

氯霉素对大型溞的急性和慢性毒性效应

胡婷婷, 吴慧明, 陈颖, 顾丹璐, 刘训悦* (浙江农林大学, 浙江杭州 311300)

摘要 [目的]评价氯霉素对水生生物的生态风险。[方法]以大型溞为研究对象,探讨不同浓度氯霉素对大型溞急性和慢性毒性。[结果]急性毒性试验结果表明,氯霉素对大型溞的48 h-EC₅₀值为175.846 mg/L,属于低等毒性。21 d慢性毒性试验中各浓度处理对大型溞生长繁殖相关指标有不同程度的影响,且子代出现了不同程度的畸形现象。[结论]该研究结果为氯霉素水生生态毒性评价提供理论依据。

关键词 氯霉素;大型溞;慢性毒性

中图分类号 S948 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)36-0052-03

Acute and Chronic Toxicity of Chloramphenicol to *Daphnia magna*

HU Ting-ting, WU Hui-ming, CHEN Ying, LIU Xun-yue* et al (Zhejiang A&F University, Hangzhou, Zhejiang 311300)

Abstract [Objective] In order to evaluate the ecological risk to aquatic organism. [Method] The acute and chronic toxicity of Chloramphenicol under different concentration on *Daphnia magna* was conducted. [Result] Acute toxicity test indicated that Chloramphenicol had low acute toxicity against *Daphnia magna*, the 48 h-EC₅₀ was 175.846 mg/L. The 21 d chronic toxicity results showed Chloramphenicol exposure can effect the indices of *Daphnia magna* growth and reproduction, even malformation. [Conclusion] The study can provide reference for the safety evaluation of Chloramphenicol.

Key words Chloramphenicol; *Daphnia magna*; Chronic toxicity

近年来,越来越多的抗生素类药物用于在医疗、畜禽和水产养殖业,由于机体代谢率低,抗生素难以被完全吸收。Kumar等^[1]研究发现,40%~90%的抗生素会以母体或者代谢物的形式随尿液或粪便排出体外,对生态环境产生毒害,最终影响人类健康。环境中抗生素大多数会进入水环境,直接对浮游动植物造成毒害^[2-3]。目前,相关研究表明,各国家和地区地表水、地下水和饮用水的抗生素污染比较普遍^[4]。Mellon等^[5]在大型养殖场的污水处理池中检测到红霉素、罗红霉素和磺胺甲恶唑。章强等^[6]对上海市水环境中抗生素的种类及其污染水平进行调查,发现长江口水体中磺胺类和氯霉素类抗生素含量较高。

氯霉素是畜禽业和水产养殖业上广泛使用的一种广谱性抗生素,能抑制多种好氧和厌氧菌感染,会造成再生障碍性贫血、神经系统受损和灰婴综合征等不良副作用^[7-8]。2002年我国农业部正式将氯霉素作为禁药列出,但水产养殖中违规添加氯霉素的行为屡见不鲜。徐维海等^[9]对珠江广州河段水体中抗生素含量的检测数据发现,枯季和洪季河水中氯霉素的含量分别为54~187和11~266 ng/L,检出率达100%。由此可见,水体环境中的氯霉素污染不容忽视。目前,其生态毒理学方面的研究也越来越多,但主要集中于氯霉素对哺乳动物的毒性研究,对水生生物非靶标生物的研究相对较少。大型溞(*Daphnia magna*)广泛分布于淡水水域,因对环境变化敏感性高、繁殖周期短和易培养等优点在国际毒理学研究中常作为模式生物,被广泛应用于化学物质的水

生生态毒性研究^[10-12]。笔者以大型溞为对象,研究不同浓度氯霉素暴露下的急性毒性和慢性毒性效应,旨在为抗生素的毒理学研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 氯霉素原药(Fluka公司,纯度>98%);单道可调量程移液器(艾本德股份公司);SMZ-140体视显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司);尼康Eclipse 80i显微镜(尼康公司)。

1.2 试验生物 大型溞为浙江大学农药与环境毒理研究所引种的62 D. M纯品系生物株,采用经曝气的M4培养液培养(20±2℃,光照:黑暗为16 h:8 h),培养密度为每只溞50 mL培养液,每2 d更换1次培养液,每天喂食小球藻。投饵密度 $2.0 \times 10^5 \sim 3.0 \times 10^5$ 个/mL,每天监测小球藻密度。

1.3 试验方法

1.3.1 急性活动抑制试验。挑取个体大、怀卵多、游泳能力强的母溞单独培养,对产下的幼溞进行试验(溞龄小于24 h)。根据预试验结果,设置氯霉素浓度为0、30、60、120、240 mg/L,每个浓度20只溞,分成4组,每组5只幼溞,试验期间不对受试溞进行投喂,分别于24、48 h后观察并记录幼溞的活动抑制情况^[13]。

1.3.2 慢性繁殖试验。慢性繁殖试验参照OECD化学品测试准则“211”^[14],采用半静态法,每隔48 h更换试验溶液,每天投喂新鲜小球藻。根据急性活性抑制试验结果设置4个试验浓度,分别为48 h EC₅₀的1/135、1/45、1/15和1/5(1.304、3.911、11.730、35.200 mg/L),另设空白对照组(CK)。在100 mL加盖烧杯中加入50 mL溶液,1只幼溞,每个处理组20只幼溞。试验期内每隔24 h观察1次,新生的幼溞及时取出,并记录母溞的第1次产溞时间、第1次产溞数,计算整个试验期间的产溞次数、总产溞数、蜕壳次数、胎数、观察后代畸形和死亡率,并于21 d在体视镜下测量体长。采用Lotka方程 $\sum l_x m_x e^{-rx} = 1$ 计算内禀增长力(r_m),其中 l_x 为

基金项目 国家自然科学基金资助项目(11505155);浙江省自然科学基金项目(LY15B070008);浙江农林大学学生科研训练项目(113-2013200004);国家级大学生创新创业训练计划(201610341008)。

作者简介 胡婷婷(1996—),女,浙江青田人,本科生,专业:植物保护。*通讯作者,讲师,博士,从事污染物残留、去除和生态风险评估研究。

收稿日期 2017-10-25

第 x 天每只溞的存活率, m_x 为每只母溞在第 x 天的产溞数。

1.4 数据处理 运用 SPSS 19.0 数据处理软件中 Probit 模块求得大型溞 48 h - EC₅₀, 采用 Scheffe 检验法比较对照组与试验组间各指标的差异。

2 结果与分析

2.1 急性活动抑制试验结果 根据急性毒性的试验结果, 用 SPSS 19.0 统计软件求得氯霉素对大型溞 48 h - EC₅₀ 为 175.846 mg/L, 95% 置信区间为 148.607 6 ~ 251.923 0 mg/L, 剂量 - 效应方程为 $y = 7.254 3x - 11.286 8$ (相关系数 $r = 0.871 8$)。Wolleenberger 等^[15] 研究报道, 土霉素 48 h - EC₅₀ 约为 1 000 mg/L, 四环素对大型溞的 48 h - EC₅₀ 值为

617.2 mg/L, 金霉素对大型溞 48 h - EC₅₀ 值为 137.6 mg/L^[16]。由此可见, 不同抗生素对生物的毒性差异很大。根据国家环保局的新化学物质危害评估准则^[17] 中的危害分级标准, 确定氯霉素对大型溞低毒。

2.2 慢性繁殖试验

2.2.1 不同浓度氯霉素暴露下大型溞初次产卵时间和初次产卵数。 由表 1 可知, F₀ 代及 F₁ 代恢复条件下的大型溞的初次产溞时间受氯霉素影响不明显。F₁ 代 11.730 mg/L 浓度组染毒条件下第 1 次产溞时间显著 ($P < 0.05$) 短于 CK。氯霉素暴露下大型溞 F₀ 代、F₁ 代染毒以及 F₁ 代恢复条件下第 1 次产溞数与 CK 差异不显著。

表 1 大型溞 F₀ 代、F₁ 代染毒组及 F₁ 代恢复组每只母溞初次产卵时间和初次产卵数

Table 1 Days and number of first breeding in F₀ generation, F₁ generation poisoning group and F₁ generation recovery group of *D. magna*

氯霉素浓度 Chloramphenicol concentration mg/L	初次产溞时间 Days of first breeding//d			初次产溞数 Number of first breeding//代		
	F ₀ 代(染毒) F ₀ generation (Poisoning)	F ₁ 代(染毒) F ₁ generation (Poisoning)	F ₁ 代(恢复) F ₁ generation (Recovery)	F ₀ 代(染毒) F ₀ generation (Poisoning)	F ₁ 代(染毒) F ₁ generation (Poisoning)	F ₁ 代(恢复) F ₁ generation (Recovery)
	0(CK)	7.27 ± 0.31 a	7.87 ± 0.12 bc	7.87 ± 0.12 a	12.40 ± 0.20 a	14.20 ± 1.71 a
1.304	7.33 ± 0.42 a	8.07 ± 0.12 c	7.33 ± 0.12 a	12.93 ± 2.53 a	13.27 ± 0.12 a	14.00 ± 1.80 a
3.911	7.40 ± 0.20 a	8.27 ± 0.23 c	7.80 ± 0.20 a	11.73 ± 1.92 a	12.40 ± 1.22 a	12.67 ± 1.75 a
11.730	7.40 ± 0.20 a	7.13 ± 0.12 a	7.40 ± 0.40 a	10.27 ± 0.92 a	11.60 ± 1.93 a	13.53 ± 1.70 a
35.200	7.47 ± 0.12 a	7.60 ± 0.00 b	7.80 ± 0.00 a	9.20 ± 0.72 a	10.10 ± 2.70 a	11.80 ± 1.59 a

注: 同列不同字母表示处理间在 0.05 水平差异显著

Note: Different lowercase letters in same column indicate significantly differences at 0.05 level

2.2.2 不同浓度氯霉素暴露下大型溞产溞数和产胎数。 由表 2 可知, 氯霉素对 F₀ 代、F₁ 代染毒以及 F₁ 代恢复条件下的大型溞产幼溞数均有影响。3.911 mg/L 暴露条件下 F₀ 代产溞数显著 ($P < 0.05$) 高于 CK, 而其他浓度均未表现出显著差异 ($P > 0.05$)。各处理 F₁ 代产溞数明显低于 F₀ 代相应浓度的产幼溞数。F₁ 代染毒试验中, 除 1.304 mg/L 浓度处理外, 其余浓度处理的产溞数均显著低于 CK ($P < 0.05$)。在

F₁ 代恢复试验中, 所有浓度处理的产幼溞数均显著低于 CK ($P < 0.05$)。

21 d 的暴露试验, F₀ 代 CK 的产胎数平均为 7.87 代, 各染毒组与 CK 相比无显著差异 ($P > 0.05$), 而 F₁ 代产胎数均少于 F₀ 代相应浓度处理的产胎数。F₁ 代恢复条件下大型溞的产胎数与 CK 相比均无显著差异 ($P > 0.05$)。F₁ 代染毒条件下 11.730 mg/L 浓度处理的产胎数最多。

表 2 大型溞 F₀ 代、F₁ 代染毒组及 F₁ 代恢复组每只母溞产溞数和产胎数

Table 2 Number of neonates and eggs in F₀ generation, F₁ generation poisoning group and F₁ generation recovery group of *D. magna* 代

氯霉素浓度 Chloramphenicol concentration mg/L	每只母溞产溞数 Number of neonates			每只母溞产胎数 Number of eggs		
	F ₀ 代(染毒) F ₀ generation (Poisoning)	F ₁ 代(染毒) F ₁ generation (Poisoning)	F ₁ 代(恢复) F ₁ generation (Recovery)	F ₀ 代(染毒) F ₀ generation (Poisoning)	F ₁ 代(染毒) F ₁ generation (Poisoning)	F ₁ 代(恢复) F ₁ generation (Recovery)
	0(CK)	201.47 ± 1.94 ab	181.80 ± 8.84 c	181.80 ± 8.84 b	7.87 ± 0.12 a	7.00 ± 0.20 a
1.304	215.47 ± 4.16 bc	164.80 ± 1.91 bc	145.00 ± 4.00 a	7.93 ± 0.12 a	7.13 ± 0.12 ab	7.00 ± 0.00 a
3.911	220.87 ± 8.24 c	156.73 ± 4.10 b	159.67 ± 5.19 a	7.86 ± 0.23 a	7.00 ± 0.00 a	7.07 ± 0.12 a
11.730	205.87 ± 6.21 bc	156.67 ± 9.08 b	148.80 ± 2.65 a	7.80 ± 0.20 a	7.67 ± 0.31 b	7.33 ± 0.31 a
35.200	188.93 ± 2.81 a	130.33 ± 9.96 a	145.47 ± 4.35 a	7.47 ± 0.12 a	6.80 ± 0.20 a	7.00 ± 0.00 a

注: 同列不同小写字母表示处理间在 0.05 水平差异显著

Note: Different lowercase letters in same column indicate significantly differences at 0.05 level

2.2.3 不同浓度氯霉素暴露下大型溞 21 d 体长和蜕皮次数。 由表 3 可知, 低浓度暴露下 F₀ 代体长大于 CK, F₁ 代染毒组体长与 CK 比较, 无显著差异 ($P > 0.05$)。F₁ 代恢复条件下, 高于 3.911 mg/L 浓度后体长与 CK 相比显著减小 ($P < 0.05$)。F₁ 代染毒组体长与 F₁ 代恢复组相比有所增加。不同浓度氯霉素处理的 F₀ 代和 F₁ 代大型溞的蜕壳次数差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.2.4 不同浓度氯霉素暴露下大型溞的死亡率和内禀增长力。 由表 4 可知, 染毒条件下 F₀ 代在 21 d 内均未死亡, 但 F₁ 代的染毒和恢复试验中均出现了个体死亡, 即 11.730 和 35.200 mg/L 氯霉素暴露条件下 F₁ 代染毒组大型溞分别出现了 5% 和 10% 的死亡率, 而 F₁ 代恢复组中 1.304 mg/L 浓度组出现了 10% 的死亡率。由此推断, 氯霉素染毒后产生的 F₁ 代溞对环境的适应力有所下降。

内禀增长力可反映种群增长的瞬时速率。根据表4中大型蚤在不同浓度氯霉素暴露下F₀代、F₁代染毒及F₁代恢复试验中的死亡率,采用Lotka方法可计算得到不同处理大型蚤的内禀增长率。由表4可知,氯霉素染毒对F₀代大型蚤的内禀增长影响不大。与CK相比,氯霉素染毒可降低F₁

代大型蚤的内禀增长力,且存在一定的剂量效应关系。染毒条件下氯霉素对F₁代大型蚤的抑制作用随着氯霉素浓度的升高而增强。由此可见,长期的氯霉素暴露会对大型蚤种群的繁衍产生不同程度的影响。

表3 大型蚤F₀代、F₁代染毒组及F₁代恢复组的21 d体长和母蚤蜕皮次数

Table 3 Length and times of molting in 21 days of F₀ generation, F₁ generation poisoning group and F₁ generation recovery group of *D. magna*

氯霉素浓度 Chloramphenicol concentration mg/L	21 d 体长 Length//mm			每只母蚤蜕壳次数 Times of molting//次		
	F ₀ 代(染毒) F ₀ generation (Poisoning)	F ₁ 代(染毒) F ₁ generation (Poisoning)	F ₁ 代(恢复) F ₁ generation (Recovery)	F ₀ 代(染毒) F ₀ generation (Poisoning)	F ₁ 代(染毒) F ₁ generation (Poisoning)	F ₁ 代(恢复) F ₁ generation (Recovery)
0(CK)	3.04±0.26 a	3.06±0.03 a	3.06±0.03 c	13.00±0.20 a	11.93±0.31 a	11.93±0.31 a
1.304	3.09±0.03 ab	3.03±0.01 a	3.00±0.01 bc	12.93±0.46 a	12.07±0.31 a	11.89±0.30 a
3.911	3.12±0.07 b	3.01±0.02 a	2.98±0.03 ab	12.80±0.20 a	12.20±0.40 a	12.22±0.03 a
11.730	3.07±0.02 ab	3.07±0.07 a	2.93±0.01 a	12.80±0.20 a	12.33±0.12 a	12.13±0.31 a
35.200	3.07±0.03 ab	3.08±0.06 a	2.94±0.02 ab	12.40±0.20 a	12.13±0.31 a	12.13±0.12 a

注:同列不同小写字母表示处理间在0.05水平差异显著

Note: different lowercase letters in same column indicate significantly differences at 0.05 level

表4 大型蚤F₀代、F₁代染毒组及F₁代恢复组死亡率和内禀增长力

Table 4 Mortality and innate capacity of increase of F₀ generation, F₁ generation poisoning group and F₁ generation recovery group of *D. magna*

氯霉素浓度 Chloramphenicol concentration mg/L	死亡率 Mortality//%			内禀增长力 Innate capacity of increase		
	F ₀ 代(染毒) F ₀ generation (Poisoning)	F ₁ 代(染毒) F ₁ generation (Poisoning)	F ₁ 代(恢复) F ₁ generation (Recovery)	F ₀ 代(染毒) F ₀ generation (Poisoning)	F ₁ 代(染毒) F ₁ generation (Poisoning)	F ₁ 代(恢复) F ₁ generation (Recovery)
0(CK)	0	0	0	0.56	0.54	0.54
1.304	0	0	10	0.56	0.53	0.51
3.911	0	0	0	0.56	0.52	0.52
11.730	0	5	0	0.56	0.52	0.53
35.200	0	10	0	0.55	0.48	0.52

2.2.5 不同浓度氯霉素暴露下大型蚤的后代畸形类型。由表5可知,F₀代仅在高浓度(35.200 mg/L)暴露下观察到畸形的现象,如触角不完整或发育不完全及完全流产。低浓度(3.911 mg/L)暴露下的大型蚤仅在F₁代出现完全流产现象,而F₀和F₁代恢复均未发现异常。刘曦薇等^[18]通过研究

氯霉素对斑马鱼早期发育的毒性,发现氯霉素对斑马鱼胚胎的自主运动、心跳及孵化能力均会产生不利影响,且胚胎和仔鱼在氯霉素暴露条件下均表现了明显的畸形特征;刘臻等^[19]研究了3种抗生素对热带爪蟾胚胎发育的毒性,发现氯霉素可抑制热带爪蟾的生长及导致胚胎产生围心腔水肿。

表5 大型蚤F₀代、F₁代染毒组及F₁代恢复组的后代畸形类型

Table 5 Deformity type of offspring of F₀ generation, F₁ generation poisoning group and F₁ generation recovery group of *D. magna* mg/L

后代类型 Descendant type	所观察到畸形的浓度 The concentration that causes malformations		
	触角不完整,发育不完全 Incomplete antennae, incomplete development	眼睛缺失或其他畸形 Absence or other deformity of the eye	完全流产 Complete abortion
F ₀ 代(染毒)F ₀ generation(Poisoning)	35.200	没有观察到	35.200
F ₁ 代(染毒)F ₁ generation(Poisoning)	11.730~35.200	35.200	3.911~35.200
F ₁ 代(恢复)F ₁ generation(Recovery)	11.730~35.200	35.200	11.730~35.200

3 结论

(1)综上所述,氯霉素暴露下F₀代大型蚤未发现致死现象,但F₁代大型蚤出现死亡。而对于F₁代恢复试验,尽管大型蚤在无毒培养基中进行恢复,也观察到大型蚤死亡的现象,且在恢复条件下1.304 mg/L最低浓度组的死亡率甚至与染毒条件下的35.200 mg/L最高浓度组相同,表明F₀代大型蚤暴露于不同浓度氯霉素后,会对F₁代大型蚤的行为造成不同影响。氯霉素暴露虽然对F₀代大型蚤的首次产蚤时间、首次产蚤数、产胎数和蜕壳数影响不显著,但能影响F₀

代大型蚤的体长。F₁代染毒和恢复试验中均出现个体死亡,说明氯霉素染毒后产生的F₁代蚤对环境的适应力有所下降。此外,氯霉素暴露可显著减少F₁代染毒和恢复条件下母蚤产蚤数量,一定浓度的氯霉素可影响F₁代生长。综上所述,氯霉素不仅会影响F₀代大型蚤的正常繁殖和生长,还会影响F₁代的蚤生长和繁殖,导致F₁代蚤对氯霉素更为敏感。

(2)根据毒性分级标准,氯霉素对大型蚤属于低毒,但慢

(下转第65页)

6%时,才有明显的改善(比5%添加量的高30.1%)。此外,羟自由基清除率与总酚含量的线性正相关性也小于DPPH自由基清除率以及还原能力。因此,当花生衣粉面包的总酚含量开始呈现明显增加时(此时花生衣粉的添加量为5%及以上),DPPH自由基清除率以及还原能力的增幅也开始突出,这亦与文献所述相一致^[15]。

由此可见,5%及以上添加量的花生衣粉,对面包总酚含量、DPPH自由基清除率以及还原能力的改善均起到了较为明显的作用,尤其是DPPH自由基清除率。但是,花生衣粉面包的还原能力却并不高。当花生衣粉添加量为6%时,面包的羟自由基清除率的增加则较为明显。由于自由基清除测试是筛选抗氧化剂的主要方法^[16],因此,花生衣粉在面包中的应用可有效提高面包的多酚类物质含量,增强其氧化的营养价值,并可提高花生衣粉的经济价值与应用价值。

参考文献

- [1] 欧阳燕林,谭兴和,王锋,等.黑花生衣原花色苷和花色苷的提取工艺研究[J].中国酿造,2015,34(8):28-34.
- [2] 王兴娜,万爱玉,张珊,等.花生衣中天然产物的制备与分析研究[J].食品科技,2015(11):235-239.
- [3] 李芙蓉.花生衣红色素提取工艺研究[J].化学工程与装备,2016(12):53-55.
- [4] 翟硕莉.花生衣红色素提取及抗氧化作用研究进展[J].农业科技与装

(上接第54页)

性毒性试验中,虽然各处理母蚤无死亡现象,但是母蚤在产蚤过程中,几个处理均有幼蚤死亡或畸形现象,故可推测氯霉素长期暴露会对大型蚤产生不可逆的伤害。

(3)在自然环境中,大型蚤是鱼类和大型无脊椎动物的饵料,以浮游植物为食,在水生态系统起着重要作用,而污染物在高营养级生物体内会随食物链的富集而浓度升高,这会对处在食物链最高等级的人类健康将会构成威胁。因此,要全面评价氯霉素对水生态系的安全,还必须结合其对食物链中不同等级生物的生态毒性进行综合评价。

参考文献

- [1] KUMAR K, GUPTA SC, 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.
- [2] 徐永刚,宇万太,马强,等.环境中抗生素及其生态毒性效应研究进展[J].生态毒理学报,2015,10(3):11-27.
- [3] MARTÍNEZ J L. Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments [J]. Science, 2008, 321(5887): 365-367.
- [4] KÜMMERER K. Antibiotics in the aquatic environment: A review. Part I [J]. Chemosphere, 2009, 75(4): 417-434.
- [5] MELLON M, BENBROOK K L. Hogging it: Estimates of antimicrobial abuse in livestock [M]. Washington DC: Union of Concerned Scientists Publications, 2001: 7-9.
- [6] 章强,辛琦,朱静敏,等.中国主要水域抗生素污染现状及其生态环境效应研究进展[J].环境化学,2014,33(7):1075-1083.
- [7] SAMUELSEN O B, LUNESTAD B T, HUSEVAG B, et al. Residues of oxolinic acid in wild fauna following medication in fish farms [J]. Diseases of aquatic organisms, 1992, 12(2): 111-119.
- [8] ROBBANA-BARNAT S, DECLÔTTE F, FRAYSSINET C, et al. Use of hu-

- man lymphoblastoid cells to detect the toxic effect of chloramphenicol and metabolites possibly involved in aplastic anemia in man [J]. Drug & chemical toxicology, 1997, 20(3): 239-253.
- [9] 徐维海,张干,邹世春,等.香港维多利亚港和珠江广州河段水体中抗生素的含量特征及其季节变化[J].环境科学,2006,27(12):2458-2462.
- [10] ISO. Water quality. Water quality. Determination of the inhibition mobility of *Daphnia magna* Strus (Cladocera, Crustacea): ISO 6341—1982 [S]. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization, 1982.
- [11] YIM J H, KIM K W, KIM S D. Effect of hardness on acute toxicity of metal mixtures using *Daphnia magna*: Prediction of acid mine drainage toxicity [J]. Journal of hazardous materials, 2006, 138(1): 16-21.
- [12] YOKOTA K, STERNER R W. Trade-offs limiting the evolution of coloniality: Ecological displacement rates used to measure small costs [J]. Proceedings of the royal society B: Biological sciences, 2011, 278(1704): 458-463.
- [13] Organisation for Economic Co-operation and Development. Method 202 guideline for testing of chemicals, *Daphnia* sp. acute immobilisation test [S]. Paris: Environment Health and Safety Publications, 2004.
- [14] Organisation for Economic Co-operation and Development. Method 211 guideline for testing of chemicals, *Daphnia magna* reproduction test [S]. Paris: Environment Health and Safety Publications, 2004.
- [15] WOLLENBERGER L, HALLING-SØRENSEN B, KUSK K O. Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphnia magna* [J]. Chemosphere, 2000, 40(7): 723-730.
- [16] 王慧珠,罗义,徐文青,等.四环素和金霉素对水生生物的生态毒性效应[J].农业环境科学学报,2008,27(4):1536-1539.
- [17] 国家环保局.新化学物质危害评估准则[M].北京:中国环境科学出版社,1996.
- [18] 刘曦薇,吴玲玲.氯霉素对斑马鱼早期发育的毒性效应[J].环境科学学报,2010,30(8):1649-1657.
- [19] 刘臻,施华宏,黄宏,等.3种抗生素对热带爪蟾胚胎发育的毒性影响[J].安全与环境学报,2011,11(5):1-6.
- 备,2013(9):64-65.
- [5] 鞠新宏.小麦粉中添加其他物质有关规定的剖析[J].现代面粉工业,2016(6):23-26.
- [6] 王海俊,沈诗茜,陈泽斌,等.不同加工方式对黑小麦面粉抗氧化活性的影响[J].江苏农业学报,2017,33(1):204-209.
- [7] 杨清山,张燕,连运河,等.葡萄籽、松树皮和花生衣提取物中原花青素成分研究[J].食品研究与开发,2017,38(10):159-164.
- [8] 崔婷婷,单长松,张宪省,等.山农紫糯小麦理化性质分析及其馒头产品的开发[J].现代食品科技,2015(12):302-306.
- [9] 曹盛,胡峰,徐兆琴,等.绿茶蛋糕生产工艺及其抗氧化效应研究[J].食品工业科技,2012,33(11):286-288.
- [10] WANG S N, MECKLIANG K A, MARCONE M F, et al. Synergistic, additive, and antagonistic effects of food mixtures on total antioxidant capacities [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2011, 59(3): 960-968.
- [11] BLOIS M S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical [J]. Nature, 1958, 181(4617): 1199-1200.
- [12] SMIRNOFF N, CUMBES Q J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes [J]. Phytochemistry, 1989, 28(4): 1057-1060.
- [13] OYAZU M. Studies on products of browning reaction: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosa mine [J]. Japanese journal of nutrition, 1986, 44(6): 307-316.
- [14] 孙月娥,陈亚东,徐秋艳,等.黑花生衣多酚的提取及其抗氧化活性[J].食品工业科技,2012,33(24):296-299.
- [15] 肖春玲,田理刚,岳思远,等.不同色泽花生衣抗氧化活性研究[J].食品研究与开发,2017,38(7):9-13.
- [16] 高云涛,魏薇,叶丽清,等. DPPH 自由基清除活性的光度微量滴定模型及应用[J].光谱学与光谱分析,2015,35(2):492-496.