抗体、适配体等,提高对新型毒素的识别能力。同时,结合新兴的检测技术平台,如基因编辑技术、生物传感器技术等,开发出灵敏度高、特异性好、快速准确的新型检测方法,以应对新型海洋生物毒素带来的威胁,保障人类健康和海洋生态安全。

结束语

海洋生物毒素检测技术从传统到新兴不断发展,各技术各有优劣。传统方法奠定基础,新兴技术提升检测效能。未来需持续突破,推动技术向高效、智能、全面发展,以应对新型毒素挑战,保障人类健康与海洋生态安全。

参考文献

- [1]肖崑方,王力,田皓然等.海洋生物活性物质抗疲劳功能研究进展[J].食品与机械,2022,38(09):211-218.
- [2]陈巧莉,杨兵,洪晴悦,等.海洋生物毒素的分类、毒害作用机制及检测技术研究进展[J].食品科学,2021,42(5):321-331.
- [3]王亚丽,钟琴华,池祯婧,等.海洋生物毒素检测技术研究进展[J].化工管理,2021(20):229-230.
- [4]于红,刘欣,李琪.基因编辑技术在贝类中的应用进展与展望[J].水产学报,2022,46(04):636-643.