

# 淡水湖泊中微囊藻毒素的污染

隋海霞 陈 艳 严卫星 徐海滨

(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100021)

**摘要:**为探讨淀山湖、东湖、鄱阳湖水系浮游藻类和藻类毒素的污染及鱼体内微囊藻毒素的富集情况,于2000年7月和10月,采集了上述湖泊的水样和鱼样,用ELISA方法对样品的微囊藻毒素进行了测定。结果显示:蓝藻已经成为上述三大湖泊的优势藻种。发生水华的同—湖泊中,10月份水中的微囊藻毒素(MC)含量,显著高于7月份水中MC含量( $P < 0.05$ )。淀山湖水中MC含量,显著高于鄱阳湖水中的MC含量( $P < 0.05$ ),后者又显著高于东湖水中的MC含量( $P < 0.05$ )。东湖鱼体中的MC含量,显著低于鄱阳湖和淀山湖鱼体中的MC含量( $P < 0.05$ )。鱼样肌肉中MC含量,均显著低于肝脏中MC含量( $P < 0.05$ )。本研究为制定水及水产品中微囊藻毒素的安全限量标准,提供了科学依据。

**关键词:**藻类;微囊藻毒素;淡水;酶联免疫吸附测定

## Pollution of microcystin in fresh water Lakes

Sui Haixia, et al.

(National Institute for Nutrition and Food Safety, China CDC, Beijing 100021)

**Abstract:** To investigate the level of pollution by algae and microcystin (MC) of Dianshan Lake (Shanghai City), Poyang Lake (Jiangxi Province), and Dong Lake (Wuhan City), as well as the bioaccumulation of MC in the above lakes, water and fish samples were collected and analysed by ELISA in Jul. and Oct. 2000. The results showed that: 1. Cyanobacteria had become the dominant species in the three lakes. 2. For the same water-blooming lake, MC content was significantly lower in July than that in October ( $P < 0.05$ ). 3. MC content in water of Dianshan Lake was significantly higher than that of Poyang Lake, while that of the latter was significantly higher than that of Dong Lake ( $P < 0.05$ ). MC content in fish of Dong Lake was significantly lower than that of Poyang Lake and Dianshan Lake ( $P < 0.05$ ). 4. MC content in muscle was significantly lower than that in liver ( $P < 0.05$ ).

Our results provide a precondition to establish the allowable content of MC in water and aquatic products.

**Key Words:** Algece; Microcystin; Fresh water; Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

微囊藻毒素(Microcystins, 简称MC)是由一些有毒蓝藻产生的一类具有明显肝毒性的环状多肽。由于目前生活性及工业性污染日趋加重,许多水体富营养化,从而导致蓝藻大量繁殖,特别是在夏秋季,常会形成大量水华,不仅使水体感官性状恶化,而且由于藻细胞腐败裂解后毒素被释放到水中,野生动物及家畜家禽饮用了含有产毒藻及藻毒素的水后,引起中毒甚至死亡。<sup>[1-3]</sup>最近一些研究发现在肝癌高发区中MC含量较高。我国一些湖泊近年来水体富营养化日趋严重,而微囊藻毒素对鱼体的污染现

状及其生物富集作用,国内外研究很少。本课题调查了上海淀山湖、武汉东湖、江西鄱阳湖水及鱼体内的MC污染以及MC在鱼体内的富集情况,为制定MC在食品中的标准提供科学依据。

### 1 材料和方法

1.1 采样点布设 根据湖泊水体富营养化的轻重程度不同,沿湖设置不同的采样点,淀山湖和鄱阳湖均设置了5个采样点,东湖设置了2个采样点。

### 1.2 样品的采集

基金项目:卫生部基金项目(98-1-067)。

作者简介:隋海霞 女 硕士

This work was supported by the Grant from Science Research Funds of Ministry of Health, China. (98-1-067)

1.2.1 藻类样品的采集 定性样品用 25 号浮游生物网采集,定量样品用中科院水生生物研究所生产的有机玻璃采水器,采集水面以下 0.5 m 处水样 1 000 mL,同时记录水温,将取得的水样立即摇匀倒入筒状分液漏斗中,加入 10 mL 鲁格式液(Lugol's solution)固定,静置,24 h 后吸去上清液,将沉淀物混匀定容为 100 mL。

1.2.2 水样的采集 用采水器分别在表、底层各采等量水样混合。水样注入水样瓶后,放入 - 80 °C 冰箱冷冻保存。反复冻融 3 次。水样经玻璃纤维过滤后,按照 FUNS CHU 报道的 ELISA 方法进行检测。<sup>[4,5]</sup>

1.2.3 鱼样的采集 在每个湖的采样点,取水样和藻样后同时取鱼样。东湖和鄱阳湖的鱼种为鲤鱼,淀山湖 7 月份的鱼种为鲫鱼,10 月份的鱼种为鲢鱼。

### 1.3 试样的测定

1.3.1 藻类计数 计数使用武汉水生生物研究所生产的浮游藻类计数板,其计数框面积为 20 mm × 20 mm,容量为 0.1 mL。显微镜下计数 100 个视野,按照下式计算藻类数目: $N = K \times n$   $N$ :每升原水中藻类数目(个/L); $K$ :倍率(本实验所用显微镜条件,固定液沉淀定容为 100 mL, $K$ 取代谢 40 404.0); $n$ :计数所得藻类数目(个)。

藻细胞大体以门分类,常见或重要的藻细胞分类至属。种类的鉴定参考《中国淡水藻类》中的分类方法。<sup>[6]</sup>

1.3.2 微囊藻毒素的测定 水样在 - 80 °C 反复冻融 3 次,经玻璃纤维滤膜(Whatman GF/C)过滤,取中间的 1 mL 待测。肌肉试样用丁醇 + 甲醇 + 水(5 + 25 + 70 体积分数)抽提,肝脏试样用 50 mmol/L Tris-HCl (pH = 7); 2 mmol/L EDTA, 2 mmol/L 2 - ME, 10 % 甘油抽提, Sep-Pak C<sub>18</sub> 小柱过滤,甲醇梯度洗脱,真空冷冻干燥机冷冻,小管分装,待测。MC 按照 FUNS CHU 报道的 ELISA 方法进行检测。<sup>[4,5]</sup>

## 2 结果和分析

### 2.1 蓝藻含量和所占比例变化

表 1 2000 年 7 月和 10 月,蓝藻在 3 个湖泊中的含量和所占百分比的变化

地点	蓝藻含量(10 <sup>7</sup> cell/L)		蓝藻所占百分比 %	
	7 月	10 月	7 月	10 月
淀山湖	1.08	1.39	38	61
鄱阳湖	0.22	0.14	50	74
东湖	12.34	5.59	79	90

由表 1 可见,就同一湖泊而言,10 月份蓝藻所

占百分比均高于 7 月份;对不同湖泊而言,淀山湖蓝藻所占百分比最低,东湖最高。

### 2.2 水样中 MC 含量的变化

表 2 2000 年 7 月和 10 月水样中

地点	MC 含量的变化( $\bar{x} \pm s$ )		pg/mL
	7 月	10 月	
淀山湖	281.78 ± 6.89	1145.77 ± 9.95	
鄱阳湖	80.53 ± 7.12 <sup>(1)</sup>	405.65 ± 7.58 <sup>(1)</sup>	
东湖	24.06 ± 5.48 <sup>(1,2)</sup>	40.89 ± 8.33 <sup>(1,2)</sup>	

注:(1)表示与淀山湖相比, $P < 0.05$ ;(2)表示与鄱阳湖相比, $P < 0.05$ 。

由统计分析可以看出,2000 年 7 月,淀山湖水中 MC 平均含量显著高于鄱阳湖和东湖的 MC 平均含量;鄱阳湖水中 MC 含量显著高于东湖水中 MC 含量;2000 年 10 月,也得出相同的结果。

### 2.3 鱼样中 MC 含量的变化

表 3 2000 年 7 月,淀山湖、鄱阳湖和

地点	东湖鱼样中 MC 的平均含量( $\bar{x} \pm s$ )		ng/g
	肌肉	肝脏	
淀山湖	0.86 ± 0.36	5.17 ± 1.18 <sup>(1)</sup>	
鄱阳湖	0.76 ± 0.08	1.34 ± 0.12 <sup>(1,2)</sup>	
东湖	0.38 ± 0.13 <sup>(2,3)</sup>	1.17 ± 1.01 <sup>(1,2,3)</sup>	

注:(1)表示肌肉与肝脏中 MC 相比, $P < 0.05$ ;(2)表示与淀山湖相比, $P < 0.05$ ;(3)表示与鄱阳湖相比, $P < 0.05$ 。

由表 3 可以看出,2000 年 7 月,各采样点鱼样肌肉中的 MC 含量均显著低于相应的肝脏中的 MC 含量;东湖鱼样肌肉和肝脏中的 MC 含量,均低于鄱阳湖和淀山湖,差异有显著性( $P < 0.05$ )。

表 4 2000 年 10 月,淀山湖、鄱阳湖

地点	与东湖鱼样中 MC 平均含量( $\bar{x} \pm s$ )		ng/g
	肌肉	肝脏	
淀山湖	3.74 ± 2.88	12.99 ± 2.03 <sup>(1)</sup>	
鄱阳湖	1.23 ± 0.09	12.58 ± 0.14 <sup>(1)</sup>	
东湖	1.15 ± 0.48 <sup>(2,3)</sup>	5.18 ± 2.17 <sup>(1,2,3)</sup>	

注:(1)表示肌肉与肝脏中 MC 相比, $P < 0.05$ ;(2)表示与淀山湖相比, $P < 0.05$ ;(3)表示与鄱阳湖相比, $P < 0.05$ 。

由表 4 可以看出,2000 年 10 月,各采样点鱼样肌肉中 MC 含量,均显著低于相应的肝脏中 MC 含量;东湖鱼样肌肉和肝脏中 MC 含量,均低于鄱阳湖和淀山湖,差异有显著性( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

3.1 水中浮游藻类密度的季节变化 各个湖泊中,10 月份蓝藻所占百分比,均高于 7 月份的,<sup>[7]</sup>这个结果与有关文献报道一致。本次研究结果发现,淀山湖中的优势藻类,已由 1987 年宋永昌调查<sup>[8]</sup>的隐

藻、硅藻转变为蓝藻。淀山湖中蓝藻所占的百分比,2000年7月份为38%,10月份为60.9%;鄱阳湖中蓝藻所占的百分比,1974年仅为20%,而2000年,无论是7月份还是10月份,均超过20%,分别为50%和74%;东湖中蓝藻所占的百分比,1975年仅为33%,而2000年,无论是7月份还是10月份,均超过33%,分别为79%和90%,这说明蓝藻已成为淀山湖、鄱阳湖和东湖的优势藻种。这是因为蓝藻属喜温藻类,尤其占优势的铜绿微囊藻、水华鱼腥藻8~10月份大量繁殖,形成明显的水华。有研究认为,藻类优势种群中蓝藻比例升高是湖泊人为富营养化发展的一个标志。<sup>[9]</sup>富营养化(Eutrophication)是水体衰老的一种表现,也是湖泊分类与演化的一个指标。造成上述湖泊藻类种群演变的原因除了污染对湖泊水系的影响之外,是否还有其它因素,需进一步研究。

**3.2 水中和鱼样中微囊藻毒素的变化** 微囊藻毒素是有毒蓝藻产生的一组环状七肽物质,具有明显的肝毒性。Carmichael等通过动物试验证明,微囊藻毒素对小鼠的LD<sub>50</sub>是50 μg/kg i.p.<sup>[10]</sup>动物饮用藻类毒素污染的水可发生中毒甚至死亡。目前研究发现,MC有65种以上的同分异构体,其中研究较多的是MC-LR和MC-RR。<sup>[11]</sup>本次研究结果表明,同一水华湖泊,10月份水样中的MC含量高于7月份的含量;不同湖泊之间,淀山湖水中MC含量最高,东湖最低。影响MC含量有很多因素。在自然条件下,温度和光照对构型的变化似乎起着很重要的作用,从不同季节、不同水域甚至同一水域采集的同种微囊藻毒株,毒性表现出很大差异。<sup>[12]</sup>一般10月份水温在20℃以下时,毒性较高;而7月份水温在25℃以上,光照强烈,毒性低。

本次研究结果表明,无论是7月还是10月,鄱阳湖和淀山湖鱼样的肌肉和肝脏中MC含量均高于东湖的。可能的原因是生活在高MC浓度的水域中的鱼在体内富集所致。

**3.3 水中浮游藻类和鱼体内MC之间的关系** 当水中MC含量增高时,鱼样肌肉和肝脏中的MC含量也相应增高。水体中MC含量越高,表明有毒蓝藻浓度越大,鱼类摄入蓝藻的量相应增多,作为机体

解毒器官的肝脏MC的浓度也越高。本研究显示鱼样肝脏组织中有较高浓度的MC的蓄积,推测可能与它们吞食藻类的食性有关。杂食性底栖动物鲤鱼不仅可以直接吞食有毒蓝藻细胞,还可能从底泥中吸收MC。

#### 参考文献:

- [1] Skubberg O M. Toxic blue-green algal blooms in Europe-A growing problem[J]. *Ambio*, 1984, 13:244—247.
- [2] Carmichael W W. Algal toxins and waterbased disease[J]. *CRC Critical Rev Environ Control*, 1985, 15:275—313.
- [3] Beasley V R. Algae intoxication in livestock and waterfowl [J]. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 1989, 5(2): 345—361.
- [4] Nagata S, Ueno Y. Direct determination of microcystin in environmental freshwater by an enzyme-linked immunosorbent assay based on monoclonal antibody[J]. *Jpn J Toxicol Environ Health*, 1995, 41.
- [5] 何家苑,李络平,俞家禄,等.我国产毒微囊藻的新发现——韦氏微囊藻及其毒性的初步研究[J]. *水生生物学报*, 1996, 20(2):192—194.
- [6] 胡鸿钧.中国淡水藻类[M].上海:上海科学技术出版社,1979.
- [7] Vale ria Freitas de Magakhaes, Raquel Moraes Soares, Sndra M F O Azevdo. Microcystin contamination in fish from the Jacarepagua Lagoon (Rio DE Janeiro, Brazil) [J]. *Ecological implication and human health risk Toxicol*, 2001, 39:1077—1085.
- [8] 宋永昌.淀山湖富营养化及其防治研究[M].上海:华东师范大学出版社,1992.
- [9] Carmichael W W. Freshwater cyanobacteria (blue-green algal) toxins [A]. In: C L Ownby, G V Odell, ed. *Natural Toxins: Characterization, Pharmacology and Therapeutics* [C]. London: Pergamon Press, 1988, 3—16.
- [10] Carmichael W W. The cyanoptoxins in advances in botanical research[M]. London: Academic Press, 1997, 211—257.
- [11] 何振荣,俞敏娟,何家苑.铜绿微囊藻毒株 M. 8641 的毒素[J]. *生物化学杂志*, 1993, 9(2):168—172.
- [12] 何振荣,余家禄,何家苑,等.东湖蓝藻水华毒性的研究(一):季节变化及微囊藻毒性[J]. *水生生物学报*, 1989, 13(3):201—209.

[收稿日期:2003-10-08]

中图分类号:R15;Q949.2 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2004)02-0112-03