

大綱

一、前言

二、重新評估菟葵毒素對小鼠的急毒性：測定半致死劑量 (LD₅₀) 和未觀察到的無可見有害作用程度 (NOAEL)

三、使用細胞免疫酶法定量貽貝中菟葵毒素的新型測定法

四、以液相層析串聯質譜儀搭配鋰陽離子電離法檢測菟葵毒素

五、結論

摘要

菟葵毒 (palytoxin, PLTX) 及其類似物是一種海洋中複雜的多元醇毒素，其可以透過在海洋生物體內累積，進入食物鏈的循環。PLTX 毒素之作用方式為干擾生物體細胞膜上的 Na⁺, K⁺-ATPase，抑制 Na⁺ 和 K⁺ 跨細胞膜的轉運，導致粒線體受損及造成細胞死亡。某些雙鞭毛藻 (dinoflagellate)、海葵、珊瑚及藍綠藻 (cyanobacteria) 會產生 PLTX 及其類似物，在食物鏈中累積。食用後會造成中毒，產生肌肉疼痛、虛弱、發燒、噁心及嘔吐等症狀。歐洲食品安全局 (European Food Safety Authority, EFSA) 於 2009 年根據數據，得出急性參考劑量 (acute reference dose, ARfD) 為 0.2 µg/kg bw，並且建議開發合適的檢測方式。由於 PLTX 之分子結構很大，所以不易分析。在本篇報告中比較兩種不同的 PLTX 檢測方法，且對小鼠管餵及腹腔注射的急毒性研究進行探討。在動物實驗中，向小鼠施行管餵及腹腔注射，並觀察 96 小時。發現腹腔注射和管餵毒素之 LD₅₀ 沒有隨著觀察時間的延長而增加，且管餵毒素之 NOAEL 比其他研究描述的低 10 倍以上。在另外兩篇文獻中，皆開發新的測定法。其中一篇使用細胞免疫酶法定量菟葵毒素的新型測定法，其評估 PLTX 的偵測極限 (limit of detection, LOD) 及定量極限 (limit of quantification, LOQ) 為 1.2×10^{-11} M (32.2 pg/mL) 及 2.8×10^{-11} M (75.0 pg/mL)，具有良好的準確度及可重複性。且能夠以低於 EFSA 建議的最大限值 (30 µg/kg PLTX 貝類肉) 的濃度對貽貝中的 PLTX 進行量化。另一種新技術為使用碘鋰和甲酸作為液相色譜與串聯質譜 (liquid chromatography mass spectrometry, LC-MS/MS) 移動相添加劑的方法來分析 PLTX，透過鋰的陽離子化提高靈敏度。貽貝和牡蠣的 LOD 分別為 8 µg/kg 和 22 µg/kg PLTX。此方法與過去文獻中的 LC-MS 方法相比，有更高或相當的靈敏度及更簡化的光譜。以上兩種方法皆提高了測定 PLTX 之靈敏度，對毒素概況有更好的分析能力。

参考文献

- Boente-Juncal, A., Vale, C., Camiña, M., Cifuentes, J. M., Vieytes, M. R. and Botana, L. M. (2020).** Reevaluation of the acute toxicity of palytoxin in mice: Determination of lethal dose 50 (LD₅₀) and no-observed-adverse-effect level (NOAEL). *Toxicon*, 177, 16-24.
- Klijnstra, M. D. and Gerssen, A. (2018).** A sensitive lc-ms/ms method for palytoxin using lithium cationization. *Toxins*, 10(12), 537.
- Pelin, M., Sosa, S., Brovedani, V., Fusco, L., Poli, M. and Tubaro, A. (2018).** A novel sensitive cell-based immunoenzymatic assay for palytoxin quantitation in mussels. *Toxins*, 10(8), 329.