

DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2022112701

刘子言, 厉文辉. 婴幼儿配方奶粉中 22 种抗生素污染特征及暴露风险[J]. 环境化学, 2023, 42(7): 2200-2209.

LIU Ziyang, LI Wenhui. Study on pollution characteristics and human exposure of 22 antibiotic in infant milk powder[J]. Environmental Chemistry, 2023, 42 (7): 2200-2209.

婴幼儿配方奶粉中 22 种抗生素污染特征及暴露风险*

刘子言¹ 厉文辉² **

(1. 首都经济贸易大学华侨学院, 北京, 100070; 2. 北京科技大学, 北京, 100083)

摘 要 作为一类新污染物, 抗生素的环境污染及其潜在的健康风险受到国内外的广泛关注. 作为主要的抗菌药物和生长促进剂, 抗生素在养殖业和畜牧业中的广泛使用可能会使其在奶粉等农副产品中有一定水平的残留, 对人体尤其婴幼儿等易感人群造成潜在的危害. 本研究以婴幼儿奶粉为研究对象, 采集 41 个国内外常见市售婴幼儿品牌奶粉, 利用液相色谱串联质谱仪 (LC-MS/MS) 测定奶粉中 22 种抗生素的含量, 并评价婴幼儿奶粉中抗生素对婴幼儿等易感人群的健康风险. 研究表明, 抗生素在婴幼儿配方奶粉普遍存在, 但残留水平较低 ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$). 其中喹诺酮类抗生素含量略高 ($\sum\text{QNs}$ 平均值 $2.92\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 浓度范围 $0.49\text{—}20.1\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 而磺胺 ($\sum\text{SAs}$ 平均浓度 $0.39\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $0.03\text{—}2.93\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 和大环内酯类 ($\sum\text{MCs}$ 平均浓度 $0.16\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 低于检出限 (LOD) $\text{—}1.14\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 抗生素浓度普遍较低. 统计分析表明不同阶段和不同奶源婴幼儿配方奶粉中抗生素残留水平无显著性差异 ($P>0.05$). 总体来看, 婴幼儿的暴露水平均处在较低的水平. 其中喹诺酮类抗生素的日暴露水平较高 (均值范围 $3.40\text{—}13.2\text{ng}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{bw}$), 最高可达 $430\text{ng}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{bw}$, 而磺胺 ($1.04\text{—}4.05\text{ng}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{bw}$) 和大环内酯类 ($1.07\text{—}4.14\text{ng}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{bw}$) 抗生素的日暴露水平最低, 均低于《动物性食品中兽药最高残留限量》中日允许摄入量 (ADI). 因此, 婴幼儿配方奶粉中所残留有抗生素, 但尚不会对婴幼儿的成长发育造成明显的危害.

关键词 抗生素, 婴幼儿奶粉, 污染特征, 风险评估.

Study on pollution characteristics and human exposure of 22 antibiotic in infant milk powder

LIU Ziyang¹ LI Wenhui² **

(1. Capital University of Economics and Business Overseas Chinese College, Beijing, 100070, China;

2. University of Science and Technology Beijing, Beijing, 100083, China)

Abstract Antibiotics, an emerging group of environmental contaminant, have attracted wide attention due to their potential risks on human health and ecosystems. As a class of antibacterial drugs and growth promoters, antibiotics are widely used in livestock farming, which may cause a certain level of antibiotic residues in infant milk powder and pose a potential threat to infants and young children. In the present study, 41 common brands of infant milk powder were collected from domestic and foreign markets, and the levels of 22 antibiotics in the milk powder were determined by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), and the health risks of antibiotics in infant milk powder to susceptible people such as infants and young children were evaluated. The

2022 年 11 月 27 日收稿 (Received: November 27, 2022).

* 中央高校基本科研业务费 (FRF-IDRY-20-016, FRF-BR-20-03B) 资助.

Supported by the Fundamental Research Funds for the Central Universities (FRF-IDRY-20-016, FRF-BR-20-03B).

** 通信联系人 **Corresponding author**, Tel: 010-62332681, E-mail: liwh@ustb.edu.cn

results revealed that antibiotics were widely distributed in the infant milk powder. Quinolones were the predominant compounds with mean concentrations of $2.92\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ($0.49\text{--}20.1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), which were one order of magnitude higher than those of sulfonamides (mean: $0.39\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $0.03\text{--}2.93\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and macrolides (mean: $0.16\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, < limits of detection (LODs)— $1.14\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$). Statistical analysis showed that there was no significant difference in antibiotic residues in infant milk powder at different stages and from different milk sources ($P>0.05$). The results showed that the average daily dose (ADD) of quinolone in infant milk powder was high (max: $430\text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{bw}$; mean $3.40\text{--}13.2\text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{bw}$), while the ADD of sulfonamide ($1.04\text{--}4.05\text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{bw}$) and macrolides ($1.07\text{--}4.14\text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{bw}$) were relatively low. Overall, the exposure of antibiotics in the milk powder to infants was at a low level, which were lower than acceptable daily intake (ADI) values. Therefore, the antibiotic residues in infant milk powder will not cause significant harm to the growth and development of infants.

Keywords antibiotics, infant milk powder, pollution characteristics, risk assessment.

20 世纪 50 年代美国食品与药物管理局首次批准抗生素用作饲料添加剂, 世界各国相继将抗生素应用于畜牧生产, 提高了畜牧业的经济效益. 但是, 抗生素在养殖业和畜牧业中的广泛使用对环境和人体健康造成了很大危害^[1]. 抗生素会加剧细菌的变异, 使细菌产生耐药性, 甚至可能产生超级细菌^[2]. 抗生素还可能使人体发生“二重感染”, 对人体的多个器官均有损害, 导致过敏反应和药物性耳聋发生^[3].

有研究显示, 奶牛在饲养过程中用到的抗生素类药物, 主要用于预防乳头发炎和细菌感染, 并防止奶制品的细菌污染^[4]. 奶牛体内无法被吸收的抗生素会有部分随着乳汁排出体外, 并制成液态奶和奶粉等乳制品^[5]. 这些奶粉中的抗生素可能会对于易感人群产生一定的危害. 其中婴幼儿因为对奶粉的需求量大、自身免疫力较弱、身体器官尚未发育成熟等原因, 可能受到的影响较大. 因此, 对于婴幼儿奶粉中抗生素残留的检测值得特别关注.

目前关于液态奶中抗生素残留的研究较多^[6-8]. Zhang 等^[9] 检测了中国市场上的巴氏奶和高温灭菌奶中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物的含量, Wang 等^[10] 检测了牛奶中 20 种大环内酯、磺胺类和喹诺酮类抗生素残留量, 均表明牛奶中含有一定的抗生素残留 ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). 另一方面, 由于奶粉中抗生素残留低, 并且含有大量蛋白质和脂肪, 基体复杂, 可能会干扰抗生素的检测^[11], 因此关于奶粉尤其是婴幼儿奶粉中的污染特征的研究较少. 张律^[12] 采用高效液相色谱-串联质谱法进行环丙沙星、氧氟沙星等 11 种喹诺酮类抗生素的检测, 结果在深圳市 110 份奶粉样品中均未检出. Tian 等^[13] 采用超高效液相色谱-串联质谱法应用于 50 个市售牛奶和奶粉样品中抗生素的检测, 并在部分品牌样品中检出头孢噻吩和环丙沙星残留 ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$). 陆峥^[14] 和周显凤等^[15] 分别采用纸片扩散法对分离自婴幼儿配方奶粉的阪崎肠杆菌进行药敏实验, 结果显示该细菌对头孢噻吩 100% 耐药, 对环丙沙星等抗生素高度敏感^[14-15], 表明婴幼儿配方奶粉中存在抗生素污染. 因此, 对常见市售奶粉中抗生素的含量进行检测, 并根据检测结果主要对婴幼儿的暴露情况进行研究, 这对于保障婴幼儿的健康具有很强的现实意义.

本研究建立了同时检测 22 种喹诺酮类、磺胺类和大环内酯类抗生素的分析方法, 并用该方法对市面上常见的婴幼儿奶粉进行检测, 根据其检测结果分析婴幼儿奶粉中抗生素的污染水平和分布规律. 通过计算抗生素对婴幼儿的暴露水平, 评估奶粉中抗生素的含量对婴幼儿的生长发育的风险.

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 试剂

大环内酯类 (macrolides, MCs): 红霉素 (ERY, 99.1%)、罗红霉素 (ROX, 90%)、交沙霉素 (JOS, 98%)、泰乐菌素 (TYL, 82.4%)、螺旋霉素 (SPI, 88.9%)(美国 Sigma-Aldrich 公司).

磺胺类 (sulfonamides, SAs): 磺胺噻唑 (ST, 98%)、磺胺吡啶 (SPD, 98%)、磺胺甲基异恶唑 (SMX, 98%)(日本东京化成工业株式会社); 磺胺二甲基嘧啶 (SMX, 99%)(美国 Acros Organics 公司); 磺胺嘧

啉(SD, 99.7%)、磺胺甲基嘧啶(SMR, 99.9%)、磺胺间二甲氧嘧啶(SDM, 99.4%)、磺胺二甲基异恶唑(SIA, 99.0%)、磺胺间甲氧嘧啶(SMM, 98%)(美国 Sigma-Aldrich 公司)。

喹诺酮类(quinolones, QNs): 诺氟沙星(NOR, 99.9%)、恩诺沙星(ENR, 99.9%)、环丙沙星(CIP, 99.9%)、氧氟沙星(OFL, 99.9%)、沙拉沙星(SAR, 95.0%)、氟罗沙星(FLE, 99.5%)、洛美沙星(LOM, 98%)、双氟沙星(DIF, 98.0%)(美国 Sigma-Aldrich 公司)。

替代物标准品: 磺胺甲基异恶唑-d₄(SMX-d₄, 99.0%)、磺胺二甲基嘧啶-d₄(SMX-d₄, 99.0%), 红霉素-¹³C, d₃(ERY-¹³C, d₃, 98.0 %)和螺旋霉素 I-d₃(SPI I-d₃, 98.0 %)(购于加拿大 Toronto Research Chemicals 公司); 氧氟沙星-d₃(OFL-d₃, 99.5 %)、诺氟沙星-d₅(NOR-d₅, 99%)、沙拉沙星-d₈(SAR-d₈, 99.5 %)(美国 Sigma-Aldrich 公司);

色谱纯甲醇和乙腈(美国 Fisher 公司), 氨水(50%, V/V)和甲酸铵(99%, 美国 Alfa Aesar 公司), 甲酸(98%, 美国 Fluka 公司), 乙二胺四乙酸二钠盐(Na₂EDTA)(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 仪器

质谱: API3200 三重四极杆串联质谱检测系统(美国 AB 公司), 配有电喷雾离子源(ESI)和 Analyst

1.4.1 工作软件.

色谱: UltiMate3000 液相色谱仪(美国 Dionex 公司); XTerra MS C18 型色谱柱(2.1 mm×100 mm, 3.5 μm, 美国 Waters 公司)。

其他: AutoTrace 280 全自动固相萃取仪(美国 Dionex 公司); Milli-Q 超纯水仪(美国 Millipore 公司); 氮吹仪(天津市恒奥科技发展有限公司); Oasis HLB(6 mL, 200 mg)(美国 Waters 公司); 3-15 高速离心机(北京松源华兴科技发展有限公司)。

1.3 样品采集

采集 23 个常见品牌的市售婴幼儿奶粉共 41 份样品(表 1)。样品采集后在 4 ℃ 冰箱中冷藏, 为了防止其中抗生素的分解造成的损失, 在 1 周内进行处理分析。

表 1 奶粉样品相关信息

Table 1 Information about infant milk powder samples

序号 No.	奶粉品牌 Brand	是否进口 Import/Local	阶段 Stage	序号 No.	奶粉品牌 Brand	是否进口 Import/Local	阶段 Stage
1	A1	是	1段	22	J1	否	2段
2	A2	是	2段	23	K	否	1段
3	B1	否	1段	24	L	是	3段
4	C1	是	1段	25	M1	是	2段
5	C2	否	3段	26	M2	是	2段
6	C3	是	3段	27	M3	是	2段
7	C4	是	3段	28	M4	是	1段
8	C5	是	3段	29	N1	是	1段
9	C6	是	2段	30	O1	是	2段
10	D1	是	2段	31	O3	是	3段
11	E1	否	1段	32	P1	否	2段
12	E2	否	3段	33	Q1	否	2段
13	E3	否	1段	34	Q2	否	3段
14	E4	否	3段	35	R1	是	1段
15	F1	是	1段	36	S1	是	1段
16	F2	是	3段	37	T1	是	3段
17	F3	是	1段	38	T2	是	3段
18	G1	是	2段	39	X1	否	2段
19	H1	是	3段	40	X1	否	1段
20	I1	否	1段	41	Y1	是	3段
21	A1	是	2段				

1.4 样品前处理

优化后抗生素前处理方法如下: 称取 1.0 g 奶粉样品于聚四氟乙烯离心管中, 加入 10 mL 甲醇/乙腈 ($V/V=8:2$) 的萃取液, 以及 20 ng 替代物内标 (NOR- d_5 、OFL- d_3 、SAR- d_8 、SMX- d_4 、SMX- d_4 、ERY- ^{13}C , d_3 和 SPI I- d_3) 和 1.0 g 氯化钠, 涡旋振荡 2 min, 于摇床中振荡 12 h (转速: $350\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、温度: $35\text{ }^{\circ}\text{C}$). 之后在 $5000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下离心 10 min, 取上清液, 用 5 mL 甲醇-乙腈 ($V/V=8:2$) 混合溶液清洗, 合并上清液. 重复上述步骤 2 次.

在 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的条件下氮吹至溶液体积约 5 mL, 加入 3 mL 正己烷, 涡旋振荡 1 min, $5000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下离心 10 min, 取上清液继续氮吹至 2—3 mL. 转移溶液至 100 mL PET 小瓶中并加入超纯水稀释溶液至 100 mL, 使用自动固相萃取技术进行富集净化 (5 mL 甲醇、5 mL 超纯水活化, 6 mL 氨水-甲醇 ($V/V=5:95$) 溶液洗脱). 洗脱液在 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的条件下再次进行氮吹, 至小于 0.5 mL, 定容至 1 mL. 转移到 1 mL 离心管中, 冷冻 12 h, 之后在漩涡振荡后以 $14500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取上层清液经过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 尼龙滤膜转移到棕色色谱瓶中以备仪器分析.

1.5 仪器分析

采用电喷雾离子源 (ESI), 分析物在正离子扫描下以多反应监测 (MRM) 模式, 分别进行母离子 Q1 和子离子 Q3 扫描, 选择丰度最强的 2 个子离子与分子离子组成离子对作为目标物的监测离子. 信号最强的离子对可以为定量提供高灵敏度, 另一个离子对则可提供辅助定性信息. 之后优化质谱参数和色谱条件, 使仪器信号稳定且灵敏度最高. 优化的质谱分析条件: 气帘气压力 0.14 MPa , 碰撞气压力 0.02 MPa , 电喷雾电压 5000 V , 雾化气温度 $600\text{ }^{\circ}\text{C}$, 雾化气: 0.38 MPa , 加热气及辅助雾化气: 0.45 MPa . 优化的色谱条件: 流动相 A: 0.3% 甲酸水溶液 (含 0.1% (体积分数) 甲酸铵, $\text{pH}=2.9$), 流动相 B: 甲醇-乙腈 ($V/V=1:1$); 流速: $0.2\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 进样量: $15\text{ }\mu\text{L}$; 梯度洗脱条件: 0—2 min, $10\%\text{ B}$; 2—12 min, $10\%\text{—}70\%\text{ B}$; 12—16 min, $70\%\text{—}100\%\text{ B}$, 保持 3 min; 19—19.1 min, $100\%\text{—}10\%\text{ B}$; 19.1—33 min, $10\%\text{ B}$.

1.6 质量控制与保证

在选定的最佳质谱和色谱条件下, 进样 $15\text{ }\mu\text{L}$, 对一系列浓度的混合标准样品 (20 ng NOR- d_5 、OFL- d_3 、SAR- d_8 、SMX- d_4 、SMZ- d_4 、ERY- ^{13}C , d_3 和 SPI I- d_3 内标) 进行分析, 以各分析物和内标离子对的峰面积之比进行定量. 每批样品都要做一个程序空白样品, 以保证检测结果的可靠性. 实验中设置方法空白、空白加标、基质加标对数据进行质量控制. 22 种抗生素的加标回收率为 $72.8\%\text{—}123\%$, 相对标准偏差 (RSD) 为 $1.6\%\text{—}11.2\%$. 结果表明, 22 种化合物均在较宽的范围内具有良好的线性, 方法检出限 (LODs) 为 $0.01\text{—}0.10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (见表 2).

表 2 22 种抗生素的回收率、线性范围和检出限 ($S/N=3$)

Table 2 Recoveries (%), linear range, and limits of detection (LODs, $S/N=3$) of 22 antibiotics

抗生素 Antibiotics	替代物 Surrogate	相关系数 r Correlation	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$ Linear range	回收率/% (加标 $10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) Recovery	LODs/ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
NOR	NOR- d_5	0.9974	0.1—500	87.5 ± 7.4	0.09
CIP	NOR- d_5	0.9987	0.05—500	82.7 ± 11.4	0.08
DIF	OFL- d_3	0.9985	0.05—500	74.3 ± 10.3	0.08
ENR	OFL- d_3	0.9990	0.05—500	97.4 ± 8.9	0.08
FLE	OFL- d_3	0.9984	0.1—500	97.6 ± 6.8	0.04
OFL	OFL- d_3	0.9988	0.1—500	104.0 ± 8.5	0.06
LOM	OFL- d_3	0.9967	0.05—500	72.4 ± 3.3	0.05
SAR	SAR- d_8	0.9992	0.05—200	95.9 ± 4.6	0.09
STZ	SMX- d_4	0.9974	0.01—500	84.2 ± 5.9	0.04
SMX	SMX- d_4	0.9991	0.1—500	101.0 ± 4.3	0.06
SIA	SMX- d_4	0.9987	0.02—500	88.3 ± 2.7	0.06

续表 2

抗生素 Antibiotics	替代物 Surrogate	相关系数 r Correlation	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$ Linear range	回收率/% (加标 $10\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) Recovery	LODs/ $(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$
SPD	SMZ-d ₄	0.9985	0.02—500	98.0±5.3	0.04
SDM	SMZ-d ₄	0.9996	0.01—500	121.0±5.6	0.04
SMZ	SMZ-d ₄	0.9993	0.01—500	102.0±3.7	0.04
SDZ	SMZ-d ₄	0.9986	0.05—500	101.0±3.5	0.04
SMR	SMZ-d ₄	0.9977	0.02—500	107.0±7.1	0.04
SMM	SMZ-d ₄	0.9985	0.02—500	112.0±7.3	0.01
SPI	SPI I-d ₃	0.9980	0.1—500	104.0±5.2	0.08
JOS	SPI I-d ₃	0.9934	0.05—200	84.4±5.6	0.04
TYL	SPI I-d ₃	0.9934	0.05—200	90.0±7.1	0.10
ROX	SPI I-d ₃	0.9905	0.05—500	101.0±6.1	0.04
ERY	ERY- ¹³ C ₃ d ₃	0.9992	0.1—500	109.0±5.3	0.04

1.7 健康风险评价

根据婴幼儿奶粉建议用量计算婴幼儿每天奶粉的实际摄入量,再根据奶粉中抗生素的检测结果,换算出婴幼儿经口对奶粉中抗生素的日平均暴露剂量(Average daily dose, ADD),公式(EPA, 2011)^[16]如下:

$$\text{ADD} = \frac{C \times \text{IR} \times \text{EF} \times \text{ED}}{\text{AT} \times \text{BW}}$$

(1)

其中, ADD: 抗生素的日平均暴露量, $\mu\text{g}(\text{kg d})^{-1}$; C: 奶粉中抗生素的浓度, $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$; IR: 饮食摄入量, kg d^{-1} ; EF: 暴露频率, d a^{-1} ; ED: 暴露持续时间, a; BW: 体重, kg; AT: 平均暴露时间, d.

1.8 数据分析

本研究中 ΣQN s、 ΣSAs 和 ΣMC s分别代表9种喹诺酮、8种磺胺和5种大环内酯抗生素的浓度之和.所有数据均使用IBM PASW Statistics 20软件进行分析.如奶粉样品中抗生素浓度低于分析方法检出限,则该检测数据赋予0值参加平均值统计计算.Kolmogorov–Smirnov检验用来验证数据是否呈正态分布,Kruskal–Wallis非参数检验用来比较抗生素的浓度差异.一般认为当 $P<0.05$ 时该检验具有显著性差异.

2 结果与讨论(Results and discussion)

2.1 奶粉中抗生素的污染水平

婴幼儿配方奶粉中抗生素浓度见表3.样品共检出19种抗生素,包括8种喹诺酮(NOR、CIP、DIF、ENR、FLE、OFL、LOM和SAR),6种磺胺(SMX、SPD、SMZ、SDZ、SIA和SDM)和3大环内酯(TYL、ROX和ERY).其他1种磺胺(SPD)和2种大环内酯(SPI和JOS)在所有样品中浓度均低于检测限,可能是这3种抗生素主要应用于人体感染性疾病的治疗,在动物的生长过程中很少使用^[1].

三类抗生素中,喹诺酮类抗生素浓度最高,平均浓度可达 $2.92\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ($0.49\text{—}20.1\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$),比磺胺(平均浓度 $0.39\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $0.03\text{—}2.93\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和大环内酯类(平均浓度 $0.16\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $<\text{LOD—}1.14\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)抗生素浓度高1个数量级.这是因为奶牛在生长过程中喹诺酮类抗生素的使用量远大于磺胺和大环内酯的使用量(见表4),并且喹诺酮类抗生素具有更高的稳定性和生物富集能力^[17–19].在所有抗生素中,CIP、NOR和ENR的检出率较高($90.2\%\text{—}100\%$),浓度分别为 0.87 、 0.68 、 $0.48\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,而其他抗生素检出率($<60\%$)和浓度均较低($<0.2\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$).有研究报道^[1],CIP、NOR和ENR均可作为兽用抗生素使用,并在养殖业中大量使用(表4),因此可在奶粉样品中较多检出.

表 3 婴幼儿配方奶粉中抗生素的浓度($n=41, \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)

Table 3 Concentrations of antibiotics in infant milk power

抗生素 Antibiotics	最小值 Minimum	中位数 Median	最大值 Maximum	平均值 Mean	检出率/% Detection rate
NOR	<LOD	0.44	5.78	0.68	90.2
CIP	0.15	0.47	9.95	0.87	100
DIF	<LOD	<LOD	0.54	0.04	12.2
ENR	<LOD	0.16	3.76	0.48	90.2
FLE	<LOD	<LOD	0.68	0.06	26.8
OFL	<LOD	0.08	1.55	0.16	58.5
LOM	<LOD	<LOD	0.84	0.07	39.0
SAR	<LOD	<LOD	0.92	0.08	36.6
STZ	<LOD	<LOD	0.30	0.02	17.1
SMX	<LOD	<LOD	0.50	0.05	39.0
SIA	<LOD	0.06	0.77	0.07	51.2
SPD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
SDM	<LOD	<LOD	0.54	0.03	7.32
SMZ	<LOD	0.04	0.43	0.07	58.5
SDZ	<LOD	<LOD	0.24	0.01	7.32
SMR	<LOD	0.04	0.30	0.05	58.5
SMM	<LOD	<LOD	0.53	0.05	41.5
SPI	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
JOS	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TYL	<LOD	<LOD	0.24	0.01	7.32
ROX	<LOD	<LOD	1.08	0.06	17.1
ERY	<LOD	0.04	0.51	0.08	53.7
ΣQNs	0.49	1.96	20.1	2.92	100
ΣSAs	0.03	0.27	2.93	0.39	100
ΣMCs	<LOD	0.05	1.14	0.16	83.0
Total	0.71	2.39	23.1	3.46	100

表 4 2013 年中国部分抗生素的使用情况^[1]

Table 4 Usage of some antibiotics in China in 2013^[1]

大类 Group	抗生素 Antibiotics	简写 Abbreviation	主要用途 Application	使用量/t Usage amount				汇总 Summary
				人 Human	猪 Pig	鸡 Chicken	其他 Other	
QNs	诺氟沙星	NOR	医用,兽用	1013	2820	961	644	5440
	环丙沙星	CIP	医用,兽用	455	3110	1060	712	5340
	双氟沙星	DIF	兽用	0	378	172	117	667
	恩诺沙星	ENR	兽用	0	3090	1150	940	5180
	氟罗沙星	FLE	医用,兽用	119	60.6	21.6	15.1	216
	氧氟沙星	OFL	医用,兽用	1286	2440	832	557	5110
	洛美沙星	LOM	医用,兽用	228	650	222	149	1250
	沙拉沙星	SAR	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	Total			3101	12549	4419	3134	23203

续表 4

大类 Group	抗生素 Antibiotics	简写 Abbreviation	主要用途 Application	使用量/t Usage amount				汇总 Summary
				人 Human	猪 Pig	鸡 Chicken	其他 Other	
SAs	磺胺噻唑	STZ	兽用	0.66	40.2	13.7	9.18	63.7
	磺胺甲基异恶唑	SMX	医用,兽用	2.0	198	67.6	45.3	313
	磺胺二甲基异恶唑	SIA	医用	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	磺胺吡啶	SPD	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	磺胺间二甲氧嘧啶	SDM	兽用	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	磺胺二甲基嘧啶	SMZ	医用,兽用	68.4	388	132	88.7	677
	磺胺嘧啶	SDZ	医用,兽用	238	648	221	148	1260
	磺胺甲基嘧啶	SMR	医用	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	磺胺间甲氧嘧啶	SMM	兽用	9.93	1400	477	320	2210
	Total			319	2674	911	611	4524
MCs	螺旋霉素	SPI	医用	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	交沙霉素	JOS	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	泰乐菌素	TYL	兽用	0	3090	1050	706	4850
	红霉素	ERY	医用,兽用	1244	1580	565	377	3770
	罗红霉素	ROX	医用,兽用	184	112	67.3	22.5	386
	Total			1428	4782	1682	1106	9006

n.a.: 没有数据来源; 其他: 包括除猪和鸡之外的牛、羊等其他家畜.

2.2 奶粉中抗生素的分布特征

不同阶段婴幼儿配方奶粉中 Σ QNs、 Σ SAs 和 Σ MCs 的浓度如图 1(a)所示. 单因素方差(见表 5)结果表明, 这三类抗生素浓度在不同阶段的奶粉中无显著差异($P>0.05$). 2 段奶粉中抗生素残留水平的总体平均值为 $4.48\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (浓度范围 $1.18\text{—}17.4\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 略高于 1 段(平均 $3.77\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $0.89\text{—}23.1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和 3 段(平均 $2.36\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $0.71\text{—}6.98\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)奶粉中抗生素的残留水平.

国内外不同奶源奶粉中 Σ QNs、 Σ SAs 和 Σ MCs 的污染水平如图 1(b)所示. 通过对比发现, 国内奶源的奶粉的污染水平(平均值 $3.88\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $1.36\text{—}23.1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)略高于进口奶源(平均值 $2.41\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $0.71\text{—}9.15\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 但并没有显著性差异($P>0.05$). 需要指出的是, 个别国产奶源的奶粉中抗生素含量较高, 可达 $23.1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 需要值得关注.

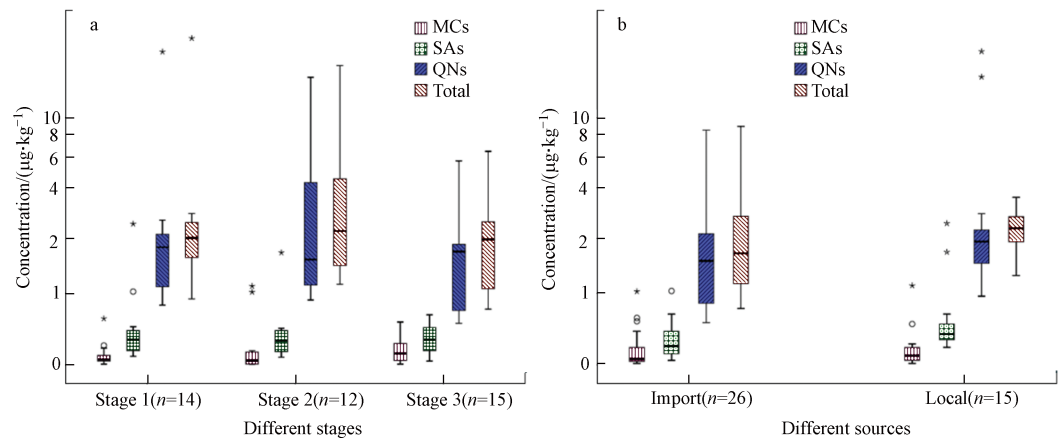


图 1 婴幼儿配方奶粉中 Σ QNs、 Σ SAs 和 Σ MCs 的浓度
(a:不同阶段; b: 不同奶源)

Fig.1 Concentrations of Σ QNs、 Σ SAs and Σ MCs in milk power
(a: different stages; b: different sources)

表 5 不同阶段奶粉ΣQNs、ΣSAS 和ΣMCs 浓度的单因素方差分析

Table 5 One-way ANOVA of ΣQNs, ΣSAS and ΣMCs of milk powder at different stages

	P		
	1段 vs 2段	1段 vs 3段	2段 vs 3段
ΣQNs	0.648	0.380	0.195
ΣSAs	0.611	0.309	0.642
ΣMCs	0.263	0.483	0.638
Total	0.678	0.381	0.210

2.3 暴露风险评价

目前,国内还尚未出台关于奶粉中抗生素残留限量的相关规定,因此本研究参考农业部于 2019 年修订发布了最新的《动物源性食品中兽药最高残留限量》(GB 31650-2019)中的最高残留限量(maximum residue limit, MRL)和日允许摄入量(acceptable daily intake, ADI)对婴幼儿的暴露风险进行研究^[20-22].通过比较发现,抗生素在婴幼儿奶粉中的检出浓度均较低,41 个婴幼儿奶粉中抗生素的含量比国家规定的动物性食品中兽药最高残留限量低 1—3 个数量级,符合食品安全(见表 6).

表 6 动物性食品中部分兽药最大残留限量(μg·kg⁻¹)^[22]

Table 6 Maximum residue limits of some veterinary drugs in animal foods (μg·kg⁻¹)^[22]

抗生素 Antibiotics	标志残留物 Marker residue	动物种类 Animal species	靶组织 Target tissue	MRL	ADI
DIF	DIF	所有食品动物	肌肉脂肪	300100	0—10
ENR	ENR与CIP总量	所有食品动物	肌肉脂肪	100100	0—2
SAR	SAR	鸡	肌肉脂肪	1020	0—0.3
ERY	ERY A	所有食品动物	奶	40	0—5
TYL	TYL A	牛	奶	50	0—6
SPI	SPI总量	牛	奶	100	0—6
SAs	SAs总量	牛/羊	奶	100	0—50

MRL: 最高残留限量, μg·kg⁻¹; ADI: 日允许摄入量, ng·kg⁻¹·d⁻¹·bw.

进一步根据奶粉中抗生素的检测结果换算婴幼儿经口对奶粉中抗生素的日平均暴露剂量.婴幼儿暴露水平计算公式中婴幼儿体重参照《中国 7 岁以下儿童生长发育参照标准》^[23].其中 0—2 周男孩体重为 3.6 kg、女孩为 2.7 kg, 2—4 周男孩体重为 5.0 kg、女孩为 3.6 kg, 2 个月男孩体重为 5.2 kg、女孩为 4.0 kg, 3—4 月男孩体重为 6.3 kg、女孩为 5.1 kg, 5—6 月男孩体重为 7.6 kg、女孩为 6.7 kg, 7—12 月男孩体重为 10.6 kg、女孩为 9.9 kg, 13—24 月男孩体重为 12.7 kg、女孩为 12.0 kg, 25—36 月男孩体重为 15.3 kg、女孩为 14.7 kg. 婴幼儿对奶粉的吸收率约为 94%^[24]. 0—6 个月, 7—12 个月以及 13—36 个月月龄段婴幼儿配方奶粉消费量,按照样品标签上的推荐量求平均值计算,分别为 102、109 和 91 g d⁻¹^[25].

婴幼儿对抗生素的日暴露水平如表 7 所示,结果表明婴幼儿对于喹诺酮类抗生素的暴露水平相对较高,其最大暴露浓度达到了 430 ng·kg⁻¹·d⁻¹·bw, 均值在 3.40—13.2 ng·kg⁻¹·d⁻¹·bw. 对于大环内酯类抗生素的暴露水平较低,其最高暴露浓度为 31.2 ng·kg⁻¹·d⁻¹·bw, 均值在 1.07—4.14 ng·kg⁻¹·d⁻¹·bw. 对于磺胺类抗生素的暴露水平最低,最高值也仅为是 57.3 ng·kg⁻¹·d⁻¹·bw, 均值在 1.04—4.05 ng·kg⁻¹·d⁻¹·bw.

对于这 41 个婴幼儿配方奶粉来说,婴幼儿对喹诺酮类、磺胺类和大环内酯类抗生素的的暴露水平比《动物性食品中兽药最高残留限量》中 ADI 值低 2—3 个数量级(见表 6). 因此,婴幼儿奶粉中抗生素残留对儿童的暴露水平均处在较低的水平,不会对婴幼儿的成长发育造成明显的危害.需要注意的是,本研究参考的《动物源性食品中兽药最高残留限量》(GB 31650-2019)仅对部分抗生素的最高残留限量和日允许摄入量做了限定,因此也仅对部分抗生素进行了风险评估,其评估结果可能会低于实际风险值.考虑到不同抗生素之间的毒性协同作用,奶粉中低水平抗生素长期暴露对人体健康造成潜在的危害不能忽视.

表 7 奶粉中抗生素对婴幼儿的日暴露水平($\text{ng}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{bw}$)
Table 7 Daily exposure to antibiotics in powdered milk for infants($\text{ng}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{bw}$)

抗生素 Antibiotics	年龄 Age	男 Male			女 Female		
		最小值 Minimum	最大值 Maximum	均值 Mean	最小值 Minimum	最大值 Maximum	均值 Mean
喹诺酮类	0—2周	0.00	143	8.22	0.00	190	10.9
	2—4周	0.00	137	7.88	0.00	182	10.4
	2月	0.00	331	10.2	0.00	430	13.2
	3—4月	0.00	139	7.98	0.00	139	7.98
	5—6月	0.00	112	7.24	0.00	127	8.21
	7—12月	0.00	165	5.96	0.00	177	6.38
	13—24月	0.00	47.9	3.94	0.00	50.8	4.17
	25—36月	0.00	39.8	3.27	0.00	41.4	3.40
磺胺类	0—2周	0.00	19.0	2.52	0.00	25.3	3.36
	2—4周	0.00	18.2	2.42	0.00	24.2	3.21
	2月	0.00	44.1	3.12	0.00	57.3	4.05
	3—4月	0.00	18.6	2.45	0.00	18.6	2.45
	5—6月	0.00	15.0	2.22	0.00	17.0	2.52
	7—12月	0.00	8.34	1.83	0.00	8.93	1.96
	13—24月	0.00	5.73	1.21	0.00	6.06	1.28
	25—36月	0.00	4.76	1.00	0.00	4.95	1.04
大环内酯类	0—2周	0.00	10.4	2.58	0.00	13.8	3.44
	2—4周	0.00	9.95	2.47	0.00	13.2	2.39
	2月	0.00	24.1	3.19	0.00	31.2	4.14
	3—4月	0.00	10.2	2.50	0.00	10.1	2.50
	5—6月	0.00	8.18	2.27	0.00	9.28	2.57
	7—12月	0.00	18.0	1.87	0.00	19.3	2.00
	13—24月	0.00	6.79	1.23	0.00	7.19	1.31
	25—36月	0.00	5.64	1.02	0.00	5.87	1.07

3 结论(Conclusion)

本文研究了婴幼儿配方奶粉样品中抗生素的污染特征和暴露水平. 研究表明奶粉中存在抗生素残留, 其中主要组分是喹诺酮, 其次是磺胺和大环内酯. 研究表明不同阶段和不同奶源婴幼儿配方奶粉中抗生素残留水平无显著性差异. 三类抗生素的日暴露水平均低于《动物性食品中兽药最高残留限量》中 ADI 值. 总体来看, 婴幼儿的暴露水平均处在较低的水平. 因此, 婴幼儿配方奶粉中所残留的抗生素尚不会对婴幼儿的成长发育造成明显的危害.

参考文献 (References)

[1] SUN J T, ZENG Q T, TSANG D C W, et al. Antibiotics in the agricultural soils from the Yangtze River Delta, China [J]. Chemosphere, 2017, 189: 301-308.

[2] LIU X H, LU S Y, GUO W, et al. Antibiotics in the aquatic environments: A review of lakes, China [J]. Science of the Total Environment, 2018, 627: 1195-1208.

[3] ZHANG Q Q, YING G G, PAN C G, et al. Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: Source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance [J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(11): 6772-6782.

- [4] 蒋波. 奶及奶制品安全问题及抗生素残留检测技术概述 [J]. 中兽医学杂志, 2018(7): 70-71.
JIANG B. Summary of safety problems of milk and dairy products and detection technology of antibiotic residues [J]. Chinese Journal of Traditional Veterinary Science, 2018(7): 70-71 (in Chinese).
- [5] HUANG R C, GUO Z T, GAO S T, et al. Assessment of veterinary antibiotics from animal manure-amended soil to growing alfalfa, alfalfa silage, and milk [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 224: 112699.
- [6] LU G Y, CHEN Q, LI Y P, et al. Status of antibiotic residues and detection techniques used in Chinese milk: A systematic review based on cross-sectional surveillance data [J]. Food Research International, 2021, 147: 110450.
- [7] KARAMI-OSBOO R, MIRI R, JAVIDNIA K, et al. Extraction and determination of sulfadiazine and sulfathiazole in milk using magnetic solid phase extraction-HPLC-UV [J]. Analytical Methods, 2015, 7(4): 1586-1589.
- [8] MORETTI S, CRUCIANI G, ROMANELLI S, et al. Multiclass method for the determination of 62 antibiotics in milk [J]. Journal of Mass Spectrometry, 2016, 51(9): 792-804.
- [9] ZHANG Y D, ZHENG N, HAN R W, et al. Occurrence of tetracyclines, sulfonamides, sulfamethazine and quinolones in pasteurized milk and UHT milk in China's market [J]. Food Control, 2014, 36(1): 238-242.
- [10] WANG H X, REN L S, YU X, et al. Antibiotic residues in meat, milk and aquatic products in Shanghai and human exposure assessment [J]. Food Control, 2017, 80: 217-225.
- [11] 马娅, 马丽娜, 史俊杰, 等. 牛奶中抗生素残留检测的研究现状 [J]. 山东化工, 2020, 49(17): 83-84.
MA Y, MA L N, SHI J J, et al. Research status of antibiotic residue detection in milk [J]. Shandong Chemical Industry, 2020, 49(17): 83-84 (in Chinese).
- [12] 张律, 卓丰, 岳亚军. 深圳市售奶粉中 11 种喹诺酮类抗生素含量检测分析 [J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(11): 3665-3671.
ZHANG L, ZHUO F, YUE Y J. Detection and analysis on 11 kinds of quinolones antibiotics in Shenzhen market milk powder [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(11): 3665-3671 (in Chinese).
- [13] TIAN H, WANG J Q, ZHANG Y D, et al. Quantitative multiresidue analysis of antibiotics in milk and milk powder by ultra-performance liquid chromatography coupled to tandem quadrupole mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography B, 2016, 1033/1034: 172-179.
- [14] 陆峥, 王丽丽, 王迪, 等. 国产婴幼儿配方奶粉及婴幼儿米粉中阪崎肠杆菌分离株的药敏分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(11): 2301-2302, 2310.
LU Z, WANG L L, WANG D, et al. Antibiotic susceptibility of *Enterobacter sakazakii* isolated from milk powder and rice powder for infant and young children [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2008, 18(11): 2301-2302, 2310 (in Chinese).
- [15] 周显凤, 高建新, 龙慧, 等. 婴幼儿配方奶粉中肺炎克雷伯菌与阪崎肠杆菌分离株的药敏分析 [J]. 现代预防医学, 2012, 39(6): 1511-1513.
ZHOU X F, GAO J X, LONG H, et al. Antibiotic susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter sakazakii* isolated from powdered infant formula [J]. Modern Preventive Medicine, 2012, 39(6): 1511-1513 (in Chinese).
- [16] EPA. Exposure factors handbook: 2011 edition [EB/OL]. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA, 2011 [2023-2-27]. <https://www.epa.gov/expobox/exposure-factors-handbook-2011-edition>
- [17] LI W H, SHI Y L, GAO L H, et al. Occurrence of antibiotics in water, sediments, aquatic plants, and animals from Baiyangdian Lake in North China [J]. Chemosphere, 2012, 89(11): 1307-1315.
- [18] KÜMMERER K. Antibiotics in the aquatic environment—A review—Part I [J]. Chemosphere, 2009, 75(4): 417-434.
- [19] KUMAR K, GUPTA S C, BAIDOO S K, et al. Antibiotic uptake by plants from soil fertilized with animal manure [J]. Journal of Environmental Quality, 2005, 34(6): 2082-2085.
- [20] 程兆康. 典型抗生素在土壤-生菜系统和市售牛奶中的残留及其风险评价 [D]. 南京: 南京信息工程大学, 2022.
CHENG Z K. Residues and risk assessment of typical antibiotics in soil-lettuce system and milk on the market [D]. Nanjing: Nanjing University of Information Science & Technology, 2022 (in Chinese).
- [21] 吴小莲, 莫测辉, 李彦文, 等. 蔬菜中喹诺酮类抗生素污染探查与风险评价: 以广州市超市蔬菜为例 [J]. 环境科学, 2011, 32(6): 1703-1709.
WU X L, MO C H, LI Y W, et al. Investigation and health risk assessment of quinolone antibiotics in vegetables: Taking supermarket vegetables of Guangzhou city for an example [J]. Environmental Science, 2011, 32(6): 1703-1709 (in Chinese).
- [22] 农业部. 动物性食品中兽药最高残留限量 [EB/OL]. [2023-2-27]. http://www.moa.gov.cn/gk/tzgg_1/gg/200302/P020050610333735313696.doc
- [23] 卫生部. 中国 7 岁以下儿童生长发育参照标准 [EB/OL]. [2023-2-27]. <http://www.nhc.gov.cn/cmsresources/mohfybjysqwss/cmsrsdocument/doc6260.doc>
- [24] 谢跃杰, 王仲明, 熊政委, 等. 配方奶粉和母乳中结构脂质差异及其对婴幼儿生理功能的影响研究进展 [J]. 食品科学, 2018, 39(21): 293-298.
XIE Y J, WANG Z M, XIONG Z W, et al. Differences in structural lipids between infant formula and breast milk and their effects on physiological functions of infants. Journal of Food Science, 2018, 39(21): 293-298 (in Chinese)
- [25] 袁蕊, 崔霞, 刘平, 等. 2021 年北京市售婴幼儿配方奶粉中氯丙醇酯和缩水甘油酯污染状况及暴露风险初步评估 [J]. 卫生研究, 2022, 51(4): 645-649, 679.
YUAN R, CUI X, LIU P, et al. Contamination characteristics and preliminary exposure risk assessment of chloropropanol esters and glycidyl esters in infant formula sold in Beijing in 2021 [J]. Journal of Hygiene Research, 2022, 51(4): 645-649, 679 (in Chinese).