

福建沿海部分地区织纹螺毒性消长及毒素成分分析

罗璇^{1,2}, 于仁成¹, 王晓杰^{1,2}, 李钧¹, 周名江¹

(1. 中国科学院海洋研究所海洋生态与环境科学重点实验室, 山东 青岛 266071;

2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 为了解福建沿海织纹螺毒性的动态变化,于2006年3月至9月,对福建省涵江、同安和霞浦三地的织纹螺毒性消长情况进行了跟踪监测,并对高毒性织纹螺样品中的毒素成分进行了分析。期间每周采样一次,采集的织纹螺经鉴定后,通过小鼠生物测试法分析其毒性,并选择毒性较高的织纹螺样品,应用高效液相色谱(HPLC)和高效液相色谱-质谱联用(LC-MS)技术分别对样品中的麻痹性贝毒(paralytic shellfish poison, PSP)和河豚毒素(tetrodotoxin, TTX)进行了分析。研究表明,三个采样点的织纹螺主要为半褶织纹螺,且均有阳性样品检出,涵江、同安和霞浦的织纹螺样品中阳性检出率分别为14%,43%和20%。采自福建三地的织纹螺样品总体毒性较低,毒性最高的样品为7月12日采自霞浦的半褶织纹螺,毒性为 $16.2 \text{ MU} \cdot \text{g}^{-1}$ 组织(湿重)。对高毒性织纹螺样品的毒素分析结果表明,样品中不含麻痹性贝毒毒素,但是在样品中检测到了河豚毒素及其同系物三脱氧河豚毒素(trideoxy TTX)。样品中河豚毒素含量为 $4.38 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 组织(湿重),依据样品中河豚毒素含量计算得到的毒性与小鼠法测试结果基本相当,说明河豚毒素及其同系物是导致织纹螺毒性的主要毒素成分。涵江的阳性样品集中出现在3月份,而同安和霞浦的阳性样品则出现了3月份和6,7月份两个高峰时段,说明织纹螺的毒性变化具有一定的季节和地域特征。因此,建议福建地区在这两个时段加强对织纹螺毒性的监测。

关键词: 织纹螺;毒性;河豚毒素;麻痹性贝毒;高效液相色谱;色谱-质谱联用

中图分类号: X174; S917

文献标识码: A

织纹螺(*Nassarius* spp.)属软体动物门(Mollusca)、腹足纲(Gastropoda)、前鳃亚纲(Prosobranchia)、新腹足目(Neogastropoda)、岩舌亚目(Rochiglossa)、蛾螺族(Buccinacea)、织纹螺科(Nassariidae),广泛分布于美国太平洋沿岸以及西澳大利亚-加勒比海、欧洲、东大西洋和印度-太平洋等地区泥质生态相的潮间带和潮下带^[1]。织纹螺味道鲜美,我国江苏、浙江、福建等沿海地区居民都有食用织纹螺的习惯。近几十年来,食用织纹螺导致的中毒及死亡事件频繁发生,

引起了人们对织纹螺体内毒素种类、来源及毒性变化情况的普遍关注。福建省曾于2002年发生较大规模的食用织纹螺中毒事件,导致3人死亡,数十人中毒,研究表明河豚毒素(tetrodotoxin, TTX)及其同系物是主要的毒素成分^[2]。但是,有关该地区织纹螺毒性消长情况及其规律还缺少系统研究,这在很大程度上制约着有关部门对织纹螺中毒事件的有效管理和防范。鉴于此,我们于2006年选择了福建省三个典型地区进行织纹螺毒性消长的监测,以期了解织

收稿日期:2007-10-26

资助项目:国家自然科学基金面上项目(30571426);中国科学院知识创新重点项目(KZCX2-YW-208-01)

作者简介:罗璇(1982-),女,四川内江人,硕士研究生,从事海洋环境生物学研究。Tel:0532-82898649,

E-mail:luo_xuan@2008.sina.com

通讯作者:于仁成,Tel:0532-82898590,E-mail:rcyu@ms.qdio.ac.cn

纹螺毒性变化情况及其在时间和空间上的变动规律,并进一步确定织纹螺体内的毒素成分,为防范食用织纹螺中毒事件的发生提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 样品采集与种类鉴定

根据文献资料对以往中毒事件的报道,选择了莆田涵江、厦门同安和宁德霞浦三地作为福建沿海织纹螺毒性消长监测的样品采集地,在2006年3月至9月期间,于当地沿海潮间带定点采集织纹螺。大约每隔7天采集一次,每次采集300~500粒,样品采集后迅速冷冻并送往实验室,于-20℃冷冻保存,待测试分析。采集织纹螺种类的鉴定参照有关文献资料进行^[3]。

1.2 样品毒性测试

用于毒性测试的织纹螺样品提取方法参照了AOAC推荐的PSP毒性测试中的提取方法,先前的研究表明该方法可以有效用于织纹螺毒性测定。将织纹螺表面的泥沙冲洗干净,随机挑取50粒,夹碎螺壳,取出完整的软体组织,用组织匀浆器粗匀浆。准确称取5g匀浆后的组织,加入5mL 0.1 mol·L⁻¹的HCl溶液,用高速组织分散器处理1~2min,以1 mol·L⁻¹ HCl溶液将其pH值调整为2~4,于微沸水浴中加热10min,冷却至室温,再次以1 mol·L⁻¹ HCl调节pH为2~4,用0.1 mol·L⁻¹的HCl溶液将混合物体积定容至10mL,20℃下6 000 r·min⁻¹离心15min后,取上清液用于毒性测试。

织纹螺毒性测试采用小鼠腹腔注射法,具体过程参照台湾学者黄登福等^[4]建立的测试方法。实验采用了昆明系雄性小鼠,体重18~21g,购自青岛市药品检验所。将1mL毒素粗提液注射入小鼠腹腔,观察小鼠的反应,记录下小鼠的死亡时间和体重,并据此测算样品毒性情况。样品毒性采用小鼠单位(mouse unit, MU)表示,1MU表示能够在30min内杀死体重20g小鼠的平均毒素量,大致相当于0.2 μg TTX。以0.1 mol·L⁻¹的HCl溶液作为空白对照。

1.3 麻痹性贝毒分析

选择高毒性的织纹螺样品(2006年7月12日采自霞浦),将用于毒性测试的毒素粗提液以0.22 μm滤膜过滤后,通过高效液相色谱分析PSP,所采用的毒素分析方法参照Oshima等^[5]采

用的方法,并略有修订。

PSP的分析采用Waters高效液相色谱系统。用Phenomenex C18反相柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)分离毒素;柱后衍生采用Waters双头泵分别输送氧化剂和酸化剂,用Waters温度控制装置进行温度控制,衍生温度为80℃;用Waters474荧光检测器进行毒素检测,激发波长为330 nm,发射波长为390 nm。

用于毒素分析的化学试剂均为色谱纯或分析纯试剂,包括:磷酸、盐酸、乙酸、高碘酸、氨水、磷酸二氢钠和氢氧化钾等。分析采用的离子对试剂庚基磺酸盐购自Wako公司。分析用水为经Millipore纯水系统净化的超纯水。麻痹性贝毒标准毒素购自加拿大海洋生物研究所海洋分析化学标准组,包括GTX1/4, GTX2/3, GTX5, dcGTX2/3, neoSTX, STX和dcSTX等。

用于GTX类毒素分析的洗脱液为含有1 mmol·L⁻¹庚基磺酸钠离子对的10 mmol·L⁻¹磷酸铵缓冲液,pH为7.1。用于STX类毒素分析的洗脱液为含有1.5 mmol·L⁻¹庚基磺酸钠离子对的30 mmol·L⁻¹磷酸铵缓冲液,pH为7.1,并加入5%的乙腈。氧化剂为含有7 mmol·L⁻¹高碘酸的50 mmol·L⁻¹磷酸钾缓冲液,pH为9.0。酸化剂为0.5 mol·L⁻¹的乙酸溶液。洗脱液的流速为0.7 mL·min⁻¹,氧化剂和酸化剂的流速均为0.4 mL·min⁻¹。进样量为10 μL。

1.4 LC-MS分析 TTX

选择高毒性的织纹螺样品(2006年7月12日采自霞浦),取2g匀浆后组织,加入2mL酸化甲醇水(甲醇:水=80:20,含0.1%乙酸),震荡、静置,进行毒素提取,在20℃下6 000 r·min⁻¹离心15min,取上清液。向沉淀中再加入2mL酸化甲醇水重复提取1次。合并提取液,在45℃下旋转蒸发至干。以4mL 0.05 mol·L⁻¹乙酸溶解残余物,并定容至5mL。加入等体积二氯甲烷脱脂后,将含有毒素的水相吸出,用3 000分子量的超滤离心管(Millipore)在12 000 r·min⁻¹离心,过滤液用于LC-MS分析TTX。

用于TTX分析的化学试剂均为色谱纯或分析纯试剂,包括:乙腈、甲醇、甲酸、氨水等。分析用水为经Millipore纯水系统净化的超纯水。TTX标准毒素购自CALBIOCHEM公司。

TTX分析参照于仁成等^[2]和李爱峰等^[6]的

方法,并略有修订。毒素分析用的 LC-MS 系统为美国热电公司(Thermo Finnigan, San Jose, CA, USA)制造,采用电喷雾离子阱质谱检测器,型号为 Finnigan LCQ™ Deca XP Plus,联接接口为 ESI 源。毒素的分离采用亲水性色谱柱 SeQuant ZIC-HILIC Silica column(150 mm×2.1 mm, 5 μm),购自瑞典 SeQuant AB 公司。流动相 A 为含 5 mmol·L⁻¹甲酸铵和 5 mmol·L⁻¹甲酸的超纯水,流动相 B 为含 5 mmol·L⁻¹甲酸铵和 5 mmol·L⁻¹甲酸的 90%乙腈,等梯度洗脱比例为 A:B=30:70,流速 100 μL·min⁻¹。进样量为 3 μL。

2 结果

2.1 织纹螺种类鉴定

采自福建三地的织纹螺种类比较相似。其中采自涵江的样品主要为半褶织纹螺(*Nassarius*

semiplicatus),其次有少量秀丽织纹螺(*N. reticulassa*);采自宁德霞浦的样品主要为半褶织纹螺,另有少量织纹螺未能定种,暂记为 *Nassarius* sp.;采自厦门同安的样品大部分为上述未能定种的织纹螺(*Nassarius* sp.),其次有少量的暗色织纹螺(*N. pullus*)。

2.2 织纹螺毒性消长

涵江的织纹螺样品采集时间为 2006 年 3 月初至 9 月初,并且在同一日采集了潮上带和潮下带两个样品,采集工作进行了 22 次,总计采集了 44 个样品。毒性测试结果显示阳性样品检出率为 14%,但是样品毒性普遍较低(图 1)。最高毒性样品为 3 月 2 日于低潮区采集的半褶织纹螺,毒性为 4.41 MU·g⁻¹组织(湿重)。从图 1 可以看出,该地区采集的阳性样品集中出现在 3 月份。在检测出毒性的织纹螺样品中,采自高潮区和低潮区的织纹螺毒性差异没有明显规律可循。

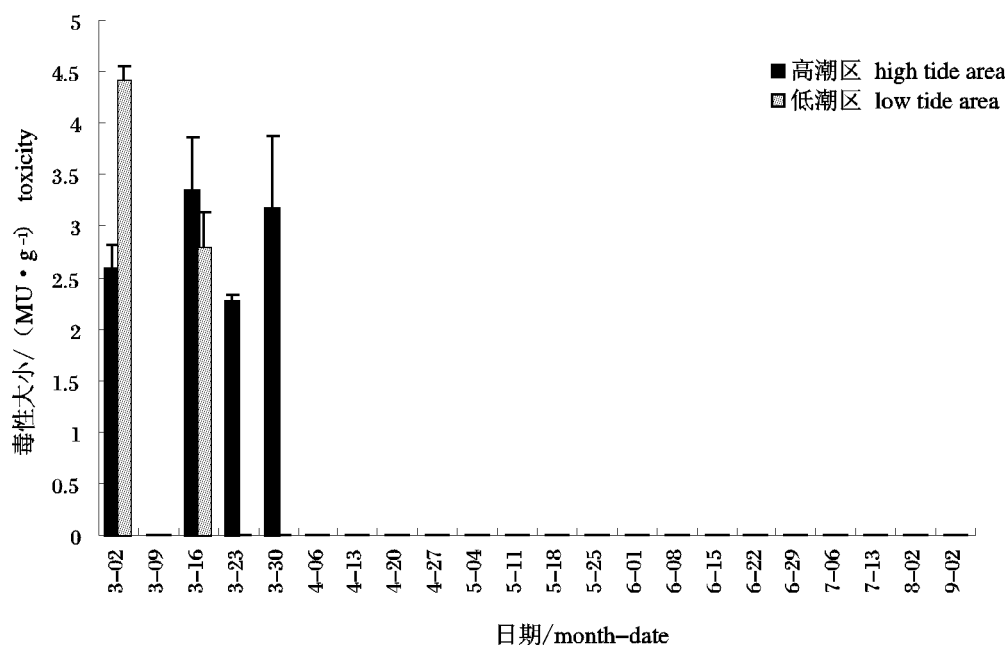


图 1 涵江采集的织纹螺毒性消长情况

Fig. 1 Toxicity dynamics of *Nassarius* spp. from Hanjiang, Fujian Province

在同安和霞浦两地进行的织纹螺采样工作从 3 月初持续到 7 月末,在同安总计采集 21 个样品,阳性样品检出率为 43%。阳性样品集中出现在 6、7 月份,3 月份也有少量阳性样品检出(图 2)。样品毒性较低,最高毒性样品为 3 月底采集的半褶织纹螺,毒性为 4.71 MU·g⁻¹组织(湿

重)。在霞浦总计采集了 25 个样品,其中阳性样品检出率为 20%,阳性样品集中出现在 6、7 月份,但 3 月份也有一个阳性样品检出(图 3)。霞浦织纹螺样品的毒性总体较低,但在 7 月 21 日采集的织纹螺样品毒性达到 16.2 MU·g⁻¹组织(湿重),在所有样品中毒性最高。

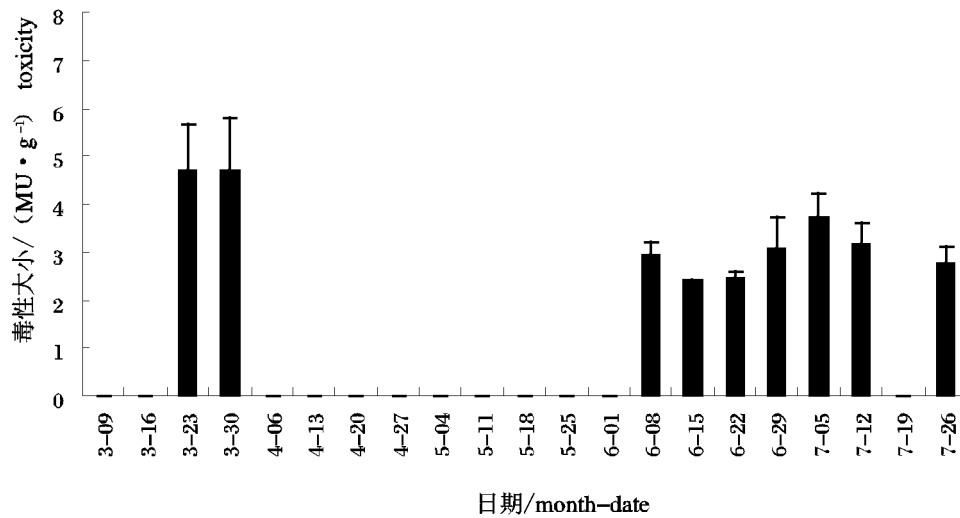


图2 同安采集的织纹螺毒性消长情况

Fig. 2 Toxicity dynamics of *Nassarius* spp. from Tong'an, Fujian Province

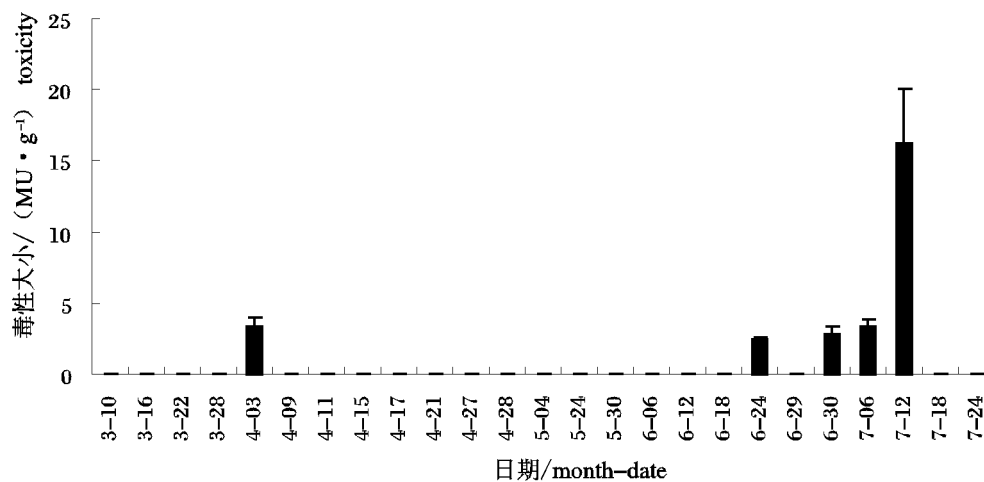


图3 霞浦采集的织纹螺毒性消长情况

Fig. 3 Toxicity dynamics of *Nassarius* spp. from Xiapu, Fujian Province

综合这三个采样点织纹螺毒性的消长情况可以看出,2006年3月至7月,福建省三地的织纹螺样品毒性总体较低,在 $2.26 \sim 16.2 \text{ MU} \cdot \text{g}^{-1}$ 组织(湿重)之间。三地阳性样品的分布格局呈现一定的地域和季节特征,涵江的阳性样品集中出现在3月份,而同安和霞浦的阳性样品则出现了3月份和6,7月份两个高峰时段。

2.3 毒素成分分析

通过高效液相色谱法对7月21日在霞浦采集的织纹螺样品进行分析,GTX标准毒素和STX标准毒素的色谱图如图4A和4B所示,织

纹螺样品分析的色谱图如图4C和4D所示。结果在样品中没有检测到麻痹性贝毒毒素。

利用高效液相色谱-质谱联用方法分析了样品中的河豚毒素及其同系物,分析色谱图如图5所示。可以看出,该样品中含有河豚毒素 TTX ($m/z = 320.3$)和三脱氧河豚毒素 trideoxy TTX ($m/z = 272.3$)。TTX毒素的浓度约为 $4.38 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 组织(湿重)。由于缺少三脱氧河豚毒素的标准,还不能对三脱氧河豚毒素进行定量分析。根据TTX毒素的含量,计算得到的样品毒性约为 $19.9 \text{ MU} \cdot \text{g}^{-1}$ 组织(湿重),与小鼠生物法测得的结果大致相当。

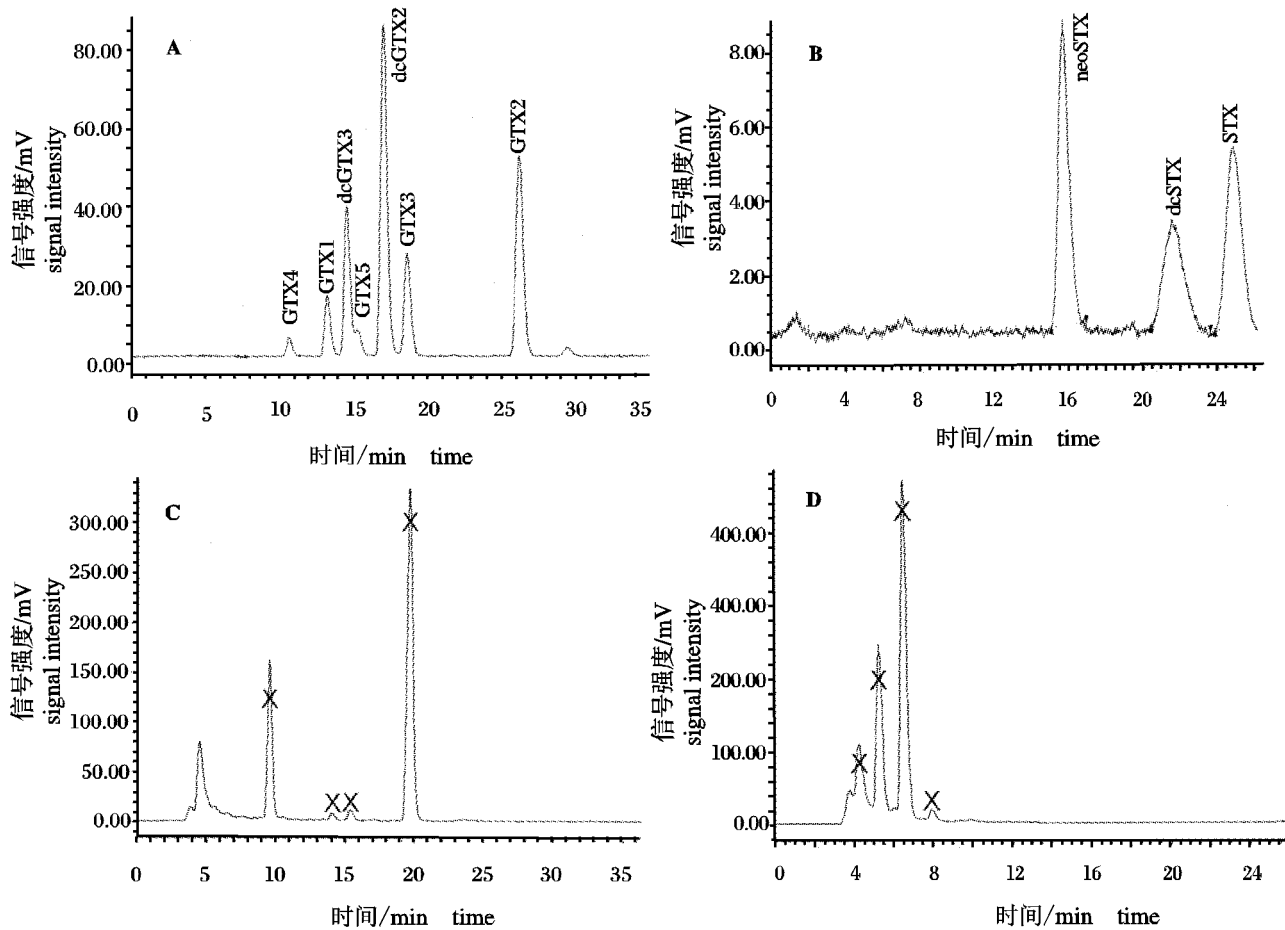


图 4 麻痹性贝毒标准品与高毒性织纹螺的高效液相色谱分析结果色谱图

- A. GTX 类标准毒素色谱图 B. STX 类标准毒素色谱图
 C. 织纹螺样品 GTX 类毒素分析色谱图 D. 织纹螺样品 STX 类毒素分析色谱图

Fig. 4 HPLC chromatograms of PSP standards and the snail sample with the highest toxicity

- A. Chromatogram of the GTXs standard mixture B. Chromatogram of the STXs standard mixture
 C. Chromatogram of GTXs for the snails sample with the highest toxicity
 D. Chromatogram of STXs for the snails sample with the highest toxicity

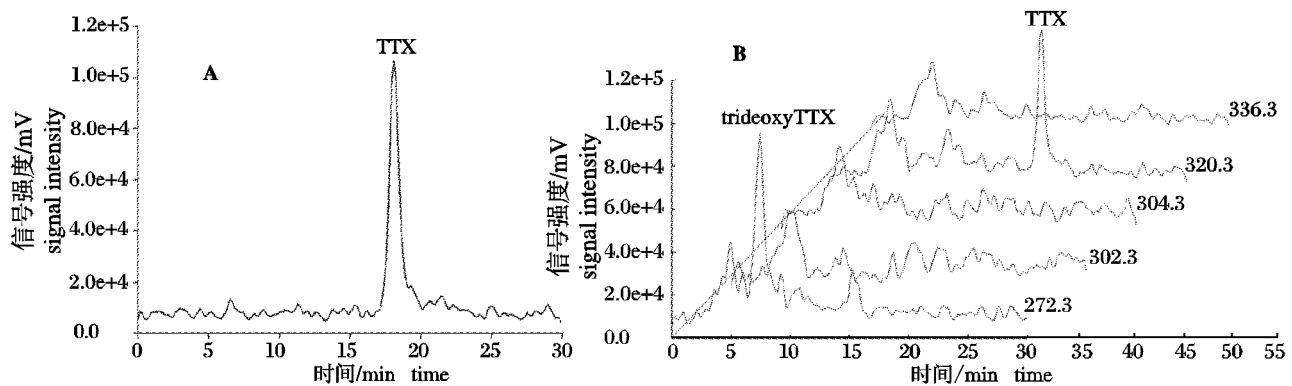


图 5 河豚毒素标准品与高毒性织纹螺的液-质联用分析色谱图

- A. TTX 标准毒素液-质联用分析图 B. 织纹螺样品 TTX 毒素液-质联用分析图

Fig. 5 LC-MS chromatograms of the TTX standard and the snail sample with the highest toxicity

- A. LC-MS chromatogram of the TTX standard B. LC-MS chromatograms of the snail sample with the highest toxicity

3 讨论

3.1 织纹螺毒性消长及其规律

食用织纹螺中毒事件在国内多次报道,但是,对于织纹螺毒性消长及其变动规律还缺乏系统的调查和研究。有学者对近 20 年来浙江舟山市食用织纹螺中毒的事件进行了总结和统计,提出中毒事件的发生存在一定的周期性和季节性特征,中毒事件高发期间隔 1~4 年,每一年里 6-8 月份为中毒事件发生的高峰期^[7]。也有学者对浙江宁波的织纹螺毒性进行了长达 10 多年的跟踪调查,但却没有发现明显的毒性变化规律,毒性变动难以预测^[8]。目前尚未有任何地区对织纹螺毒性进行稳定的长期连续观测。本研究通过对福建三地高密度的样品采集和毒性监测,初步发现织纹螺的毒性表现出明显的季节性和区域性差异,阳性样品集中在 3 月份和 6,7 月份出现,根据本文结果,建议福建地区在这两个时段加强对织纹螺毒性的监测。但是,调查也发现在三个地区之间织纹螺毒性变化特征也有一些差别,要充分阐明毒性变动规律及其机制,还需要长期连续的调查和监测。

3.2 织纹螺中毒毒素成分分析

由于中毒患者所表现出来的症状和 PSP 中毒症状相似,许多国内学者推测,在以往发生的食用织纹螺中毒事件中,织纹螺中的致毒成分是 PSP 毒素,织纹螺毒性的变动可能和临近海域赤潮的发生有关,因此,中毒事件可能在赤潮爆发时期发生^[9-10]。但是,通过近年来的研究工作,已有学者从织纹螺中检测到了河豚毒素及其同系物,表明河豚毒素及其同系物是织纹螺中的主要毒素成分^[2,6,11-12]。在本研究中,我们通过高效液相色谱方法确认了这次采集的高毒性织纹螺样品中不含有麻痹性贝毒毒素,并利用液相色谱-质谱联用方法在织纹螺中检测到了河豚毒素及其同系物三脱氧河豚毒素。确认了 TTX 及其同系物是织纹螺中主要的毒素成分。

3.3 对织纹螺中河豚毒素来源的探讨

河豚毒素是一种毒性很强的钠离子通道阻断剂,在自然界中存在多种同系物,包括 4-epiTTX, 6-epiTTX, 5-deoxyTTX, 4,9-anhydroTTX, 5,6, 11-trideoxyTTX, 11-oxoTTX 等^[13]。自 1909 年发现河豚毒素以来,已在多种脊椎和无脊椎生物

体内检测到河豚毒素。在织纹螺等多种软体动物中也曾检测到河豚毒素^[14]。目前学术界对生物体内河豚毒素的来源有两种不同的看法,一种认为河豚毒素是生物通过各种途径从外部环境或共生生物中得到的,如通过摄食其它有毒生物积累在体内^[15],或是由与生物共生的细菌分泌产生,目前已有许多学者成功地从河豚鱼肠道中分离出了可产生河豚毒素的细菌^[16-18]。另一种看法则认为有的生物本身也可以产生河豚毒素,有研究表明河豚鱼胚胎中的河豚毒素含量随其发育而逐渐增加,认为所增加的河豚毒素是生物自身的产物^[19]。对于织纹螺中河豚毒素的来源,目前还不能确定是由织纹螺自身产生还是它从环境中积累得到,而这一点对于了解织纹螺毒性变动规律、有效防范食用织纹螺中毒事件的发生具有重要意义。本研究通过对织纹螺毒性消长的初步研究,为下一步研究织纹螺中毒毒素的来源提供了重要的背景资料。

4 结论

通过对福建省涵江、同安和霞浦三地织纹螺毒性的监测和高毒性织纹螺样品毒素成分的分析,可以得到如下结论:

(1) 在 2006 年 3-9 月的织纹螺毒性监测实验中,福建省三地均检测到有毒织纹螺样品,毒性最高可达 16.2 MU·g⁻¹组织(湿重)。

(2) 2006 年度福建省三地织纹螺毒性消长具有一定的季节性和区域性特征,阳性样品集中在 3 月份和 6,7 月份出现,而三个调查区之间织纹螺毒性消长情况存在一定差异。

(3) 高毒性织纹螺样品中不含有麻痹性贝毒毒素,河豚毒素及其同系物三脱氧河豚毒素应是织纹螺中主要的毒素成分。

本次研究的样品采集是在福建省有关部门的大力支持下完成的,在此表示诚挚感谢。同时感谢中国科学院海洋研究所标本馆的张素萍老师在织纹螺种类鉴定上所给予的帮助和指导。

参考文献:

- [1] 张爱菊, 尤仲杰. *Nassarius* 属织纹螺摄食行为及毒素的研究进展[J]. 水利渔业, 2006, 26(1): 9-12.
- [2] 于仁成, 周名江, 李爱峰, 等. 中国沿海两例食用织纹螺中毒事件中织纹螺体内毒素分析[J]. 中国水

- 产科学,2007,14(5):801-806.
- [3] 齐仲彦. 中国动物图谱:软体动物(第二册)[M]. 北京:科学出版社,1983:98-103.
- [4] Hwang D F, Jeng S S. Bioassay of tetrodotoxin using ICR Mouse Strain [J]. J Chinese Biochem Soc,1991,20(2):80-86.
- [5] Natori S, Hashimoto K, Ueno Y. Mycotoxins and Phycotoxins '88 [M]. Amsterdam: Elsevier Sci Pub, 1989:319-326.
- [6] 李爱峰,于仁成,周名江. 液相色谱-电喷雾离子阱质谱联用分析河豚毒素[J]. 分析化学,2007,35(3):397-400.
- [7] 水黎明,陈坤,王建跃,等. 1977-2000年舟山市织纹螺中毒流行病学特征及毒理学监测结果分析[J]. 海峡预防医学杂志,2001,7(5):4-7.
- [8] 秦品章,于梅. 织纹螺毒力消长及其栖息地环境影响的调查[J]. 海峡预防医学杂志,2003,9(1):7-9.
- [9] 徐景野,许国章. 织纹螺毒性与检测研究进展[J]. 中国卫生检验杂志,2005,15(3):382-384.
- [10] 林祥田,张明生,张元瑛,等. 连云港地区织纹螺食物中毒的流行病学研究[J]. 江苏预防医学,2005,16(2):5-7.
- [11] Huang D F, Lin L C, Jeng S S. Occurrence of a new toxin and tetrodotoxin in two species of the gastropod mollusk *Nassariidae*[J]. Toxicon,1992,30(1):41-46.
- [12] Huang D F, Cheng C A, Tsai H T. Identification of tetrodotoxin and paralytic shellfish toxins in marine gastropods implicated in food poisoning[J]. Fish Sci,1995,64(4):675-679.
- [13] Shoji Y, Yotsu-Yamashita M, Miyazawa T, et al. Electrospray ionization mass spectrometry of tetrodotoxin and its analogs;liquid chromatography/mass spectrometry, tandem mass spectrometry, and liquid chromatography/ tandem mass spectrometry [J]. Anal Biochem,2001,290:10-17.
- [14] Huang D F, Lin L C, Jeng S S. Variation and secretion of toxins in gastropod mollusc *Niotha clathrara* [J]. Toxicon,1992,30(10):1189-1194.
- [15] Lin S J, Hwang D F. Possible source of tetrodotoxin in the starfish *Astropecten scoparius* [J]. Toxicon, 2001,39:573-579.
- [16] Lee M J, Jeong D Y, Kim W S, et al. A tetrodotoxin-producing *Vibrio* strain, LM-1, from the puffer fish *Fugu vermicularis radiatus* [J]. Appl Environ Microbiol,2000,66(4):1698-1701.
- [17] Yu C F, Yu P H F, Chan P L, et al. Two novel species of tetrodotoxin-producing bacteria isolated from toxic marine puffer fishes[J]. Toxicon,2004,44:641-647.
- [18] Wu Z, Yang Y, Xie L, et al. Toxicity and distribution of tetrodotoxin-producing bacteria in puffer fish *Fugu rubripes* collected from the Bohai Sea of China[J]. Toxicon,2005,4:471-476.
- [19] Matsumara K. Production of tetrodotoxin in puffer fish embryos[J]. Environ Toxicol Pharmacol,1998,6(4):217-219.

Toxicity dynamics and toxin composition of *Nassarius* spp. from Fujian Province

LUO Xuan^{1,2}, YU Ren-cheng¹, WANG Xiao-jie^{1,2}, LI Jun¹, ZHOU Ming-jiang¹

(1. Key Laboratory of Marine Ecology and Environment Sciences, Institute of Oceanology,
Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China;

2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Consumption of gastropod *Nassarius* spp. caused many poisoning incidents along the coast of China. However, little information is available on the dynamics of toxicity in nassariids, which leads to the difficulty in effective prediction and prevention of the poisoning incidents. To find out the pattern of toxicity dynamics, samples of *Nassarius* spp. were collected from Hanjiang, Tong'an and Xiapu of Fujian Province once a week from March to September in 2006, and the toxicity of the samples was screened with the mouse bioassay method. The sample with the highest toxicity was then picked out and analyzed for paralytic shellfish poisoning toxins (PSP) and tetrodotoxin (TTX) with high performance liquid chromatography (HPLC) and liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), respectively. It was found that the snail samples collected from Hanjiang were mainly *Nassarius semiplicatus*, together with small amounts of *N. reticulunassa*. The samples from Tong'an comprised the unidentified *Nassarius* sp. and small amounts of *N. pullus*, and the samples from Xiapu were mainly composed of *N. semiplicatus* and a *Nassarius* species unidentified. Toxic samples, which were defined as those showed positive results in mouse bioassay, were detected in all the three locations during the sampling season. There were 6 toxic samples out of the 44 samples collected from Hanjiang, and the proportion of toxic samples was 14%. In Tong'an, 9 toxic samples were detected out of the 21 samples collected, and the proportion of the toxic samples was 43%. In Xiapu, 5 toxic samples were detected in the 25 samples collected, and the proportion of toxic samples was 20%. For most of the toxic samples, the toxicities were lower than $4 \text{ MU} \cdot \text{g}^{-1}$, and the highest toxicity recorded was $16.2 \text{ MU} \cdot \text{g}^{-1}$ in a sample collected from Xiapu on July 12th. For the sample with the highest toxicity, no PSP toxins were detected with HPLC. However, TTX and its analogue, trideoxy TTX, were detected in this sample with LC-MS using a SeQuant ZIC-HILIC silica column. TTX content in this sample is $4.38 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, but the content of trideoxy TTX was not determined due to the lack of standard. Toxicity calculated based on the content of TTX ($19.9 \text{ MU} \cdot \text{g}^{-1}$) is roughly in accordance with that from the mouse bioassay experiment. The toxic samples in Hanjiang were mainly found in March, but in the other two sampling sites, toxic samples were found both in March and in a period from June to July. The results indicate that TTX and its analogues are responsible for the toxicity in this batch of snail samples collected in Fujian Province, and both seasonal factors and geographical factors can affect the dynamics of snail toxicity. Based on these findings, we suggest that special attentions should be paid to the toxicity of *Nassarius* spp., particularly in March, June and early July in these regions every year.

Key words: *Nassarius* spp.; toxicity; tetrodotoxin; paralytic shellfish poisoning toxins; high performance liquid chromatography; liquid chromatography-mass spectrometry