

# 太湖水产品中微囊藻毒素-RR 的污染状况及初步健康风险评估

孟元华\*, 朱鹏飞, 龚燕, 凌霞, 刘文卫

(无锡市疾病预防控制中心检验部, 无锡 214023)

**摘要:** **目的** 了解太湖水产品中微囊藻毒素-RR(microcystin-RR, MC-RR)的污染状况, 并对其进行初步非致癌健康风险评估。**方法** 采用高效液相色谱-质谱法(high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS)测定太湖部分水产品中的 MC-RR 的含量, 参照国际环境建模和软件协会推荐的模型对其初步风险进行评价。**结果** 太湖部分水产品可食部分中 MC-RR 的非致癌年度健康风险值在  $0.060 \times 10^{-6} \text{ a}^{-1} \sim 0.18 \times 10^{-6} \text{ a}^{-1}$  之间, 其中鲤鱼风险值最高, 河蚌风险值最低。**结论** 所采太湖水产品中 MC-RR 年度健康风险值均在最大可接受范围内, 但部分水产品长期食用有一定健康风险, 需引起人们注意。

**关键词:** 水产品; 微囊藻毒素-RR; 健康风险评估

## Pollution status and preliminary health risk assessment of microcystin-RR in aquatic products of Taihu lake

MENG Yuan-Hua\*, ZHU Peng-Fei, GONG Yan, LING Xia, LIU Wen-Wei

(Inspection Department, Wuxi Center for Disease Control and Prevention, Wuxi 214023, China)

**ABSTRACT: Objective** To study the pollution status of microcystin-RR (MC-RR) in aquatic products of Taihu lake and conduct the non-carcinogenic health risk assessment. **Methods** The contents of MC-RR in some aquatic products of Taihu lake were detected by high performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS), and the health risk of MC-RR was preliminarily assessed using the model of international environmental modeling and software association. **Results** The annual non-carcinogenic risk of MC-RR in some edible parts of aquatic products of Taihu lake were ranged from  $0.060 \times 10^{-6} \text{ a}^{-1}$  to  $0.18 \times 10^{-6} \text{ a}^{-1}$ . The carp had the highest risk and river clam had the lowest risk on human health. **Conclusion** The annual non-carcinogenic risk of MC-RR in aquatic products of Taihu lake is approaching to the maximum acceptable risk level, while some aquatic products eaten regularly present certain health risks, which need to attract people's attention.

**KEY WORDS:** aquatic products; microcystin-RR; health risk assessment

基金项目: 无锡市科技发展资金项目(CSE31N1429)、无锡市卫生局青年项目(Q201402)

**Fund:** Supported by Wuxi Science and Technology Development Fund Project (CSE31N1429) and Youth Project of Wuxi Municipal Health Bureau (Q201402)

\*通讯作者: 孟元华, 助理研究员, 主要研究方向为食品安全与检测技术。E-mail: mengyuanhua1010@126.com

\*Corresponding author: MENG Yuan-Hua, Assistant Research Fellow, Wuxi Center for Disease Control and Prevention, Wuxi 214023, China. E-mail: mengyuanhua1010@126.com

1 引 言

微囊藻毒素(microcystin, MC)具有肝毒性、肾毒性、神经毒性、免疫毒性及生殖毒性,也是肝癌促进剂。其作用的主要靶器官是肝脏,严重时会造成肝细胞结构的衰变,导致肝部出血甚至肝坏死,甚至肝硬化、肝癌等症状<sup>[1-3]</sup>。微囊藻毒素的结构为环状七肽,已发现超过 70 种结构变体,含量相对较多、毒性较大的几种为 LR、RR 和 YR。目前,众多科研人员进行了针对微囊藻毒素的健康风险评估工作,以明确其毒性、暴露程度与人体健康效应的关系,为实施环境管理提供依据<sup>[4-7]</sup>。Dietrich 等<sup>[8]</sup>参照美国环境保护署(Environmental Protection Agency, EPA)推荐的健康风险评估模型提出在饮用水与受污染食物多重暴露情况下的微囊藻毒素-LR(microcystin-LR, MC-LR)参考标准:对于体重 60 kg 的成人食品中为 4.8 μg,饮用水中为 0.96 μg。杨晓红等<sup>[9]</sup>参照 EPA 推荐的健康风险评估模型计算了重庆某区 2 个水库中 MC-LR,通过饮水途径和食用水产品途径对人群初步健康风险度进行评估。王伟琴等<sup>[10]</sup>参照 EPA 的模型对浙江省 101 个县级以上饮用水源水中 MC-LR 进行了风险评估,提示水源水中 MC-LR 具有较高的非致癌风险。但国内外关于藻毒素的评估工作也仅就 MC-LR 展开<sup>[11]</sup>,而对太湖中含量最多、毒性相对小些的微囊藻毒素-RR(microcystin-RR, MC-RR)研究较少<sup>[12]</sup>,也未见有关太湖水产品中 MC-RR 毒性的健康风险评估的报道。本研究通过高效液相色谱-质谱法(high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS)监测太湖中虾、河蚌、螺蛳、鲫鱼、鲤鱼中 MC-RR 的含量,参照国际环境建模和软件协会推荐优化的 EPA 食入途径 R<sup>f</sup>模型对部分水产品中 MC-RR 的健康风险进行初步评估。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

甲醇、乙腈(色谱纯,均购自默克公司);MC-RR 标准品(Enzo Biochem 公司);HLB 3cc Extraction Cartridges 小柱(Waters 公司)。

Agilent 1200-3200QTRAP 液质联用仪(液相 Agilent 公司,质谱 API 公司);3-30K 高速离心机(Sigma 公司);CentriVap 真空冷冻离心浓缩仪(Labconco 公司)。

2.2 样 品

水产品由 2015 年 9~12 月购自沿湖渔民,白虾、河蚌、螺蛳、鲫鱼、鲤鱼每种 18 份,样品采集后送到实验室,除了白虾整体取样,其他水产品解剖成内脏和肌肉后冷冻干燥成粉保存。

2.3 样品前处理

称取 0.50 g 冷冻干燥粉碎的样品,用 25 mL 90%的甲醇振荡 10 min 提取,以 12000 r/min 离心 10 min,吸取上清液,沉淀再次抽提,合并上清液,40 ℃旋转蒸发至近 5 mL,经 HLB 小柱富集后,5 mL 甲醇淋洗,氮气吹干后乙腈水(1:9, V:V)溶解,以 HPLC-MS 测定<sup>[13-15]</sup>。

2.4 仪器条件

(1)液相条件:色谱柱为 Waters Atlantis C<sub>18</sub> (2.1 mm×150 mm, 3.5 μm)。流动相为 A 相乙腈和 B 相纯水,流量为 0.25 mL/min,梯度洗脱程序为:0~2 min, 10%A、90%B; 2~5 min, 60%A、40%B; 5~9 min, 100%A; 9~15 min, 10%B、90%水平衡色谱柱。柱温 30 ℃,进样量为 20 μL。

(2)质谱条件:采用电喷雾电离方式(ESI<sup>+</sup>),离子喷射电压(IS): 5500 V;雾化气温度: 500 ℃;GS1: 50 psi;GS2: 60 psi;碰撞气 CAD: Medium;气帘气 CUR: 20 psi。质谱参数见表 1。

在本方法所确定的实验条件下,鲫鱼空白基质提取液配置系列标准溶液,标准溶液浓度分别为 0、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 μg/kg,以峰面积对相应的 MC-RR 浓度作曲线,外标法定量求得河蚌中 MC-RR 的含量。

2.5 初步健康风险评估

根据国际癌症研究中心(International Agency for Research on Cancer, IARC)对化学物的分类,分为 I 级(group 1,对人类致癌,有充分的证据证明对人类有致癌作用)、II 级(group 2,对人类很可能致癌的 IIA 级和对人类可能致癌的 IIB 级,IIA 级有充分的动物实验证据,但是人类证据有限;IIB 级对人类证据有限,动物证据不充分,或对人类证据不足,对动物证据充分)、III 级(group 3,现有证据无法分级)和 IV 级(group 4,很可能对人类不致癌)。它们主要通过直接接触、摄入食物和饮水 3 种暴露途径对人体健康造成危害,而摄入食物途径是其中很重要的暴露途径。由于目前针对 MC-RR 致癌性的研究还停留在探索阶段,缺乏权威机构给出的可靠数据,因此本研究只针对其

表 1 质谱参数  
Table 1 Mass spectrum parameters

| 离子对      | 母离子( <i>m/z</i> ) | 子离子( <i>m/z</i> ) | 去簇电压 DP(V) | 碰撞能量 CE(eV) |
|----------|-------------------|-------------------|------------|-------------|
| RR 定量离子对 | 519.8             | 135.1             | 53         | 39          |
| RR 定性离子对 | 519.8             | 127.1             | 53         | 45          |

非致癌性进行初步风险评价。食用水产品途径的非致癌健康风险模型参照国际环境建模和软件协会推荐优化的 EPA 食入途径模型,对太湖中部分水产品的非致癌健康风险进行评估<sup>[9]</sup>。

$$R^f = \frac{CDI}{RfD}$$
$$CDI = \frac{C \cdot FIR \cdot FR \cdot EF \cdot ED \cdot CF}{BW \cdot AT}$$

式中:  $R^f$  是人群通过水产品暴露所带来健康危害的个人平均年风险度;  $CDI$  是通过食入途径单位体重的日均暴露剂量,  $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ;  $RfD$  为污染物的参考剂量,  $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 。  $C$  是化合物在水产品组织中的浓度,  $\text{mg}/\text{kg}$ ;  $FIR$  为成人每天摄入的水产品量,  $\text{g}/\text{d}$ ,  $FIR$  取 30  $\text{g}$ ;  $FR$  为食用污染地区的水产品占居民所有食用的水产品的百分数(50%);  $EF$  是暴露频率,  $\text{d}/\text{a}(EF=365)$ ;  $ED$  是人群暴露化合物的持续时间, 30  $\text{a}$ ;  $CF$  是水产品从水中摄入的化合物转化成其组织中的化合物的转化因子( $CF=10^{-6}$ );  $BW$  为平均体质量,  $BW$  取 60  $\text{kg}$ ,  $\text{kg}$ ;  $AT$  是平均效应时间,  $\text{d}$ (人均寿命为 73  $\text{a}$ , 则非致癌性风险度的  $AT$  是  $30 \times 365 \text{ d}$ )。

### 3 结果与分析

#### 3.1 太湖水产品污染状况调查

所采太湖水产品中 MC-RR 的污染状况如表 2 所示。

由表 2 可知,太湖中的 5 种水产品都受到了不同程度的 MC-RR 污染,其中鱼类的 MC-RR 含量较高,可能是因为它们吃浮游生物较多;肝脏中 MC-RR 也远高于肌肉,也说明了肝脏是 MC-RR 的靶向器官。

#### 3.2 太湖水产品初步健康风险评估

目前尚无 MC-RR 参考剂量权威参考值,也没有每日耐受摄入量 TDI 的相关数据,只能参考 MC-LR 每日耐受摄入量 TDI 0.04  $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 。Gupta 等<sup>[16]</sup>研究发现,MC-LR 小鼠半致死剂量( $LD_{50}$ )为 43  $\mu\text{g}/\text{kg}$  左右,MC-RR 小鼠半致死剂量  $LD_{50}$  在 235  $\mu\text{g}/\text{kg}$  左右,即 MC-RR 的毒性约为 MC-LR 的五分之一。因此,MC-RR 的  $RfD$  暂用 0.2  $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$

估算,对太湖中部分水产品进行初步健康风险评估,结果见表 3。

表 2 太湖水产品中 MC-RR 的污染状况  
Table 2 The pollution status of MC-RR in aquatic products of Taihu lake

| 样品     | MC-RR的含量范围( $\mu\text{g}/\text{g}$ ) | MC-RR的含量平均值( $\mu\text{g}/\text{g}$ ) |
|--------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 白虾(全部) | 0.053~0.28                           | 0.088                                 |
| 河蚌(内脏) | 0.14~0.65                            | 0.32                                  |
| 河蚌(肌肉) | 未检出~0.17                             | 0.048                                 |
| 螺蛳(内脏) | 0.20~0.78                            | 0.43                                  |
| 螺蛳(肌肉) | 0.022~0.13                           | 0.065                                 |
| 鲫鱼(内脏) | 0.24~1.97                            | 1.36                                  |
| 鲫鱼(肌肉) | 未检出~0.18                             | 0.11                                  |
| 鲤鱼(内脏) | 0.35~3.27                            | 1.88                                  |
| 鲤鱼(肌肉) | 未检出~0.23                             | 0.14                                  |

表 3 太湖水产品的非致癌健康年度风险  
Table 3 The annual non-carcinogenic health risk of MC-RR in aquatic products of Taihu lake

| 样品     | 风险值( $10^{-6}/\text{a}$ ) |
|--------|---------------------------|
| 白虾(全部) | 0.11                      |
| 河蚌(肌肉) | 0.060                     |
| 螺蛳(肌肉) | 0.081                     |
| 鲫鱼(肌肉) | 0.14                      |
| 鲤鱼(肌肉) | 0.18                      |

许多权威机构均对健康风险度制定了相应的评价标准,见表 4。一般而言,管理部门认为  $10^{-6} \text{ a}^{-1} \sim 10^{-5} \text{ a}^{-1}$  为可接受风险。本研究最大可接受水平采用  $1 \times 10^{-6} \text{ a}^{-1}$ ,可忽略风险水平采用  $1 \times 10^{-7} \text{ a}^{-1}$ 。

表 4 健康风险的最大可接受水平和可忽略风险水平  
Table 4 The maximum acceptable limit and ignorable limit of health risk

| 国际机构      | 最大可接受风险水平/ $(\text{a}^{-1})$ | 可忽略风险水平/ $(\text{a}^{-1})$ | 备注    |
|-----------|------------------------------|----------------------------|-------|
| 瑞典环境保护局   | $1 \times 10^{-6}$           | -                          | 化学污染物 |
| 荷兰建设和环境部  | $1 \times 10^{-6}$           | $1 \times 10^{-8}$         | 化学污染物 |
| 英国皇家学会    | $1 \times 10^{-6}$           | $1 \times 10^{-7}$         | -     |
| 美国环保局     | $1 \times 10^{-4}$           | -                          | 放射性物质 |
| 国际辐射防护委员会 | $1 \times 10^{-5}$           | -                          | -     |

综上所述,本实验所评估太湖水产品中 MC-RR 引起的健康年度风险大小依次:鲤鱼(肌肉)>鲫鱼(肌肉)>白虾(全部)>螺蛳(肌肉)>河蚌(肌肉),其中河蚌和螺蛳肌肉的 MC-RR 健康风险值处于可忽略水平,白虾、鲫鱼和鲤鱼有一定的风险值,但均在最大可接受水平。实验结果也显示,中上层水域水产品中 MC-RR 的风险值大于下层水域的水产品。可能是因为大量蓝藻悬浮在水域上层的,中上层水域鱼类吞食或接触较多的缘故。水产品的内脏中 MC-RR 含量相对肌肉高一个数量级,但水产品肝脏属于非可食部分,因此,本研究未对其进行初步健康风险评估。

#### 4 讨论与结论

本文对部分太湖水产品中 MC-RR 的含量进行了测定,其可食部分 MC-RR 含量在 ND(not detected)~0.28  $\mu\text{g/g}$ ,这与闫建秀<sup>[17]</sup>报道的太湖水产品中 MC-RR 的含量在 ND~0.59  $\mu\text{g/g}$  结果在同一水平。但由于国内外关于 MC-RR 还未制定相关限值,也未见有对水产品中 MC-RR 风险评估的相关报道<sup>[11]</sup>。所以,本研究首次初步对太湖水产品中 MC-RR 进行了非致癌风险评估,将为研究沿太湖居民受 MC-RR 长期暴露危害提供实验数据,为制定 MC-RR 限量值提供理论和实验基础。但由于受限于样本量以及相关污染物的参考剂量数据缺乏,评估结果有一定不确定性,今后需进一步完善。

#### 参考文献

- [1] Zhou XP, Meng YH, Ma HB, *et al.* Method for determination of microcystin-leucine-arginine in water samples based on the quenching of the fluorescence of bioconjugates between CdSe/CdS quantum dots and microcystin-leucine-arginine antibody [J]. *Microchim Acta*, 2011, 173: 259–266.
- [2] Lin J, Chen J, He J, *et al.* Effects of microcystin-LR on bacterial and fungal functional genes profile in rat gut [J]. *Toxicon*, 2015, 96: 50–56.
- [3] Salvador D, Churro C, Valério E. Evaluating the influence of light intensity in *mcyA* gene expression and microcystin production in toxic strains of *Planktothrix agardhii* and *microcystis aeruginosa* [J]. *J Microbiol Methods*, 2016, 123: 4–12.
- [4] Gurbuz F, Ceylan S, Odabaş M, *et al.* Hepatotoxic microcystin removal using pumice embedded monolithic composite cryogel as an alternative water treatment method [J]. *Water Res*, 2016, 90: 337–343.
- [5] Feurstein D. Oatp-associated uptake and toxicity of microcystins in primary murine whole brain cells [J]. *Toxicol Appl Pharm*, 2009, 234(2): 247–255.
- [6] Pavagadhi S, Tang ALL, Sathishkumar M, *et al.* Removal of microcystin-LR and microcystin-RR by graphene oxide: adsorption and kinetic experiments [J]. *Water Res*, 2013, 47: 4621–4629.
- [7] 明俊超, 姜海洲, 袁新华. 微囊藻毒素对鱼类的毒性效应及其作用机理研究进展[J]. *中国农学通报*, 2012, 28(35): 69–74.  
Ming JC, Jiang HZ, Yuan XH. A review of microcystin of toxic effects and mechanisms in exposed fish [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 2012, 28(35): 69–74.
- [8] Dietrich, Hoeger S. Guidance values for microcystins in water and cyanobacterial supplement products(blue-green algal supplements): a reasonable or misguided approach [J]. *Toxicol Appl Pharm*, 2005, 203(3): 273–289.
- [9] 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 XH, Pu CW, Zhang P, *et al.* Assessment on non-carcinogenic health risk of microcystin in the water environment of Chongqing [J]. *China Environ Sci*, 2013, 33(1): 181–185.
- [10] 王伟琴, 金永堂, 吴斌, 等. 水源水中微囊藻毒素的遗传毒性与健康风险评估[J]. *中国环境科学*, 2010, 30(4): 468–476.  
Wang WQ, Jin QT, Wu B, *et al.* Assessment on genotoxicity and health risks of microcystin in drinking water sources [J]. *China Environ Sci*, 2010, 30(4): 468–476.
- [11] 黄艺, 张郅灏. 微囊藻毒素的致毒机理和人体健康风险评估研究进展[J]. *生态环境学报*, 2013, 22(2): 357–364.  
Huang Y, Zhang ZH. Advances in the study of toxicology and human health risk assessment of microcystin [J]. *Ecology Environ Sci*, 2013, 22(2): 357–364.
- [12] 缪恒锋, 周勤, 王志良, 等. 微囊藻毒素-RR 的臭氧降解研究[J]. *环境科学*, 2010, 31(5): 1239–1245.  
Miao HF, Zhou Q, Wang ZL, *et al.* Degradation of microcystin-RR by ozonation process [J]. *Environ Sci*, 2010, 31(5): 1239–1245.
- [13] Rodrigues MA, Reis MP, Mateus MC. Liquid chromatography/negative electrospray ionization ion trap MS<sup>2</sup> mass spectrometry application for the determination of microcystins occurrence in Southern Portugal water reservoirs [J]. *Toxicon*, 2013, 74: 8–18.
- [14] Mekebri A, Blondina GJ, Crane DB. Method validation of microcystins in water and tissue by enhanced liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(15): 3147–3155.
- [15] 虞锐鹏, 陶冠军, 杨健, 等. 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法快速测定水产品中微囊藻毒素和节球藻毒素[J]. *分析实验室*, 2012, 31(1): 80–83.  
Yu RP, Tao GJ, Yang J, *et al.* Determination of microcystins and nodularins in aquatic products by ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Lab*, 2012, 31(1): 80–83.
- [16] Gupta N, Pant SC, Vijayaraghavan R, *et al.* Comparative toxicity evaluation of cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin variants (LR, RR, YR) in mice [J]. *Toxicology*, 2003, 188: 285–296.
- [17] 闫建秀. 水产品中微囊藻毒素的高效液相色谱检测方法的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2011.  
Yan JX. Study on high performance liquid chromatographic method for determination of microcystins in aquatic products [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2011.

(责任编辑: 姚菲)

#### 作者简介



孟元华, 助理研究员, 主要研究方向为食品安全与检测技术。  
E-mail: mengyuanhua1010@126.com