环 境 化 学
ENVIRONMENTAL CHEMISTRY
第 39 卷第 10 期 2020 年 10 月
Vol. 39, No. 10 October 2020

DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2019120802
郭雅欣, 钱宗耀, 龚婷婷,等.太湖贝类中微囊藻毒素的测定与健康风险评估[J].环境化学,2020,39(10):2673-2682.
GUO Yaxin, QIAN Zongyao, GONG Tingting, et al. Determination and health risk assessment of microcystins in shellfish from Lake Taihu[J]. Environmental Chemistry,2020,39(10):2673-2682.

太湖贝类中微囊藻毒素的测定与健康风险评估*

郭雅欣 钱宗耀 龚婷婷 鲜啟鸣**

(污染控制与资源化研究国家重点实验室,南京大学环境学院, 南京, 210023)

摘 要 本文调查了太湖环境水体贝类中 5 种微囊藻毒素 microcystins(MCs:MC-RR、MC-YR、MC-LR、MC-LF、MC-LW)的残留水平及其健康风险.采集 2017 年太湖湖区(梅梁湖和南太湖)的贝类样品(河蚌、河蚬),取可食用组织,经冻干处理后,采用 80%甲醇/水溶液涡旋振荡提取,高速离心后的上清液通过 HLB 固相萃取柱富集净化,采用高效液相色谱-串联质谱法测定样品中 MCs 的含量.结果表明,MCs 的质量浓度在 5.00—100.0 $\mu g \cdot L^{-1}$范围内呈良好线性关系,相关系数 r^2 均大于 0.99.MCs 在空白贝类组织中的加标回收率范围为 72.4%—82.6%,相对标准偏差(RSD)均小于 8%;在太湖贝类可食用组织中都能检测到 MC-RR 和 MC-LR 两种常见的 MCs,河蚌中藻毒素浓度大于河蚬中藻毒素的浓度,梅梁湖河蚌中总藻毒素含量为 0.877 $mg \cdot kg^{-1}$ dw(干重),高于南太湖河蚌中藻毒素的浓度 0.690 $mg \cdot kg^{-1}$ dw.通过人体健康风险评价模型分析,太湖湖区的贝类存在不同程度的健康风险,其中采集的河蚬样品的风险指数较低,而河蚌样品健康风险指数均大于 0.7,接近风险阈值,人类食用河蚌水产品具有一定的潜在健康风险.

关键词 微囊藻毒素,贝类,液相色谱-串联质谱,风险评价,太湖.

Determination and health risk assessment of microcystins in shellfish from Lake Taihu

GUO Yaxin *QIAN Zongyao* *GONG Tingting* *XIAN Qiming***

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing, 210023, China)

Abstract: This paper investigated the contamination levels and health risks of five microcystins (MCs: MC-RR, MC-YR, MC-LR, MC-LF, MC-LW) in shellfish from Taihu Lake. The shellfish samples were collected in the Taihu Lake (Meiliang Lake and Southern Taihu Lake) in 2017, and the edible tissues of the shellfish were obtained and lyophilized. MCs were extracted with 80% methanol/water solution from a vortex. The supernatant after high-speed centrifugation was enriched and purified by HLB solid phase extraction column, and the content of MCs in the sample was determined by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. The results showed that the mass concentration of MCs showed a good linear relationship in the range of 5.00—100.0 $\mu g \cdot L^{-1}$, and the correlation coefficient (R^2) was greater than 0.99. The spiked recoveries of MCs in blank shellfish tissues ranged from 72.4% to 82.6%, and the relative standard deviation (RSD) values were less than 8%. MC-RR and MC-LR were detected with a relatively high levels in

2019 年 12 月 8 日收稿 (Received: December 8, 2019).
* 太湖水环境综合治理科研课题基金(TH2016301)和"十三五"水专项课题(2017ZX07204004)资助.
Supported by the Taihu Pollution Control Office of Jiangsu Province (TH 2016301) and the Major Science and Technology Program for Water Pollution Control and Treatment (2017ZX07204004).
** 通讯联系人,E-mail: xianqm@nju.edu.cn
Corresponding author, E-mail: xianqm@nju.edu.cn

hjhx.rcees.ac.cn

the edible tissues of shellfish from Taihu Lake. The concentration of MCs in *Hyriopsis cumingii* was higher than that in *Corbicula fluminea*. The concentrations of MCs in *H. cumingii* were 0.877 $mg \cdot kg^{-1}$ dw (dry weight) in Meiliang Lake and 0.690 $mg \cdot kg^{-1}$ dw in Southern Taihu Lake. Based on the analysis of human health risk assessment models, shellfish in the Taihu Lake region had different degrees of health risks. The risk index of collected *C. fluminea* samples was low, and the health risk index of *H. cumingii* samples was greater than 0.7, which was close to the risk threshold.

Keywords: microcystins, shellfish, HPLC-MS/MS, risk assessment, Taihu Lake.

近年来随着淡水水体的富营养化日益加剧,频繁发生的蓝藻水华对生态环境和饮用水安全构成严重威胁.微囊藻毒素(microcystins,MCs) 是一类结构为单环七肽的天然毒素,由蓝藻细胞产生的次生代谢化合物,当蓝藻细胞进入消亡期后,藻毒素会从细胞内大量释放到环境水体中[1-2].MCs 具有较强的毒性,且化学稳定性较强,可致家畜和人类中毒,食用含有藻毒素的食物可能是进入人体最重要的途径.世界卫生组织(WHO)和我国生活饮用水卫生标准规定饮用水中 MC-LR 的限量值为 1.00 $\mu g \cdot L^{-1}$[3-4],人体每天的最大可耐受摄入量为 0.04 $\mu g \cdot (kg \cdot d)^{-1}$[5].相关研究显示,微囊藻毒素以肝脏为靶向器官,能促使肿瘤细胞生长,其在人体暴露的情况下会导致肝损伤、肝癌等疾病,是目前发现最强的肝癌促进剂,MC-LR 已被国际癌症协会(IARC)列为可能致癌的物质[6].目前已鉴定出的 90 余种微囊藻毒素异构体,其中 MC-LR、MC-RR、MC-YR、MC-LW 和 MC-LF 是蓝藻水华中分布较为广泛且毒性较大的微囊藻毒素异构体.在太湖水样中普遍检出 MC-LR 和 MC-RR 两种异构体,通常情况下,MC-RR 检出水平在 0.0015—0.010 $\mu g \cdot L^{-1}$,MC-LR 检出水平在 0.0046— 0.066 $\mu g \cdot L^{-1}$,且水体中 MCs 浓度存在时空差异[7-8].

目前文献报道可用高效液相色谱-紫外检测器[9-11]和酶联免疫法[12-14]等方法检测微囊藻毒素,高效液相色谱仪虽可对微囊藻毒素进行检测,但是在灵敏度和选择性方面存在一定问题;酶联免疫法则由于样品基质复杂,存在较高的假阳性概率和定性、定量不准确和无法区分异构体等问题.高效液相色谱-电喷雾(ESI)串联质谱法[15-16]作为一种可同时定性定量的技术,方法快速、简便,定量准确,具有较强的适用性,目前贝类样品中微囊藻毒素的测定也多采用此方法[17-19].

当太湖水体发生蓝藻水华时,MCs 可在淡水水生植物和水产品等多种生物体内积累后进入人类的食物链或食物网,潜在危害人类健康[20-24].水华暴发后期,大量微囊藻会下沉进入底泥中,且至少约 7%—10%的 MCs 可通过与沉积物颗粒表面特定位点的结合被水中的悬浮颗粒物吸附[25-26].贝类在我国各大水系中分布广泛,生活在水系底部,属于甲壳类软体动物,食用价值较高.贝类移动缓慢,半埋于泥沙中,能够反映水体的污染状况,常用于毒性实验.由于其主要摄食水体中悬浮的或基质表面附着的藻类,相对于鱼类等水产品更易积累高浓度的微囊藻毒素,因此人们在食用贝类组织时会有微囊藻毒素暴露的风险.

本文以太湖湖区捕捞的野生贝类(河蚌和河蚬)为试验对象,通过对贝类可食用组织中微囊藻毒素残留量进行测定,评价食用该类水产品的人体健康风险,为我国食品质量安全和微囊藻毒素的生态环境风险评价提供可靠的依据.

1 实验部分(Experimental section)

1.1 仪器与试剂

高效液相色谱仪 HPLC(1260,Agilent 公司)—三重四极杆质谱仪(API4000 MS,AB SCIEX 公司);漩涡振荡器(Vortex Mixer,IKA 公司);分析天平(BS124S,德国赛多利斯公司);高速离心机(CT18RT,TECHCOMP,China);冷冻干燥机(ZL-12TD,上海左乐仪器有限公司);甲醇(色谱纯,美国 Fisher Scientific 公司);三氟乙酸、甲酸(分析纯,阿拉丁试剂公司);MCX 和 Oasis HLB 固相萃取小柱(5 mL,600 mg,美国 Waters 公司);C_{18}固相萃取柱(5 mL,600 mg,天津艾杰尔公司);微囊藻毒素标准品 (MC-RR、LR、YR、LW、LF,纯度≥ 95%,Enzo life sciences 公司).

1.2 标准溶液的配制

5 种微囊藻毒素异构体标准品用甲醇分别配成 1000 $\mu g \cdot L^{-1}$标准贮备液,按比例逐级稀释配制不同

hjhx.rcees.ac.cn

浓度的混合标准溶液,于-20 ℃冰箱内避光保存.

1.3　样品采集

2017 年 11 月于太湖湖区的梅梁湖和南太湖的 2 个采样点,通过渔船拖网捕捞的方式采集野生河蚌(*Hyriopsis cumingii*)与河蚬(*Corbicula fluminea*)样本.具体采样区域见图 1 所示,每个采样点各采集 1 份河蚌样品与河蚬样品,其中每个采样点收集的河蚌数量约 20 个、河蚬约 60 个.图 1 中的柱状图表示采样点位 2017 年第四季度(10 月—12 月)水中藻细胞数量变化趋势(数据待发表).

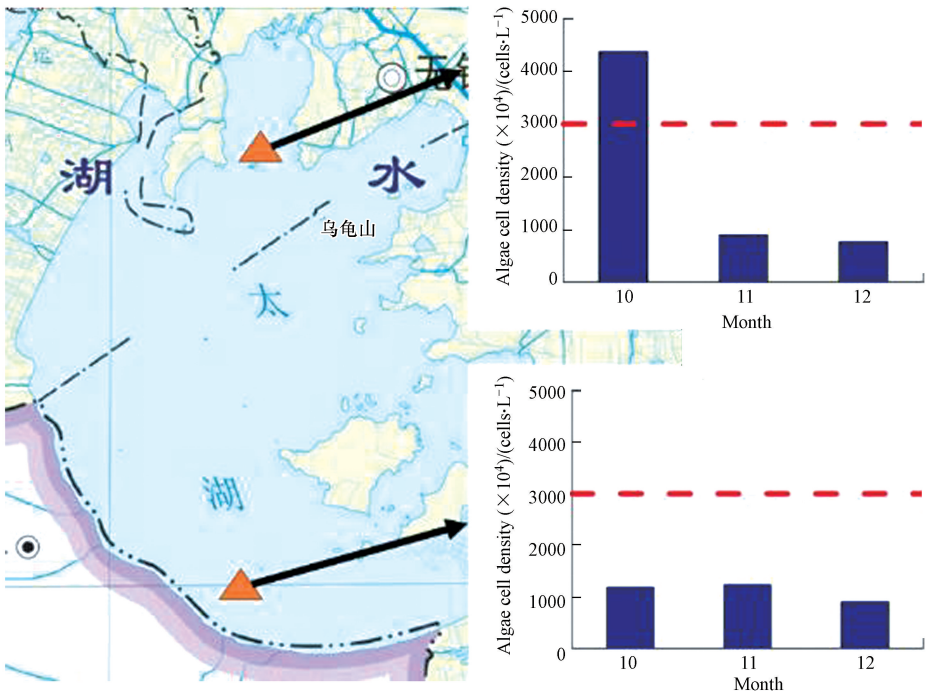

图 1　太湖采样点示意图

(柱状图为采样点 2017 年第四季度水中藻细胞数量)

Fig.1　Sampling locations in the Taihu Lake

1.4　样品前处理与净化

分别将采集的样品中可食用软组织的部分取出后均质混合,放入-80 ℃低温冰箱冷冻 48 h,迅速取出放入冷冻干燥机 24 h,冻干干燥后取出研磨成粉状,放入密封袋低温保存,备用.

准确称取贝类样品 0.200 g(精确至 0.001 g)于 50 mL 具塞离心管中,加入 10 mL 甲醇/水溶液(*V*/*V*,80/20),涡旋振荡混匀 1 min 后超声 20 min,放入高速离心机 4 ℃以 10000 r·min^{-1}离心 3 min,取上清液 5.00 mL 待净化,选择 Oasis HLB 固相萃取柱,分别用 5 mL 甲醇、5 mL 水活化固相萃取小柱,上样后以自然流速滴下样品,抽干萃取柱残留液体,用 5 mL 的 0.1%三氟乙酸-甲醇溶液洗脱,收集洗脱液于玻璃氮吹管中,氮吹至近干,用 1.0 mL 甲醇定容,过 0.22 μm 滤膜后暂存于进样小瓶,待测.

1.5　仪器条件

液相条件:C_{18}色谱柱(ZORBAX Eclipse Plus,100 mm × 2.1 mm,3.5-Micron,Agilent);柱温为 30 ℃;流动相为 A 相为 0.1%甲酸水溶液,B 相为甲醇;流速为 300 μL·min^{-1},采用梯度洗脱为 0—1 min(A∶B=60%∶40%);1—16 min(A∶B=20%∶80%);进样量为 5.00 μL.

质谱条件:电子喷雾离子源(正离子扫描方式,ESI$^+$);离子源Ⅰ(Ion Source Gas 1,GS1)和Ⅱ(Ion Source Gas 2,GS2)的气体流速分别为 50 和 55 mL·min^{-1},碰撞气(Collision Gas,CAD)流速为 10 mL·min^{-1},气帘气(Curtain Gas,CUR)流速分别为 30 mL·min^{-1},气体均为 N_2.电离电压(Ion Spray Voltage,IS)为 5500 V;离子源辅助加热气温度(TEM)为 500 ℃.扫描模式为多反应监测模式(MRM),质谱的去簇电压(Decluster Potential,DP)、碰撞能(Collision Energy,CE)及 MCs 的离子对相关参数见表 1.

1.6　数据分析

非致癌风险指数(HI)计算公式为:

$$HI = EDI/RfD_i \quad (1)$$

其中,RfD_i和 EDI 分别为参考剂量和日均摄入量,单位为 $\mu g \cdot (kg \cdot d)^{-1}$.

样品的测定结果是通过色谱峰的保留时间、质谱定性离子的丰度比进行组分的定性,采用定量离子的峰面积外标法定量.

2 结果与讨论(Results and discussion)

2.1 提取溶剂的选择

由于微囊藻毒素分子结构中有大量的氨基,易溶于水、甲醇、乙腈及丙酮等极性溶剂,水产品含有大量的脂肪和蛋白质,基质较为复杂,因此需要选择合适的提取溶剂萃取微囊藻毒素,根据前期文献报道[27],通常使用甲醇-水溶液对水产品中微囊藻毒素进行提取.本试验考察了水、40%甲醇水溶液、80%甲醇水溶液和甲醇的提取效率.通过加标回收率的测定结果(见图 2)进行比较,当用纯水作为提取溶剂时萃取效率最低,主要原因是水只能萃取出贝类组织中游离形式存在的微囊藻毒素;当用甲醇作为提取剂时,会同时萃取基质中大量的脂肪和蛋白质,一定程度上干扰目标物的测定.而用一定比例的甲醇水溶液可以有效地萃取基质中与其它物质相结合的微囊藻毒素[28],在提高目标化合物萃取效率的同时也降低了基质中脂肪和蛋白质的提取.本研究通过在贝类空白样品中添加 MCs 标准品来比较不同溶剂的萃取效率,添加浓度为 1.0 $mg \cdot kg^{-1}$ dw,通过图 2 可以发现 80%甲醇/水溶液作为提取溶剂的萃取效率较高.

2.2 贝类样品净化条件的优化

水产品组织中成分复杂,干扰基质较多,对该类样品中痕量残留物的检测需要通过净化处理.通常水产品中有机污染物的富集与净化一般采用 C_{18}、MCX 和 HLB 等固相萃取柱来完成,其中 HLB 和 C_{18}固相萃取柱对微囊藻毒素的富集效果最佳.本实验通过对空白样品添加 MCs 标准品(添加量为 1.0 $mg \cdot kg^{-1}$ dw)对比了上述 3 种固相萃取柱的富集效率(见图 3),结果发现采用 HLB 的固相萃取小柱净化时回收率最高,特异性好,能够有效去除杂质干扰,最终选择 HLB 固相萃取柱对提取液中的微囊藻毒素进行富集与净化处理.洗脱溶液在固相萃取过程中是影响待测化合物回收率的重要因素之一,相关文献报道[29]酸性环境可使微囊藻毒素分子的多肽质子化促进洗脱,因此本次试验选择 0.1%三氟乙酸-甲醇溶液作为洗脱溶液.

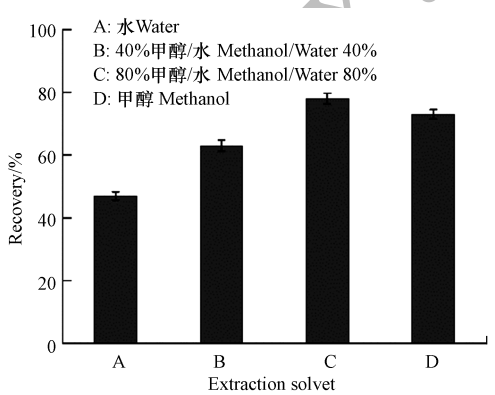

图 2 不同溶剂萃取效率对比图

($n=3$,误差线表示标准偏差)

Fig.2 The comparison of extraction efficiency with different solvents

($n=3$, error bars indicates Standard Deviation)

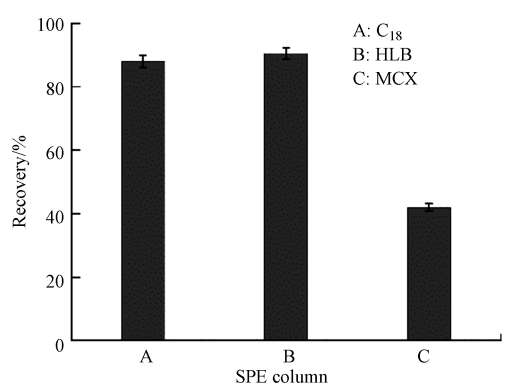

图 3 不同固相萃取柱的富集效率比较

($n=3$,误差线表示标准偏差)

Fig.3 Enrichment efficiency of different SPE columns

($n=3$, error bars indicates Standard Deviation)

2.3 质谱条件优化

使用液相色谱可以对样品中的目标化合物进行分离,为了进一步减小样品基质的干扰,选择三重四极杆串联质谱的多反应离子监测模式可为检测分析提供高选择性和高灵敏度.根据欧盟 2002/657/EC

指令[30]规定，对于质谱确证方法必须达到 4 个确证点的要求，低分辨液相色谱-质谱联用仪应在确定母离子的基础上选择两个以上的子离子.本次试验通过针泵注射标准溶液的方式,在全离子扫描模式下确定 5 种微囊藻毒素异构体的母离子,在选择性离子监测模式下,确定优化的裂解电压,在产物离子扫描模式下确定每种微囊藻毒素的特征子离子对,使用质谱仪器的多通道扫描技术对各组分进行检测,在多反应离子监测模式(MRM)下,确定相应离子对优化的碰撞电压(CE),相关质谱参数见表 1.

在优化的质谱条件下对不同批次处理的样品进行测定,待测化合物定性和定量的依据是选择的子离子,即在相同批次检出的目标化合物必须出现定性离子,同时确保两对子离子的相对丰度比与标准溶液相似,5 种微囊藻毒素标准溶液的总离子流图见图 4.

表 1　微囊藻毒素的质谱参数

Table 1　Mass spectrometry parameters of MCs

组分 Compounds	分子量 Molecular mass	保留时间 Retention time/ min	母离子 Precursor ion	子离子 Product ion	去簇电压 Declustering potential/ eV	碰撞能量 Collision energy/eV
MC-RR	1038.2	4.09	520.1[M+2H]$^{2+}$	135*/127	110	40/65
MC-YR	1045.2	7.00	1045.7[M+H]$^{+}$	135*/213	230	100/80
MC-LR	995.2	7.70	995.7[M+H]$^{+}$	135*/213	160	95/80
MC-LW	1025.2	13.73	1025.7[M+H]$^{+}$	135*/213	140	90/70
MC-LF	986.2	14.59	986.6[M+H]$^{+}$	135*/213	120	90/70

* 表示定量离子. * Indicates the quantitative ions.

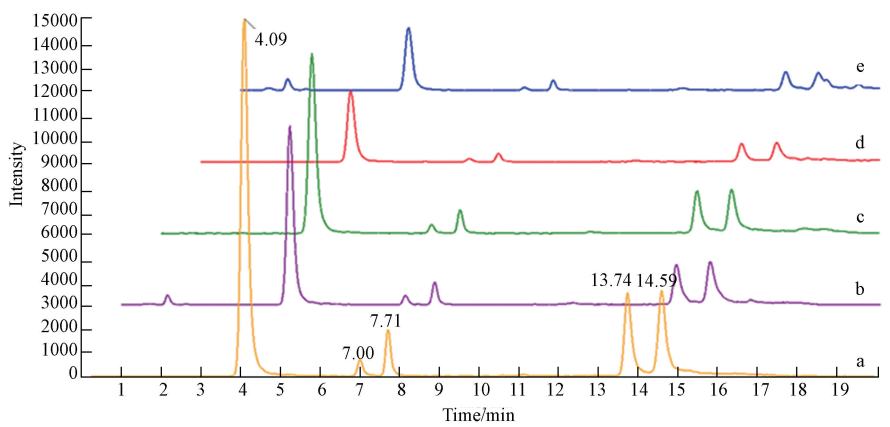

图 4　微囊藻毒素标准溶液总离子流图

(a—e 浓度依次为 5.00、10.0、20.0、50.0、100.0 μg·L^{-1})

Fig.4　The total ion chromatogram for standard solution of five microcystins

(a—e indicates 5.00, 10.0, 20.0, 50.0, 100.0 μg·L^{-1})

2.4　方法线性

配制一系列浓度(5.00、10.0、20.0、50.0、100.0 μg·L^{-1})五种微囊藻毒素混合标准溶液,在设定的仪器条件下进行测定,每种浓度进样 3 次.以浓度与峰面积作标准曲线并生成线性方程(见表 2),相关系数 R^2 均大于 0.99,相对标准偏差(RSD)值均小于 5%,结果表明目标化合物在此浓度范围内呈良好的线性关系.

2.5　方法准确度、精密度和检出限

在不含待测化合物的贝类空白样品中分别添加不同浓度水平的微囊藻毒素混合标准溶液,按“2.3”的步骤进行前处理试验,每个添加水平测定 5 次,进行准确度和精密度考察,结果见表 2.目标化合物在贝类样品中的平均回收率在 72.4%—82.6%之间,平行测定值的 RSD 均小于 8%,该方法具有比较好的重现性.检出限的测定是在样品中通过添加工作曲线最低浓度混合标准溶液经过前处理和进样分析,分别以 3 倍和 10 倍的信噪比(S/N)计算检出限(LODs)和定量检出限(LOQs),详细结果见表 2,该方法符

合残留分析检测要求.

表 2 5 种微囊藻毒素的线性方程、仪器精密度和检出限

Table 2 Regression equations, RSD, LODs and LOQs of five MCs

组分 Compounds	添加水平 Addition level/ ($mg \cdot kg^{-1}$ dw)	回收率 Recovery/%	RSD/%	线性回归方程 Linear regression equation	相关系数(R^2) Correlation coefficient	LOD/ ($mg \cdot kg^{-1}$ dw)	LOQ/ ($mg \cdot kg^{-1}$ dw)
MC-RR	0.10	75.2	5.1	$y=2190x-676.59$	0.9999	0.005	0.015
	0.50	80.3	1.9			0.012	0.037
MC-LR	0.10	74.1	4.5	$y=151.2x-119.42$	0.9991	0.022	0.070
	0.50	82.6	6.7			0.013	0.040
MC-YR	0.10	72.4	3.1	$y=68.26x+0.0791$	0.9991	0.011	0.035
	0.50	76.8	3.6			0.022	0.067
MC-LW	0.10	78.9	3.5	$y=468.25x+318.2$	0.9991	0.080	0.240
	0.50	80.2	4.2			0.034	0.110
MC-LF	0.10	77.8	4.0	$y=502.59x+218.5$	0.9994	0.080	0.240
	0.50	81.8	3.7			0.025	0.081

2.6 实际样品测定

夏秋季是太湖蓝藻水华的高发期,进入秋冬季的蓝藻细胞会发生衰老、死亡和破裂,进而细胞内的藻毒素也会释放到环境水体中[31],本次调查选择在 11 月份进行.按照优化的试验方法对太湖湖区捕捞的野生河蚌(每个采样点约 20 个)和河蚬(每个采样点约 60 个)样品进行微囊藻毒素残留量的检测,在两个不同湖区采样点收集的贝类样品中均检出 MC-RR 和 MC-LR 两种微囊藻毒素异构体,其他 3 种藻毒素未检出,测定结果见表 3.在梅梁湖采集的河蚌样品中总微囊藻毒素含量高于南太湖,且在梅梁湖和南太湖采集的河蚌样品中总微囊藻毒素水平高于河蚬中总微囊藻毒素的水平,梅梁湖河蚌中总微囊藻毒素含量为 0.877 ($mg \cdot kg^{-1}$ dw).河蚌中 MC-RR 的浓度高于 MC-LR,但是河蚬中 MC-RR 与 MC-LR 的浓度差异不大,意味着不同水生动物在生长过程中对水中藻毒素选择性富集能力的差异.虞锐鹏等报道了 2004—2005 年太湖不同湖区蚌样中 3 种微囊藻毒素(MC-LR、MC-RR 和 MC-YR)的污染水平[19],在检测的河蚌样品中也检测到 MC-RR 和 MC-LR 两种藻毒素异构体,测定的最高含量为 MC-RR 达到 11.2 $\mu g \cdot g^{-1}$ dw,MC-LR 为 0.47 $\mu g \cdot g^{-1}$ dw,含量要高于本文的检测结果.

表 3 太湖贝类中微囊藻毒素检测结果($n=3$)

Table 3 Detection results of microcystins in shellfish in Taihu Lake ($n=3$)

采样地点 Sampling locations	样品 Sample	微囊藻毒素含量 Concentrations /($mg \cdot kg^{-1}$ dw)	
		MC-RR	MC-LR
梅梁湖	河蚌	0.663±0.0155[a]	0.214±0.011
	河蚬	0.131±0.009	0.172±0.010
南太湖	河蚌	0.431±0.014	0.259±0.012
	河蚬	0.212±0.011	0.195±0.010

[a], 平均值±标准偏差 Mean±Standard deviation.

在水华爆发的时候,大量蓝藻悬浮在湖水的中上层,鱼类通过摄食藻类进而富集了 MCs.进入秋冬季节,随着太湖湖区环境温度的降低,大量的水华蓝藻细胞会下沉到湖泊的底泥区域,贝类可以通过滤食的方式摄入更多的藻细胞,导致体内的微囊藻毒素富集.在对太湖及我国其它湖区贝类及鱼类水产品中可食用组织 MCs 浓度进行比较(表 4),可以发现水体中上层水域的水产品鱼类样品中 MCs 的浓度水平低于底栖的贝类样品,说明贝类对藻毒素的富集能力高于鱼类,另外,也可能是存在于鱼类肝脏中的有效脱毒酶[32],导致鱼类体内藻毒素的浓度水平低于贝类.通过对比不同湖区水产品中微囊藻毒素含量发现巢湖和滇池贝类体内藻毒素含量与太湖差别不大,太湖湖区鱼类体内藻毒素含量高于其他湖区,这可能是不同湖区之间存在物种差异和生态位差异导致的.

hjhx.rcees.ac.cn

表 4　不同湖区水产品中微囊藻毒素含量

Table 4　Concentrations of microcystins in aquatic products from different lakes

地点 Location	物种 Species	MCs/ ($mg \cdot kg^{-1}$ dw)
太湖	河蚬(*Corbicula fluminea*)	0.355[a]
	河蚌(*Hyriopsis cumingii*)	0.783[a]
	鲤鱼(*Cyprinus carpio*)	0.032[33]
	白鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)	0.029[34]
	鳙鱼(*Aristichthys nobilis*)	0.063[35]
巢湖	河蚬(*Corbicula fluminea*)	0.540[36]
鄱阳湖	鲤鱼(*Cyprinus carpio*)	0.012[37]
滇池	螺蛳(*Margarya melanioides Nevill*)	0.350[38]
	鲢鱼(*Hypophthalmichthys molitrix*)	0.009[14]
	鳙鱼(*Aristichthys nobilis*)	0.011[14]
	草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)	0.005[14]

a, 本研究测得的藻毒素含量(数值为梅梁湖与南太湖的平均值).The content of microcystins obtained in this study (The values are the average values of Meiliang Lake and South Taihu Lake).

2.7　贝类样品中藻毒素健康风险评价

目前国际上暂无 MC-LR 的致癌强度系数,因此本研究通过非致癌健康风险指数[39]对 MC-LR 进行初步评价.非致癌风险风险指数的计算公式中 RfD_i 是由 USEPA 首先提出,用于非致癌物的危险度评价,目前尚无 MC-LR 的 RfD_i,本研究采用世界卫生组织(WHO)建议的 MC-LR 的 TDI(0.04 $\mu g \cdot (kg \cdot d)^{-1}$)值作为 RfD_i.在通过水产品暴露途径暴露下,EDI 的计算公式为:

$$EDI = (C_f \times FIR \times FR \times EF \times ED \times CF) / (BW \times AT)$$

式中,C_f 为水产品组织中污染物的质量浓度($\mu g \cdot kg^{-1}$);FIR 为成人每天摄入的水产品量,我国吃水产品较多的人群每天摄入量为 120 $g \cdot day^{-1}$,平均人群摄入量的建议值为 50 $g \cdot d^{-1}$[40];FR 为使用污染地区的水产品占所用食用水产品的百分数(50%);EF 为暴露频率(365 d);CF 是水产品从水中摄入的化合物转化成组织中的化合物的转化因子($CF = 10^{-9}$);ED 为暴露的持续时间(30 a);AT 为平均效应时间(非致癌风险度的 AT 为 30 a×365 d)[41];BW 为平均人体体重,按照健康风险估算的惯例,我国宜采用 60 kg.在估算人体通过水产品摄入微囊藻毒素的健康风险时,一般将 MC-RR 和 MC-YR 换算为 0.2 倍和 0.4 倍的 MC-LR[42],同时将干重浓度转化为 0.2 倍的湿重浓度.本次调查研究中按评价模型计算得到成年人每天食用太湖水产品(河蚌和河蚬)而摄入的微囊藻毒素非致癌健康风险指数见图 5,当 HI<1 时,数值越小表明非致癌风险越低,当 HI≥1 时表示非致癌风险较大.由图 5 可见,不同采样点采集的河蚬样品的风险指数较低,而梅梁湖和南太湖两地采集的河蚌样品健康风险指数均大于 0.7,接近风险阈值,因此人类食用河蚌水产品具有一定的潜在健康风险.

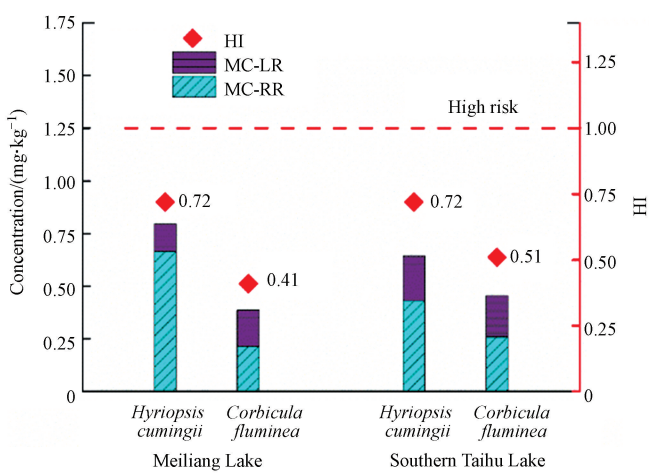

图 5　太湖贝类中微囊藻毒素检测结果及风险评价

Fig.5　Levels of microcystins in shellfish from Taihu Lake and health risk assessment

hjkx.rcees.ac.cn

3 结论(Conclusion)

结合前期文献报道的方法,通过优化前处理条件,建立了贝类样品中 5 种藻毒素的 HPLC-MS 的测定方法,该方法的准确度和灵敏度均符合方法学指标,满足微囊藻毒素的残留分析和监测要求.

调查发现,太湖野生的贝类中普遍存在微囊藻毒素残留,且主要为 MC-RR 和 MC-LR.梅梁湖和南太湖两大湖区食用贝类的非致癌健康风险差别不大,其中食用河蚌引起的非致癌健康风险接近最大可接受风险水平,食用河蚬引起的非致癌健康风险较低.需要注意的是,水体中 MCs 能通过多种途径导致人体暴露而产生健康风险,太湖流域周围的人群不仅通过水产品摄入微囊藻毒素,还通过皮肤接触以及饮用水等多种途径暴露微囊藻毒素,本文仅评估了食用水产品贝类的预期风险,相对整体风险度较低.目前,被微囊藻毒素污染的水产品对人体健康造成的损害还没有引起足够的重视,因此在蓝藻水华严重的时期建议开展食用水产品中藻毒素残留量的监测工作.同时,还应该加强藻毒素在生物体中的富集以及食物链传递规律的研究,为食品安全性评估提供可靠的数据.

参考文献(References)

[1] 谢平. 蓝藻水华及其次生危害[J]. 水生态学杂志, 2015, 36(4):1-13.
XIE P. Cyanobacterial blooms and their secondary harms[J]. Journal of Hydroecology, 2015, 36(4):1-13(in Chinese).

[2] VAN APELDOORN M E, VAN EGMOND H P, SPEIJERS G J, et al. Toxins of cyanobacteria[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2007, 51(1):7-60.

[3] WHO. Guidelines for drinking water quality[M]. Third edition. Geneva: World Health Organization, 2004:407-408.

[4] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. GB 5749-2006 中华人民共和国国家标准-生活饮用水卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
Ministry of Health of the People's Republic of China, China National Standardization Administration Committee. GB 5749-2006 National Standard of the People's Republic of China - Sanitary Standards for Drinking Water[S]. Beijing: China Standard Press, 2006(in Chinese).

[5] CHORUS I. Toxic cyanobacteria in water - A guide to their public health consequences, monitoring and management[M]. London: World Health Organization, 1999:407-408.

[6] NISHIWAKI R, OHTA T, SUEOKA E, et al. Two significant aspects of microcystin-LR: Specific binding and liver specificity[J]. Cancer Letters, 1994, 83(1/2):283-289.

[7] 曹莹, 张亚辉, 高富, 等. 太湖水中微囊藻毒素的测定及其分布特征[J]. 环境科学与技术, 2012, 35(S1):229-233.
CAO Y, ZHANG Y H, GAO F, et al. Determination and the distribution characteristics of microcystins in the water of Taihu Lake[J]. Environmental Science & Technology, 2012, 35(S1):229-233(in Chinese).

[8] 姜锦林, 周军英, 刘仁彬, 等. 太湖重污染湖区和水源地水质概况及藻毒素污染环境风险[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(3): 60-71.
JIANG J L, ZHOU J Y, LIU R B, et al. General situation of water quality and environmental risks of algal toxins pollution in major polluted area and water sources of Lake Taihu[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2019, 14(3):60-71(in Chinese).

[9] MCELHINEY J, LAWTON L A. Detection of the cyanobacterial hepatotoxins microcystins[J]. Toxicology & Applied Pharmacology, 2005, 203(3):219-230.

[10] 张维昊, 徐小清. 固相萃取高效液相色谱法测定水中痕量-微囊藻毒素[J]. 分析化学, 2001, 29(5):522-525.
ZHANG W H, XU X Q. Determination of trace level microcystins in water using solid-phase extraction and high performance liquid chromatography[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2001, 29(5):522-525(in Chinese).

[11] 郭坚, 杨新磊, 叶明立. 全自动在线固相萃取-高效液相色谱法测定水体中痕量微囊藻毒素[J]. 分析化学, 2011, 39(8): 1256-1260.
GUO J, YANG X L, YE M L. Determination of trace level microcystins in water by fully automated online solid phase extraction coupled with high performance liquid chromatography[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2011, 39(8):1256-1260(in Chinese).

[12] FOSS A J, AUBEL M T. Using the MMPB technique to confirm microcystin concentrations in water measured by ELISA and HPLC (UV, MS, MS/MS)[J]. Toxicon Official Journal of the International Society on Toxinology, 2015, 104:91-101.

hjhx.rcees.ac.cn

[13] 顾丽丽. ELISA 试剂盒法测定水中 LR 型微囊藻毒素[J]. 化学分析计量, 2013, 22(1):97-99.
GU L L. Determination of microcystin-LR in water by ELISA kit[J]. Chemical Analysis and Meterage 2013, 22(1):97-99(in Chinese).

[14] 吴幸强, 龚艳, 王智, 等. 微囊藻毒素在滇池鱼体内的积累水平及分布特征[J]. 水生生物学报, 2010, 34(2):388-393.
WU X Q, GONG Y, WANG Z, et al. Residue levels and distribution features of microcystins in fish samples from Lake Dianchi[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2010, 34(2):388-393(in Chinese).

[15] 李兵, 刘伟, 范赛, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测螺旋藻保健品中 7 种微囊藻毒素[J]. 色谱, 2012, 30(6):584-589.
LI B, LIU W, FAN S, et al. Determination of 7 microcystins in Spirulina health food products by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2012, 30(6):584-589(in Chinese).

[16] DAI M, XIE P, LIANG G, et al. Simultaneous determination of microcystin-LR and its glutathione conjugate in fish tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, 2008, 862(1):43-50.

[17] 沈坚, 张爱芝, 曹丽丽, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定田螺中 3 种微囊藻毒素[J]. 理化检验-化学分册, 2014, 50(5):606-610.
SHEN J, ZHANG A Z, CAO L L, et al. Simultaneous UHPLC-MS/MS determination of 3 microcystic algae toxins in field snail[J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2014, 50(5):606-610(in Chinese).

[18] 汪靖, 郑竟, 鄢灵君, 等. 福建沿海市售海产贝类微囊藻毒素的污染状况[J]. 环境与职业医学, 2016, 33(11):1037-1042.
WANG J, ZHENG J, YAN L J, Pollution status of microcystins in retail marine shellfish in coastal cities of Fujian[J]. Journal of Environmental & Occupational Medicine, 2016, 33(11):1037-1042(in Chinese).

[19] 虞锐鹏, 陶冠军, 贡小清, 等. 高效液相色谱-质谱联用方法测定背角无齿蚌体内微囊藻毒素[J]. 分析测试学报, 2007, 26(5):671-674.
YU R P, TAO G J, GONG X Q, et al. Determination of microcystins in Anodonta Woodiana by high performance liquid chromatography combined with electrospray ionization mass spectrometry[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2007, 26(5):671-674(in Chinese).

[20] KOPP R, MARE J, MIROSLAVA P, et al. Biochemical parameters of blood plasma and content of microcystins in tissues of common carp (*Cyprinus carpio* L.) from a hypertrophic pond with cyanobacterial water bloom[J]. Aquaculture Research, 2009, 40(15):1683-1693.

[21] 薛庆举, 苏小妹, 谢丽强. 蓝藻毒素对底栖动物的毒理学研究进展[J]. 生态学报, 2015, 35(14):4570-4578.
XUE Q J, SU X M, XIE L Q. Advances on cyanotoxin toxicology of zoobenthos[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(14):4570-4578(in Chinese).

[22] MILLER M A, KUDELA R M, MEKEBRI A, et al. Evidence for a novel marine harmful algal bloom: Cyanotoxin (microcystin) transfer from land to sea otters[J]. Plos One, 2010, 5(9):e815.

[23] PREECE E P, MOORE B C, HARDY F J. Transfer of microcystin from freshwater lakes to Puget Sound, WA and toxin accumulation in marine mussels (Mytilus trossulus)[J]. Ecotoxicology & Environmental Safety, 2015, 122:98-105.

[24] IBELINGS B W, CHORUS I. Accumulation of cyanobacterial toxins in freshwater "seafood" and its consequences for public health: A review[J]. Environmental Pollution, 2007, 150(1):177-192.

[25] CHEN W, SONG L, GAN N, et al. Sorption, degradation and mobility of microcystins in Chinese agriculture soils: Risk assessment for groundwater protection[J]. Environmental Pollution, 2006, 144(3):752-758.

[26] SONG H, REICHWALDT E S, GHADOUANI A. Contribution of sediments in the removal of microcystin-LR from water[J]. Toxicon, 2014, 83:84-90.

[27] HU C L, GAN N Q, HE Z K, et al. A novel chemiluminescent immunoassay for microcystin (MC) detection based on gold nanoparticles label and its application to MC analysis in aquatic environmental samples[J]. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2008, 88(4):267-277.

[28] RUIZ M J, CAMEÁN A M, MORENO I M, et al. Determination of microcystins in biological samples by matrix solid-phase dispersion and liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1073(1):257-262.

[29] CAZENAVE J, AME M V, KRAUSE E, et al. Uptake, tissue distribution and accumulation of microcystin-RR in Corydoras paleatus, Jenynsia multidentata and Odontesthes bonariensis. A field and laboratory study[J]. Aquatic Toxicology, 2005, 75(2):178-190.

[30] Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002, implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of result[Z]. Official Journal of the European Communities, 2002, L221:8-36.

[31] DE FIGUEIREDO D R, AZEITEIRO U M, ESTEVES S M, et al. Microcystin-producing blooms—a serious global public health issue[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2004, 59(2):151-163.

hjhx.rcees.ac.cn

[32] MALBROUCK C, KESTEMONT P. Effects of microcystins on fish[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2006, 25(1):72-86.

[33] 贾军梅, 罗维, 吕永龙. 太湖鲫鱼和鲤鱼体内微囊藻毒素的累积及健康风险[J]. 环境化学, 2014, 33(2):186-193.
JIA J M, LUO W, LV Y L. Accumulation of microcystins in Carassius auratus and Cyprinus carpio from the Taihu Lake and its human health risk[J]. Environmental Chemistry, 2014, 33(2):186-193(in Chinese).

[34] 贾军梅, 罗维, 吕永龙. 微囊藻毒素在太湖白鲢体内的累积规律及其影响因素[J]. 生态毒理学报, 2014, 9(2):382-390.
JIA J M, LUO W, LV Y L. Accumulation of Microcystins in Silver Carp from Taihu Lake and its influencing factors[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(2):382-390(in Chinese).

[35] 高鸽, 周游, 王小林, 等. 夏秋季太湖 4 个控藻区鳙体内微囊藻毒素累积分析[J]. 大连海洋大学学报, 2017, 32(3):334-341.
GAO G,ZHOU Y,WANG X L, et al. Accumulation of microcystins in bighead carp Aristichthys nobilis in four alga control areas of Taihu Lake in summer and autumn[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2017, 32(3):334-341(in Chinese).

[36] 陈隽. 肝毒性微囊藻毒素在巢湖和太湖水生动物体内的生物富集及对水产品安全性的潜在威胁[D]. 北京:中国科学院研究生院, 2006.
CHEN J. Bioaccumulation of the hepatotoxic microcystins in aquatic animals of Lakes Chaohu and Taihu with potential risk to the safety of aquatic products[D]. Beijing:Chinese Academy of Sciences, 2006(in Chinese).

[37] 徐海滨, 孙明, 隋海霞, 等. 江西鄱阳湖微囊藻毒素污染及其在鱼体内的动态研究[J]. 卫生研究, 2003(3):192-194.
XU H B, SUN M, SUI H X, et al. Microcystin contamination of fish on Poyang Lake in Jiangxi province[J]. Journal of Hygiene Research, 2003(3):192-194(in Chinese).

[38] 张君倩, 谢志才, 王智, 等. 微囊藻毒素在滇池螺蛳各组织中的积累及动态分布[J]. 长江流域资源与环境, 2011, 20(2):179-184.
ZHANG J Q, XIE Z C, WANG Z, et al. Bioaccumulation of microcystins in various tissues of the freshwater snail *margarya melanioides* (an endemic specie of Yunnan province) from a large shallow plateau lake, the eutrophic Lake Dianchi, China[J]. Resources and Environment in the Yangtze Basin, 2011, 20(2):179-184(in Chinese).

[39] DIETRICH D, HOEGER S. Guidance values for microcystins in water and cyanobacterial supplement products (blue-green algal supplements): A reasonable or misguided approach[J]. Toxicology & Applied Pharmacology, 2005, 203(3):273-289.

[40] ZHANG D, XIE P, LIU Y, et al. Transfer, distribution and bioaccumulation of microcystins in the aquatic food web in Lake Taihu, China, with potential risks to human health[J]. Science of the Total Environment, 2009, 407(7):2191-2199.

[41] 杨晓红, 蒲朝文, 张仁平, 等. 水体微囊藻毒素污染对人群的非致癌健康风险[J]. 中国环境科学, 2013, 33(1):181-185.
YANG X H, PU C W, ZHANG R P, et al. Assessment on non-carcinogenic health risk of microcystins in the water environment of Chongqing[J]. China Environmental Science, 2013, 33(1):181-185(in Chinese).

[42] GUPTA N, PANT S C, VIJAYARAGHAVAN R, et al. Comparative toxicity evaluation of cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin variants (LR, RR, YR) in mice[J]. Toxicology, 2003, 188(2):285-296.

hjhx.rcees.ac.cn