



中华人民共和国水产行业标准

SC/T 3024—2004

腹泻性贝类毒素的测定 生物法

Determination of diarrhoea shellfish poison Bioassay

2004-01-07 发布

2004-03-01 实施



中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准参考了日本厚生省推荐使用的腹泻性贝类毒素的测定方法。

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准起草单位：国家水产品质量监督检验中心、中国水产科学研究院东海水产研究所。

本标准主要起草人：王联珠、袁骐、李晓川、冷凯良、陈亚瞿、蒋玫。

腹泻性贝类毒素的测定 生物法

1 范围

本标准规定了腹泻性贝类毒素（DSP）的测定方法——生物法。

本标准适用于软体动物贝类可食部分中腹泻性贝类毒素（DSP）的测定。

2 原理

用丙酮提取贝类中毒素，再转移至乙醚中，经减压浓缩蒸干后，再以 1% 吐温-60 生理盐水溶解残留物，注射小鼠，观察存活情况，计算其毒力。

3 试剂和材料

3.1 丙酮（分析纯）。

3.2 乙醚（分析纯）。

3.3 1% 吐温-60 生理盐水：称取 1.0 g 吐温-60，溶于生理盐水（0.8% NaCl）中，并定容至 100.0 mL。

4 仪器和设备

4.1 旋转蒸发器。

4.2 均质器。

4.3 磨口烧瓶：圆底，500 mL、100mL。

4.4 布氏漏斗： $\phi 100$ mm。

4.5 分液漏斗：具塞，500 mL。

4.6 天平：感量 0.1 g。

4.7 刻度试管：10 mL，具塞。

4.8 冰箱：0℃～5℃ 和 -15℃～-20℃。

4.9 注射器：1 mL。

4.10 注射器针头：8[#]。

4.11 小鼠：体重为 16 g～20 g 的健康 ICR 系雄性小鼠。

5 检样的制备

5.1 生鲜带壳的贝类

- 用清水彻底洗净贝类外壳，开壳，用清水淋洗内部去除泥沙及其他外来杂质，仔细取出贝肉，切勿割破肉体；
- 收集贝肉，沥水 5 min，捞出碎壳等杂物，迅速冷冻，贮藏备用；
- 注意不要破坏闭壳肌以外的组织，尤其是中肠腺（又称消化盲囊，组织呈暗绿色或褐绿色）。开壳前不能加热或用麻醉剂。

5.2 冷冻贝类

在室温下，使冷冻的样品（带壳或去壳的）呈半冷冻状态，按 5.1 方法清洗、开壳、淋洗、

取肉。

5.3 取样

- a) 可以切取中肠腺的贝类（扇贝、贻贝、牡蛎等），称取 200 g 贝肉后，仔细切取全部中肠腺，将中肠腺称重后细切混合作为检样，注意不要使中肠内容物污染案板；
- b) 对于尚未确定部位毒性的贝类及不易切取中肠腺的小型贝肉，可将全部贝肉细切、混合，作为检样；
- c) 为避免毒素的危害，应戴手套进行检验操作，移液管等用过的器材应在 5% 的次氯酸钠溶液中浸泡 1 h 以上，以使毒素分解；废弃的提取液等也应用 5% 的次氯酸钠溶液处理。

6 提取

- 6.1 取 5.3 a) 处理的中肠腺，或 5.3 b) 处理的 200 g 贝肉置于均质杯内，均质 2 min。
- 6.2 加 3 倍量丙酮，与样品充分搅拌均匀后，用布氏漏斗抽滤并收集提取液。对残渣以检样两倍量丙酮再次抽滤两次，合并抽滤液。
- 6.3 将抽提液移入 500 mL 的磨口烧瓶中，减压浓缩（旋转蒸发器，56℃）去除丙酮，直至在液体表面分离出油状物。
- 6.4 将浓缩液移入分液漏斗内，以 100 mL~200 mL 乙醚和少量的水洗下粘壁部分，轻轻振荡（不能生成乳浊液），静置分层后，去除水层（下层），用相当乙醚半量的蒸馏水洗乙醚层两次，再将乙醚层移入 250 mL 的磨口烧瓶中，减压浓缩（旋转蒸发器，35℃）去除乙醚。
- 6.5 以少量乙醚将浓缩物移入 100 mL 磨口烧瓶中，再次减压浓缩去除乙醚。
- 6.6 以 1% 吐温-60 生理盐水将全部浓缩物在刻度试管中稀释到 10 mL。此时 1 mL 试液相当于 20 g 去壳贝肉的重量，以此悬浮液作为试验原液。
- 6.7 以试验原液注射小鼠，24 h 内 3 只均死亡时，需将试验原液进一步稀释，再注射小鼠。稀释前，应先振荡使溶液成均匀悬浮液，再取部分试液以 1% 吐温-60 生理盐水稀释。

7 小鼠试验

- 7.1 以振荡器使试液或其稀释液成为均匀的悬浮液。
- 7.2 将每只小鼠称重，每三只小鼠为一组，分别将 1 mL 试液注射到小鼠腹腔中。
- 7.3 同时，另取三只小鼠作为对照组，注射 1 mL 1% 吐温-60 生理盐水于腹腔中。
- 7.4 观察自注射开始到 24 h 后的小鼠存活情况，求出一组三只中死亡两只及两只以上的最小注射量。
- 7.5 小鼠注射腹泻性贝毒后的症状为运动不活泼，大多呼吸异常，致死时间长。

8 结果计算和表述

8.1 毒力的计算

使体重 16 g~20 g 的小鼠在 24 h 死亡的毒力为 1 个小鼠单位（MU）。

样品中 DSP 毒力的计算，按表 1 选择 24 h 内死亡两只及两只以上鼠的最小注射量及最大稀释倍数进行计算。

8.2 注射量与毒力的关系

注射量与毒力的关系见表 1。

表 1 注射量与毒力的关系

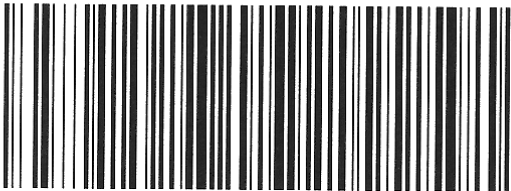
试验液	注射量 mL	检样量 ^a g	毒力 MU/g
原液	1.0	20	0.05
原液	0.5	10	0.1
2 倍稀释液	1.0	10	0.1
2 倍稀释液	0.5	5	0.2
4 倍稀释液	1.0	5	0.2
4 倍稀释液	0.5	2.5	0.4
8 倍稀释液	1.0	2.5	0.4
8 倍稀释液	0.5	1.25	0.8
16 倍稀释液	1.0	1.25	0.8
16 倍稀释液	0.5	0.625	1.6
^a 以中肠腺为检样时，相当于含有中肠腺的去壳贝肉量。			

附 录 A
(资料性附录)
本标准与日本厚生省标准的技术差异及原因

表 A.1 为本标准与日本厚生省标准的技术差异及原因一览表。

表 A.1 本标准与日本厚生省标准的技术差异及原因

本标准的章条	技术性差异	原 因
封面、前言、标准的全文	原方法标准的格式与此完全不同	标准格式采用 GB/T 1.1—2000 的规定
5 章~9 章	文字叙述中有部分改动，将原文中的大段文字修改为逐条叙述	按 GB/T 1.1—2000 的要求，将标准条文细化，使其更有逻辑性、更有条理，使用便捷
6.7	原标准为“必要时，对试验溶液可做进一步稀释”，现改为“以试验原液注射鼠时，24 h 内 3 只均死亡时，需将试验原液进一步稀释，再注射鼠”	更清楚说明需要稀释时的情况，便于试验时的操作



SC/T 3024-2004

书号：16109 · 306
定价：6.00 元
* * *
版权专有 侵权必究
举报电话：(010) 65005894

中 华 人 民 共 和 国
水 产 行 业 标 准
腹 泻 性 贝 类 毒 素 的 测 定
生 物 法

SC/T 3024—2004

* * *

中 国 农 业 出 版 社 出 版

(北京市朝阳区麦子店街 18 号楼)

(邮政编码: 100026 网址: www.ccap.com.cn)

中国农业出版社印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经销

* * *

开本 880mm×1230mm 1/16 印张 0.5 字数 5 千字

2004 年 2 月第 1 版 2004 年 2 月北京第 1 次印刷

书号: 16109·306 印数: 1~1 000 册

定价: 6.00 元

版权专有 侵权必究

举报电话: (010) 65005894