

文章编号: 1674-5566(2018)06-0924-06

DOI:10.12024/jsou.20180302233

免疫磁珠层析试纸法快速检测野生横纹东方鲀毒性

梁田田^{1,2}, 卢玉平³, 潘迎捷^{1,2}, 方国锋^{1,2}, 林 昕^{1,2}, 黄天娇^{1,2}, 卢 瑛^{1,2}

(1. 上海海洋大学食品学院, 上海水产品加工贮藏工程技术研究中心, 上海 201306; 2. 农业部水产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室, 上海 201306; 3. 江苏中洋集团股份有限公司, 江苏 海安 226000)

摘 要: 调查并比较了野生横纹东方鲀(*Takifugu oblongus*)与养殖的菊黄东方鲀(*Takifugu flavidus*)、暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*)的毒性。随机选取 17 尾野生横纹东方鲀并用 2% 乙酸两次煮沸法提取各组织中河鲀毒素 TTX, 超滤离心去除杂蛋白, 之后采用本实验室制备的免疫磁珠层析试纸条做定性检测, 并对筛选出来的典型样本用国标小鼠生物法定量检测毒素含量与定性检测作对照, 分析对比各组织 TTX 含量。野生横纹东方鲀肌肉和精巢 TTX 含量在 0~7 $\mu\text{g/g}$ 组织, 由于个体差异处于无毒或弱毒水平; 肝脏和卵巢 TTX 含量在 4~400 $\mu\text{g/g}$ 组织范围内, 属于强毒水平; 养殖菊黄东方鲀和暗纹东方鲀各组织均处于无毒水平。

关键词: 横纹东方鲀; 毒性; TTX; 小鼠生物法; 免疫层析

中图分类号: S 948 **文献标志码:** A

河鲀鱼肉鲜嫩味美, 因此被誉为“长江三鲜”之首^[1]。与一般鱼类和肉类相比, 河鲀鱼肉具有高蛋白、低脂肪的特点, 并富含人体必需氨基酸、矿物质等^[2]。但河鲀鱼大都含有河鲀毒素(tetrodotoxin, TTX), 毒素集中于卵巢、肝脏、肾脏、血液、眼睛、鱼鳃及皮肤中。含有 TTX 的生物分布广泛, 在美国, 欧洲^[3], 以及我国东南沿海地区^[4]都有分布。TTX 分子量为 319 u, 分子式为 $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{O}_8\text{N}_3$; 在海洋生物毒素中, 河鲀毒素毒性最强^[5]。TTX 是一种神经毒素^[6], 1 g 河鲀毒素的毒性是 1 g 氰化物的 1 万倍, 而且比较稳定, 用盐腌、日晒、一般加热烧煮等方法都不易消除, 严重妨碍了对河鲀鱼的加工应用^[7]。长期以来, 河鲀一直是我国食品卫生部门禁止鲜食的鱼类之一^[4]。从 2016 年 10 月起, 农业部国家食品药品监督管理总局关于有条件放开养殖红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)和养殖暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*)加工经营的通知农办渔[2016]53 号, 先行有条件地放开了养殖红鳍东方鲀和养殖暗纹东方鲀两个品种产品的加工经营, 食用加工过的

养殖河鲀肌肉, 更有安全保障。但尽管有条件的解禁, 河鲀鱼相比其他一些水产品, 客观上仍存在风险。已有商家打着解禁的旗号在市场上堂而皇之地销售“活体河鲀鱼”^[8]。广东省疾控中心通报, 全省共接报河鲀鱼毒素中毒事件 8 起, 合计 51 人中毒, 其中死亡 1 人^[9]。本文调查了广东野生河鲀鱼横纹东方鲀(*Takifugu oblongus*)各组织的毒性, 并与养殖河鲀鱼毒性比较。该实验采用的实验室开发的免疫磁珠层析试纸条检测河鲀毒素, 此方法简易、实用、快速, 可为河鲀食用安全提供及时和可靠的检测, 为食用河鲀鱼安全提供技术保障。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

样品: 2016 年 3 月 31 日, 野生横纹东方鲀(来自广东, 由江苏中洋集团股份有限公司提供) 17 尾(其中雌性 10 尾, 雄性 7 尾); 养殖暗纹东方鲀和菊黄东方鲀各 3 尾, 购自江苏中洋集团。在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下, 立即送到实验室解剖检样取出完整

收稿日期: 2018-03-07 修回日期: 2018-04-30

基金项目: 上海市科学技术委员会部分地方院校能力建设项目(15320502100); 上海市科学技术委员会工程研究中心推广项目(16DZ2280300)

作者简介: 梁田田(1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品快速检测。E-mail: 1018568917@qq.com

通信作者: 卢 瑛, E-mail: y-lu@shou.edu.cn

的内脏组织,分别标签注明并放入 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中。

主要仪器与试剂:乙酸(AR)、氢氧化钠(AR)等试剂购自国药集团化学试剂有限公司;Tween-20、牛血清蛋白(BSA),购自上海生工生物制剂有限公司。

Millipore 超滤离心管购自上海天承生物技术有限公司;TTX(HPLC 级)标准品购自北京盈则纳新化学研究院($>99\%$);还有 TDC-40B 台式离心机,电子天平,移液器等其他常规设备。TTX 特异性抗体由本实验室自己制备(特异性抗体杂交瘤细胞产生);样品垫,结合垫,CN140 膜,吸水垫购自上海捷宁生物科技有限公司。磁珠购自上海奥润微纳新材料科技有限公司。雄性昆明小鼠购自上海斯莱克实验动物有限责任公司。

1.2 试验方法

1.2.1 样品制备

参考本实验室之前的样品前处理方法^[10],称取绞碎的组织样品 2 g 加入 5 mL 2% 乙酸水溶液,煮沸 10 min,冷却后收集上清,然后在沉淀中继续加入 3 mL 2% 乙酸水溶液再次煮沸 3 min,冷却后收集上清,调 pH 至 7~8 并定容至 10 mL,进行超滤处理,样品待测。超滤后收集滤液,用实验室自己开发的免疫磁珠层析试纸条进行定性检测。

1.2.2 试纸条制备

参考本实验室之前的免疫层析试纸条制备方法^[11-12],免疫层析试纸条由样品垫,结合垫,NC 膜,吸水垫组成。NC 膜上面划 C 线,质控线,为羊抗鼠抗体;T 线,检测线,为 TTX-BSA 抗原,TTX-BSA 由 TTX 和 BSA 偶联得到^[13]。

TTX 特异性抗体由实验室自己培养的 TTX 特异性杂交瘤细胞产生并经过抗体纯化得到^[14],纯化后的抗体和磁珠偶联后得到实验所需的免疫磁珠^[11],层析液由磷酸缓冲液和 Tween-20、BSA 混合而成。

在检测时按照样品:磁珠:层析液为 105:1:15 的比例混合,滴加在试纸条上,加样后 10 min 读取结果。

1.2.3 试纸条的定性结果判定

试纸条是基于竞争 ELISA 方法原理制备的。T 线是 TTX 抗原,C 线是二抗,当样本中没有 TTX 时,免疫磁珠就会与 T 线抗原结合,显示 T 线,C

线可以捕捉到少量没被 T 线捕捉到的免疫磁珠;样品中有 TTX 时,免疫磁珠会与样品中 TTX 结合,在 T 线就不会有免疫磁珠被捕捉,从而只有 C 线。结果如下:A. 阴性结果:质控区(C)和检测区(T)均出现条带(T 条带颜色更深)或检测区(T)出现条带,判定为阴性;B. 阳性结果:仅质控区(C)有一条带出现或均出现条带(C 条带颜色更深),检测区(T)无红色条带出现;C. 检测结果无效:质控区(C)没有条带出现,表明此检测卡已经失效。

1.2.4 小鼠生物法

按照出入境检验检疫行业标准《出口河鲀鱼中河鲀毒素检测方法》SN/T 1569.2—2013 中相应的方法检测^[15],对每只试验小鼠腹腔注射 1 mL 提取液,并参照该标准中结果处理方法进行数据分析。

2 结果与讨论

2.1 免疫磁珠层析试纸条检测结果

图 1 为野生横纹东方鲀各个组织样本图片,分别为完整野生横纹东方鲀、其肝脏、精巢和卵巢。

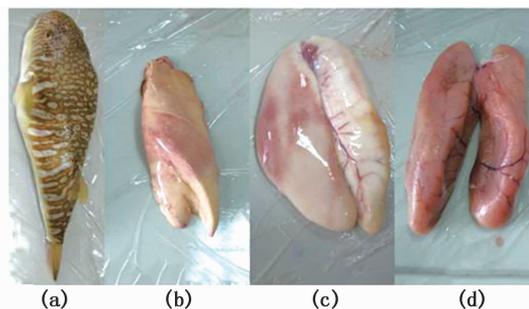


图 1 野生横纹东方鲀各组织样本
Fig. 1 The biological tissue sample of *Takifugu oblongus*

(a) 横纹东方鲀; (b) 肝脏; (c) 精巢; (d) 卵巢
(a) *Takifugu oblongus*; (b) Liver; (c) Testicle; (d) Ovary

免疫试纸条定性检测野生横纹东方鲀各组织样本检测结果如图 2 所示。每个样品都用 3 个试纸条检测作为平行样本对照。

图 2 中标号 1 为阴性对照,阴性对照为 PBS 缓冲液,此种情况表示无毒;其他标号为组织样本抽选。抽选出 8 个具有代表性的组织样本,由图可见,T 线颜色逐渐变浅,C 线颜色逐渐增加,标号 1,2,3 样本 T 线颜色很深,C 线颜色很浅,为

无毒;标号4,5,6,7样本T线颜色和C线颜色相差无几,弱毒;标号8样本T线颜色很浅,C线颜色很深,为强毒;其他组织样本的试纸条定性检测结果和图2中的相似,由于篇幅限制,不再一一列举。

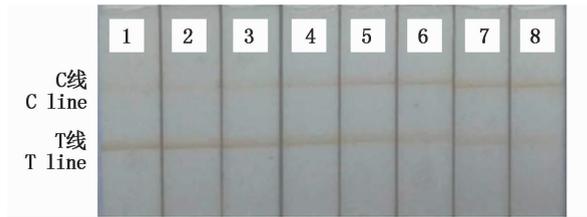


图2 野生横纹东方鲀组织样本定性检测图
Fig. 2 The qualitative analysis results of tissue samples in wild *Takifugu oblongus*

- 1. 阴性对照; 2. 肌肉(雌); 3. 精巢; 4. 卵巢(稀释100倍);
- 5. 肝脏(雄稀释100倍); 6. 卵巢(稀释10倍); 7. 肝脏(雄稀释10倍); 8. 肝脏(雄)
- 1. Negative sample; 2. muscle (female); 3. testicle; 4. ovary (diluted 100 times); 5. liver (diluted 100 times); 6. ovary (diluted 10 times); 7. liver (male diluted 10 times); 8. liver (male)

图3包含了17尾横纹东方鲀组织样本全部检测结果,肉眼观察定性结果可知,17尾野生横纹东方鲀肌肉和精巢均处于无毒或弱毒水平,卵巢和肝脏都处于强毒水平,根据试纸条结果进行初筛,选出几个具有代表性的样本进行小鼠生物法检测。

2.2 小鼠生物法定量检测结果

由于小鼠生物法是检测TTX的标准方法,具有直观、快速、症状典型、易操作等特点,被国际上广泛采用。因此根据试纸条结果对样品进行初筛,选取几个具有代表性的样本用小鼠生物法进行检测,无毒或弱毒,强毒样本都包括在内;并且有雌性、雄性横纹东方鲀样本。共选取7尾野生横纹东方鲀总计15个样本:其中3尾横纹东方鲀(雄性1尾、雌性2尾)提供了3个肌肉样本,1个精巢样本,2个卵巢样本和3个肝脏样本;另外两条雄性横纹东方鲀提供精巢样本2个;另外两尾雌性横纹东方鲀仅提供卵巢2个和肝脏样本2个。另外,又选取养殖菊黄东方鲀雄性、雌性各3尾,暗纹东方鲀雄性、雌性各3尾,分别提供肌肉,卵巢,精巢和肝脏总计12个样本。

根据《出口河鲀鱼中河鲀毒素检测方法》SN/T 1569.2-2013中方法进行小鼠实验,以TTX标准品注射剂量为自变量(X),小鼠死亡时间倒数为因变量(Y)绘图,获得了TTX注射剂量与小鼠死亡时间倒数的线性关系(图4)。

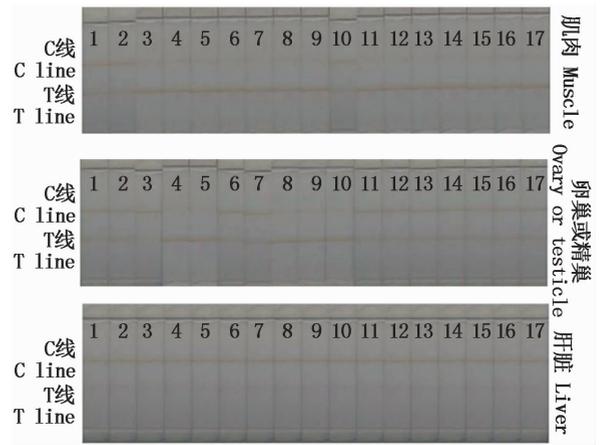


图3 17条野生横纹东方鲀组织样本定性检测图
Fig. 3 The qualitative analysis results of 17 tissue samples in wild *Takifugu oblongus*

标号1-17为不同野生横纹东方鲀个体。图片分为上中下3部分,其中上为肌肉样本,中为精巢或卵巢样本,下为肝脏样本,其中1,4,5,8,9,10号为雄性样本,其他为雌性样本
Sequence 1-17 for different individual *Takifugu oblongus*. Image is divided into 3 parts, the upper part of image for muscle samples, the middle part of image for the gonads samples, the lower part of image for the liver samples, 1, 4, 5, 8, 9, 10 for the males, another for the females

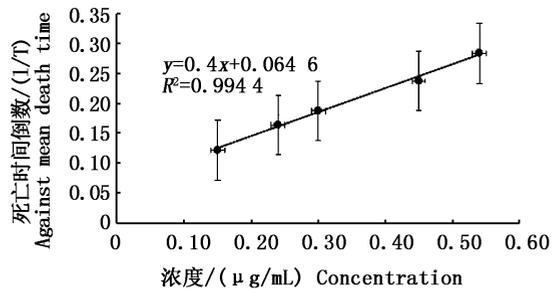


图4 TTX剂量-昆明系小鼠死亡时间倒数关系曲线
Fig. 4 Curves of TTX dosage against mean death time of Kunming mice

根据标准曲线公式和注射组织样本后小鼠的死亡时间,计算得出横纹东方鲀各组织和养殖河鲀鱼各组织样本的TTX含量,见表1(统计学数据显著性检验P值<0.05)。

表 1 野生横纹东方鲀和养殖河鲀鱼各组织毒素含量

Tab.1 The toxicity of tissues in *Takifugu oblongus* and cultured pufferfish

序号 Number	样本组织来源 Organization of sample	毒素含量/($\mu\text{g/g}$) Toxicity	毒素含量/(MU/g) Toxicity	毒性判定 Determination of toxicity
1	肌肉雄性 1 号鱼 Male muscle	1.07	5.99	无毒
2	肌肉雌性 2 号鱼 Females muscle	6.65	37.34	弱毒
3	肌肉雌性 3 号鱼 Females muscle	0.59	3.31	无毒
4	精巢 1 号鱼 gonads	5.83	32.76	弱毒
5	精巢 4 号鱼 gonads	0.82	4.60	无毒
6	精巢 5 号鱼 gonads	0.95	5.35	无毒
7	卵巢 6 号鱼 ovary	9.82	55.17	弱毒
8	卵巢 2 号鱼 ovary	6.38	35.84	弱毒
9	卵巢 3 号鱼 ovary	50.39	283.09	强毒
10	卵巢 7 号鱼 ovary	4.51	25.37	弱毒
11	肝脏雄性 1 号鱼 Male liver	344.15	1 933.44	剧毒
12	肝脏雌性 2 号鱼 Females liver	16.91	95.02	弱毒
13	肝脏雌性 3 号鱼 Females liver	92.66	520.58	强毒
14	肝脏雌性 6 号鱼 Females liver	184.72	1 037.78	剧毒
15	肝脏雌性 7 号鱼 Females liver	257.26	1 445.26	剧毒
16	暗纹肌肉雌 Females muscle	<0.22	<10	无毒
17	菊黄肌肉雌 Females muscle	<0.22	<10	无毒
18	暗纹肌肉雄 Male muscle	<0.22	<10	无毒
19	菊黄肌肉雄 Male muscle	<0.22	<10	无毒
20	暗纹卵巢 ovary	<0.22	<10	无毒
21	菊黄卵巢 ovary	<0.22	<10	无毒
22	暗纹精巢 gonads	<0.22	<10	无毒
23	菊黄精巢 gonads	<0.22	<10	无毒
24	暗纹肝脏雌 Females liver	<0.22	<10	无毒
25	菊黄肝脏雌 Females liver	<0.22	<10	无毒
26	暗纹肝脏雄 Male liver	<0.22	<10	无毒
27	菊黄肝脏雄 Male liver	<0.22	<10	无毒

从表 1 可以看出,此次检测的所有养殖河鲀鱼(暗纹东方鲀、菊黄东方鲀)样本 TTX 含量(序号 16-序号 27)都处于无毒水平(此结果根据标准中规定小鼠死亡时间超过 30min 判定为无毒得出)。

按日本谷氏对河鲀毒性强弱的分类标准,每克组织中含有小于 10 个鼠单位(MU)的可认为无毒,在 10 ~ 100 MU 的为弱毒,在 100 ~ 1 000 MU 的为强毒,在 1 000 MU 以上的为剧毒。对人而言,含毒在 10 个鼠单位以内,即 2.2 μg TTX/g 鱼组织,不能致人死亡。这也是一般认为的可食用的河鲀鱼的安全标准^[16]。

根据图 3 试纸条定性检测结果,肌肉和精巢处于无毒、弱毒水平,肝脏处于强毒剧毒水平。由表 1 可见,野生横纹东方鲀肌肉和精巢 TTX 含量在 0 ~ 40 $\mu\text{g/g}$ 组织,为无毒或者弱毒;卵巢 TTX 含量在 25 ~ 300 $\mu\text{g/g}$ 组织范围内,为弱毒或者强毒;肝脏 TTX 含量在 90 ~ 2 000 $\mu\text{g/g}$ 组织范围内,为强毒或剧毒。由此可见,小鼠生物法和试纸条检测结果相吻合。本研究所用野生河

鲀鱼横纹东方鲀采自冬季,非产卵期,故此卵巢毒素含量偏低,处于弱毒水平,但 3 号野生横纹东方鲀的卵巢组织(序号 9)处于强毒水平,肝脏(序号 13)强毒水平,较其他肝脏剧毒水平偏低,可能由于此河鲀鱼处于排卵期,卵巢毒素含量高来保护后代,属于个体差异^[17]。许多文献报道都显示野生河鲀鱼有毒。ITOI 报道野生星点东方鲀毒素含量随季节变化而不同,产卵期显著高于非产卵期;雌性卵巢、皮肤和雄性肝脏、皮肤在任何时期都有毒素^[18]。近 5 年来,在全世界范围内食用野生河鲀鱼引起了 430 例中毒和 52 例死亡事件^[19]。KOSKER 等报道,野生河鲀鱼体内 TTX 含量与季节和性别都相关,肝脏和性腺毒素含量较高,肌肉也有毒性,食用有危险^[20]。日本海域的野生虫纹东方鲀皮肤 TTX 含量很高^[21]。KOSKER 调查了地中海不同季节河鲀不同部位的 TTX 含量,发现无论在哪个季节,都大于 2 $\mu\text{g/g}$,与表 1 检测数据吻合^[20]。KIRIAKE 等报道成年河鲀毒素主要聚集在肝脏,幼年河鲀会把毒素由肝脏转移到皮肤^[22];检测的序号 12 肝脏组织

和序号 2 肌肉组织来源于 2 号的野生横纹东方鲀,肝脏和肌肉毒素含量都处于弱毒水平,因此推测此河鲀鱼可能处于幼年,也有可能由于死亡时间久,导致了毒素的弥散和转移。

小鼠生物法检测的 15 个野生横纹东方鲀组织样本是从免疫磁珠层析试纸条检测结果中挑出的含量低、中、高的野生横纹东方鲀组织样本,并用河鲀毒素经典检测方法国标小鼠生物法检测,两种方法检测结果吻合,说明免疫磁珠层析试纸条检测效果比较好,而且方便快捷,相对更适应于现场检测。

3 结论

本研究发现,养殖河鲀鱼的肌肉处于无毒水平,但我们调查的野生横纹东方鲀的河鲀鱼肌肉有可能由于死亡之后毒素扩散有毒性,且内脏组织毒素含量远高于养殖河鲀鱼,提醒广大群众野生河鲀鱼味道虽美,但是食用需谨慎。而且从 2016 年 10 月起,农业部国家食品药品监督管理总局关于有条件放开养殖红鳍东方鲀和养殖暗纹东方鲀加工经营的通知农办渔[2016]53 号先行有条件地放开养殖红鳍东方鲀和养殖暗纹东方鲀两个品种产品的加工经营,因此建议食用加工过的养殖河鲀肌肉,更有安全保障。本研究采用的实验室开发的免疫磁珠层析试纸条检测河鲀毒素,此方法简易、实用、快速,可为河鲀食用安全提供及时和可靠的检测,为食用河鲀鱼安全提供了技术保障。

参考文献:

- [1] 陈婧,郭爽. 河豚毒素检测技术研究进展[J]. 中国环境管理干部学院学报, 2014, 24(3): 61-63, 85.
CHEN J, GUO S. Study progress of tetrodotoxin detecting methods[J]. Journal of EMCC, 2014, 24(3): 61-63, 85.
- [2] 王丽雅,陶宁萍,龚玺. 河豚的食用安全性及营养价值研究进展[J]. 上海农业学报, 2012, 28(2): 123-128.
WANG L Y, TAO N P, GONG X. Research progress of edible safety and nutritional value of puffer fish[J]. Acta Agriculturae Shanghai, 2012, 28(2): 123-128.
- [3] NZOUGHET J K, CAMPBELL K, BARNES P, et al. Comparison of sample preparation methods, validation of an UPLC - MS/MS procedure for the quantification of tetrodotoxin present in marine gastropods and analysis of pufferfish[J]. Food Chemistry, 2013, 136(3/4): 1584-1589.
- [4] 纪元,刘岩,宫庆礼. 小鼠生物法和酶联免疫法(ELISA)定量监测沿海 5 省养殖河豚鱼中的河豚毒素(TTX)[J].

水产学报, 2010, 34(4): 589-597.

- JI Y, LIU Y, GONG Q L. Tetrodotoxin quantitative monitoring of cultured pufferfish collected from five coastal provinces in China by mouse method and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) [J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(4): 589-597.
- [5] JEN H C, NGUYEN T A T, WU Y J, et al. Tetrodotoxin and paralytic shellfish poisons in gastropod species from Vietnam analyzed by high-performance liquid chromatography and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2014, 22: 178-188.
- [6] MAGARLAMOV T Y, BELENEVA I A, CHERNYSHEV A V, et al. Tetrodotoxin-producing *Bacillus* sp. from the ribbon worm (Nemertea) *Cephalothrix simula* (Iwata, 1952) [J]. Toxicon, 2014, 85: 46-51.
- [7] 刘燕婷,雷红涛,钟青萍. 河豚毒素的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(2): 156-160.
LIU Y T, LEI H T, ZHONG Q P. Trend on the study of tetrodotoxin[J]. Food Research and Development, 2008, 29(2): 156-160.
- [8] 马廷龙,龚小玲,管哲成,等. 云斑裸颊虾虎鱼体内各组织河豚毒素的含量[J]. 上海海洋大学学报, 2014, 23(5): 675-679.
MA T L, GONG X L, GUAN Z C, et al. Analysis of the tetrodotoxin content of tissues in *Yongeichthys criniger* [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2014, 23(5): 675-679.
- [9] 近 3 年广东接报河豚鱼中毒事件 8 起 死亡 1 人 [EB/OL]. [2017-01-11]. <http://www.jianke.com/xwpd/695638.html>.
The puffer fish poisoning for nearly three years in Guangdong reception 18 deaths [EB/OL]. [2017-01-11]. <http://www.jianke.com/xwpd/695638.html>.
- [10] 赵静,陶宁萍,卢瑛,等. 河豚毒素的快速检测技术[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(5): 234-237.
ZHAO J, TAO N P, LU Y, et al. Rapid detection technology of tetrodotoxin[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2014, 42(5): 234-237.
- [11] 杜娟,徐晓巍,崔正权,等. 乙肝前 S1 抗原的磁性免疫层析检测的影响因素研究[J]. 生物学杂志, 2017, 34(1): 11-15, 38.
DU J, XU X W, CUI Z Q, et al. Influences of magnetic immunochromatographic assay for detection of PreS1 region of hepatitis B virus surface antigen [J]. Journal of Biology, 2017, 34(1): 11-15, 38.
- [12] 方国锋,王锡昌,梁田田,等. 基于免疫层析检测的河豚毒素快速样品前处理方法研究[J]. 生物学杂志, 2017, 34(1): 94-97.
FANG G F, WANG X C, LIANG T T, et al. Rapid preparation technology for tetrodotoxin based on immunochromatographic detection [J]. Journal of Biology, 2017, 34(1): 94-97.

- [13] ZHOU Y, LI Y S, PAN F G, et al. Identification of tetrodotoxin antigens and a monoclonal antibody [J]. Food Chemistry, 2009, 112(3): 582-586.
- [14] 丛蕾. 河豚毒素特异性单克隆抗体的制备[D]. 上海: 上海海洋大学, 2010.
CONG Lei. Tetrodotoxin specificity monoclonal antibody preparation [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2010.
- [15] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 1569. 2-2013 出口河豚鱼中河豚毒素检测方法 第2部分: 小鼠生物法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
The State Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. SN/T 1569. 2-2013 The People's Republic of China national standard "export tetrodotoxin detection method in the puffer fish" [S]. Beijing: China Standards Press, 2013.
- [16] 李云峰, 马晨晨. 养殖河豚鱼毒素的研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(3): 819-823.
LI Y F, MA C C. Research on tetrodotoxin of breeding globefish fish [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2014, 5(3): 819-823.
- [17] 张娜, 韦芬, 鲍宝龙. 星点东方鲀及共生细菌河鲀毒素的提取与检测[J]. 上海海洋大学学报, 2017, 26(6): 801-807.
- ZHANG N, WEI F, BAO B L. Extraction and detection of tetrodotoxin in Takifugu niphobles and its symbiotic bacteria [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2017, 26(6): 801-807.
- [18] ITOI S, ISHIZUKA K, MITSUOKA R, et al. Seasonal changes in the tetrodotoxin content of the pufferfish *Takifugu niphobles* [J]. Toxicon, 2016, 114: 53-58.
- [19] PANÃO I, CARRASCOSA C, JABER J J, et al. Puffer fish and its consumption: to eat or not to eat? [J]. Food Reviews International, 2016, 32(3): 305-322.
- [20] KOSKER A R, ÖZOGUL F, DURMUS M, et al. Tetrodotoxin levels in pufferfish (*Lagocephalus sceleratus*) caught in the Northeastern Mediterranean Sea [J]. Food Chemistry, 2016, 210: 332-337.
- [21] NAKATANI T, SHIMIZU M, YAMANO T. The contents and composition of tetrodotoxin and paralytic shellfish poisoning toxins in marine pufferfish *Canthigaster rivulata* [J]. Shokuhin Eiseigaku Zasshi. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 2016, 57(2): 51-56.
- [22] KIRIAKE A, OHTA A, SUGA E, et al. Comparison of tetrodotoxin uptake and gene expression in the liver between juvenile and adult tiger pufferfish, *Takifugu rubripes* [J]. Toxicon, 2016, 111: 6-12.

Magnetic immunochromatographic method for rapid detection of toxicity in wild pufferfish (*Takifugu oblongus*)

LIANG Tiantian^{1,2}, LU Yuping³, PAN Yingjie^{1,2}, FANG Guofeng^{1,2}, LIN Xin^{1,2}, HUANG Tianjiao^{1,2}, LU Ying^{1,2}

(1. Shanghai Engineering Research Center of Aquatic-Product Processing & Preservation, College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Aquatic Products on Storage and Preservation, Ministry of Agriculture, Shanghai 201306, China; 3. Jiangsu Zhongyang Group Co., Ltd, Haian 226000, Jiangsu, China)

Abstract: To provide some advice for people when they eat pufferfish, the toxicity of wild pufferfish (*Takifugu oblongus* Bloch) were investigated and compared with the toxicity of artificial feeding pufferfish (*Takifugu flavidus*; *Takifugu obscurus*). In this study, 17 pufferfish tissues were randomly selected, next the tissue was extracted by boiling in 2% acetic acid. After centrifugation, the protein of supernatant was removed by ultrafiltration. The toxicity of 17 wild *Takifugu oblongus* samples was detected by magnetic immunochromatographic test strip prepared by our laboratory. The representative samples were analyzed and compared with mouse bioassay in regard to the toxicity. Our results showed that the toxicity of muscle and testicle was hypotoxicity, ranging between 0-7 $\mu\text{g/g}$ because of individual difference; The toxicity of ovary and liver were in the range of 4-400 $\mu\text{g/g}$, was strongest toxicity; The tissues of cultured Fugu *flavidus* and Fugu *obscurus* were non-toxic.

Key words: *Takifugu oblongus*; toxicity; TTX; mouse bioassay; immunochromatography