

武汉官桥湖蓝藻毒素 BMAA 的生物累积与健康风险评估

陈咏梅¹, 赵以军², 陈默³, 刘伟², 陈慧宇², 张泽慧², 高健², 田小方², 焦一滢²

(1. 武汉软件工程职业学院, 武汉广播电视大学, 湖北 武汉 430205;

2. 河湖生态修复及藻类利用湖北省重点实验室, 湖北工业大学土木建筑与环境学院, 湖北 武汉 430068;

3. 湖北大学资源环境学院, 湖北 武汉 430062)

摘要: 鉴于蓝藻“水华”能产生新型神经毒素- β -N-甲氨基-L-丙氨酸(β -N-methylamino-L-alanine, BMAA), 并通过生物富集作用在水生态系统的各营养级进行传递; 选取武汉东湖子湖—官桥湖, 采用 HPLC-MS/MS 分析方法, 在蓝藻水华暴发期间, 测定湖水、蓝藻及鱼体内游离态和蛋白结合态 BMAA 毒素的含量。结果表明, 在水体中未检测到溶解态 BMAA(在检测限 0.05 $\mu\text{g/L}$ 以下), 但在微囊藻细胞及鱼体内(干重)均能检测到, 含量均值分别为 $(0.040 \pm 0.002) \mu\text{g/g}$ 和 $(0.32 \pm 0.317) \mu\text{g/g}$, 说明官桥湖在暴发水华后, 蓝藻产生了 BMAA 毒素且被鱼类吸收和放大; 不同鱼体(干重)累积 BMAA 的程度不同, 总 BMAA 含量(干重)分别为鳊 $(0.243 \pm 0.205) \mu\text{g/g}$, 鲫 $(0.126 \pm 0.040) \mu\text{g/g}$, 鲤 $(0.613 \pm 0.120) \mu\text{g/g}$, 鲢 $(0.028 \pm 0.018) \mu\text{g/g}$, 鳙 $(0.039 \pm 0.021) \mu\text{g/g}$, 鳊 $(0.879 \pm 0.243) \mu\text{g/g}$; 鲤和鳊的富集浓度较高, 且与其它几种鱼有显著性差异($P < 0.05$)。按照 WHO 生活饮用水安全标准的建议进行推算, 官桥湖鱼肉 EDI 值(估算的每天摄入量)为 1.015 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, 显著低于估算出的 TDI 值(日容许摄入量)0.5 $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, 基本不会对人造成急性中毒, 但由于 BMAA 毒素为慢性毒素, 不能忽视经常食用鱼肉后的累积风险。建议有关部门将东湖水产品的 BMAA 毒素纳入长期监测。

关键词: 蓝藻毒素; β -N-甲氨基-L-丙氨酸; 健康风险; 官桥湖

中图分类号: X835 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-3075(2019)04-0022-08

β -N-甲氨基-L-丙氨酸(β -N-methylamino-L-alanine, BMAA)是继人们所熟知的微囊藻毒素和鱼腥藻毒素等之后所发现的新型蓝藻毒素, 为一类慢性神经毒素。BMAA 是一种小分子 L-非蛋白质氨基酸, 相对分子质量 118, 在体内有游离态和蛋白结合态两种形态, 均具有慢性神经毒性。Polsky 等(1972)首次在苏铁种子的提取物中检测到游离态 BMAA, 将此提取物酸水解后得到了较大数量的蛋白结合态 BMAA, 最先证实了 BMAA 能参与蛋白合成。BMAA 毒素能成为一些生物体内蛋白的一部分, 在蓝藻、苏铁植物、以苏铁种子为食的动物体内以及摄食了被 BMAA 污染食物的土著居民体内均检测到不同浓度的蛋白结合态 BMAA(Cox & Sacks, 2002; Banack & Cox, 2003a; 2003b; Murch

et al, 2004a)。有学者认为 BMAA 结合在蛋白上并在体内充当一种内源性神经毒物的角色, 而在蛋白质代谢过程中缓慢释放出游离态 BMAA 直接进入大脑组织中(Murch et al, 2004a)。

据报道, 蓝藻门中 95% 蓝藻均能产生 BMAA 毒素(Cox et al, 2005)。在受蓝藻水华污染的水生态系统中, BMAA 毒素可以在水生生物体内富集并在食物链上呈现生物放大现象(Cox et al, 2003; Brand et al, 2010; Jonasson et al, 2010; Li et al, 2010; Christensen et al, 2012; Mondo et al, 2012); 最早发现 BMAA 毒素在关岛地区食物链上产生迁移, 其浓度被放大了 1 万倍(念珠藻-狐蝠 0.3 ~ 3556 $\mu\text{g/g}$)(Jonasson et al, 2010); 前期研究也发现, 在太湖(贡湖湾)蓝藻水华暴发期内, BMAA 浓度在肉食性鱼体内富集最高, 并且 BMAA 毒素在贡湖湾淡水生态系统的迁移放大途径为蓝藻→软体动物、虾→杂食性鱼类→肉食性鱼类(Jiao et al, 2014)。

BMAA 对人类健康的影响主要是摄食了被 BMAA 污染的鱼类导致急慢性中毒。有研究表明, 摄入被 BMAA 毒素污染的食物可能是导致西太平洋地区 ALS-PDC 高发病率的主要原因(Spencer et

收稿日期: 2018-10-25

基金项目: 武汉市科技局项目(2015061701011615); 河湖生态修复及藻类利用湖北省重点实验室开放基金(HHKF201507); 国家重点研发计划(2016YFC0401702); 国家自然科学基金面上项目(31670367)。

作者简介: 陈咏梅, 1969 年生, 女, 副教授, 研究方向为环境化学。E-mail: 465966189@qq.com

通信作者: 焦一滢。E-mail: jiaoyiying1223@163.com

al,1987a;Cox & Sacks,2002;Murch et al,2004a;2004b);分别以斑马鱼、大鼠、小鼠、雏鸡和猕猴等为研究对象开展了毒理学试验(Spencer et al,1987b;Rakoncay et al,1991;Staton & Bristow,1997;Purdie et al,2009;Snyder et al,2009),结果发现 BMAA 可以诱发灵长类动物运动系统失调;体外急性毒理实验表明,1 h 内 BMAA 能在 10 周龄大鼠初级神经元和胶质细胞内快速积累(Tan et al,2018);Engskog 等(2017)观察到 BMAA 可以改变丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸的代谢以及神经递质的传导途径。因此,BMAA 可能会干扰与人类神经细胞神经传递相关的代谢通路。最新研究发现,¹⁴C-BMAA 注射入产卵期日本鹌鹑体内,其卵黄和蛋白中均存在不同浓度标记的 BMAA(Andersson et al,2018),这暗示若鸟类通过食物链摄入 BMAA,可能是人类暴露 BMAA 的另一种途径(目前主要通过摄食水产品暴露 BMAA)。

BMAA 是一类新型神经毒素,其研究深入程度远不及微囊藻毒素,特别是在蓝藻水华暴发期间,BMAA 造成环境污染、生态迁移和人类健康等问题,相关报道十分匮乏,对这些问题的认识都极为有限,因此关注度不高,且国外关于 BMAA 毒素在水体的分布研究也多集中在海洋(Polsky et al,1972;Cox & Sacks,2002;Banack & Cox,2003b;Cox et al,2003;Murch et al,2004a;Cox et al,2005),而在淡水湖泊开展得很少。我国存在普遍的湖泊富营养化现象,城市湖泊也不同程度地暴发蓝藻水华,对水质、景观、水上娱乐及人类健康均构成严重危害。因此,开展城市富营养化湖泊的 BMAA 研究尤为必要。

武汉东湖位于中心城区,是国内水域面积最为广阔的城中湖之一,由于人为活动和干扰,东湖被分割成若干子湖(包括官桥湖),其水质状况和富营养化程度各不相同(甘义群和郭永龙,2004;余博识等,2008;温周瑞等,2013;陶新园等,2013);而官桥湖蓝藻水华暴发频繁,属于典型的城市富营养化湖泊(罗凯,2009)。因此,官桥湖是开展 BMAA 毒素研究的理想城市湖泊。本研究包括蓝藻水华暴发期间 BMAA 在官桥湖水中的赋存形态、分布特点及其在生物(蓝藻、鱼类)体内富集特征,并据此评估 BMAA 对人体的健康风险,研究结果将为城市湖泊的环境管理及人类健康风险和预警提供重要科学依据。

1 材料与方法

1.1 区域概况

官桥湖(30°32'N,114°22'E)位于武汉东湖南端,北邻东湖绿道,西邻风光村社区、武汉大学三环学生公寓,南邻光谷大桥,水域面积约 0.35 km²,平均水深 2 m。2017 年 7 月湖体局部水域出现蓝藻水华堆积现象,当月平均水温 31.5℃,透明度 26 cm,氨氮、总氮、总磷均值分别为 0.68、2.54、0.19 mg/L。

1.2 样品采集及处理

用有机玻璃采水器取距水面 0.5 m 表层水样 10 L 带回实验室浓缩,水华蓝藻通过浮游生物网采集,现场过滤后保存在聚乙烯瓶中。通过垂钓方式获得鳊鱼、鲫鱼、鲤鱼、鲢鱼、鳙鱼、鳊(每种鱼 3 尾),用清水洗涤后存于采样袋中低温保存并及时送回实验室处理。蓝藻样品显微镜检结果为铜绿微囊藻(细胞数为 1.2×10⁷ 个/L)。将现场采集的蓝藻样品用蒸馏水反复清洗 3 次,真空冷冻干燥后制成冻干藻粉于 -80℃ 保存。上述所有样品均需检测两种形态 BMAA。湖形示意及采样位置见图 1(阴影部分为官桥湖)。

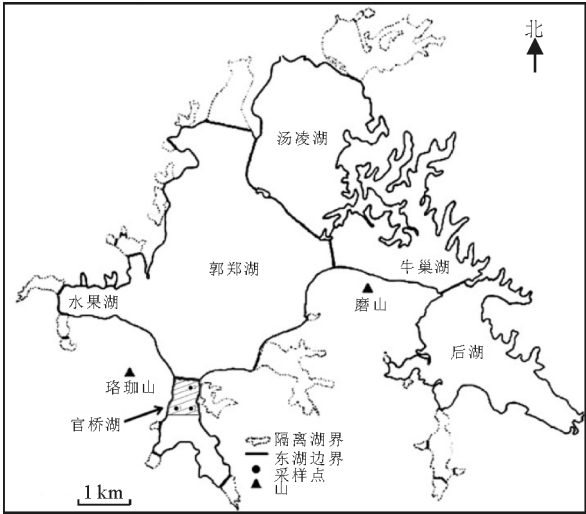


图 1 官桥湖采样点

Fig.1 Map of Guanqiao Lake and sampling site location

1.3 水体痕量 BMAA 毒素提取

自然水体中 BMAA 毒素的富集浓缩采用 Waters Oasis MCX 固相萃取小柱,用 2%甲酸水溶液一步淋洗,采用甲醇二步淋洗,最终用 5%氯化甲醇洗脱,收集洗脱液,经旋转蒸发及氮吹浓缩至 1 mL,于 -20℃ 保存。

1.4 生物样品 BMAA 毒素提取

1.4.1 蓝藻样品 游离态 BMAA 提取方法如下:称取 15 mg 水华蓝藻干藻粉,加入 2 mL 预冷 0.1 M 三氯乙酸(TCA),超声破碎后于 12 500 r/min 离心 15 min,转移上清液,在沉淀中继续加入等量 0.1 M TCA,第二次离心,合并二次上清液,氮吹至干并于 -20℃ 保存;蛋白结合态 BMAA 提取方法如下,上述离心后的沉淀样品中加入 6 M HCl,于 110℃ 水解反应 24 h,冷却至室温后用 0.22 μm 滤膜过滤,收集滤液氮吹至干,于 -20℃ 保存。

1.4.2 鱼体肌肉 取鱼类肌肉组织匀浆化处理后,真空冷冻干燥后于 -80℃ 保存。称取 15 mg 干鱼粉,加入 2 mL 预冷 0.1 M 三氯乙酸(TCA),后续两种形态 BMAA 提取操作步骤如上所述。

1.5 样品衍生生化处理及色谱分析条件

实验中所用 BMAA 标准品购于 Sigma-Aldrich 公司(化学结构式见图 2),用超纯水配制成 BMAA 标准溶液于 -80℃ 冰箱保存待用。

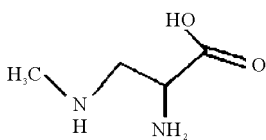


图 2 β-N-甲基-L-丙氨酸的化学结构式

Fig.2 Structure of BMAA

-20℃ 保存的样品均使用 Waters AccQ Tag 化学试剂盒衍生化后,经 HPLC-MS/MS 检测。该试剂盒中的衍生化试剂 AQC (6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbonate, 6-氨基喹啉基-N-羟基琥珀酰亚氨基甲酸酯)可与一级胺和二级胺反应生成发荧光的衍生产物,使用该衍生剂的优点是它可以快速形成稳定的衍生产物(稳定 1 周)。使用该方法检测 BMAA 的原理是样品中游离态 BMAA 经 AQC 试剂衍生后生成含荧光基团的稳定喹啉化合物,样品中蛋白结合态的 BMAA 经 6 mol/L HCl 在 110℃ 条件下水解 24 h 后,可直接用于 AQC 衍生化。

色谱条件: EclipseXDB-C18 柱 (4.6 mm × 100 mm, 5.0 μm), 柱温 45℃; 流动相: 28% 乙腈水 (含 0.1% 甲酸铵); 流速 0.6 mL/min;

质谱条件: 电喷雾离子源, 正离子电离模式; 检测方式为多反应监测模式 (MRM)。

1.6 BMAA 毒素对人类健康的风险评估方法

确立剂量反应关系是健康风险评估工作中最重要的一步, 一般是通过流行性病学或动物实验得出

污染物的剂量反应曲线, 确定不致引起有害健康效应的最高剂量 (No Observed Adverse Effect Level, NOAEL), 并经过推算得出日容许摄入量 (Tolerable Daily Intake, TDI) 及指导值 (Guidance Value, GV), 通常低于 TDI 和 GV 的暴露剂量产生有害效应的可能性很小。若采纳 Perry 等 (1989) 为期 11 周的亚慢性小鼠毒性试验数据 (染毒方式为经口注射), BMAA 毒素的暴露剂量为 0.5 g/(kg · d) 时, 实验小鼠未出现行为学、神经化学及神经病理学上的变化, 这是目前已知不引起有害健康效应的最高剂量, 因此假设 BMAA 毒素的 NOAEL 值为 0.5 g/(kg · d), 不确定系数 (UF) 为种间差异 10、种内差异 10、数据库限制 10 (选择 UF = 种间差异 × 种内差异 × 数据库限制) (WHO, 1998)。根据 WHO 制定的饮用水质量指导方针所述公式 (1), 推算出人类每日容许摄入 BMAA 毒素的 TDI 值为 0.5 mg/(kg · d)。

$$TDI = NOAEL / UF \quad (1)$$

设定成人标准体重为 60 kg, 人类食用被 BMAA 毒素污染水产品 (干重) 的日常暴露量 (A) 为 100 g/d, 本实验检测到鱼体内总 BMAA 均值 (干重) 为 C, 根据公式 (2) 换算出每天估计摄入量 (Estimated Daily Intake, EDI) 和指导值 (GV)。

$$EDI = (C \times A) / bw \quad (2)$$

$$GV = (TDI \times bw \times AF) / A \quad (3)$$

式中: C - 水生动物体内总 BMAA 浓度 (μg/g); A - 日常暴露量; bw - 国际成人体重; AF - 分配系数, 取 0.2。

2 结果与分析

2.1 生物样品加标回收率及精密度

称取相同质量的蓝藻冻干粉末后分别加入高 (1.0 μg/mL)、中 (0.10 μg/mL)、低 (0.05 μg/mL) 3 种不同浓度的 BMAA 标准溶液, 按三氯乙酸提取法处理样品, 测定加标回收率即样品中游离态 BMAA 的回收率, 结果见表 1。蓝藻空白样品 (干重, n = 3) 中游离态 BMAA 浓度为 (0.04 ± 0.002) μg/g。从表 1 可见, 3 个添加水平的平均回收率为 80.3% ~ 86.0%, 相对标准偏差为 2.2% ~ 7.5%, 方法检测限为 0.05 ng/mL, 该方法稳定可靠。

2.2 湖水中蓝藻毒素 BMAA 浓度

有研究者认为 BMAA 是由蓝藻细胞胞内产生的一类生物毒素, 在藻类衰亡过程中, 其胞内产生的

表 1 蓝藻样品加标回收率和精密度实验
Tab.1 Average recoveries of BMAA spiked
cyanobacteria samples

添加量/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	空白样品游 离态 BMAA/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	加标后 检出量/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	回收 率/ %	平均 回收 率/%	相对标 准偏差/ %
0.05	0.042	0.085	86.0	86.0	7.5
		0.081	78.0		
		0.089	94.0		
0.1	0.036	0.119	83.0	80.3	2.6
		0.116	80.0		
		0.114	78.0		
1.0	0.040	0.842	80.2	82.5	2.2
		0.870	83.0		
		0.885	84.5		

BMAA 释放到周围水环境中,从而有可能对未经净化的饮用水水源造成潜在危害(Esterhuizen & Downing,2011)。本实验没有检测到水样中溶解态 BMAA 毒素(低于检测限 0.05 $\mu\text{g/L}$)。有类似报道指出,在南非受蓝藻污染的水库水样中也未检测到游离态 BMAA(低于检测限 4.956 pg)(Esterhuizen & Downing,2011)。未检出的原因有多种,BMAA 不同于 MC 具有环状七肽十分稳定的化学结构,其

表 2 官桥湖鱼肌肉中 BMAA 浓度

Tab.2 BMAA levels in muscles of fish sampled in Guanqiao Lake

种类	体长/cm	鱼肌肉(干重)BMAA 含量/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$		
		游离态	蛋白结合态	总量
鳊 <i>Rhodeus sinensis</i>	9.8±0.3	0.243±0.205	—	0.243±0.205
鲫 <i>Carassius auratus</i>	20.6±0.6	0.126±0.040	—	0.126±0.040
鲤 <i>Cyprinus carpio</i>	26.8±0.3	0.300±0.200	0.313±0.080	0.613±0.120
鲢 <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	22.5±0.3	0.028±0.018	—	0.028±0.018
鳙 <i>Aristichthys nobilis</i>	23.1±0.2	0.039±0.021	—	0.039±0.021
鳊 <i>Parabramis pekinensis</i>	28.6±0.4	0.876±0.245	0.002±0.001	0.879±0.243

注:“—”表示未检出; $n=3$ 。
Note: “—” denotes not detected; $n=3$ 。

实验结果可见鲤和鳊体内富集的总 BMAA 浓度较高,分别为 0.613 $\mu\text{g/g}$ 和 0.879 $\mu\text{g/g}$,与其他几种鱼体内富集水平相比有显著性差异($P<0.05$)。原因是仅此两种鱼体内测定出蛋白结合态 BMAA。鲤为底栖杂食性鱼类,鳊为草食性鱼类,也能摄食附着藻类。虽然本研究未收集到底栖动物、植物碎屑等样品,许多研究已表明,底栖生物体内也能富集不同浓度的 BMAA (Brand et al, 2010; Christensen et al, 2012; Jiao et al, 2014),因此本实验结果显示鲤富集 BMAA 较高,这也是可能的原因之一;而鲢鳙体内富集的 BMAA 浓度则相对较低,分别为 0.028 $\mu\text{g/g}$ 和 0.039 $\mu\text{g/g}$ 。据报道,鱼体内污染物含量不仅与水环境污染物含量有关,而且与其年龄、体长、体重、生活习性等密切相关

在环境中更容易被降解或转化(例如光降解、微生物代谢等),即使相对更稳定的 MC-RR 在不同波段紫外光源照射下也会产生中间产物,被沉积物吸附和生物降解等减量或消除(张维昊,2001;陈晓国等,2004);BMAA 属于内毒素,只有在藻细胞破裂后才被释放到水体中。因此,若在水华暴发期间检测水体 BMAA 时,它尚未被释放,因此暂时未被检出;此外,在湖泊中,经食物链途径,BMAA 也会被生物(如浮游动物)摄入并传递到顶层生物(鱼类)。上述因素均能导致其在水中含量低至检测限以下。

2.3 鱼体肌肉中的 BMAA 浓度

本研究测定了官桥湖蓝藻水华发生后采集到的几种鱼类肌肉样品,结果见表 2。在藻华暴发后,微囊藻及鱼体内富集的总 BMAA 浓度较低,均值(干重)分别为 0.04 $\mu\text{g/g}$ 和 0.32 $\mu\text{g/g}$,推测可能的原因是此次收集到的鱼体型较小(体长见表 2);采集到的鱼体内均能检测到游离态 BMAA,其中仅鲤和鳊体内检测到蛋白结合态 BMAA,分析原因是机体内参与 BMAA 转化代谢的酶活性存在差异(Murch et al,2004a)。

(Mcintyre & Beauchamp,2007)。有研究表明,太湖的鲢体内微囊藻毒素累积与体重体长均呈显著正相关(贾军梅等,2014)。本实验所用的鲢鳙体型较小,且在处理样品时,其肠道内存在未被消化的蓝藻,毒素尚未被蓝藻细胞释放而进入鱼肉中,这二者均是造成鲢鳙体内 BMAA 累积浓度较低的原因。
官桥湖鱼体内 BMAA 浓度为 0.002 ~ 0.876 $\mu\text{g/g}$,低于其他地区报道的浓度水平(表 3),也低于目前国内已报道的太湖贡湖湾鱼体 BMAA 的浓度水平(均值 9.12 $\mu\text{g/g}$)(Jiao et al,2014)。有几方面原因:(1)官桥湖夏季蓝藻水华暴发面积、叶绿素 a 浓度、持续时间均低于太湖贡湖湾 2012 年调查研究(Jiao et al,2014);贡湖湾夏季所测蓝藻 BMAA 含量为(7.14±0.05) $\mu\text{g/g}$,本研究所测蓝藻

BMAA 含量为 $(0.04 \pm 0.002) \mu\text{g/g}$,假设鱼类主要通过食物链摄入蓝藻而富集 BMAA,则会导致官桥湖鱼类富集 BMAA 水平较低;(2)鱼类的丰度不同。贡湖湾鱼的种类丰富,肉食性鱼类(扁颌针鱼、翘嘴鲌)BMAA 浓度均值高达 $29.6 \mu\text{g/g}$,杂食性鱼类(麦穗鱼、鳊鲂、黄颡鱼、鲫、鲤)BMAA 浓度均值为 $3.99 \mu\text{g/g}$,鲢鳙 BMAA 浓度均值为 $6.52 \mu\text{g/g}$,而本次实验收集到的鱼类种类较少,且多为幼鱼,体

型较小,两种湖泊中同一种鱼的幼鱼阶段食性不同,这也是导致此次鱼类富集 BMAA 水平较低的原因;(3)食物网结构不同。报道中贡湖湾底栖生物(虾、蟹、螺、河蚬)均有不同程度的 BMAA 富集,而本研究中食物网结构较为简单。因此,后续应加大采样面积、采样频率、生物样本和延长采样周期,更充分地研究此湖泊食物网中被 BMAA 毒素污染的水生生物。

表 3 不同水生生态系统中各种水生生物体内 BMAA 浓度的比较

Tab.3 Comparison of BMAA concentrations in various aquatic animals from different aquatic ecosystems

地区	水生生物体内 BMAA 浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$			参考文献
	软体动物	甲壳动物	鱼	
佛罗里达海湾	—	1361~3042	20~188	Brand et al, 2010
比斯坎湾	—	55~6976	34~7351	Brand et al, 2010
卢萨哈奇河	251~305	—	554~2559	Brand et al, 2010
波罗的海	—	—	0.0019~1.29	Jonasson et al, 2010
卡特加特海峡	0.006~0.201	—	—	Jonasson et al, 2010
密西西比河	7~10	—	—	Christensen et al, 2012
南佛罗里达	—	—	144~1836 *	Mondo et al, 2012
贡湖湾(中国)	0.63~6.72	0.12~8.76	0.07~35.91	Jiao et al, 2014
肖泻湖	0.2~6.7	—	—	Reveillon et al, 2016
南佛罗里达	—	—	34~2011 *	Hammerschlag et al, 2016

注: * 单位为湿重,其他浓度单位为干重;“—”表示未收集到样品。

Note: * denotes the unit is wet weight, the other unit is dry weight; “—” denotes no samples have been collected.

2.4 BMAA 毒素对人类健康的风险评估

本实验检测到鱼体内总 BMAA 均值(干重)为 $0.609 \mu\text{g/g}$,根据材料与方法中公式(2)换算出 EDI 值为 $1.015 \mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$,显著低于估算出的 TDI 值 $0.5 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$,若 EDI 值高于 TDI 值,则认为被污染的食品是不安全的。因此,官桥湖水体被 BMAA 污染的鱼类健康风险属于较低水平。

目前人类暴露 BMAA 主要的途径是摄食水产品(Al-Sammak et al,2014;Jiang et al,2014;Kerrin et al,2017);其次尚有藻类保健品中检测出少量 BMAA(Lachapelle et al,2017);最新研究预测可能经哺乳传递给婴儿(Andersson et al,2017)。若暂不考虑后两者的暴露风险,假设成人每日 BMAA 毒素总摄入量的 90%来自水产品,每日摄入的水产品(干重)为 100 g,按照上述推算出的 TDI 值及材料与方法中公式(3)可推算出 BMAA 的暂定指导值(GV)为 $60 \mu\text{g/g}$ 。

WHO 组织目前仅对蓝藻毒素家族中的微囊藻毒素做了大量的健康风险评估工作,MC-LR 的 TDI 值为 $0.04 \mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$,规定饮用水中 MC-LR 质量浓度指导值为 $1.0 \mu\text{g/L}$ (Codd et al,2005)。蓝藻毒素中神经毒素主要有 3 种生物碱,分别为鱼腥藻毒素-a(anatoxin-a)、鱼腥藻毒素-a(s)和蛤蚌毒素

(saxitoxin),其中由于麻痹性贝类中毒事件的发生,蛤蚌毒素的神经毒性已被人们所熟知,有关机构仅制定了蛤蚌毒素允许的摄入浓度为 $80 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ 新鲜组织(Falconer & Humpage,2005)。尽管其结构、作用方式、致毒方式均不同,但已有报道发现 BMAA 毒素会与其他蓝藻毒素如微囊藻毒素、节球藻毒素和蛤蚌毒素共存(Metcalf et al,2008);此外,Lobner 等(2007)开展了 BMAA 毒素与其他毒害神经药剂的协同作用研究,发现其联合作用放大了神经细胞的损坏程度;也有报道认为,在富营养化湖泊中,存在产毒藻和非产毒藻时间上的交替演变过程,不同季节水体中的优势藻不一样(Bittencourt 2003;Kardinaal et al,2007;施丽梅等,2009)。因此,应该重视官桥湖水体中 BMAA 毒素与常见微囊藻毒素的协同致毒效应。

3 结论

(1)BMAA 作为一种新型蓝藻毒素,能在多种水生生物体内富集。当前官桥湖湖水中溶解态 BMAA 浓度低于检测限($0.05 \mu\text{g/L}$),但其在环境中存在迁移、转化等多种可能,对饮用水水源造成的潜在危害不可忽视。

(2)当前官桥湖鱼体(干重)富集的 BMAA 浓

度均值为 $(0.32 \pm 0.317) \mu\text{g/g}$, 表明鱼类直接或间接接触蓝藻导致 BMAA 在体内产生富集放大效应。

(3) 官桥湖鱼类 EDI 值为 $1.015 \mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, 显著低于估算出的 TDI 值 $0.5 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, 据此评估认为人体暴露 BMAA 毒素的健康风险处于较低水平; 若长期摄入此类水产品(鱼类), 则具有累积性风险。

参考文献

陈晓国, 肖邦定, 徐小清, 等, 2004. 不同波段紫外光对微囊藻毒素光降解的影响[J]. 中国环境科学, 24(1): 1 - 5.

甘义群, 郭永龙, 2004. 武汉东湖富营养化现状分析及治理对策[J]. 长江流域资源与环境, 13(3): 277 - 281.

贾军梅, 罗维, 吕永龙, 等, 2014. 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, 9(2): 382 - 390.

罗凯, 2009. 蓝藻水华治理方法比较及武汉官桥湖治理浅析[J]. 科协论坛, (10): 124.

施丽梅, 蔡元锋, 杨华林, 等, 2009. 太湖梅梁湾水华微囊藻基因型组成和产毒微囊藻丰度的变化[J]. 湖泊科学, 21(6): 801 - 805.

陶新园, 沈冬, 赖树锦, 等, 2016. 武汉市东湖不同区域水体水质和富营养化分析[J]. 湖北农业科学, 55(10): 2504 - 2506.

温周瑞, 王丛丹, 李文华, 等, 2013. 武汉城市湖泊水质及水体富营养化现状评价[J]. 水生态学杂志, 34(5): 62 - 64.

余博识, 吴忠兴, 朱梦灵, 等, 2008. 水果湖湾蓝藻水华的形成及其对东湖影响的评价[J]. 水生生物学报, 32(2): 286 - 289.

张维昊, 2001. 滇池微囊藻毒素的环境化学行为研究[D]. 武汉: 中国科学院水生生物研究所.

Al-Sammak M, Hoagland K, Cassada D, et al, 2014. Co-occurrence of the cyanotoxins BMAA, DABA and Anatoxin-a in Nebraska reservoirs, fish, and aquatic plants[J]. Toxins, 6(2): 488 - 508.

Andersson M, Ersson L, Brandt I, et al, 2017. Potential transfer of neurotoxic amino acid β -N-methylamino-alanine (BMAA) from mother to infant during breastfeeding: Predictions from human cell lines[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 320: 40 - 50.

Andersson M, Karlsson O, Brand I, 2018. The environmental neurotoxin β -N-methylamino-L-alanine (L-BMAA) is deposited into birds' eggs[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 147: 720 - 724.

Banack S A, Cox P A, 2003a. Biomagnification of cycad neurotoxins in flying foxes[J]. Neurology, 61: 387 - 389.

Banack S A, Cox P A, 2003b. Distribution of the neurotoxic

nonprotein amino acid BMAA in *Cycas micronesica*[J]. Bot J Linn Soc, 143: 165 - 168.

Banack S A, Murch S J, Cox P A, 2006. Neurotoxic flying foxes as dietary items for the Chamorro people, Marianas Islands[J]. J Ethnopharmacol, 106: 97 - 104.

Bittencourt Oliveira M C, 2003. Detection of potential microcystin producing cyanobacteria in Brazilian reservoirs with a *mcyB* molecular marker [J]. Harmful Algae, 2(1): 51 - 60.

Brand L E, Pablo J, Compton A, et al, 2010. Cyanobacterial blooms and the occurrence of the neurotoxin, beta-N-methylamino-L-alanine (BMAA), in South Florida aquatic food webs[J]. Harmful Algae, 9: 620 - 635.

Christensen S J, Hemscheidt T K, Trapido-Rosenthal H, et al, 2012. Detection and quantification of β -N-methylamino-L-alanine in aquatic invertebrates[J]. Limnol Oceanogr-Meth, 10: 891 - 898.

Codd G A, Morrison L F, Metcalf J S, 2005. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 203: 264 - 272.

Cox P A, Sacks O W, 2002. Cycad neurotoxins, consumption of flying foxes and ALS-PDC disease in Guam[J]. Neurology, 58: 956 - 959.

Cox P A, Banack S A, Murch S J, 2003. Biomagnification of cyanobacterial neurotoxins and neurodegenerative disease among the Chamorro people of Guam[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 100: 13380 - 13383.

Cox P A, Banack S A, Murch S J, et al, 2005. Diverse taxa of cyanobacteria produce beta-N-methylamino-L-alanine, a neurotoxic amino acid[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 102: 5074 - 5078.

Esterhuizen M, Downing T G, 2011. Solid phase extraction of β -N-methylamino-L-alanine (BMAA) from South African water supplies[J]. Water SA, 37: 523 - 528.

Engskog M K R, Ersson L, Haglöf J, et al, 2017. β -N-methylamino-L-alanine (BMAA) perturbs alanine, aspartate and glutamate metabolism pathways in human neuroblastoma cells as determined by metabolic profiling[J]. Amino Acids, 49: 905 - 919.

Falconer I R, Humpage A R, 2005. Health Risk Assessment of Cyanobacterial (Blue-green Algal) Toxins in Drinking Water[J]. Inter J Env Res Pub Heal, 2: 43 - 50.

Hammerschlag N, Davis D V, Mondo K, et al, 2016. Cyanobacterial Neurotoxin BMAA and Mercury in Sharks[J]. Toxins, 8: 238 - 251.

Jiang L, Kiselova N, Rosén J, et al, 2014. Quantification of neurotoxin BMAA (β -N-methylamino-L-alanine) in sea food from Swedish markets[J]. Scientific Reports, 4:

- 6931 - 6937.
- Jiao Y Y, Chen Q K, Chen X, et al, 2014. Occurrence and transfer of a cyanobacterial neurotoxin β -methylamino-L-alanine within the aquatic food webs of Gonghu Bay (Lake Taihu, China) to evaluate the potential human health risk[J]. *Science of the Total Environment*, 468/469: 457 - 463.
- Jonasson S, Eriksson J, Berntzon L, et al, 2010. Transfer of a cyanobacterial neurotoxin within a temperate aquatic ecosystem suggests pathways for human exposure[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107: 9252 - 9257.
- Kardinaal W E A, Janse I, Kamst-van Agterveld M et al, 2007. Microcystis genotype succession in relation to microcystin concentrations in freshwater lakes[J]. *Aquatic Microbiology Ecology*, 48: 1 - 12.
- Kerrin E S, White R L, Quilliam M A, 2017. Quantitative determination of the neurotoxin β -N-methylamino-L-alanine (BMAA) by apillary electrophoresis-tandem mass spectrometry[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409(6): 1481 - 1491.
- Lachapelle A R, Sollicec M, Bouchard M F, et al, 2017. Detection of Cyanotoxins in Algae Dietary Supplements[J]. *Toxins*, 9: 76 - 92.
- Li A, Tian Z, Li J, et al, 2010. Detection of the neurotoxin BMAA within cyanobacteria isolated from freshwater in China[J]. *Toxicon*, 55: 947 - 953.
- Lobner D, Piana P M T, Salous A K, et al, 2007. β -N-methylamino-L-alanine enhances neurotoxicity through multiple mechanisms[J]. *Neurobiology of disease*, 25: 360 - 366.
- Mcintyre J K, Beauchamp D A, 2007. Age and trophic position dominate bioaccumulation of mercury and organochlorines in the food web of Lake Washington[J]. *Science of the Total Environment*, 372(2/3): 571 - 584.
- Metcalfe J S, Banack S A, Lindssay J, et al, 2008. Co-occurrence of β -N-methylamino-L-alanine, a neurotoxic amino acid with other cyanobacterial toxins in British waterbodies, 1990 - 2004 [J]. *Environ Microbiol*, 10: 702 - 708.
- Mondo K, Hammerschlag N, Basile M, et al, 2010. Cyanobacterial Neurotoxin β -N-Methylamino-L-alanine (BMAA) in Shark Fins[J]. *Marine Drugs*, 10: 509 - 520.
- Murch S J, Cox P A, Banack S A, 2004a. A mechanism for slow release of biomagnified cyanobacterial neurotoxins and neurodegenerative disease in Guam[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101: 12228 - 12231.
- Murch S J, Cox P A, Banack S A, et al, 2004b. Occurrence of β -methylamino-L-alanine (BMAA) in ALS/PDC patients from Guam[J]. *Acta Neurologica Scandinavica*, 110: 267 - 269.
- Perry T L, Bergeron C, Biro A J, et al, 1989. Beta-N-methylamino-L-alanine. Chronic oral administration is not neurotoxic to mice[J]. *Journal of the Neurological Sciences*, 94: 173 - 180.
- Polsky F I, Nunn P B, Bell E A, 1972. Distribution and toxicity of alpha-amino-beta-methylaminopropionic acid [J]. *Fed Proc*, 31: 1473 - 1472.
- Purdie E L, Samsudin S, Eddy F B, et al, 2009. Effects of the cyanobacterial neurotoxin β -N-methylamino-L-alanine on the early-life stage development of zebrafish *Danio rerio* [J]. *Aquatic Toxicology*, 95: 279 - 284.
- Rakonczay Z, Matsuoka Y, Giacobini E, 1991. Effects of L-beta-N-methylamino-L-alanine (L-BMAA) on the cortical cholinergic and glutamatergic systems of the rat[J]. *Journal of Neuroscience Research*, 29: 121 - 126.
- Réveillon D, Séchet V, Hess P, et al, 2016. Systematic detection of BMAA (β -N-methylamino-L-alanine) and DAB (2,4-diaminobutyric acid) in mollusks collected in shellfish production areas along the French coasts[J]. *Toxicon*, 110: 35 - 46.
- Snyder L R, Cruz-Aguado R, Sadilek M, et al, 2009. Parkinson-dementia complex and development of a new stable isotope dilution assay for BMAA detection in tissue [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 240: 180 - 188.
- Spencer P S, Hunn P B, Hugon J, et al, 1987a. Guam amyotrophic lateral sclerosis-Parkinsonism-dementia linked to a plant excitant neurotoxin[J]. *Science*, 237: 517 - 522.
- Spencer P S, Hugon J, Ludolph A, et al, 1987b. Discovery and partial characterization of primate motor-system toxins[J]. *Ciba Foundation Symposium*, 126: 221 - 238.
- Staton P C, Bristow D R, 1997. The dietary excitotoxins β -N-methylamino-L-alanine and β -N-oxalylamino-L-alanine induce necrotic and apoptotic-like death of rat cerebellar granule cells[J]. *Journal of Neurochemistry*, 69: 1508 - 1518.
- Tan V X, Mazzocco C, Varney B, et al, 2018. Detection of the Cyanotoxins L-BMAA Uptake and Accumulation in Primary Neurons and Astrocytes[J]. *Neurotoxicity Research*, 33: 55 - 61.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1998. Cyanobacterial toxins: microcystin-LR: Guidelines for drinking-water quality[E]. Geneva: WHO: 95 - 110.

Bioaccumulation and Health Risk Assessment of the Cyanobacterial Neurotoxin
BMAA in Guanqiao Lake, Wuhan

CHEN Yong-mei¹, ZHAO Yi-jun², CHEN Mo³, LIU Wei², CHEN Hui-yu²,
ZHANG Ze-hui², GAO Jian², TIAN Xiao-fang², JIAO Yi-ying²

(1.Wuhan Vocational College of Software and Engineering, Wuhan Radio &
TV University, Wuhan 430205,P.R.China;

2.Key Laboratory of Ecological Remediation for Lakes and Rivers and Algal Utilization
of Hubei Province, Wuhan 430068,P.R.China;

3.Faculty of Resources and Environmental Science, Hubei University, Wuhan 430062,P.R.China)

Abstract: β -N-methylamino-L-alanine (BMAA) is a newly identified neurotoxin produced during cyanobacterial blooms, and bioaccumulation of BMAA can lead to food chain amplification. Guanqiao Lake, an area of Donghu Lake in Wuhan, is a typical eutrophic urban lake with frequent algal blooms. In this study, we investigated the distribution of BMAA in Guanqiao Lake during a cyanobacterial bloom in July, 2017. Free BMAA and protein-bound BMAA in the water column and BMAA extracted from cyanobacteria and fish samples were analyzed by HPLC-MS/MS. The study provides scientific data to support environmental management of urban lakes and early warning when human health is threatened by cyanotoxins. Free-BMAA in the water column was below the detection limit ($0.05\text{ }\mu\text{g/L}$), but BMAA was detected in microcystis ($0.04\pm0.002\text{ }\mu\text{g/g, dw}$) and fish ($0.32\pm0.317\text{ }\mu\text{g/g, dw}$). Furthermore, determination of BMAA in fish species occupying different trophic levels indicates that BMAA can be bioamplified as it moves up the food chain. The BMAA concentration in *Rhodeus sinensis*, *Carassius auratus*, *Cyprinus carpio*, *Hypophthalmichthys molitrix*, *Aristichthys nobilis* and *Parabramis pekinensis* were, respectively, (0.243 ± 0.205) $\mu\text{g/g}$, (126 ± 0.04) $\mu\text{g/g}$, (0.613 ± 0.120) $\mu\text{g/g}$, (0.028 ± 0.018) $\mu\text{g/g}$, (0.039 ± 0.021) $\mu\text{g/g}$ and (0.879 ± 0.243) $\mu\text{g/g}$. The BMAA concentrations in *Cyprinus carpio* and *Parabramis pekinensis* were significantly higher than in the other species ($P<0.05$). According to WHO drinking water guidelines, the EDI (Estimated Daily Intake) values of BMAA from fish was $1.015\text{ }\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$, considerably lower than the estimated TDI (Tolerable Daily Intake) value of $0.5\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$. This indicates that the health risk of consuming fish from Guanqiao Lake is relatively low and not likely cause acute toxicity in humans. However, due to the potential for a chronic response, the risk of BMAA accumulation should not be ignored. Therefore, we recommend long-term monitoring of BMAA in fish from Donghu Lake by the relevant regulatory agencies.

Key words: cyanotoxins; β -N-methylamino-L-alanine (BMAA); health risk; Guanqiao Lake