

广州市南沙水产养殖区抗生素的残留特性*

郝勤伟^{1,3}, 徐向荣¹, 陈辉^{1,3}, 刘珊^{1,3}, 陈军^{2,3}, 刘双双^{2,3}, 应光国²

1. 中国科学院南海海洋研究所热带海洋生物资源与生态重点实验室, 广东 广州 510301;

2. 中国科学院广州地球化学研究所有机地球化学国家重点实验室, 广东 广州 510640;

3. 中国科学院大学, 北京 100049

摘要: 水产养殖业迅猛发展带来的抗生素残留问题已经受到社会各界的高度关注, 抗生素在水产品中的残留会直接影响水生生态系统安全以及人类健康。应用固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法(solid-phase extraction-rapid resolution liquid chromatography–tandem mass spectrometry, SPE-RRLC-MS/MS)检测了 35 种抗生素(14 种磺胺类, 10 种氟喹诺酮类, 6 种大环内酯类, 2 种四环类和 3 种其他类)在广州市南沙水产养殖区各环境介质和鱼体不同组织中的残留水平, 研究表明, 在养殖区的水体、颗粒物、沉积物和饲料中共检出 12 种抗生素, 浓度最大值分别为 $60.76\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ (脱水红霉素)、 $1691\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (莫能菌素)、 $2.41\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (恩诺沙星)和 $74.96\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (恩诺沙星); 鱼体血液、肝脏和肌肉中共检出 11 种抗生素, 浓度最大值分别为 $33.52\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (脱水红霉素)、 $199\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (诺氟沙星)和 $22.30\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (诺氟沙星)。鱼体血液、肝脏和肌肉对抗生素的生物富集系数均值范围分别为 147~336、7~8891 和 8~16。表明不同组织对不同抗生素具有不同富集能力。基于风险熵评价鱼肉中抗生素的残留风险, 表明食用这些鱼类不会给人体健康带来风险。本研究结果可以为保障广州市水产品的食用安全, 确保水产养殖业可持续健康发展及提升各级环保部门对抗生素环境残留的综合监管能力提供参考。

关键词: 水产养殖; 抗生素; 鱼体组织; 生物富集; 风险评估

中图分类号: S948; P76; P735.12 文献标识码: A 文章编号: 1009-5470(2017)01-0106-08

Residual antibiotics in the Nansha aquaculture area of Guangzhou

HAO Qinwei^{1,3}, XU Xiangrong¹, CHEN Hui^{1,3}, LIU Shan^{1,3}, CHEN Jun^{2,3}, LIU Shuangshuang^{2,3}, YING Guangguo²

1. Key Laboratory of Tropical Marine Bio-resources and Ecology, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China;

2. State Key Laboratory of Organic Geochemistry, Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China;

3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: The residual antibiotics have caused public concerns with the rapid development of aquaculture, due to their adverse effects on aquatic ecosystems and human health. A method named solid-phase extraction-rapid resolution liquid chromatography–tandem mass spectrometry (SPE-RRLC-MS/MS) was used to determine the occurrence and bioaccumulation of 35 antibiotics (14 sulfonamides, 10 fluoroquinolones, 6 macrolides, 2 tetracyclines and 3 others) in environmental matrix and different tissues of fish in the Nansha aquaculture area of Guangzhou. Twelve antibiotics were detected in water,

收稿日期: 2016-01-05; 修订日期: 2016-02-03。林强编辑

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(51378488); 广州市科技计划项目(201510010031)

作者简介: 郝勤伟(1989—), 男, 江西省九江市人, 在读硕士研究生, 主要从事抗生素的分布特征及生态效应评估。E-mail: qwhao2100@163.com

通信作者: 徐向荣(1973—)。E-mail: xuxr@scsio.ac.cn

*致谢: 感谢孙凯峰和张再旺博士在采样和实验处理方面给予的大力帮助。

Received date: 2016-01-05; **Revised date:** 2016-02-03. Editor: LIN Qiang

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (51378488); Guangzhou Science and Technology Plan Projects (201510010031)

Corresponding author: XU Xiangrong. E-mail: xuxr@scsio.ac.cn

suspended particulates, sediments and feeds, with maximum concentrations of $60.76 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Erythromycin- H_2O), $1691 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (Monensin), $2.41 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (Enrofloxacin) and $74.96 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (Enrofloxacin), respectively. Eleven antibiotics were detected in fish plasma, livers and muscle, with maximum concentrations of $33.52 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Erythromycin- H_2O), $199 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (Norfloxacin) and $22.30 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (Norfloxacin), respectively. The values of bioaccumulation factors (BAFs) for the detected antibiotics in fish plasma, livers, and muscle were in the ranges of 147~336, 7~8891 and 8~16, respectively, indicating a different bioaccumulation capacity for different tissues. Human health risk assessment based on potential fish consumption indicated that residues of antibiotics in these aquatic products do not pose risks to consumers' health. The current study is of great significance in ensuring the safety of aquatic products in Guangzhou, promoting the sustainable development of aquaculture and improving the regulation on residual antibiotics for environmental protection agencies.

Key words: aquaculture; antibiotics; fish tissues; bioaccumulation; health risk

集约化水产养殖业作为重要的经济增长点, 近年来受到世界各国的普遍重视。水产品产量逐年增长, 有效缓解了人类对水产品不断增长的需求和天然渔场日益衰竭之间的矛盾。然而, 集约化水产养殖过程中大量使用抗生素, 仅约 20%~30% 会被鱼类等养殖品吸收利用, 大部分抗生素仍残留在水环境中, 或与废水排放进入周边水域, 或蓄积沉淀在养殖区沉积物中(Sassman et al, 2005; 高盼盼 等, 2009; Adachi et al, 2013)。残留的抗生素会诱导产生微生物耐药基因和病原菌耐药性(Su et al, 2012), 从而给环境和人类/动物健康带来隐患。

广州是水产品养殖和消费大市, 在全国十大城市中列居首位。据统计(广州市统计局, 2015), 2014 年广州全年水产品产量 47.85 万吨, 其中, 海水养殖 5.80 万吨, 淡水养殖 34.60 万吨。另据广州市海洋与渔业局统计, 广州市水产品日消费 1600 吨, 仅次于猪肉, 已成为广州市民餐桌上必不可少的主要食物。然而目前广州市水产品安全问题存在一些隐患却是不争的事实, 水产品安全问题不时见诸报端。因此, 有关该地区水产养殖环境及水产品中抗生素的残留及其人体饮食暴露风险值得密切关注。本研究选取广州市南沙水产养殖区的 2 个养殖场, 现场捕捞大小相近的 5 种鱼类, 采集相应水产养殖场的水、沉积物和饲料。通过调查抗生素在水体、颗粒物(水相过滤时滤膜所截)、沉积物、饲料以及鱼体不同组织(血液、肝脏和肌肉)中的含量和分布, 为广州市水产养殖区残留抗生素的环境风险评价提供科学依据。通过计算鱼体不同组织对抗生素的生物富集系数, 以期了解鱼体不同组织对抗生素的生物富集特征, 为保障广州市水产品的食用安全, 确保水产养殖业可持续健康发展, 提升各级环保部门对抗生素环境残留的综合监管能力提供参考。

1 材料和方法

1.1 样品采集

南沙地处珠江口西岸, 区内水网密布, 湖塘众多, 水产养殖业发达。2015 年 5 月于南沙水产养殖区(图 1)采集了水体、沉积物、饲料和鱼类样品。S1 点采集 7 条金钱鱼 *Scatophagus argus* 和 6 条罗非鱼 *Oreochromis mossambicus*。S2 点采集 2 条武昌鱼 *Megalobrama amblycephala*, 2 条鲮鱼 *Cirrhinus molitorella* 和 3 条草鱼 *Ctenopharyngodon idellus*。鱼类采集后, 迅速放在曝气培养箱中; 水样采集后, 立即添加甲醇和硫酸以抑制微生物的活性; 每个采样点采集 3 份沉积物并混合为 1 个沉积物样, 置于车载冰箱中。所有样品采集后带回实验室, 水样 4°C 保存, 沉积物与饲料样品 -20°C 冷冻保存。对于鱼样, 使用一次性注射器抽取鱼尾静脉血(注射器用肝素钠润洗, 然后在 4°C 条件下放置 8h)。使用手术刀(每次用超纯水清洗)分别取 2g 左右的肝脏和背部去皮肌肉, 收集后迅速置于 -20°C 条件下冷冻, 待进一步提取。

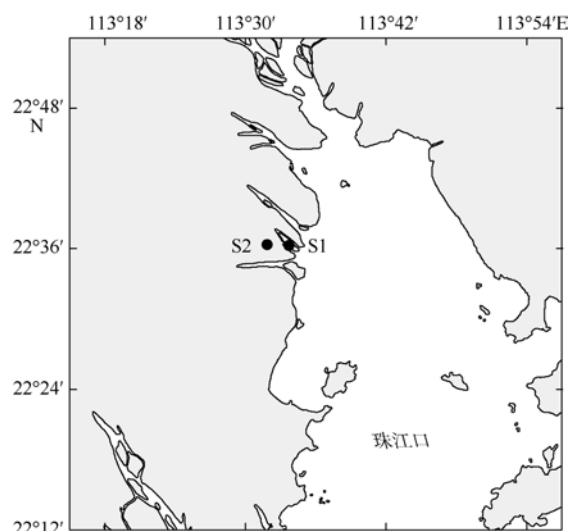


图 1 水产养殖区采样点分布

Fig. 1 Distribution of sampling sites in the aquaculture area

1.2 主要仪器与试剂

Agilent 1200 高分离度快速高效液相色谱仪, Agilent 6460 三重四极杆串联质谱仪(RRLC-MS/MS) (Agilent, 美国); 16 孔固相萃取装置(GL, 美国); 氮吹仪(安能特, 广州); 旋转蒸发仪(BUCHI, 瑞士); 高速冷冻离心机(Beckman, 美国); 冷冻干燥机(Scientz, 宁波); 超纯水器(Thermo scientific, 美国)。

色谱纯甲醇和乙腈(Merck, 德国); 氢氧化钠、乙二酸四乙酸二钠(Na_2EDTA)和硫酸(分析纯, 广州化学试剂厂); Oasis HLB 固相萃取小柱 (200/500 mg, 6mL, 美国 Waters 公司); SAX/PSA 强阴离子/弱阴离子交换小柱 (500mg, 6mL, 德国 CNW 公司); SAX 强阴离子交换小柱(500mg, 6mL, 美国 Agilent 公司)。35 种抗生素标品: 磺胺嘧啶、磺胺吡啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺甲噁唑、磺胺醋酰、磺胺噻唑、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺多辛、磺胺喹恶啉、磺胺二甲异噁唑、磺胺二甲氧嘧啶、甲氧苄啶、磺胺氯噻嗪、磺胺甲基嘧啶、诺氟沙星、环丙沙星、氧氟沙星、洛美沙星、恩诺沙星、氟罗沙星、达氟沙星、培氟沙星、马波沙星、沙拉沙星、林可霉素、竹桃霉素、奥美普林、多西环素(强力霉素)、莫能菌素、北里霉素、克拉霉素和美他环素(甲烯土霉素) (德国 Dr. Ehrenstorfer 公司); 罗红霉素、泰乐菌素和红霉素(美国 Sigma 公司)。脱水红霉素按 Xu 等(2007)进行制备, 先用甲醇溶解红霉素, 然后加入适量 $4\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ H_2SO_4 调 pH 至 3.0, 室温静置 4h。内标物磺胺甲噁唑- D_4 、红霉素- ^{13}C - D_3 、环丙沙星- D_8 、甲氧苄啶- D_3 和林可霉素- D_3 (加拿大多伦多研究化学品公司), 磺胺二甲嘧啶- $^{13}\text{C}_6$ (美国剑桥同位素实验室)。

1.3 样品提取

水样、颗粒物、沉积物和饲料中抗生素的提取方法按 Zhou 等(2012), 4L 水样经过 $0.7\mu\text{m}$ 滤膜过滤, 先用 $4\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ H_2SO_4 调 pH 至 3.0, 加入 2g Na_2EDTA , 然后用 HLB(500mg, 6mL)萃取系统进行固相萃取。水样过滤后的滤膜, 冷冻干燥后称重, 减去滤膜(预先干燥至恒重)质量, 即得颗粒物质量。沉积物和饲料先冷冻干燥, 然后研磨, 过 60 目筛。分别称取沉积物、饲料各 2g 以及相应采样点所有颗粒物分别于 50mL 离心管中, 加入 pH 为 3.0 的柠檬酸缓冲液和乙腈各 10mL, 涡旋混匀, 超声提取 15min, 离心, 转移上清液至平底烧瓶, 提取过程重复 2 次, 提取液在 55°C 条件下旋转蒸发至体积不变, 超纯水定容至 200mL, 加入 0.2g Na_2EDTA , 充分混匀, 使用 SAX-HLB 萃取系统进行固相萃取。

血液中抗生素的提取按 Zhao 等(2015), 肝脏和肌肉中抗生素的提取文献(Ramirez et al, 2007)。由于

肌肉和肝脏含有基质效应的脂质, 因此固相萃取前, 需通过(SAX/PSA)净化柱去除脂质。对于血液样品, 取 50~200 μL 上清液, 转移到 50mL 玻璃管, 加入 30mL, $0.5\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Na_2EDTA , 用 $4\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ H_2SO_4 调 pH 至 3.0, 使用 HLB (200mg, 6mL)萃取系统进行固相萃取; 对于肌肉和肝脏样品, 精确称取 2 g 左右, 加入 15 mL $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 柠檬酸缓冲液(pH 为 4.0)和 15mL 甲醇至 50mL 离心管中, 匀浆, 超声提取 15min, 高速冷冻离心, 提取过程重复 2 次, 将上清液转移至平底烧瓶, 超纯水定容至 200mL, 加入 0.2g Na_2EDTA , 充分混匀, 使用 SAX/PSA-HLB 萃取系统进行固相萃取。

所有固相萃取操作前, 依次用甲醇和超纯水活化 HLB 柱。萃取完毕, 用 10mL 超纯水淋洗 HLB 柱, 负压下抽干。依次用 6mL 甲醇和 3mL 乙酸乙酯洗脱 HLB 柱, 收集洗脱液, 室温下氮吹, 甲醇定容, 用 $0.22\mu\text{m}$ 针头式过滤器过滤定容后的样品, 然后转移至进样小瓶, 留待 RRLC-MS/MS 分析测定。

1.4 标准溶液的配制

准确称取 10.0mg 抗生素溶于 100mL 甲醇中, 最终浓度 $100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 氟喹诺酮类抗生素溶解在 100mL 含 0.5% 的 $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH 的甲醇中; β -内酰胺类抗生素则溶解在 100mL 超纯水中, 4°C 保存, 每周更换。其他储备液在 -20°C 条件保存。

1.5 色谱-质谱条件

色谱条件: 流动相 A(体积比为 0.2% 的甲酸和 $2\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的醋酸铵), 流动相 B(乙腈)。梯度洗脱程序如下: 0min 10% B, 5min 15% B, 7min 20% B, 11min 40% B, 15min 60% B, 16min 95% B, 25min 95% B。流动相的流速为 $0.3\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 柱温 40°C , 进样体积 $5\mu\text{L}$ 。质谱条件: 干燥气温度 325°C , 流速 $6\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 雾化气压 45psi, 高纯液氮温度 350°C , 流速 $11\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$, 毛细管电压 3500V, 喷嘴电压 0V。采用正离子模式测定各种抗生素。

1.6 质量保证与控制

样品分析时, 使用高浓度和低浓度两种标准曲线。低浓度标准曲线($5\sim 200\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $R^2>0.995$); 高浓度标准曲线($10\sim 1000\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $R^2>0.995$)。针对回收率, 分别向养殖场的水体、颗粒物、沉积物、饲料、鱼体肝脏以及肌肉, 血液进行加标回收率实验, 加标水平分别为 $100\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $100\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $100\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。本研究水体、沉积物、鱼体血液、肝脏和肌肉中抗生素回收率范围在 50%~200% 之间的种类分别达到 31、34、33、31 和 34 种。样品分析过程中, 每 6 个样品分别进一个甲醇和浓度为 $50\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的抗生素标样, 标样浓度波动范围控制在 $\pm 20\%$ 以内, 确

保仪器稳定。

2 结果与讨论

2.1 水体、颗粒物、沉积物以及饲料中抗生素的分布
表 1 显示了水产养殖区非生物样品中抗生素的残留特征。非生物样品中共检出 35 种抗生素中的 12 种, 包括 3 种磺胺类(磺胺嘧啶、磺胺二甲嘧啶和

磺胺喹恶啉), 4 种氟喹诺酮类(诺氟沙星、恩诺沙星、氧氟沙星和环丙沙星), 2 种大环内酯类(脱水红霉素和北里霉素)以及 3 种其他类(林可霉素、甲氧苄啶和莫能菌素)。水体、颗粒物、沉积物和饲料中都检出脱水红霉素, 这可能是由于脱水红霉素是水产养殖业最常用的抗生素之一(Done et al, 2015), 因而在非生物样品中检出频繁。

表 1 水产养殖区非生物样品中抗生素的残留量
Tab. 1 Residual antibiotics in non-biological samples from the aquaculture area

化合物	S1				S2			
	水体残留量/ (ng·L ⁻¹)	颗粒物残留量 /(ng·g ⁻¹)	沉积物残留量 /(ng·g ⁻¹)	饲料残留量 /(ng·g ⁻¹)	水体残留量/ (ng·L ⁻¹)	颗粒物残留量 /(ng·g ⁻¹)	沉积物残留量 /(ng·g ⁻¹)	饲料残留量 /(ng·g ⁻¹)
脱水红霉素	60.76	<0.26	<0.26	5.22	17.25	<0.26	<0.26	43.68
北里霉素	N.D.	N.D.	N.D.	0.5	N.D.	2.57	N.D.	N.D.
诺氟沙星	N.D.	110	1.66	15.21	N.D.	94.39	1.71	N.D.
环丙沙星	N.D.	N.D.	N.D.	14.76	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
恩诺沙星	N.D.	92.24	2.41	74.96	N.D.	47.91	N.D.	N.D.
氧氟沙星	N.D.	N.D.	1.54	15.89	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
磺胺嘧啶	0.19	0.65	0.02	0.50	0.62	0.17	N.D.	0.11
甲氧苄啶	0.39	N.D.	N.D.	16.99	0.11	N.D.	N.D.	N.D.
磺胺喹恶啉	N.D.	N.D.	N.D.	1.77	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
磺胺二甲嘧啶	N.D.	N.D.	N.D.	3.26	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
莫能菌素	N.D.	N.D.	N.D.	0.36	0.15	1691	N.D.	0.14
林可霉素	N.D.	N.D.	<2.95	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

注: N.D.表示未检出

水体中共检出 4 种抗生素, 分别为磺胺嘧啶、甲氧苄啶、脱水红霉素和莫能菌素。浓度范围 0.11 (甲氧苄啶)~60.76ng·L⁻¹(脱水红霉素)。本研究 and 渤海湾养殖水体中抗生素检出种类和浓度存在较大差异(Zou et al, 2011), 这可能由两方面原因造成, 首先, 渤海湾有很多河水输入, 而这些河水含有多种人用和兽用抗生素, 从而构成了抗生素污染的重要来源; 其次, 渤海湾水体的交换能力和自净能力很弱(Zou et al, 2011)。

颗粒物中共检出 6 种抗生素, 分别为磺胺嘧啶、诺氟沙星、恩诺沙星、脱水红霉素、北里霉素和莫能菌素。浓度范围为 0.26(脱水红霉素)~1691ng·g⁻¹(莫能菌素); 浓度大于 40ng·g⁻¹的抗生素有诺氟沙星和恩诺沙星。沉积物中共检出 6 种抗生素, 分别为磺胺嘧啶、诺氟沙星、氧氟沙星、恩诺沙星、脱水红霉素和林可霉素。浓度范围 0.26(脱水红霉素)~2.41ng·g⁻¹(恩诺沙星)。沉积物中脱水红霉素、诺氟沙星、恩诺沙星和氧氟沙星浓度都小于珠江口典型水产养殖区沉积物中这几种抗生素的浓度(梁惜梅等, 2013)。颗粒物和沉积物中检出氟喹诺酮类(诺氟

沙星、恩诺沙星和氧氟沙星), 但水体中未检出氟喹诺酮类, 这可能是由于氟喹诺酮类抗生素的沉积物-水分配系数较大(Gao et al, 2012), 因而容易被颗粒物和沉积物吸附。

饲料中共检出 11 种抗生素, 包括 3 种磺胺类(磺胺嘧啶、磺胺二甲嘧啶和磺胺喹恶啉), 4 种氟喹诺酮类(诺氟沙星、氧氟沙星、环丙沙星和恩诺沙星), 2 种大环内酯类(脱水红霉素和北里霉素)以及 2 种其他类(甲氧苄啶和莫能菌素)。浓度范围 0.11(磺胺嘧啶)~74.96ng·g⁻¹(恩诺沙星)。饲料中恩诺沙星浓度较高, 这可能是由于恩诺沙星是水产养殖业最常用的抗生素之一(Rico et al, 2014)。本研究水产养殖区所用饲料中检出的抗生素种类多于海陵岛水产养殖区饲料中检出的抗生素种类(Chen et al, 2015), 这可能是由于不同地区抗生素的使用习惯不同(Zhang et al, 2012)。

2.2 鱼体组织中抗生素的分布

表 2 和表 3 显示了水产养殖区鱼体组织(血液、肝脏和肌肉)中抗生素的残留特征。3 种组织共检出 35 种抗生素中的 11 种, 包括 6 种氟喹诺酮类(诺氟沙星、培氟沙星、氟罗沙星、环丙沙星、恩诺沙星

表 2 S1 水产养殖场鱼体组织中抗生素的残留特征

Tab. 2 Residual antibiotics in different tissues of fish from the aquaculture farm S1

化合物	血液		肝脏		肌肉	
	检出率	均值(范围)/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	检出率	均值(范围)/($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$)	检出率	均值(范围)/($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$)
脱水红霉素	100%	11.02 (2.46~33.52)	100%	<3.81 (0~3.81)	100%	<0.78 (0~0.78)
诺氟沙星	100%	11.96 (9.20~24.58)	77%	31.79 (N.D.~199)	100%	<3.77 (1.95~22.30)
培氟沙星	N.D.		N.D.		15%	0.25 (N.D. ~1.66)
氟罗沙星	N.D.		N.D.		8%	0.08 (N.D.~1.07)
环丙沙星	N.D.		N.D.		N.D.	
恩诺沙星	N.D.		N.D.		92%	2.19 (N.D.~3.13)
氧氟沙星	N.D.		N.D.		54%	0.72 (N.D.~1.40)
磺胺嘧啶	100%	<0.36 (0.36~0.38)	23%	<0.15 (N.D.~0.28)	38%	<0.05 (N.D.~0.12)
甲氧苄啶	N.D.		N.D.		8%	0.02 (N.D.~0.22)
莫能菌素	N.D.		46%	1.70 (N.D.~8.20)	N.D.	
林可霉素	N.D.		N.D.		N.D.	

注: N.D.表示未检出

表 3 S2 水产养殖场鱼体组织中抗生素的残留特征

Tab. 3 Residual antibiotics in different tissues of fish from the aquaculture farm S2

化合物	血液		肝脏		肌肉	
	检出率	均值(范围)/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	检出率	均值(范围)/($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$)	检出率	均值(范围)/($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$)
脱水红霉素	100%	12.09 (9.17~19.95)	100%	<3.81 (0~3.81)	100%	<0.78 (0~0.78)
诺氟沙星	100%	8.81 (5.08~10.10)	100%	46.92 (1.91~163)	100%	2.59 (2.05~4.07)
恩诺沙星	N.D.		N.D.		43%	0.77 (N.D.~2.05)
氧氟沙星	N.D.		N.D.		28%	0.36 (N.D.~1.36)
磺胺嘧啶	100%	<0.36 (0~0.36)	14%	<0.09 (N.D.~0.64)	71%	<0.09 (N.D.~0.12)
莫能菌素	N.D.		43%	4.00 (N.D.~10.93)	N.D.	
林可霉素	N.D.		N.D.		N.D.	

注: N.D.表示未检出

和氧氟沙星), 1 种磺胺类(磺胺嘧啶), 1 种大环内酯类(脱水红霉素)以及 3 种其他类(林可霉素、甲氧苄啶和莫能菌素)。血液、肝脏和肌肉中抗生素浓度最大值分别为 $33.52\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (脱水红霉素)、 $199\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (诺氟沙星)和 $22.30\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (诺氟沙星)。莫能菌素只在肝脏中检出, 浓度范围 $0\sim 10.93\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 。水体、颗粒物、沉积物、饲料和鱼体血液、肝脏和肌肉中都检出脱水红霉素, 表明脱水红霉素在本水产养殖区普遍存在, 这可能是由于红霉素药效好, 价格便宜, 使用广泛, 因而检出频繁。

血液中共检出 3 种抗生素, 分别为磺胺嘧啶、诺氟沙星和脱水红霉素, 检出率都为 100%。S1 点这 3 种抗生素浓度均值分别为 <0.36 、 11.96 和 $11.02\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; S2 点这 3 种抗生素浓度均值分别为 <0.36 、 8.81 和 $12.09\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。S1 和 S2 点鱼体血液中脱水红霉素和诺氟沙星浓度均值大于磺胺嘧啶, 因此鱼体血液中以脱水红霉素和诺氟沙星为主。本研究鱼体血液中检出的抗生素种类少于珠三角河流鱼

体血液中检出的抗生素种类(Zhao et al, 2015), 这可能是因为珠三角流域人口密集, 未经处理的生活污水直接排放, 构成了抗生素污染的重要来源。

肝脏中共检出 4 种抗生素, 分别为磺胺嘧啶、诺氟沙星、脱水红霉素和莫能菌素。S1 点检出率大于 60% 的抗生素有脱水红霉素和诺氟沙星, 浓度均值分别为 <3.81 和 $31.79\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 。S2 点检出率大于 60% 的抗生素有脱水红霉素和诺氟沙星, 浓度均值分别为 <3.81 和 $46.92\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 。鱼体肝脏中诺氟沙星浓度均值大于其他几种抗生素浓度均值, 表明肝脏中以诺氟沙星为主。尽管肝脏很少被食用, 但其可作为饲料生产的下脚料(何秀婷 等, 2014), 再次投喂到养殖区, 使水生动物受到二次污染; 同时, 鱼体组织中高浓度的抗生素可能对鱼类产生不利的影响(Stadnicka et al, 2012)。本研究鱼体肝脏中诺氟沙星浓度均值大于其在珠三角河流鱼体肝脏中浓度均值, 但脱水红霉素浓度均值小于其在珠三角河流鱼体肝脏中浓度均值(Zhao et al, 2015)。

肌肉中共检出 7 种抗生素, 分别为磺胺嘧啶、甲氧苄啶以及 5 种氟喹诺酮类(氟罗沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、培氟沙星和恩诺沙星), S1 点检出率大于 60% 的抗生素有脱水红霉素、诺氟沙星和恩诺沙星, 浓度均值分别为 <0.78 、 <3.77 和 $2.19\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 。S2 点检出率大于 60% 的抗生素有脱水红霉素、诺氟沙星和磺胺嘧啶, 浓度均值分别为 <0.78 、 2.59 和 $<0.09\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 。甲氧苄啶和氟罗沙星分别在 S1 点的金钱鱼、罗非鱼检出一次, 浓度分别为 0.22 和 $1.07\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 。本研究鱼体肌肉中诺氟沙星浓度均值小于广东省一饮用水源地河流鱼体肌肉中诺氟沙星浓度均值(任珂君 等, 2015), 这可能是由于水源地沿岸分布着许多淡水养殖业和畜禽养殖业, 大量未经处理的养殖废水构成了抗生素污染的重要来源。鱼体肌肉中氟罗沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、恩诺沙星以及脱水红霉素浓度均值都小于海河鱼肉中这些抗生素的浓度均值, 且海河鱼肉中最频繁检出的抗生素是诺氟沙星、环丙沙星和磺胺甲噁啶(Gao et al, 2012), 而本研究鱼体肌肉中未检出环丙沙星和磺胺甲噁啶, 且水体、颗粒物和沉积物中都未检出环丙沙星和磺胺甲噁啶, 这可能是由于本水产养殖区较少使用环丙沙星和磺胺甲噁啶。

鱼体肝脏中磺胺嘧啶、诺氟沙星和脱水红霉素浓度均值都大于肌肉中这 3 种抗生素浓度均值, 这可能是由于肝脏作为重要的解毒器官, 对药物进行代谢的同时, 还对其进行了一定的生物富集(王群等, 2005)。恩诺沙星在肌肉中检出率大于其在血液中的检出率, 这可能是由于恩诺沙星更容易富集在含有脂质的组织中(Zhao et al, 2015)。

2.3 鱼体组织对抗生素的生物富集

尽管过往对于水体抗生素污染的调查十分广泛, 但有关生物体不同组织对抗生素生物富集方面的研究却十分有限。生物富集因子可以定量描述生物对某物质的富集特征。生物体组织部位抗生素的生物富集因子(bioaccumulation factor, BAF)是指组织中抗生素浓度(C_t)除以水中该抗生素浓度(C_w)。BAF = (C_t/C_w)。鱼体血液、肝脏和肌肉中抗生素的 BAF 如表 4 所示。

血液中抗生素 BAF 范围 0~1984(磺胺嘧啶), 最大值来自 S1 点金钱鱼, 脱水红霉素 BAF 均值大于磺胺嘧啶。肝脏中抗生素 BAF 范围 0~72900(莫能菌素), 最大值来自 S2 点武昌鱼, 莫能菌素 BAF 均值远大于磺胺嘧啶。肌肉中抗生素 BAF 范围 0~160(甲氧苄啶), 最大值来自 S1 点金钱鱼。血液中脱水红霉素 BAF 和珠三角河流鱼血中脱水红霉素的 BAF 相当

表 4 鱼体不同组织中抗生素的 BAF 值

Tab. 4 Summary of the BAF values for the selected antibiotics in different tissues of fish

组织	化合物	BAF
血液	脱水红霉素	324(40~974)
	磺胺嘧啶	154(0~1984)
肝脏	磺胺嘧啶	7(0~144)
	莫能菌素	9335(0~72900)
肌肉	磺胺嘧啶	17(0~156)
	甲氧苄啶	8(0~160)

注: 数值表示为均值(范围)

(Zhao et al, 2015)。肌肉中磺胺嘧啶和甲氧苄啶 BAF 值小于海陵湾养殖区鱼肉中这两种抗生素的 BAF 值, 这可能是由于本研究水产养殖区水体中磺胺嘧啶和甲氧苄啶浓度小于海陵湾养殖区水体中这两种抗生素的浓度(Chen et al, 2015)。血液中磺胺嘧啶 BAF 值大于其在肝脏和肌肉中的 BAF 值, 表明磺胺嘧啶更容易富集在血液中。已有研究表明, 血液中磺胺二甲嘧啶、磺胺甲恶唑和脱水红霉素 BAF 值大于其在肝脏和肌肉中 BAF 值(Zhao et al, 2015)。因此, 鱼体不同组织内抗生素的生物富集特征不同。

如果生物对某种物质的 BAF 5000, 则这种物质具有生物富集特性; 如果 BAF 在 2000~5000 之间, 则这种物质具有潜在生物富集特性。本研究鱼体肝脏中莫能菌素 BAF 均值 9335(最大值 72900), 表明肝脏对莫能菌素具有生物富集能力。也有研究表明, 当鱼暴露在含有抗生素的环境中, 血液、肝脏、肌肉可以对某些抗生素进行生物富集(Zhao et al, 2015), 而组织中高浓度的抗生素将对鱼产生不利影响(Stadnicka et al, 2012)。例如, 抗生素对动物基因表达存在潜在影响(Barros-Becker et al, 2012), 而土霉素(氧四环素)能引起鱼脊柱变形(Toften et al, 1996)。因此, 本水产养殖区可能需要合理地使用莫能菌素。

2.4 饮食暴露风险评估

食用含有抗生素的水产品可能给消费者的健康带来风险(Boonsaner et al, 2013)。由于消费者通常食用鱼体肌肉组织, 因此本研究对鱼体肌肉组织中检出率大于 50% 的抗生素磺胺嘧啶、诺氟沙星、氧氟沙星、恩诺沙星和脱水红霉素进行了饮食暴露风险评估。抗生素摄入量(单位: $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)的计算参考 Dunnivant 等(2006)。通过计算, 体重为 70kg 的成年人食用本研究的鱼体肌肉组织, 每日摄入磺胺嘧啶、诺氟沙星、氧氟沙星、恩诺沙星和脱水红霉素的量分别为 8.9×10^{-9} 、 1.7×10^{-5} 、 1.0×10^{-6} 、 2.3×10^{-6}

和 $5.8 \times 10^{-7} \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 而磺胺嘧啶、诺氟沙星、氧氟沙星、恩诺沙星和脱水红霉素的每日允许摄入量分别为 0.02、0.0114、0.0032、0.0006 和 $0.0007 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ bw} \cdot \text{d}^{-1}$, 因此本文中抗生素摄入量均小于相应每日允许摄入量(acceptable daily intake, ADI; 单位: $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ bw}$)标准。风险商(hazard quotient, HQ)可以定量描述食用这些鱼类所带来的抗生素风险, 计算方式为 $\text{HQ} = \text{Intake} / \text{ADI}$ 。如果 $\text{HQ} \geq 1$, 表明具有饮食暴露风险; 如果 $\text{HQ} < 1$, 表明没有饮食暴露风险。计算结果显示, 这些抗生素的 HQ 值远小于 1(范围 $4.5 \times 10^{-7} \sim 3.9 \times 10^{-3}$), 因此食用这些鱼不会给人体健康带来抗生素暴露方面的风险。中华人民共和国农业部于 2002 年颁布了 235 号公告, 对食用动物组织中兽用抗生素

的最大残留量(maximum residue limits, MRL)做了相关规定(中华人民共和国农业部, 2002), 依据该公告, 食用动物肌肉中磺胺嘧啶、诺氟沙星、氧氟沙星、恩诺沙星和脱水红霉素的最高残留量在 $50 \sim 200 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 之间。本研究所有鱼类肌肉中抗生素最大残留浓度均小于该标准, 表明这些鱼类达到了安全食用的标准。然而, S1 点金钱鱼肌肉中诺氟沙星最大浓度达到 $22.30 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 接近最大允许残留量的 1/4, 且诺氟沙星的每日允许摄入量暂无标准。因此, 针对诺氟沙星, 有必要进行更全面的人体健康风险评价。实际环境中, 水产品肌肉组织中存在多种抗生素, 但本研究的饮食暴露风险评估并没有考虑混合抗生素的作用, 而这有可能给人体健康带来不确定的风险。

表 5 抗生素的摄入量以及每日允许摄入量标准

Tab. 5 Daily intakes and the parameters of acceptable daily intakes (ADIs)

化合物	$C_{\text{fish}} / (\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	摄入量/ $(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1})$	ADI/ $(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ bw})$	HQ	MRL/ $(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$
磺胺嘧啶	0.12	8.9×10^{-9}	0.02 (Australian Government et al, 2016)	4.5×10^{-7}	100 (中华人民共和国农业部, 2002)
诺氟沙星	22.30	1.7×10^{-5}	0.0114 (FAO/WHO, 2011)	1.5×10^{-3}	100 (JFCRF, 2016)
氧氟沙星	1.40	1.0×10^{-6}	0.0032 (FSCJ, 2007)	3.2×10^{-4}	50 (JFCRF, 2016)
恩诺沙星	3.13	2.3×10^{-6}	0.0006 (WHO, 1997)	3.9×10^{-3}	100 (中华人民共和国农业部, 2002)
脱水红霉素	0.78	5.8×10^{-7}	0.0007 (FAO/WHO, 2014)	8.2×10^{-4}	200 (中华人民共和国农业部, 2002)

注: C_{fish} 为肌肉中抗生素浓度取最大值

3 结论

1) 本研究在广州市南沙水产养殖区共检出 14 种抗生素, 水体、颗粒物、沉积物和饲料中抗生素浓度最大值分别为 $60.76 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ (脱水红霉素)、 $1691 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ (莫能菌素)、 $2.41 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ (恩诺沙星)和 $74.96 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ (恩诺沙

星); 鱼体血液、肝脏和肌肉中抗生素浓度最大值分别为 $33.52 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (脱水红霉素)、 $199 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ (诺氟沙星)和 $22.30 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ (诺氟沙星)。

2) 鱼体不同组织对抗生素具有不同富集能力。

3) 饮食暴露风险评估表明, 食用这些鱼类不会给人体健康带来风险。

参考文献 References

- 高盼盼, 罗义, 周启星, 等, 2009. 水产养殖环境中抗生素抗性基因(ARGs)的研究及进展[J]. 生态毒理学报, 4(6): 770-779.
- GAO PANPAN, LUO YI, ZHOU QIXING, et al, 2009. Research advancement of antibiotics resistance genes (ARGs) in Aquaculture Environment[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 4(6): 770-779 (in Chinese with English abstract).
- 广州市统计局, 2015[2016-01-05]. 广州统计信息手册[EB/OL]. 广州: 广州市统计局. <http://www.gzstats.gov.cn/tjsj/tjxxsc/201510/P020151009555268804958.pdf>.
- 何秀婷, 王奇, 聂湘平, 等, 2014. 广东典型海水养殖区沉积物及鱼体中磺胺类药物的残留及其对人体的健康风险评估[J]. 环境科学, 35(7): 2728-2735. HE XIUTING, WANG QI, NIE XIANGPING, et al, 2014. Residues and health risk assessment of sulfonamides in sediment and fish from typical marine aquaculture regions of Guangdong Province, China[J]. Environmental Science, 35(7): 2728-2735 (in Chinese with English abstract).
- 梁惜梅, 施震, 黄小平, 2013. 珠江口典型水产养殖区抗生素的污染特征[J]. 生态环境学报, 22(2): 304-310. LIANG XIMEI, SHI ZHEN, HUANG XIAOPING, 2013. Occurrence of antibiotics in typical aquaculture of the Pearl River Estuary[J]. Ecology and Environmental Sciences, 22(2): 304-310 (in Chinese with English abstract).
- 任珂君, 刘玉, 徐健荣, 等, 2015. 广东一饮用水源地河流沉积物及鱼体中氟喹诺酮类(FQs)抗生素残留特征研究[J]. 环境科学学报, 36(3): 760-766. REN KEJUN, LIU YU, XU JIANRONG, et al, 2015. Residues characteristics of fluoroquinolones (FQs) in the river sediments and fish tissues in a drinking water protection area of Guangdong Province[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 36(3): 760-766 (in Chinese with English abstract).
- 王群, 刘淇, 唐雪莲, 等, 2005. 诺氟沙星在养殖鲈体内的代谢动力学和残留研究[J]. 水产学报, 28(S): 13-18. WANG QUN, LIU QI, TANG XUELIAN, et al, 2005.

- Pharmacokinetics and residues of norfloxacin in *Lateolabrus japonicus*[J]. Journal of Fisheries of China, 28(S): 13–18 (in Chinese with English abstract).
- 中华人民共和国农业部, 2002(2010-07-16) [2016-01-05]. 中华人民共和国农业部公告第 235 号公告: 动物性食品中兽药最高残留限量[EB/OL]. 北京: 中华人民共和国农业部, <http://www.foodmate.net/law/shipin/163968.html>.
- ADACHI F, YAMAMOTO A, TAKAKURA K-I, et al, 2013. Occurrence of fluoroquinolones and fluoroquinolone-resistance genes in the aquatic environment[J]. Science of the Total Environment, 444: 508–514.
- Australian Government, Department of Health, Office of Chemical Safety (OCS), [2016-01-05]. Acceptable daily intakes for agricultural and veterinary chemicals: current as of 31 March 2016[EB/OL]. <http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/ocs-adi-list.htm>.
- BARROS-BECKER F, ROMERO J, PULGAR A, et al, 2012. Persistent oxytetracycline exposure induces an inflammatory process that improves regenerative capacity in zebrafish larvae[J]. PLoS One, 7(5): e36827.
- BOONSANER M, HAWKER D W, 2013. Evaluation of food chain transfer of the antibiotic oxytetracycline and human risk assessment[J]. Chemosphere, 93(6): 1009–1014.
- CHEN HUI, LIU SHAN, XU XIANGRONG, et al, 2015. Antibiotics in typical marine aquaculture farms surrounding Hailing Island, South China: Occurrence, bioaccumulation and human dietary exposure[J]. Marine Pollution Bulletin, 90(1–2): 181–187.
- DONE H Y, HALDEN R U, 2015. Reconnaissance of 47 antibiotics and associated microbial risks in seafood sold in the United States[J]. Journal of Hazardous Materials, 282: 10–17.
- DUNNIVANT F M, ANDERS E, 2006. A basic introduction to pollutant fate and transport: an integrated approach with chemistry, modeling, risk assessment, and environmental legislation[M]. New York: John Wiley & Sons.
- FAO/WHO, 2011[2016-01-05]. Residues of some veterinary drugs in animals and foods[R/OL]. Geneva: FAO/WHO. https://openlibrary.org/works/OL749344W/Residues_of_some_veterinary_drugs_in_animals_and_foods.
- FAO/WHO, 2014. [2016-01-05]. Evaluations of the joint FAO/WHO expert committee on food additives (JECFA) [R/OL]. Geneva: FAO/WHO. <http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/search.aspx>.
- FSCJ (Food Safety Commission of Japan), 2007. [2016-01-05]. Veterinary medicinal products[EB/OL]. <http://www.fsc.go.jp/english/index.html>.
- GAO LIHONG, SHI YALI, LI WENHUI, et al, 2012. Occurrence, distribution and bioaccumulation of antibiotics in the Haihe River in China[J]. Journal of Environmental Monitoring, 14(4): 1247–1254.
- JFCRF (The Japan Food Chemical Research Foundation), 2016. [2016-01-05]. Maximum residue limits (MRLs) list of agricultural chemicals in foods: Positive list system for agricultural chemical residues in foods[EB/OL]. <http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp/foundation/search.html>.
- RAMIREZ A J, MOTTALEB M A, BROOKS B W, et al, 2007. Analysis of pharmaceuticals in fish using liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Analytical Chemistry, 79(8): 3155–3163.
- RICO A, OLIVEIRA R, MCDONOUGH S, et al, 2014. Use, fate and ecological risks of antibiotics applied in tilapia cage farming in Thailand[J]. Environmental Pollution, 191: 8–16.
- SASSMAN S A, LEE L S, 2005. Sorption of three tetracyclines by several soils: assessing the role of pH and cation exchange[J]. Environmental Science & Technology, 39(19): 7452–7459.
- STADNICKA J, SCHIRMER K, ASHAUER R, 2012. Predicting concentrations of organic chemicals in fish by using toxicokinetic models[J]. Environmental Science & Technology, 46(6): 3273–3280.
- SU HAOCHANG, YING GUANGGUO, TAO RAN, et al, 2012. Class 1 and 2 integrons, *sul* resistance genes and antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolated from Dongjiang River, South China[J]. Environmental Pollution, 169: 42–49.
- TOFTEN H, JOBLING M, 1996. Development of spinal deformities in Atlantic salmon and Arctic charr fed diets supplemented with oxytetracycline[J]. Journal of Fish Biology, 49(4): 668–677.
- WHO, 1997. [2016-01-05]. Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food[R/OL]. Geneva: WHO. <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v39je06>.
- XU WEI-HAI, ZHANG GAN, ZOU SHI-CHUN, et al, 2007. Determination of selected antibiotics in the Victoria Harbour and the Pearl River, South China using high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. Environmental Pollution, 145(3): 672–679.
- ZHANG RUIJIE, ZHANG GAN, ZHENG QIAN, et al, 2012. Occurrence and risks of antibiotics in the Laizhou Bay, China: impacts of river discharge[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 80: 208–215.
- ZHAO JIANLIANG, LIU YOUSHEG, LIU WANGRONG, et al, 2015. Tissue-specific bioaccumulation of human and veterinary antibiotics in bile, plasma, liver and muscle tissues of wild fish from a highly urbanized region[J]. Environmental Pollution, 198: 15–24.
- ZHOU LIJUN, YING GUANGGUO, LIU SHAN, et al, 2012. Simultaneous determination of human and veterinary antibiotics in various environmental matrices by rapid resolution liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 1244: 123–138.
- ZOU SHICHUN, XU WEIHAI, ZHANG RUIJIE, et al, 2011. Occurrence and distribution of antibiotics in coastal water of the Bohai Bay, China: impacts of river discharge and aquaculture activities[J]. Environmental Pollution, 159(10): 2913–2920.