

DOI: 10.12264/JFSC2021-0091

## 全氟辛烷磺酸对罗氏沼虾幼虾代谢和抗氧化酶活性的影响

许佳<sup>1</sup>, 江敏<sup>1,2</sup>, 吴昊<sup>3</sup>, 郑丽利<sup>1</sup>, 刘笑楠<sup>1</sup>

1. 上海海洋大学海洋生态与环境学院, 上海 201306;

2. 上海海洋大学水域环境生态上海高校工程研究中心, 上海 201306;

3. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306

**摘要:** 采用静水毒性实验法和非靶向代谢组学法探讨全氟辛烷磺酸(perfluorooctae sulfonate, PFOS)对罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)幼虾的急性致死和代谢的影响, 同时通过慢性毒性实验分析不同质量浓度(0.1 ng/mL、1 ng/mL、5 ng/mL) PFOS 胁迫下幼虾鳃、肝胰腺和胃肠道中抗氧化酶活性的变化。结果表明, PFOS 对罗氏沼虾幼虾的 96 hLC<sub>50</sub> 为(0.68±0.22) mg/L, 安全质量浓度为 0.068 mg/L。经 20 ng/mL 的 PFOS 胁迫 24 h 后, 幼虾鳃中鉴定到具有显著差异的代谢化合物共 30 种、肝胰腺中 19 种、胃肠道中 24 种, 这些代谢差异物主要涉及氨基酸代谢、脂肪酸代谢和磷脂类代谢等代谢通路。慢性毒性实验中, 不同暴露时间下不同浓度的 PFOS 胁迫对幼虾各组织中丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和酸性磷酸酶(ACP)活性的影响存在差异; 随着暴露时间的延长, SOD、CAT 和 ACP 活性受到抑制, MDA 含量随着暴露时间的延长而增大。PFOS 可造成幼虾鳃、肝胰腺和胃肠道组织发生氧化损伤, 并对幼虾的生理代谢产生影响。本研究旨在为探究 PFOS 对水生生物的毒性效应提供基础数据和借鉴。

**关键词:** 罗氏沼虾; 全氟辛烷磺酸; 半致死浓度; 差异代谢物; 代谢组学; 抗氧化酶

中图分类号: S941

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2022)04-0562-12

全氟辛烷磺酸(perfluorooctae sulfonate, PFOS)是一种新型持久性有机污染物, 广泛存在于日用品及工业产品<sup>[1]</sup>, 因其 C—F 共价键不易断裂, 理化性质稳定, 所以难以在环境中自然降解, 从而使 PFOS 污染成为一个长期的环境问题<sup>[2]</sup>。Ololade 等<sup>[3]</sup>研究发现尼日利亚的河流中 PFOS 的浓度范围为 3.9~10.1 ng/L, 平均浓度为 6.8 ng/L; Kleywegt 等<sup>[4]</sup>研究表明加拿大某水源地水库中 PFOS 的平均浓度为 15 ng/L, 且经过处理后的饮用水中仍能检测出 PFOS (1.6 ng/L); Lu 等<sup>[5]</sup>研究发现 PFOS 在华东地区的骆马湖水体中的浓度范围为 19.1~120.89 ng/L。研究表明, 自然水体中食用鱼类<sup>[6]</sup>、黄鳝(*Monopterus albus*)<sup>[7]</sup>、虾类<sup>[8]</sup>以及贝类<sup>[9]</sup>

等均检测出 PFOS。水环境中的 PFOS 会随着食物链蓄积于水生生物或人体, 对生物的生殖和发育以及神经系统等造成危害<sup>[10]</sup>。如 Suski 等<sup>[11]</sup>研究表明 PFOS 可蓄积在黑头呆鱼(*Pimephales promelas*)性腺和肝中, 并致成年雄鱼性激素水平降低, 雌鱼生殖力减弱, Flynn 等<sup>[12]</sup>发现 PFOS 暴露会导致美国牛蛙(*Rana catesbeiana*)幼体发育延迟。总体而言, 近年来国内对 PFOS 研究多集中在测定方法和污染水平方面, 对虾类的毒性效应研究较少。因此, 有必要借助毒理实验深入探究其作用机理及生物毒性效应。

罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)是目前全球主要养殖虾类之一<sup>[13]</sup>。养殖水体及周边环境中

收稿日期: 2021-03-09, 修订日期: 2021-04-16.

基金项目: 上海市科技兴农项目(沪农科创字〔2019〕第 3-5 号).

作者简介: 许佳(1995–), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为环境毒理学. E-mail: 1321171515@qq.com

通信作者: 江敏, 教授, 主要研究方向为环境化学和环境毒理学. E-mail: mjiang@shou.edu.cn

的污染物质对罗氏沼虾的生长会有一定的影响<sup>[14]</sup>,特别是幼虾,对环境有毒物质更加敏感。PFOS是水环境中残留较为普遍的一类含氟化合物,有较多报道中提及 PFOS 在水体中被检出<sup>[15-17]</sup>,因此幼虾具有受到 PFOS 污染的风险。而 PFOS 具有残效性,在人体内的半衰期为 3~21 a<sup>[18]</sup>,研究 PFOS 对罗氏沼虾幼虾的毒性效应对人类健康具有重要意义。

研究表明 PFOS 的毒性效应与氧化应激密切相关<sup>[19]</sup>,抗氧化酶对减轻氧自由基对机体的危害及维持细胞内氧化平衡有着重要作用<sup>[20]</sup>。本研究采用静水毒性实验法研究 PFOS 对罗氏沼虾幼虾的急性毒性,评价 PFOS 对罗氏沼虾幼虾的安全性,并通过代谢和抗氧化酶活性影响的研究,探讨 PFOS 对幼虾的毒性效应,以期为探究 PFOS 的致毒机理及生物毒性效应提供理论依据和借鉴,并为罗氏沼虾的健康养殖提供基础数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验生物与试剂

实验所用罗氏沼虾幼虾取自上海申漕特种水产开发公司,幼虾运回实验室后暂养在塑料水箱(1.2 m×1.2 m×0.6 m)中,暂养期间持续曝气,每日 9:00、14:00 以及 19:00 投喂适量的幼虾饲料,并及时清理残饵和死虾,暂养期间死亡率在 10% 以下。选取其中规格相近、健康无病患的幼虾作为实验对象,急性毒性实验和慢性毒性实验所用幼虾平均体长(1.93±0.23) cm,体重(0.11±0.09) g,代谢组学实验所用幼虾平均体长(2.88±0.09) cm,体重(0.29±0.03) g。急性毒性实验前禁食 24 h,实验所用容器为 1 L 玻璃烧杯,代谢组学实验和慢性毒性实验所用容器为 30 cm×18 cm×20 cm 的玻璃鱼缸,鱼缸内放置格网增加立体空间,并在烧杯和鱼缸上方覆盖透气棉布,避免实验虾跳出。实验于室温下进行,用水为曝气 3 d 以上的除氯自来水,pH 8.0~8.5,溶解氧≥7.0 mg/L。

实验试剂:PFOS(CAS: 1763-23-1, AR, 98.7%)以二甲基亚砜(DMSO)(CAS: 67-68-5, AR, 99.0%)为溶剂,配置成 10 g/L 的母液,实验时稀释成所需要的浓度。HPLC 甲醇(Sigma, 美国);HPLC 水

(Sigma-Aldrich 公司,美国);2-氯苯丙氨酸(Sigma-Aldrich 公司,美国);丙二醛(MDA)测试盒、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、酸性磷酸酶(ACP)测试盒以及蛋白(TP)定量测试盒均购自南京建成生物工程研究所。

### 1.2 急性毒性实验

采用 96 h 静水毒性实验法。正式实验之前进行预实验,确定 PFOS 对幼虾的致死浓度范围。根据预实验结果,按等对数间距设置 0.15 mg/L、0.3 mg/L、0.6 mg/L、1.2 mg/L、2.4 mg/L 和 4.8 mg/L 6 个 PFOS 浓度组,以及 1 个空白对照组、1 个溶剂对照组(0.04% DMSO),每组设 3 个平行,每个平行放罗氏沼虾幼虾 10 尾,实验期间轻微曝气、室温、不喂食,以幼虾无肢体活动作为判断死亡的依据,每 12 h 记录罗氏沼虾幼虾的死亡情况并及时捞出死虾。

### 1.3 PFOS 急性胁迫对幼虾不同组织代谢的影响

在预实验基础上,结合现实环境中 PFOS 的质量浓度范围,设 1 个对照组及 20 ng/mL 的 PFOS 实验组,每组 12 尾虾,对幼虾进行 24 h 的代谢胁迫实验,实验期间轻微曝气、室温、不喂食。于 6 h 和 24 h 取样,每次实验组和对照组各取 6 尾虾。取样后迅速将罗氏沼虾幼虾置于液氮中冷冻,于冰上快速解剖并分离出鳃、肝胰腺和胃肠道组织,每尾虾的鳃、肝胰腺和胃肠道组织分别为 1 个实验样本,每个组织样本 20~30 mg。将取得的组织置于 1.5 mL 聚丙烯离心管中,加入 20  $\mu$ L 内标化合物(0.3 mg/mL 的 2-氯苯丙氨酸)以及 1 mL 的甲醇水提取液(甲醇:水=4:1,体积比),经全自动样品研磨仪(上海净信科技, TissueLyser-24)匀浆处理后置于-20  $^{\circ}$ C 冰箱静置 20 min,将静置后的样品置于超声波清洗仪(2150T, 上海安普实验科技有限公司)中,100 Hz 超声提取 5 min 后再次置于-20  $^{\circ}$ C 冰箱静置 20 min,样品取出后 12000 r/min (4  $^{\circ}$ C)离心(Centrifuge 5810R) 15 min,上清液经 0.22  $\mu$ m 滤膜过滤后装色谱瓶待测。液相色谱-四级杆串联轨道阱质谱联用仪(Thermo, Q-Exactive)进行非靶向代谢组学分析,色谱柱 Waters HSS C<sub>18</sub>(2.1 mm×100 mm, 0.17  $\mu$ m);进样体积 2  $\mu$ L,流速 0.35 mL/L,流动相 A 为水(0.1%

甲酸), 流动相 B 为乙腈(0.1%甲酸), 梯度洗脱条件: 0~2 min 5%B, 2~4 min 30%B, 4~8 min 50%B, 8~10 min 80%B, 10~14 min 100%B, 14~15 min 100% B, 15~18 min 5%B。采用 DDA 方式进行正负离子分别扫描, 扫描范围 100~1000  $m/z$ , 喷雾电压 3.2 kV, 离子源温度 320  $^{\circ}\text{C}$ , 鞘气 40 mL/min。

#### 1.4 PFOS 慢性胁迫对幼虾不同组织抗氧化酶的影响

慢性毒性实验设置空白对照组以及 0.1 ng/mL、1 ng/mL、5 ng/mL 3 个 PFOS 实验组, 每组设 3 个平行, 每个平行放罗氏沼虾幼虾 30 尾。实验在玻璃缸中进行, 每个鱼缸中放置 8 L 相应浓度的实验液, 24 h 持续曝气。实验期间正常投喂饲料, 进食 30 min 后使用虹吸法清理残饵, 并根据水位情况及时补充实验液, 对照组中幼虾死亡率低于 10%。实验周期为 58 d, 于 PFOS 暴露第 30 天和第 58 天取样, 每个平行组中随机取 5 尾幼虾的组织混合为 1 个实验样本, 每个浓度组取 3 组平行。幼虾经液氮冷冻后于冰上迅速解剖分离, 将所获幼虾完整的鳃、肝胰腺和胃肠道组织分别置于 1.5 mL 离心管中, 按照 1:9 [组织质量(g): 生理盐水体积(mL)]向各离心管中加入 0.86%的生理盐水, 经全自动样品快速研磨仪研磨后, 6000 r/min (4  $^{\circ}\text{C}$ ) 离心 10 min, 分离出的上清液为粗酶液, 粗酶液置于-80  $^{\circ}\text{C}$  冰箱中冷冻保存待测。MDA、SOD、CAT、ACP 和 TP 活性均使用南京建成测试盒采用可见光法测定。

#### 1.5 数据统计分析

使用改良寇氏法<sup>[21]</sup>计算 PFOS 对罗氏沼虾幼虾的急性毒性半致死浓度(LC<sub>50</sub>), 安全浓度(SC)通过 96 hLC<sub>50</sub>求得<sup>[20]</sup>, 公式如下:

$$\text{SC} = 96 \text{ hLC}_{50} \times 0.1$$

代谢组学数据先由 QI 软件进行预处理, 然后得到归一化后的代谢化合物响应数值的矩阵, 并对测得的代谢化合物通过数据库(HMDB、LIPID、Metlin)进行搜索检索。用 SIMCA 进行主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA), Metabo Analyet 在线进行富集分析和差异化合物的代谢通路分析。

酶活性数据使用 SPSS 统计软件对数据进行

单因素方差分析(one-way ANOVA), 使用最小极差法(LSD)进行多成比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 PFOS 对罗氏沼虾幼虾的 96 h 急性毒性实验结果

与对照组相比, 高浓度(4.8 mg/L) PFOS 胁迫下幼虾的行为出现了明显异样, 幼虾在水体中表现出不安并沿着容器壁快速游动。PFOS 暴露后, 各组幼虾 24 h 内均出现死亡, 96 h 时 0.15 mg/L、0.3 mg/L、0.6 mg/L、1.2 mg/L、2.4 mg/L 和 4.8 mg/L 实验组校正死亡率分别为 7%、38%、50%、65%、84%和 92%, 随着 PFOS 浓度的增加和实验时间的延长, 幼虾死亡率相应增加, 呈现明显的剂量效应和时间效应关系。随着暴露时间的延长, 幼虾活性减弱, 部分幼虾出现假死现象, 侧卧在烧杯底部, 用玻璃棒轻触后快速游动, 濒临死亡幼虾反应迟钝, 附肢微微摆动, 无力游动, 直至死亡。

由表 1 可知, PFOS 对罗氏沼虾幼虾的 24 h、48 h、72 h 和 96 h 半数致死浓度(LC<sub>50</sub>)分别为(3.74±0.52) mg/L、(2.43±0.83) mg/L、(1.31±0.33) mg/L 和(0.68±0.22) mg/L, 96 h 的安全浓度为 0.068 mg/L。若参照危险化学品鱼类急性毒性分级实验方法(GB/T 21281-2007)<sup>[22]</sup>, PFOS 毒性分级可定为急性 I, 对罗氏沼虾为剧毒。

表 1 PFOS 对罗氏沼虾幼虾的半致死浓度和安全浓度  
Tab. 1 Semi-lethal concentration and safe concentration of PFOS to *Macrobrachium rosenbergii* juveniles

$n=3; \bar{x} \pm \text{SE}$

| 时间/h<br>time | 半致死浓度/(mg/L)<br>semi-lethal concentration | 95%置信区间<br>95% confidence interval | 安全浓度/(mg/L)<br>safe concentration |
|--------------|-------------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| 24           | 3.74±0.52                                 | 3.42~4.06                          | 0.068                             |
| 48           | 2.43±0.83                                 | 1.91~2.95                          |                                   |
| 72           | 1.31±0.33                                 | 1.11~1.51                          |                                   |
| 96           | 0.68±0.22                                 | 0.54~0.82                          |                                   |

### 2.2 PFOS 对罗氏沼虾幼虾生理代谢的影响

非靶向代谢组学检测结果经主成分分析(PCA)可知, 幼虾各器官组织的代谢在 6 h 后就已受到影响, 与对照组相比代谢主成分已出现显著差异, 24 h 后差异则更为明显(图 1)。用正交偏最

小二乘法-判别分析法(OPLS-DA)对 24 h 时实验组和对照组幼虾鳃、肝胰腺和胃肠道的代谢图谱进行分析(图 2), 两者间均已显著区分。依据 OPLS-DA 模型的鉴定结果, 导出 VIP 值大于 1 的化合物作为代谢差异物进行后续分析, 共筛选并鉴定了 44 个差异代谢化合物, 主要涉及氨基酸类和脂质等(表 2)。

表 2 显示, 与对照组相比, Glu 和 Arg 在鳃组织中表达上调; Thr 和 Pro 则含量下调, 在胃肠道组织中 Glu、Try 和 Met 的含量上调; 肝胰腺组织中, Try 的含量下调。肌苷在鳃组织中的含量上调, 而在肝胰腺和胃肠道组织中则下调。脂代谢方面, ARA 和 EPA 在肝胰腺和胃肠道中均下调,  $\alpha$ -亚麻酸在 3 个组织中均下调, DHA 在肝胰腺中上调,

而在鳃和胃肠道中则下调。此外, 鳃组织中, 10 种磷脂类上调, 9 种下调; 肝胰腺中, 3 种磷脂类上调, 9 种下调; 胃肠道组织中, 9 种磷脂类上调, 5 种下调。利用 KEGG 数据库对已经鉴定出的差异代谢物进行对应的代谢通路分析, 结果显示鳃、肝胰腺和胃肠道中的差异代谢物主要涉及氨基酸代谢、嘌呤代谢、脂肪酸代谢和磷脂代谢等通路。

2.3 PFOS 对罗氏沼虾幼虾 3 种组织抗氧化酶活性的影响

PFOS 慢性胁迫罗氏沼虾幼虾后, 幼虾鳃、肝胰腺和胃肠道中抗氧化酶活性见图 3。随着暴露时间的延长, 幼虾各组织中 SOD、CAT 和 ACP 活性均受到抑制, 而 MDA 含量随着暴露时间的延长而增大。

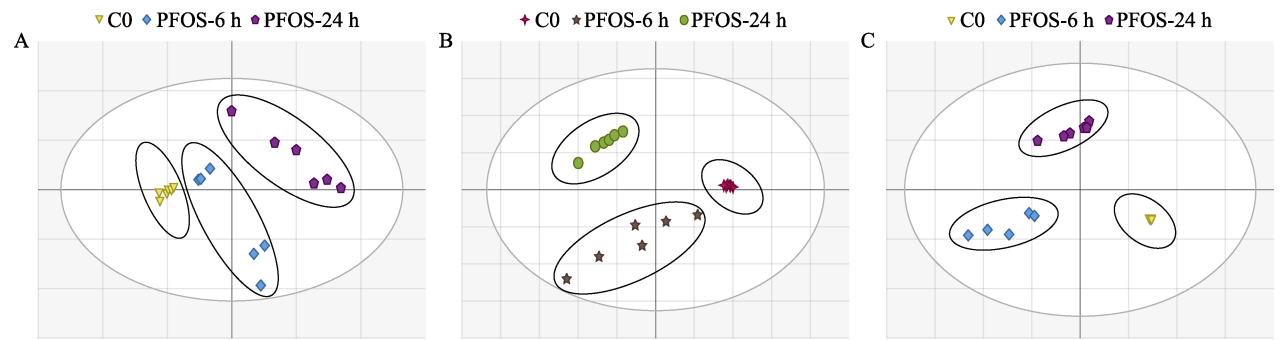


图 1 罗氏沼虾幼虾经 20 ng/mL 的 PFOS 胁迫 24 h 后鳃(A)、肝胰腺(B)和胃肠道(C)的代谢化合物 PCA 得分图  
C0: 对照组, PFOS-6 h: 胁迫 6 h 实验组, PFOS-24 h: 胁迫 24 h 实验组.

Fig. 1 PCA score plots of metabolites in *Macrobrachium rosenbergii* juvenile gill (A), hepatopancreas (B) and gastrointestinal tract (C) in control groups and experimental groups exposed to PFOS (20 ng/mL) for 24 h  
C0: control group, PFOS-6 h: experimental group exposed to PFOS (20 ng/mL) for 6 h, PFOS-24 h: experimental group exposed to PFOS (20 ng/mL) for 24 h.

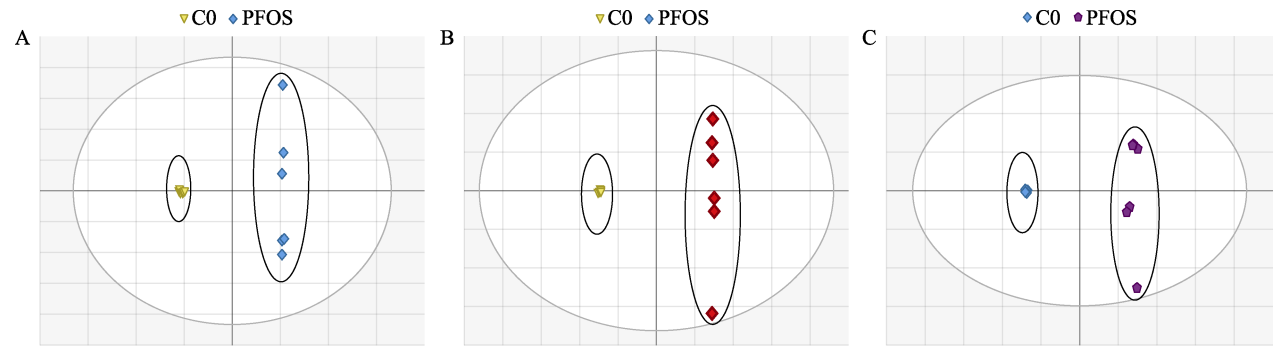


图 2 罗氏沼虾幼虾经 20 ng/mL 的 PFOS 胁迫 24 h 后, 鳃(A)、肝胰腺(B)和胃肠(C)实验组与对照组代谢化合物的 OPLS-DA 得分图  
C0: 对照组, PFOS: 实验组.

Fig. 2 OPLS-DA score plots of metabolites in *Macrobrachium rosenbergii* juvenile gill (A), hepatopancreas (B) and gastrointestinal tract (C) in control groups and experimental groups exposed to PFOS (20 ng/mL) for 24 h  
C0: control group, PFOS: experimental group.

表 2 PFOS (20 ng/mL)胁迫罗氏沼虾幼虾 24 h 后差异代谢化合物成分列表  
Tab. 2 Differential metabolites in *Macrobrachium rosenbergii* juvenile between 20 ng/mL PFOS (24 h) exposure group and control group

| 相关代谢途径<br>metabolic pathways   | 代谢差异物<br>metabolic difference             | 组别 group |                       |                              |
|--------------------------------|-------------------------------------------|----------|-----------------------|------------------------------|
|                                |                                           | 鳃 gill   | 肝胰腺<br>hepatopancreas | 胃肠<br>gastrointestinal tract |
| 氨基酸代谢<br>amino acid metabolism | L-苏氨酸 Thr                                 | ↓        | —                     | —                            |
|                                | L-谷氨酸 Glu                                 | ↑        | —                     | ↑                            |
|                                | L-脯氨酸 Pro                                 | ↓        | —                     | —                            |
|                                | L-精氨酸 Arg                                 | ↑        | —                     | —                            |
|                                | L-色氨酸 Try                                 | —        | ↓                     | ↑                            |
|                                | L-蛋氨酸 Met                                 | —        | —                     | ↑                            |
| 嘌呤代谢<br>purine metabolism      | 次黄嘌呤 hypoxanthine                         | ↑        | —                     | ↓                            |
|                                | 腺苷 adenosine                              | ↑        | —                     | —                            |
|                                | 肌苷 inosine                                | ↑        | ↓                     | ↓                            |
| 脂代谢<br>fat metabolism          | α-亚麻酸 alpha-linolenic acid (C18:3)        | ↓        | ↓                     | ↓                            |
|                                | 二十二碳六烯酸 docosahexaenoic acid, DHA (C22:6) | ↓        | ↑                     | ↓                            |
|                                | 花生酸 arachidic acid (C20:0)                | ↓        | —                     | —                            |
|                                | 芥子酸 erucic acid (C22:1)                   | ↓        | —                     | ↓                            |
|                                | 花生四烯酸 arachidonic acid, ARA (C20:4)       | —        | ↓                     | ↓                            |
|                                | 二十碳五烯酸 eicosapentaenoic acid, EPA (C20:5) | —        | ↓                     | ↓                            |
|                                | 月桂酸 lauric acid (C12:0)                   | —        | ↑                     | —                            |
|                                | 磷脂酸 phosphatidic acid                     | ↓        | —                     | —                            |
|                                |                                           | —        | ↓                     | —                            |
|                                | 磷脂酰乙醇胺<br>phosphatidyl ethanolamine       | ↑        | ↑                     | —                            |
|                                |                                           | ↑        | ↑                     | —                            |
|                                |                                           | ↑        | —                     | ↑                            |
|                                |                                           | ↑        | —                     | —                            |
|                                |                                           | ↑        | —                     | ↑                            |
|                                |                                           | ↑        | —                     | —                            |
|                                | 磷脂酰胆碱 phosphatidylcholine                 | ↑        | —                     | —                            |
|                                |                                           | ↑        | —                     | —                            |
|                                |                                           | ↑        | —                     | ↑                            |
|                                |                                           | ↓        | —                     | ↑                            |
|                                |                                           | ↓        | —                     | ↑                            |
|                                |                                           | ↓        | —                     | ↑                            |
|                                |                                           | ↑        | —                     | ↑                            |
|                                |                                           | —        | —                     | ↑                            |
|                                |                                           | —        | —                     | ↑                            |
|                                |                                           | —        | ↓                     | —                            |
|                                | 磷脂酰甘油 phosphatidylglycerol                | —        | ↓                     | —                            |
|                                |                                           | —        | ↓                     | —                            |
|                                | 甘油二酯 diglyceride                          | ↓        | —                     | —                            |
|                                |                                           | ↓        | —                     | —                            |
|                                | 溶血磷脂酸 lysophosphatidic acid               | —        | ↓                     | —                            |
|                                | 溶血磷脂酰胆碱类<br>lysophosphatidylcholines      | —        | ↓                     | —                            |
|                                |                                           | —        | —                     | —                            |
|                                | 溶血磷脂酰胆碱类<br>lysophosphatidylcholines      | ↓        | ↓                     | ↓                            |
|                                |                                           | ↓        | ↓                     | ↓                            |
|                                |                                           | ↓        | ↓                     | ↓                            |
|                                |                                           | —        | ↓                     | ↓                            |
|                                |                                           | —        | ↑                     | ↓                            |

由图3 a 可知, 1 ng/mL 和 5 ng/mL 的 PFOS 暴露 30 d, 幼虾鳃中 SOD 活性均显著高于对照组 ( $P<0.05$ ), 分别为对照组的 132.58%和 124.22%; 1 ng/mL 实验组鳃中 SOD 活性在 PFOS 暴露第 58 d 受到显著诱导( $P<0.05$ ), 为对照组的 143.95%。PFOS 暴露 30 d, 1 ng/mL 实验组肝胰腺中 SOD 活性受到显著诱导( $P<0.05$ ), 为对照组的 136.10%; 5 ng/mL 实验组胃肠道中 SOD 活性显著低于对照组( $P<0.05$ ), 为对照组的 67%。其余各实验组与对照组间无显著差异。

PFOS 对幼虾 CAT 活性的影响结果见图 3 b, 幼虾鳃和肝胰腺中 CAT 活性与对照组均无显著差异, PFOS 暴露 30 d 和 58 d, 5 ng/mL 实验组胃肠道中 CAT 活性显著低于对照组( $P<0.05$ ), 分别为对

照组的 59.07%和 34.00%。

由图 3 c 可得, PFOS 暴露 30 d, 0.1 ng/mL 和 5 ng/mL 实验组鳃 ACP 活性受到显著诱导( $P<0.05$ ), 分别为对照组的 150%和 166.31%; 1 ng/mL 实验组鳃 ACP 活性在 PFOS 暴露 58 d 显著高于对照组( $P<0.05$ ), 为对照组的 145.18%。PFOS 胁迫 30 d, 各实验组肝胰腺 ACP 活性均受到显著诱导( $P<0.05$ ), 分别为对照组的 177.24%、185.31%和 151.85%, 胁迫 58 d, 各实验组肝胰腺 ACP 活性与对照组无显著差异。幼虾胃肠道中 ACP 活性与对照组均无显著差异。

图 3 d 为幼虾各组织中 MDA 含量的变化。当 PFOS 暴露 30 d 时, 高浓度组(5 ng/mL)鳃中 MDA 含量显著( $P<0.05$ )高于对照组, 为对照组的 162%,

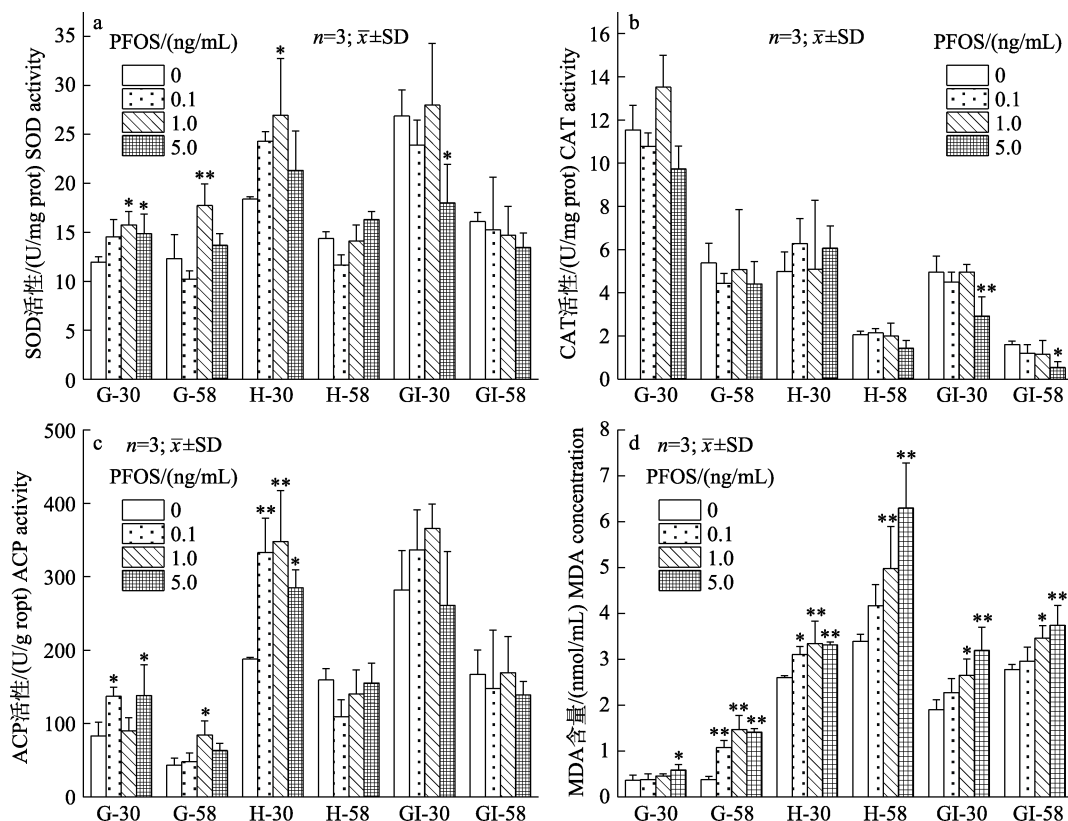


图3 PFOS胁迫对罗氏沼虾幼虾 SOD(a)、CAT(b)、ACP(c)和MDA(d)活性的影响

G-30 (58): PFOS 暴露 30 d (58 d)对幼虾鳃抗氧化酶的影响, H-30 (58): PFOS 暴露 30 d (58 d)对幼虾肝胰腺抗氧化酶的影响,

GI-30(58): PFOS 暴露 30 d (58 d)对幼虾胃肠道抗氧化酶的影响。“\*”: 实验组与对照组存在显著差异( $P<0.05$ ),

“\*\*\*”: 实验组与对照组存在极显著差异( $P<0.01$ ).

Fig. 3 Effects of PFOS stress on SOD(a), CAT(b), ACP(c) and MDA(d) activities in *Macrobrachium rosenbergii* juvenile. G-30 (58): effect of PFOS exposure for 30 d (58 d) on antioxidant enzymes in the gills of juvenile shrimp. H-30 (58): effect of PFOS exposure for 30 d (58 d) on antioxidant enzymes in the hepatopancreas of juvenile shrimp. GI-30 (58): effect of PFOS exposure for 30 d (58 d) on antioxidant enzymes in the gastrointestinal tract of juvenile shrimp, “\*”: significant difference between experimental group and control ( $P<0.05$ ); “\*\*\*”: extremely significant difference between experimental group and control ( $P<0.01$ ).

低浓度组和空白对照无显著性差异;胁迫 58 d, 各浓度组鳃 MDA 含量均极显著受到诱导( $P < 0.01$ ), 分别为对照组的 283.14%、386.97%和 372.1%。PFOS 暴露 30 d, 各实验组肝胰腺 MDA 含量均显著受到诱导( $P < 0.05$ ), 分别为对照组的 119.45%、128.52%和 127.56%, 胁迫 58 d, 1 ng/mL 和 5 ng/mL 实验组肝胰腺 MDA 含量显著高于对照组( $P < 0.05$ ), 分别为对照组的 146.78%和 185.52%。PFOS 暴露下, 低浓度组(0.1 ng/mL)幼虾胃肠道中 MDA 含量与对照组无显著差异, 1 ng/mL 和 5 ng/mL 实验组胃肠道 MDA 含量显著高于对照组( $P < 0.05$ ), 胁迫 30 d, 1 ng/mL 和 5 ng/mL 实验组分别为对照组的 139.47%和 168.19%, 胁迫 58 d, 1 ng/mL 和 5 ng/mL 实验组分别为对照组的 139.47%和 168.19%。

### 3 讨论

研究证明 PFOS 可通过食物链在水生生物体中蓄积, 并对生物体的肝及神经组织等造成伤害<sup>[23]</sup>。Lu 等<sup>[24]</sup>研究表明 PFOS 会影响水蚤(*Daphnia magna*)神经系统协调, 水蚤附肢运动减弱, 食物摄入量降低; Chen 等<sup>[25]</sup>发现 PFOS 可引起秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)运动行为下降, 对秀丽隐杆线虫产生神经毒性。本实验中, PFOS 急性胁迫下, 罗氏沼虾幼虾随着暴露时间的延长活力减弱, 部分幼虾侧卧在烧杯底部, 无力游动, 幼虾体内 Glu 含量及 Try 的相对含量与对照组相比有所差异。因为 Glu 是一种兴奋性神经递质<sup>[26]</sup>, 从而证实了 PFOS 对幼虾神经系统造成影响的可能性; Try 是 5-羟色胺和褪黑激素的前体, 后者可调节生物的行为<sup>[27]</sup>, 因此, 暴露于 PFOS 可能会对幼虾的神经系统和行为产生影响, 这与 Jantzen 等<sup>[28]</sup>和夏继刚等<sup>[29]</sup>发现 PFOS 可影响斑马鱼(*Danio rerio*)行为结果相似。

PFOS 对幼虾的代谢组学实验结果显示, 20 ng/mL 的 PFOS 胁迫幼虾 24 h 后, 幼虾鳃、肝胰腺和胃肠道中 Arg、肌苷、次黄嘌呤、DHA、亚麻酸、EPA、ARA 和甘油磷脂类代谢失调, 这些差异代谢物主要涉及氨基酸代谢、嘌呤代谢和脂肪酸代谢等代谢通路。研究表明, Arg 是合成蛋

白质、鸟氨酸等的前体, 它们在谷氨酸和脯氨酸的代谢、免疫反应、氨解毒和能量代谢的调节中起重要作用<sup>[30]</sup>; 肌苷和次黄嘌呤是嘌呤代谢过程的重要组成部分, 参与各种细胞代谢, 嘌呤代谢失衡与多种疾病有关<sup>[31]</sup>; DHA 是膜结构脂质的组成部分, 尤其是神经组织中的磷脂, 对幼体发育具有重要的生理意义<sup>[32]</sup>; 亚麻酸是水产动物的必需脂肪酸, 对水产动物抗氧化能力和免疫功能有着重要的作用<sup>[33-34]</sup>, 此外, 有研究表明, 亚麻酸可被生物转化为 EPA 和 DHA<sup>[35]</sup>; ARA 可提高鱼类面对环境压力时的抗应激能力, 并增加其存活的可能<sup>[36]</sup>; EPA 和 ARA 具有参与调节炎症和免疫反应等功能<sup>[32]</sup>; 磷脂类是细胞膜的重要组成部分, 而细胞膜是细胞代谢、能量代谢和信号传导的基础, 因此磷脂类对生物体内的代谢能力和免疫能力至关重要<sup>[37]</sup>。因此, Arg、肌苷、次黄嘌呤、DHA、亚麻酸、EPA、ARA 和甘油磷脂类的失调可能会影响各种细胞功能和膜蛋白, 并对幼虾的免疫功能造成影响。综上所述, PFOS 可造成幼虾氨基酸代谢、嘌呤代谢和脂肪酸代谢紊乱, 对幼虾具有毒性效应, 这与 Kim 等<sup>[38]</sup>研究发现 PFOS 导致秀丽隐杆线虫氨基酸代谢和脂代谢紊乱结果相似。

研究表明, 所有细胞成分都可能受到氧自由基的破坏, 形成带过氧基的脂质<sup>[39]</sup>, 这种脂质过氧化反应遇到 SOD、CAT 等抗氧化物质后终止。MDA 含量的高低体现了自由基对机体细胞损伤的严重程度<sup>[40]</sup>, 其含量越高, 机体膜脂质过氧化损伤越严重。SOD 是抵抗氧化应激的第一道防线, 可以歧化超氧阴离子为过氧化氢, CAT 可将过氧化氢分解为水<sup>[41]</sup>, ACP 是甲壳类动物的免疫防御系统中重要的非特异性磷酸水解酶, 与免疫功能调节有关<sup>[42]</sup>。Zou 等<sup>[43]</sup>研究表明 PFOS 可以诱导斑马鱼幼鱼产生氧化应激反应, Fang 等<sup>[44]</sup>研究表明, 青鳉(*Oryzias latipes*)幼体暴露于 PFOS 中会改变鱼类幼体的免疫调节功能, 导致鱼类幼体的免疫系统功能障碍或虚弱, 并对鱼类幼体的健康造成各种不利影响。袁璐瑶<sup>[45]</sup>研究发现, 中高浓度的 PFOS 诱导斑马鱼内脏团中 SOD、CAT 和 MDA 活性显著上升, 肌肉中 MDA 含量上升, SOD 活性受到抑制。有研究表明, 短时间内低浓

度污染物与生物体内抗氧化酶活性成正比,但随着暴露时间的延长高浓度污染物胁迫机体产生的氧自由基超出抗氧化酶清除极限,对抗氧化酶活性产生抑制,即“毒物兴奋效应”<sup>[46]</sup>。本实验中,与对照组相比,鳃、肝胰腺和胃肠道中MDA含量均随着PFOS胁迫浓度的增加、暴露时间的延长而受到显著诱导,表现出剂量时间效应,表明PFOS破坏了幼虾各组织中的氧化还原平衡,幼虾鳃、肝胰腺和胃肠道中ROS积累超出了机体的清除能力,从而对幼虾鳃、肝胰腺和胃肠道均造成损伤。这与潘伟一等<sup>[23]</sup>发现PFOS可以引起斑马鱼发生氧化应激反应,并对鱼体造成氧化受损,致使细胞内动态平衡被打破产生ROS结果相似。鳃和肝胰腺实验组中SOD和CAT活性随着暴露时间的延长先升高后降低,符合“毒物兴奋效应”,这与Touaylia等<sup>[47]</sup>研究发现低浓度PFOS暴露后甲壳动物(*Crustacean gammarus*)体内SOD活性增加,高浓度PFOS暴露后SOD活性下降结果相似。胃肠道中SOD和CAT活性随着暴露时间的延长而受到抑制,这可能因为幼虾胃肠道解毒功能弱,易被氧自由基攻击。PFOS暴露30 d,幼虾鳃、肝胰腺和胃肠道中ACP活性均受到诱导,幼虾的非特异性免疫能力提高,PFOS暴露58 d,幼虾鳃ACP活性与对照组相比显著升高,表明PFOS对幼虾免疫功能有所影响。综上所述,PFOS慢性暴露可导致罗氏沼虾幼虾体内ROS积累过量,诱发了氧化应激,随着暴露时间的延长,PFOS暴露产生的ROS超过SOD和CAT等抗氧化酶可清除的ROS量,抗氧化酶的活性降低,造成幼虾鳃、肝胰腺和胃肠道组织发生氧化损伤,并影响幼虾非特异免疫功能。氧化应激和细胞损伤可能是PFOS对幼虾的主要机制之<sup>[47]</sup>,这与Chen等<sup>[25]</sup>研究发现PFOS暴露会诱导细胞损伤与凋亡,细胞内MDA和SOD活性显著增加结果相似。

肝是最重要的解毒器官,也是生物被外界毒物感染时最重要的靶器官<sup>[48]</sup>。姚丹等<sup>[49]</sup>研究发现PFOS长期暴露会导致斑马鱼肝发生氧化损伤,并促进肝脂肪积累。Guo等<sup>[48]</sup>研究发现PFOS可通过改变雄性斑马鱼肝的正常结构、免疫相关酶的活性以及参与肝免疫调节的一系列基因转录来

抑制斑马鱼生长并干扰斑马鱼免疫系统。Cheng等<sup>[50]</sup>研究表明,PFOS可以通过干扰脂质生物合成,脂肪酸 $\beta$ -氧化和脂蛋白的合成,从而引起斑马鱼的肝脂肪变性,这是PFOS的肝毒性的重要机制。本研究中,PFOS急性暴露后,幼虾肝胰腺磷脂代谢发生紊乱,慢性暴露下,幼虾肝胰腺中MDA含量显著上升,SOD活性呈降低趋势,高浓度组CAT活性显著低于对照组,推测PFOS通过对幼虾肝胰腺造成氧化损伤从而对幼虾具有肝毒性。这与党红蕾等<sup>[51]</sup>研究发现PFOS可引起半滑舌鳎肝细胞产生氧化应激反应、张宵月等<sup>[52]</sup>发现PFOS可引起氧化应激反应从而对小鼠具有肝毒性结果相似。此外,有研究表明,全氟辛烷磺酸会破坏肠道环境的微生物群和屏障功能等从而加剧与肝和肠道与代谢紊乱有关的毒性<sup>[53]</sup>。本实验中,PFOS暴露下,幼虾鳃和胃肠道代谢紊乱,且发生免疫应激反应,推测PFOS可通过影响幼虾胃肠道进一步引发肝毒性,也由此可知PFOS不仅可对幼虾解毒系统造成损伤,同时也可影响幼虾呼吸系统与消化系统的正常功能,从而对幼虾具有毒性效应。

#### 4 结论

PFOS对罗氏沼虾幼虾的96 hLC<sub>50</sub>为(0.68±0.22) mg/L,安全浓度为0.068 mg/L,罗氏沼虾幼虾对水体中的PFOS污染敏感。

PFOS会扰乱罗氏沼虾幼虾鳃组织、肝胰腺组织和胃肠道组织的生理代谢,造成幼虾氨基酸代谢、嘌呤代谢、脂肪酸代谢和磷脂类代谢紊乱。慢性胁迫下,PFOS诱导幼虾鳃、肝胰腺和胃肠道组织中MDA含量上升,SOD、CAT和ACP活性受到一定的诱导或抑制,造成幼虾鳃、肝胰腺和胃肠道组织发生氧化损伤,并对幼虾免疫系统造成影响。

#### 参考文献:

- [1] Mahinroosta R, Senevirathna L, Li M, et al. A methodology for transport modelling of a contaminated site with per-fluorooctane sulfonate due to climate interaction[J]. Process Safety and Environmental Protection, 2021, 147: 642-653.
- [2] Cordner A, de la Rosa V Y, Schaidler L A, et al. Guideline

- levels for PFOA and PFOS in drinking water: The role of scientific uncertainty, risk assessment decisions, and social factors[J]. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*, 2019, 29(2): 157-171.
- [3] Ololade I A, Oladoja N A, Ololade O O, et al. Geographical distribution of perfluorooctanesulfonate and perfluorooctanoate in selected rivers from Nigeria[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2018, 6(4): 4061-4069.
- [4] Kleywegt S, Raby M, McGill S, et al. The impact of risk management measures on the concentrations of per- and polyfluoroalkyl substances in source and treated drinking waters in Ontario, Canada[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 748: 141195.
- [5] Lu Y, Hua Z L, Chu K J, et al. Distribution behavior and risk assessment of emerging perfluoroalkyl acids in multiple environmental media at Luoma Lake, East China[J]. *Environmental Research*, 2021, 194: 110733.
- [6] Chen M, Zhu L Y, Wang Q, et al. Tissue distribution and bioaccumulation of legacy and emerging per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in edible fishes from Taihu Lake, China[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 268: 115887.
- [7] Zhou D F, Lü L, Zhou J G, et al. Residual characteristics and source of perfluorinated compounds in *Monopterus albus* of the Yangtze River[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2018, 39(5): 158-165. [周殿芳, 吕磊, 周剑光, 等. 长江流域黄鳝中全氟化合物的残留特征及其来源探讨[J]. *渔业科学进展*, 2018, 39(5): 158-165.]
- [8] Groffen T, Rijnders J, van Doorn L, et al. Preliminary study on the distribution of metals and persistent organic pollutants (POPs), including perfluoroalkylated acids (PFAS), in the aquatic environment near Morogoro, Tanzania, and the potential health risks for humans[J]. *Environmental Research*, 2021, 192: 110299.
- [9] Catherine M, Nadège B, Charles P, et al. Perfluoroalkyl substances (PFASs) in the marine environment: Spatial distribution and temporal profile shifts in shellfish from French coasts[J]. *Chemosphere*, 2019, 228: 640-648.
- [10] Niu B, Xu S Y, Zhao C M, et al. Research progress on detection methods for perfluorooctane sulfonic acid (PFOS) in food contact materials[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2020, 36(11): 296-304. [钮冰, 徐思雁, 赵超敏, 等. 食品接触材料中全氟辛烷磺酸(PFOS)检测方法的研究进展[J]. *现代食品科技*, 2020, 36(11): 296-304.]
- [11] Suski J G, Salice C J, Chanov M K, et al. Sensitivity and accumulation of perfluorooctanesulfonate and perfluorohexanesulfonic acid in fathead minnows (*Pimephales promelas*) exposed over critical life stages of reproduction and development[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2021, 40(3): 811-819.
- [12] Flynn R W, Chislock M F, Gannon M E, et al. Acute and chronic effects of perfluoroalkyl substance mixtures on larval American bullfrogs (*Rana catesbeiana*)[J]. *Chemosphere*, 2019, 236: 124350.
- [13] Li X X, Zhou Y F, Jiang Q, et al. Virulence properties of *Vibrio vulnificus* isolated from diseased zoea of freshwater shrimp *Macrobrachium rosenbergii*[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2019, 127: 166-171.
- [14] Wang Y B, Wang J X, Liu C Q, et al. Research progress of water quality factors on the growth and toxicity of *Macrobrachium rosenbergii*[J]. *Hebei Fisheries*, 2008(4): 1-3, 8. [王亚斌, 王军霞, 刘存歧, 等. 水质因子对罗氏沼虾生长及毒性的研究进展[J]. *河北渔业*, 2008(4): 1-3, 8.]
- [15] Liu Y Y, Xia X F, Xu K, et al. Research process on pollution risk control of PFCs[J]. *Journal of Wuhan University of Technology (Information & Management Engineering)*, 2019, 41(5): 491-496. [刘艳艳, 夏秀峰, 许楷, 等. 全氟化合物污染风险控制研究进展[J]. *武汉理工大学学报(信息与管理工程版)*, 2019, 41(5): 491-496.]
- [16] Lindim C, van Gils J, Cousins I T. Europe-wide estuarine export and surface water concentrations of PFOS and PFOA[J]. *Water Research*, 2016, 103: 124-132.
- [17] Li Z. Distribution and risk assessment of perfluoroalkyl substances in lakes from the middle reach of Yangtze River, China[D]. Wuhan: Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, 2019. [李珍. 长江中游地区湖泊全氟化合物的污染特征及生态风险评估[D]. 武汉: 中国科学院大学(中国科学院武汉植物园), 2019.]
- [18] Sant K E, Annunziato K, Conlin S, et al. Developmental exposures to perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) impact embryonic nutrition, pancreatic morphology, and adiposity in the zebrafish, *Danio rerio*[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 275: 116644.
- [19] Khansari M R, Yousefsani B S, Kobarfard F, et al. *In vitro* toxicity of perfluorooctane sulfonate on rat liver hepatocytes: Probability of destructive binding to CYP 2E1 and involvement of cellular proteolysis[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2017, 24(29): 23382-23388.
- [20] Xu M C. Research on the mouse hepatomegaly, oxidative stress and related effects induced by perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate[D]. Jinan: Shandong University, 2020. [胥梦晨. 全氟辛酸和全氟辛烷磺酸诱发小鼠肝肿大、氧化应激及相关效应的研究[D]. 济南: 山东大学, 2020.]
- [21] Zhou Y X, Zhang Z S. Aquatic Organism Toxicity Test Me-

- Method[M]. Beijing: Agriculture Press, 1989: 1-157. [周永欣, 章宗涉. 水生生物毒性试验方法[M]. 北京: 农业出版社, 1989: 1-157.]
- [22] Standardization Administiry. GB/T 21281-2007, Test method of fish acute toxicity for dangerous chemical products[S]. Beijing: Standards Press of China, 2008. [中国国家标准化管理委员会. GB/T 21281-2007, 危险化学品鱼类急性毒性分级试验方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.]
- [23] Pan W Y. Biototoxicological effects and risk assessment of zebrafish by PFOS and PFOA[D]. Shijiazhuang: Hebei University of Science and Technology, 2019. [潘伟一. PFOS 和 PFOA 对斑马鱼的生物毒理效应及其风险评估研究[D]. 石家庄: 河北科技大学, 2019.]
- [24] Lu G H, Liu J C, Sun L S, et al. Toxicity of perfluorononanoic acid and perfluorooctane sulfonate to *Daphnia magna*[J]. Water Science and Engineering, 2015, 8(1): 40-48.
- [25] Chen N, Li J, Li D, et al. Chronic exposure to perfluorooctane sulfonate induces behavior defects and neurotoxicity through oxidative damages, *in vivo* and *in vitro*[J]. PLoS ONE, 2014, 9(11): e113453.
- [26] Jiang B, Wang B, Wang X, et al. Subacute exposure to beta-cypermethrin caused the dysfunction of glutamate metabolism in mice brain[J]. Journal of Toxicology, 2020, 34(5): 400-404. [姜波, 王斌, 王晓, 等. 乙体氯氰菊酯亚急性染毒对小鼠脑组织谷氨酸代谢的影响[J]. 毒理学杂志, 2020, 34(5): 400-404.]
- [27] van der Goot A T, Nollen E A A. Tryptophan metabolism: Entering the field of aging and age-related pathologies[J]. Trends in Molecular Medicine, 2013, 19(6): 336-344.
- [28] Jantzen C E, Annunziato K M, Cooper K R. Behavioral, morphometric, and gene expression effects in adult zebrafish (*Danio rerio*) embryonically exposed to PFOA, PFOS, and PFNA[J]. Aquatic Toxicology, 2016, 180: 123-130.
- [29] Xia J G, Niu C J, Sun L Y. Ecotoxicological effects of exposure to PFOS on embryo and larva of zebrafish *Danio rerio*[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(23): 7408-7416. [夏继刚, 牛翠娟, 孙麓垠. PFOS 对斑马鱼胚胎及仔鱼的生态毒理效应[J]. 生态学报, 2013, 33(23): 7408-7416.]
- [30] Wei Y L, Zhang Q G, Jia L L, et al. Effects of dietary arginine levels on growth, intestinal peptide and amino acid transporters, and gene expressions of the TOR signaling pathway in tiger puffer, *Takifugu rubripes*[J]. Aquaculture, 2021, 532: 736086.
- [31] Marsac R, Pinson B, Saint-Marc C, et al. Purine homeostasis is necessary for developmental timing, germline maintenance and muscle integrity in *Caenorhabditis elegans*[J]. Genetics, 2019, 211(4): 1297-1313.
- [32] Li H Q. Study on effects and mechanisms of dietary unsaturated fatty acids on tissue conjugated linoleic acid (CLA) synthesis of Tan sheep[D]. Yinchuan: Ningxia University, 2019. [李海庆. 日粮不饱和脂肪酸对滩羊体脂 CLA 调控作用及机理研究[D]. 银川: 宁夏大学, 2019.]
- [33] Wang J Y. Effects of dietary linolenic acid levels on growth, antioxidant capacity and lipid metabolism of *Rhynchocypris lagowskii* Dybowski[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2019. [王婧瑶. 饲料亚麻酸水平对洛氏鲮生长、抗氧化能力及脂质代谢的影响[D]. 长春: 吉林农业大学, 2019.]
- [34] Luo N. Dietary linoleic acid nutrition study in oriental river prawn, *Macrobrachium nipponense*[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2017. [罗娜. 日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)饲料亚麻酸营养生理研究[D]. 大连: 大连海洋大学, 2017.]
- [35] Leung K S, Galano J M, Oger C, et al. Enrichment of alpha-linolenic acid in rodent diet reduced oxidative stress and inflammation during myocardial infarction[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2021, 162: 53-64.
- [36] Bessonart M, Izquierdo M S, Salhi M, et al. Effect of dietary arachidonic acid levels on growth and survival of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae[J]. Aquaculture, 1999, 179(1-4): 265-275.
- [37] Cao D, Qiu A Y, Wang X G. The structure, properties, function and research status of phospholipids (2)[J]. Cereals & Oils, 2004, 17(6): 13-16. [曹栋, 裘爱泳, 王兴国. 磷脂结构、性质、功能及研究现状(2)[J]. 粮食与油脂, 2004, 17(6): 13-16.]
- [38] Kim H M, Long N P, Yoon S J, et al. Omics approach reveals perturbation of metabolism and phenotype in *Caenorhabditis elegans* triggered by perfluorinated compounds[J]. Science of the Total Environment, 2020, 703: 135500.
- [39] Kirici M, Turk C, Caglayan C, et al. Toxic effects of copper sulphate pentahydrate on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation of freshwater fish *Capoeta umbla* (Heckel, 1843) tissues[J]. Applied Ecology and Environmental Research, 2017, 15(3): 1685-1696.
- [40] Xie W, Guo R, Xia H, et al. Damage mechanism of aflatoxin B<sub>1</sub> on antioxidant enzyme in hepatopancreas of juvenile *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(3): 448-455. [解伟, 郭冉, 夏辉, 等. 黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 对凡纳滨对虾幼虾肝胰腺抗氧化酶的损伤机制[J]. 水产学报, 2017, 41(3): 448-455.]
- [41] Liu L, Zhao Q F, Jin K X, et al. Toxic effect of nano-ZnO in liver of zebrafish[J]. Environmental Science, 2015, 36(10): 3884-3891. [刘林, 赵群芬, 金凯星, 等. 纳米氧化锌对斑马鱼肝脏的毒性效应[J]. 环境科学, 2015, 36(10): 3884-

- 3891.]
- [42] Long X W, Wu X G, Zhao L, et al. Effects of dietary supplementation with *Haematococcus pluvialis* cell powder on coloration, ovarian development and antioxidation capacity of adult female Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*[J]. Aquaculture, 2017, 473: 545-553.
- [43] Zou Y L, Wu Y M, Wang Q Y, et al. Comparison of toxicokinetics and toxic effects of PFOS and its novel alternative OBS in zebrafish larvae[J]. Chemosphere, 2021, 265: 129116.
- [44] Fang C, Huang Q S, Ye T, et al. Embryonic exposure to PFOS induces immunosuppression in the fish larvae of marine medaka[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2013, 92: 104-111.
- [45] Yuan L Y, Pan R L, Jiang M. Effects of PFOS on the physiological and biochemical indices of *Danio rerio*[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2015, 24(6): 869-879. [袁璐瑶, 潘若雷, 江敏. 全氟辛烷磺酸对斑马鱼生理生化指标的影响研究[J]. 上海海洋大学学报, 2015, 24(6): 869-879.]
- [46] Jiang T J, Zeng M, Niu T. Effects of heavy metal  $Cd^{2+}$  on superoxide dismutase (SOD) activity of *Crassostrea rivularis*[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2006, 25(6): 63-67. [江天久, 曾森, 牛涛. 重金属  $Cd^{2+}$  胁迫对近江牡蛎超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 热带海洋学报, 2006, 25(6): 63-67.]
- [47] Touaylia S, Khazri A, Mezni A, et al. Effects of emerging persistent organic pollutant perfluorooctane sulfonate (PFOS) on the Crustacean *Gammarus insensibilis*[J]. Human and Ecological Risk Assessment: an International Journal, 2019, 25(8): 2133-2141.
- [48] Guo J S, Wu P H, Cao J L, et al. The PFOS disturbed immunomodulatory functions via nuclear Factor- $\kappa$ B signaling in liver of zebrafish (*Danio rerio*)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2019, 91: 87-98.
- [49] Yao D. Effects of perfluorooctane sulfonate (PFOS) on liver and muscle of *Danio rerio*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2018. [姚丹. 全氟辛烷磺酸(PFOS)对斑马鱼肝脏和肌肉的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2018.]
- [50] Cheng J F, Lv S P, Nie S F, et al. Chronic perfluorooctane sulfonate (PFOS) exposure induces hepatic steatosis in zebrafish[J]. Aquatic Toxicology, 2016, 176: 45-52.
- [51] Dang H L, Na G S, Gao H, et al. Toxicity effects of perfluorooctane sulfonate (PFOS) on liver cells of *Cynoglossus semilaevis*[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2015, 10(4): 162-169. [党红蕾, 那广水, 高会, 等. 全氟辛烷磺酸(PFOS)对半滑舌鳎肝脏细胞的毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2015, 10(4): 162-169.]
- [52] Zhang X Y, Xiao J, Xu M M, et al. The mechanism of PFOS inducing liver toxicity in rats[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2018, 13(6): 226-233. [张宵月, 肖静, 徐苗苗, 等. PFOS致大鼠肝毒性及其作用机制研究[J]. 生态毒理学报, 2018, 13(6): 226-233.]
- [53] Wang G, Sun S S, Wu X B, et al. Intestinal environmental disorders associate with the tissue damages induced by perfluorooctane sulfonate exposure[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2020, 197: 110590.

## Effects of PFOS on the metabolism and antioxidant enzymes of juvenile *Macrobrachium rosenbergii*

XU Jia<sup>1</sup>, JIANG Min<sup>1,2</sup>, WU Hao<sup>3</sup>, ZHENG Lili<sup>1</sup>, LIU Xiaonan<sup>1</sup>

1. College of Marine Ecology and Environment, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

2. Shanghai University Engineering Research Center for Water Environment Ecology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

3. College of Fisheries and Life, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

**Abstract:** This article preliminarily discusses the effects of perfluorooctane sulfonate (PFOS) on the acute lethality and metabolism of *Macrobrachium rosenbergii* juveniles using a hydrostatic toxicity experiment and non-targeted metabolomics. Additionally, a chronic toxicity experiment was used to analyze changes to antioxidant enzyme activities in the gills, hepatopancreas, and gastrointestinal tract of juvenile shrimp under PFOS stress (0.1, 1, 5 ng/mL). The results showed that the 96 h half-lethal concentration of PFOS stress on *Macrobrachium rosenbergii* was (0.68±0.22) mg/L, and the safe concentration was 0.068 mg/L. Following 24 h of PFOS stress (20 ng/mL), 30 metabolic compounds with significant differences were identified in the gills of juvenile shrimps, 19 significantly differential metabolic compounds were identified in the hepatopancreas, and 24 metabolic compounds with significant differences were identified in the gastrointestinal tract. These metabolic compounds with significant differences were involved amino acid metabolism, fatty acid metabolism, and phospholipid metabolism. Under chronic PFOS stress, different exposure times and concentrations of PFOS may affect the activities of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and acid phosphatase (ACP) of *Macrobrachium rosenbergii*. There were also differences in the effects of phosphatase (ACP) activity, the activities of SOD, CAT, and ACP were inhibited, and the MDA content increased with prolonged exposure time. In summary, it is speculated that PFOS can cause oxidative damage to the gills, hepatopancreas, and gastrointestinal tissues of juvenile shrimp, it also affects the physiological metabolism of *Macrobrachium rosenbergii*. The results provide basic data and a reference to explore the toxic effects of PFOS on aquatic organisms.

**Key words:** *Macrobrachium rosenbergii*, perfluorooctane sulfonic acid, half-lethal concentration, differential metabolites, metabolomics, antioxidant enzymes

**Corresponding author:** JIANG Min. E-mail: mjiang@shou.edu.cn