

文蛤对重金属 Cu 的富集与排出特征

孙元芹 吴志宏 孙福新* 王颖 李晓 刘天红 王志刚

(山东省海水养殖研究所, 青岛 266002)

摘 要 将文蛤暴露在不同浓度(0.005、0.010、0.025、0.05 mg/L)Cu²⁺溶液里 35d 后, 移入自然海水代谢 45d, 测定文蛤体内 Cu 含量变化, 研究文蛤对 Cu²⁺ 的富集和排出能力。富集试验结果表明, 4 个处理组中暴露溶液 Cu²⁺ 浓度与文蛤死亡数、死亡峰值出现时间无相关; 0.025、0.05 mg/L 处理组文蛤体内 Cu 含量增加显著; 平均富集速率最高达 1.765 mg/kg·d; 文蛤富集 Cu 达到平衡时间与 Cu²⁺ 浓度相关性不大。排出试验结果表明, 0.025、0.05mg/L 处理组文蛤体内 Cu 含量降低显著; 最高排出率达 88.7%。应用双箱动力学模型分析显示, 0.01、0.025、0.05mg/L 处理组中富集参数 k_1 、 k_2 、BCF 均随着暴露水体 Cu²⁺ 浓度的增加呈先增加后减小; Cu 在文蛤体内的生物半衰期较短; 富集平衡状态下 C_{Amax} 随着外部水体 Cu²⁺ 浓度的增大而增大, 基本正相关。

关键词 文蛤 铜 富集 排出 双箱动力学模型

中图分类号 X55;S968.31 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2013)01-0126-07

Accumulation and elimination of *Meretrix meretrix* to copper

SUN Yuan-qin WU Zhi-hong SUN Fu-xin* WANG Ying

LI Xiao LIU Tian-hong WANG Zhi-gang

(Mariculture Institute of Shandong Province, Qingdao 266002)

ABSTRACT To investigate the capability of accumulation and elimination of Cu²⁺ in clam, *Meretrix meretrix* were exposed to different concentrations of Cu²⁺ for 35 days and then transferred and cultured in the natural seawater for 45d. Copper content in the tissue of *M. meretrix* was determined and the results showed that mortality and death peak time correlated insignificantly with Cu²⁺ concentration; the content of copper increased markedly in the 0.025 and 0.05 mg/L treatment group with the highest average accumulation rate of 1.765 mg/kg·d; no correlation was found between the steady-state time and concentration of Cu²⁺. The elimination experiment showed an obvious decrease in copper content in both 0.025 and 0.05 mg/L treatments, with the highest rate of elimination of 88.7%. According to the two-compartment kinetic model, uptake rate constant (k_1), extracting rate constant (k_2) and bioconcentration factor (BCF) firstly increased and then decreased with the increase of Cu²⁺ in the 0.01, 0.025 and 0.05 mg/L treatment group; BCF of copper was relatively small in *M. meretrix*; the maximal

国家海洋局海洋公益性行业科研专项经费项目(200805031)资助

* 通讯作者。E-mail: sunfx817@163.com

收稿日期: 2012-10-15; 接受日期: 2012-12-28

作者简介: 孙元芹(1980-), 女, 助理研究员, 主要从事水产品安全及加工研究。E-mail: qdsyq_003@163.com, Tel: (0532)82681667

metal contents in test organism(C_{Amax}) at steady-state was positively correlated with Cu^{2+} concentration in the test solution.

KEY WORDS *Meretrix meretrix* Copper Accumulation Elimination
Two-compartment kinetic model

海洋污染现象日趋严重,近海生态系统污染加剧,尤其是重金属污染已成为近年来渔业环境污染的主要问题之一。重金属污染能被生物体富集并沿食物链转移(孙云明等 2001),进而影响人类健康(Liu *et al.* 1991;Shuai *et al.* 2001;Funes *et al.* 2006)。海洋双壳贝类是我国主要的海洋食品原料之一,多栖息在污染比较严重的滨海或者河口地区,其滤食的生活特点和特殊的生活环境使其极易受到重金属的污染和毒害,是一种理想的海洋污染指示生物(Farrington *et al.* 1983;Cajaraville *et al.* 2000)。

2010 年我国近岸海域水质一、二类海水比例为 62.7%,主要重金属污染因子有铜(Cu)、铅(Pb)和镉(Cd),其中 Cu 超标倍数达 3.8 倍, Cu^{2+} 成为构成海洋重金属污染的重要成分(李 华等 2009)。Cu 是机体进行正常生命活动所不可缺少的必需金属,但当浓度超过一定水平时会对机体产生毒害作用(孙福新等 2010),带来慢性或急性中毒现象(王 凡等 2007;王晓宇等 2009;刘天红等 2011)。双壳贝类对重金属 Cu 富集研究已有诸多报道,如泥蚶 *Tegillarca granosa* Linnaeus(李学鹏等 2008;郭远明 2008)、褶牡蛎 *Ostrea plicatula* Gmelin(李学鹏 2008;刘升发等 2008;沈盎绿等 2009)、栉孔扇贝 *Chlamys farreri* (王 凡等 2007;孙福新等 2010)等,但采用生物富集双箱动力学模型研究文蛤 *Meretrix meretrix* 对 Cu 富集与排出规律的报道较少见。

本研究以山东沿海地区重要增殖品种文蛤为研究对象,进行了其对重金属 Cu 的生物富集与排出试验,目的在于探讨文蛤对 Cu^{2+} 的耐受性、富集、排放能力及 Cu^{2+} 浓度对文蛤吸附速度的影响,以为相关研究提供数据参考,并对生态风险评估及贝类食品的安全监测提供一定参考意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用文蛤采自山东青岛即墨鳌山卫养殖场,剔除较小及碎壳个体,海水清洗去除表面附着物及杂质。文蛤壳长 3.10~4.60 cm,壳宽 2.60~3.90 cm,壳高 1.50~2.3 cm,体重 16.00~26.00 g。自然海水暂养 7d,连续充氧,每日换水 1 次,投喂藻密度 2×10^5 cell/ml 浓缩小球藻 *Platymonas* spp. 两次,试验前 1 d 停止投饵。暂养期间试验文蛤活动正常、无病,死亡率低于 5%,于试验前随机分组。

试验海水经 II 级砂滤,水质分析结果:pH 7.96~8.20,盐度 31.0 ± 0.5 ,氨氮 2.97~4.54 $\mu\text{g/L}$,溶解氧大于 6.0 mg/L; Cu^{2+} 本底浓度为 0.002 76 mg/L。试验在 300 L 的聚乙烯水箱中进行,试验前将不同处理组水箱用同等体积的暴露溶液浸泡 7d,至内壁吸附重金属为饱和状态后备用。

1.2 试验设计

1.2.1 试验分组

$CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 购自天津巴斯夫化工有限公司(A. R. 500g)。以国标 GB3097-1997 海水水质标准(二类) $Cu^{2+} \leq 0.010$ mg/L 为参考,试验水体浓度按 0.010 mg/L 的 0.5、1.0、2.5、5.0 倍设置,即各试验组 Cu^{2+} 浓度分别为 0.005、0.010、0.025、0.05 mg/L。以自然海水为对照,24 h 不间断充氧。

试验时间为 2011 年 4 月 12 日~6 月 30 日,共计 80d。

1.2.2 富集试验

各水箱中养殖水体 270L,文蛤 300 只,设平行组。采用半静态暴露染毒的方法富集 35d,每 24h 更换全部溶液;每天投喂小球藻两次;分别在第 0、5、10、15、20、25、30、35 天每箱随机取活贝 10 只,取出后迅速用去离子

水冲洗干净,剥壳解剖取全部内容物,经匀浆后冷冻存放待分析。

1.2.3 排出试验

35d 富集试验结束后,将剩余文蛤转入自然海水进行排出试验 45d,换水、喂食时间与富集阶段同;投饵量根据水箱中剩余文蛤数量递减;分别在第 5、10、15、20、25、30、35、45 天每箱随机取活贝 10 只,样品处理与富集阶段同。

1.3 样品处理与铜浓度测定

铜含量测定采用 GB17378.6-2007 海洋监测规范第 6 部分,无火焰原子吸收分光光度法进行测定。铜含量单位用 mg/kg 干重表示。

1.4 数据统计分析

数据统计采用 Origin 8.0 和 Excel 2003 软件包进行分析。

生物富集双箱动力学模型和生物富集系数(BCF)测定采用修正的双箱动力学模型方法,试验的两个阶段用方程描述为:

富集过程($0 < t < t^*$):

$$C_A = C_0 + C_W \frac{k_1}{k_2} (1 - e^{-k_2 t}) \quad (0 < t < t^*) \quad (1)$$

排出过程($t > t^*$):

$$C_A = C_0 + C_W \frac{k_1}{k_2} (e^{-k_2(t-t^*)} - e^{-k_1 t}) \quad (t > t^*) \quad (2)$$

式中, k_1 为生物吸收速率常数, k_2 为生物排出速率常数, C_W 为水体 Cu^{2+} 浓度(mg/L), C_A 为生物体内 Cu 的含量(mg/kg 干重), C_0 为试验开始前生物体内 Cu 的含量(mg/kg 干重), t^* 为富集试验结束的天数,由公式(1)、(2)对富集和排出过程中贝类体内 Cu 含量的动态检测结果进行非线性拟合得到 k_1 、 k_2 值。

生物富集系数 BCF 由公式(3)计算:

$$BCF = k_1 / k_2 = \lim C_A / C_W \quad (t \rightarrow \infty) \quad (3)$$

金属的生物学半衰期指的是生物体内的金属排出一半所需的时间,用公式(4)计算:

$$B_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_2} \quad (4)$$

生物体内富集重金属达到平衡状态时体内含量 C_{Amax} 由公式(5)计算:

$$C_{Amax} = BCF \times C_W \quad (5)$$

2 结果与讨论

2.1 不同处理组文蛤死亡数统计

统计时间从文蛤暴露于不同 Cu^{2+} 浓度组富集 35d,至排出试验 45d 结束,共计 80d,若试验过程中处理组文蛤全部死亡则统计结束;每 5d 累计各组文蛤死亡数。

由图 1 可以看出,对照组死贝数变化幅度为 0~2 只/5d,累积死亡率为 4.33%。0.005、0.01、0.025 mg/L Cu^{2+} 浓度组文蛤 5~10d 即出现应激反应,死亡数峰值出现较早,10d 后死贝逐渐减少,65d 后文蛤死亡数全部为零。分析认为,特定 Cu^{2+} 浓度范围内,文蛤对 Cu^{2+} 具有一定耐受性,本试验 0.005、0.01、0.025 mg/L 组暴露溶液 Cu^{2+} 浓度与文蛤死亡数及死亡峰值出现时间无相关。0.05 mg/L 处理组中,20~35d 随着富集天数的增加,文蛤死亡数递增,35~40d 累计死贝数达到峰值(37 只),分别为其余 3 组峰值数的 3.1(0.005 mg/L 组)、3.7(0.01 mg/L 组)、3.36(0.025 mg/L 组)倍,40d 后死贝数剧减,55d 后死亡数为零。

2.2 文蛤对 Cu²⁺ 的富集特征

由图 2 可以看出, 试验期间对照组文蛤体内 Cu 含量为 4.72~8.04 mg/kg。各处理组文蛤体内 Cu 含量均在暴露 5d 时明显增加, 0.05 mg/L 组与 0d 相比迅速提高了 4.18 倍; 5d 后文蛤体内 Cu 含量基本增长平缓, 15~25d 时 0.005、0.05 mg/L 组文蛤体内 Cu 含量先降低后增加; 30d 时 0.01 mg/L 组文蛤体内 Cu 含量达到峰值, 与 0d 时相比提高了 1.60 倍, 35d 时 0.005、0.025、0.05 mg/L 组文蛤体内 Cu 含量达到峰值, 与 0d 时相比分别提高了 1.13、7.54、7.83 倍。

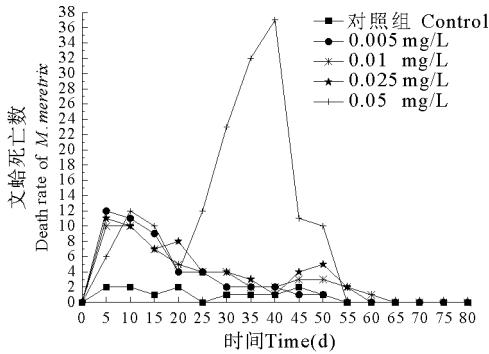


图 1 各浓度组文蛤死亡情况

Fig. 1 Mortality of *M. meretrix* in different concentration of Cu²⁺

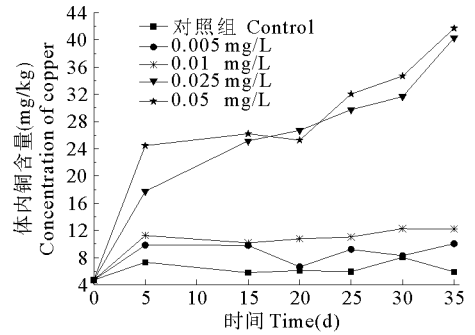


图 2 文蛤对 Cu²⁺ 的富集情况

Fig. 2 Concentration of copper in the tissue of *M. meretrix* in different treatment

2.3 文蛤对 Cu²⁺ 的排出特征

由图 3 可以看出, 除对照组, 5d 时各组文蛤体内 Cu 含量迅速降低, 与排出 0d 相比体内 Cu 含量分别减少了 7.85% (0.005 mg/L)、11.31% (0.01 mg/L)、43.51% (0.025 mg/L) 和 53.98% (0.05 mg/L); 15~25d 时 0.025、0.05 mg/L 处理组文蛤体内 Cu 含量出现了先增加后减少的现象, 25~35d 时 0.005、0.01 mg/L 组出现了同样的变化趋势; 30d 时 0.05 mg/L 组除取样外文蛤全部死亡。

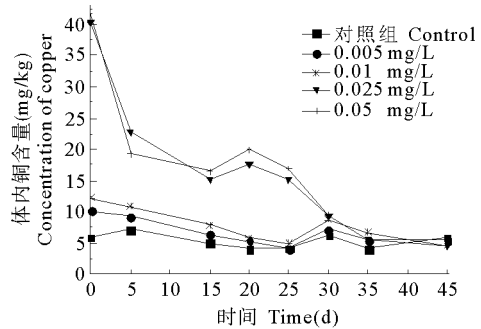


图 3 文蛤对 Cu²⁺ 的排出情况

Fig. 3 The elimination of copper in the tissue of *M. meretrix* in different treatment

2.4 文蛤对 Cu²⁺ 的富集、排出速率比较

由图 4 可以看出, 富集前期文蛤对 Cu²⁺ 的富集速率明显大于后期, 各浓度组的平均富集速率分别为 0.325 (0.005 mg/L)、0.470 (0.01 mg/L)、1.236 (0.025 mg/L)、1.765 mg/kg · d (0.05 mg/L)。排出试验 30d 时 0.05 mg/L 组文蛤体内 Cu²⁺ 排出率 77.27% (除取样外文蛤全部死亡), 排出速率 1.074 mg/kg · d; 排出 45d 时 0.005、0.01、0.025 mg/L 组文蛤体内 Cu 含量与排出 0d 相比分别减少了 45.48%、62% 和 88.7%, 排出速率为 0.102、0.169、0.795 mg/kg · d (图 5)。

2.5 文蛤对 Cu²⁺ 的生物富集曲线及数据拟合

2.5.1 生物富集曲线

采用方程(1)和(2)对富集和排出阶段进行非线性拟合, 得到不同暴露浓度下文蛤对 Cu²⁺ 的生物富集曲线(图 6)。

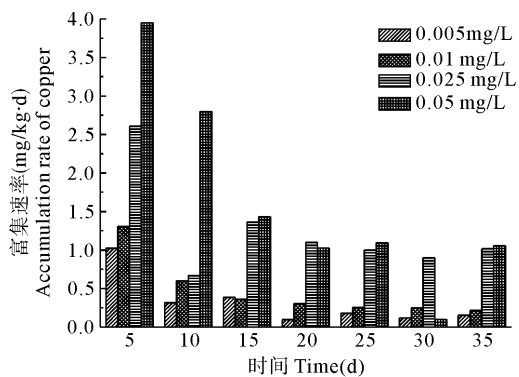


图 4 不同时间文蛤对 Cu^{2+} 的富集速率

Fig. 4 The accumulation of copper in the tissue of *M. meretrix* at different time

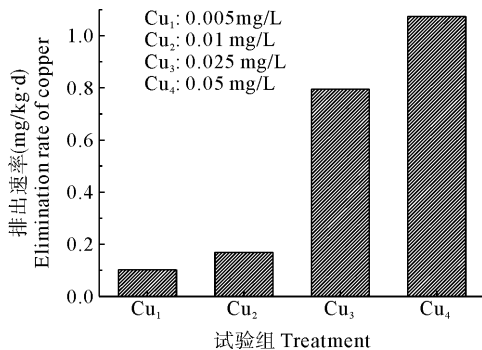
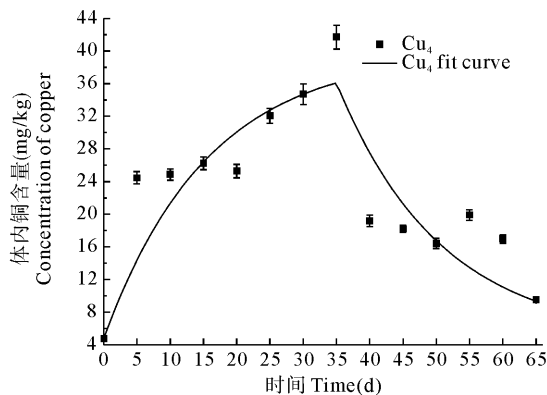
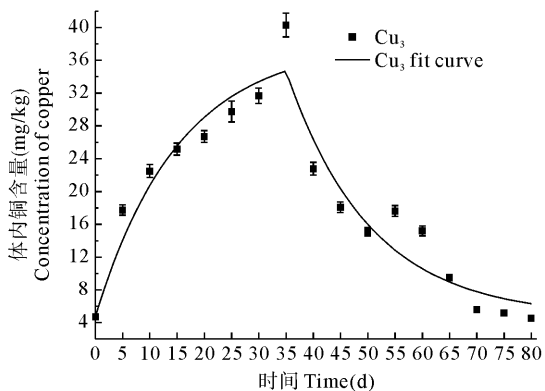
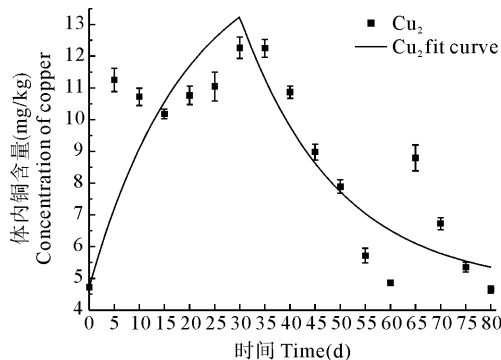
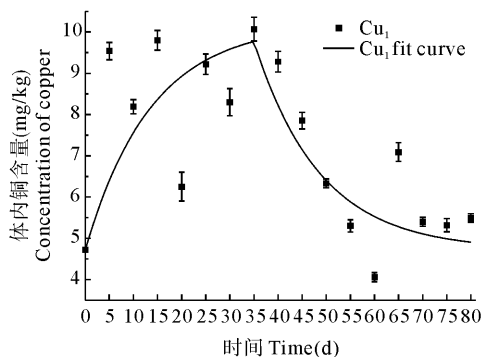


图 5 文蛤体内 Cu^{2+} 排出速率

Fig. 5 The elimination of copper in the tissue of *M. meretrix*



$\text{Cu}_1: C_w=0.005\text{mg/L}; \text{Cu}_2: C_w=0.010\text{mg/L}; \text{Cu}_3: C_w=0.025\text{mg/L}; \text{Cu}_4: C_w=0.050\text{mg/L}$

图 6 文蛤在不同暴露 Cu^{2+} 浓度下的生物富集曲线

Fig. 6 The bioconcentration curve of *M. meretrix* in different concentrations of Cu^{2+}

2.5.2 生物富集动力学参数

通过对富集与排出过程的非线性拟合,得到吸收速率常数 k_1 、排出速率常数 k_2 ;然后根据公式(5)、(6)、(7),得出生物富集系数(BCF)、平衡状态下文蛤体内 Cu 含量(C_{Amax})、 Cu 的生物学半衰期($B_{1/2}$)。

参考李学鹏等(2008)、郭远明(2008)相关文献,较低 Cu^{2+} 浓度水体中菲律宾蛤、泥蚶等贝类对 Cu^{2+} 无明显富集,本研究 4 个处理组富集参数无明显规律性,仅对 0.01、0.025、0.05mg/L 组文蛤富集参数进行比较。随着水体 Cu^{2+} 浓度的增大, k_1 、 k_2 、 BCF 先增加后减少,半衰期 $B_{1/2}$ 先减少后增加, C_{Amax} 逐渐增大。

李学鹏等(2008)应用半静态双箱模型室内模拟泥蚶对重金属 Cu 的生物富集试验,发现 0.01~0.10mg/L 处理组泥蚶对 Cu^{2+} 富集参数 k_1 、 BCF 、 $B_{1/2}$ 均随着暴露水体 Cu^{2+} 浓度增加呈先增加后减少, C_{Amax} 逐渐增加;郭远明

(2008)研究发现,0.035~0.115 mg/L 浓度组泥蚶对 Cu 富集动力学参数 k_1 、 BCF 随着暴露水体 Cu^{2+} 浓度增加呈先增加后减少, C_{Amax} 逐渐增加。本研究中富集参数 k_1 、 BCF 、 C_{Amax} 的变化规律与上述已有结论基本一致。

表 1 文蛤对铜富集动力学参数

Table 1 The kinetics of *M. meretrix* to copper at the accumulation period

浓度 C_w (mg/L)	k_1	k_2	R_2	BCF	C_{Amax}	$B_{1/2}$
0.005	64.570	0.095	0.479 5	679.7	3.40	7.3
0.01	41.223	0.049	0.645 3	841.3	8.41	14.1
0.025	74.521	0.061	0.916 8	1 221.7	30.54	11.4
0.05	40.287	0.059	0.727 1	682.8	34.14	11.7

注:海水 Cu^{2+} 本底浓度为 0.002 76 mg/L

Note: The background Cu^{2+} concentration in seawater is 0.002 76 mg/L

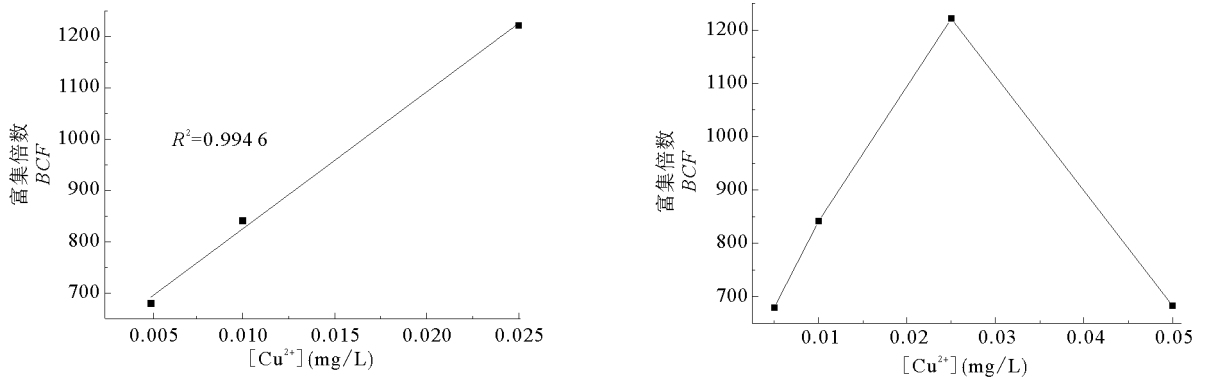


图 7 文蛤对不同 Cu^{2+} 浓度富集系数

Fig. 7 The enrichment factor of Cu^{2+} in the tissue of *M. meretrix*

由图 7 可以看出,0.005、0.01、0.025mg/L 组中文蛤对 Cu^{2+} 富集倍数与暴露水体 Cu^{2+} 浓度正相关($R^2 = 0.994 6$);当浓度达到 0.05mg/L 时,富集倍数迅速降低。

2.6 富集平衡状态下 C_{Amax} 与暴露水体 Cu^{2+} 浓度的关系

0.005、0.01、0.025 mg/L 处理组富集平衡状态下 C_{Amax} 随着暴露溶液中 Cu^{2+} 浓度的增大而增大,呈明显的正相关关系($R^2 = 0.990 7$);超出一定浓度范围后正相关性降低,0.005、0.01、0.025、0.05mg/L 组文蛤对 Cu^{2+} 富集平衡状态下 C_{Amax} 随着外部水体 Cu^{2+} 浓度的增大而增大,相关性较不显著($R^2 = 0.734 1$)。

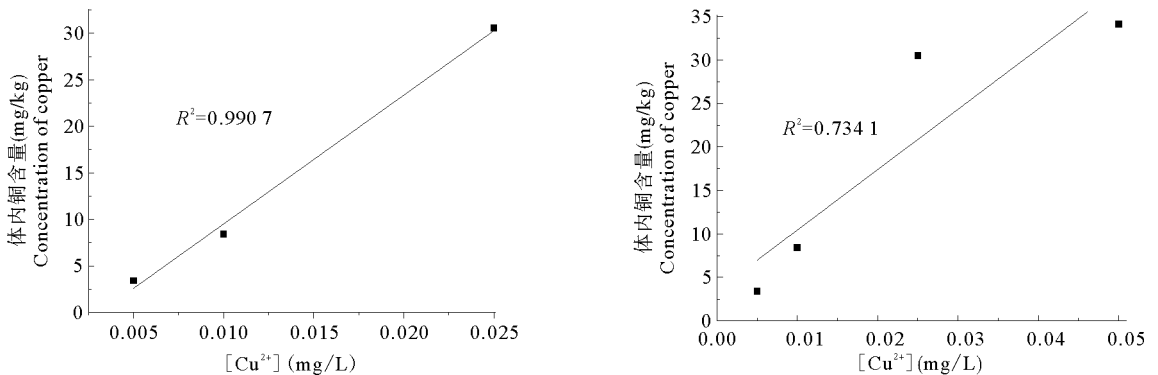


图 8 文蛤体内 Cu 含量与暴露水体中 Cu^{2+} 浓度的关系

Fig. 8 The relationship between the concentration of copper in the tissue of *M. meretrix* and the concentration of Cu^{2+} in the exposure water at steady-state

3 结论

1)富集 0~35d 暴露水体 Cu^{2+} 浓度与文蛤体内 Cu 含量基本正相关,但与富集达到平衡时间相关性不大;排出试验 0.025、0.05mg/L 处理组文蛤体内 Cu 含量降低显著,最高排出率达 88.7%。

2)0.01、0.025、0.05mg/L 组富集参数 k_1 、 k_2 、BCF 随着暴露水体 Cu^{2+} 浓度的增加呈先增加后减小;0.005、0.01、0.025 mg/L 处理组 BCF 正相关显著($R^2=0.9946$)。

3) C_{Amax} 随着外部水体 Cu^{2+} 浓度的增大而增大,0.005、0.01、0.025 mg/L 处理组 C_{Amax} 与暴露水体 Cu^{2+} 浓度明显正相关($R^2=0.9907$);超出一定浓度范围后正相关性降低($R^2=0.7341$)。

参 考 文 献

- 王 凡,赵元凤,吕景才,刘长发. 2007. 铜在栉孔扇贝组织蓄积、分配、排放的研究. 水利渔业, 27(3):84-87
- 王晓宇,杨红生,王 清. 2009. 重金属污染胁迫对双壳贝类生态毒理效应研究进展. 海洋科学, 33(10):112-118
- 孙云明,刘会峦. 2001. 海洋中的主要化学污染物及其危害. 化学教育, (7-8): 1-4
- 孙福新,王 颖,吴志宏. 2010. 栉孔扇贝对铜的富集与排出特征研究. 水生态学杂志, 3(6):110-115
- 刘升发,范德江,张爱滨,颜文涛. 2008. 胶州湾双壳类壳体中重金属元素的累积. 海洋环境科学, 27(2):135-138
- 刘天红,孙福新,王 颖,吴志宏,孙元芹,李 晓,卢 珺. 2011. 硫酸铜对栉孔扇贝急性毒性胁迫研究. 水产科学, 30(6):317-320
- 李学鹏,励建荣,段青源,赵广英,王彦波,傅玲琳,谢 晶. 2008. 泥蚶对重金属铜、铅、镉的生物富集动力学. 水产学报, 32(4):592-600
- 李学鹏. 2008. 重金属在双壳贝类体内的生物富集动力学及净化技术的初步研究. 见:浙江工商大学硕士研究生学位论文
- 李 华,李 磊. 2009. 铜离子对栉孔扇贝幼贝几种免疫因子的影响. 生命科学仪器, 7(10):29-32
- 陆超华,谢文造,周国君. 1998. 近江牡蛎作为海洋重金属 Cu 污染监测生物的研究. 海洋环境科学, 17(2):17-23
- 沈益绿,马继臻,平仙隐,沈新强. 2009. 褶牡蛎对重金属的生物富集动力学特性研究. 农业环境科学学报, 28(4):783-788
- 国家环境保护总局. 2011. 2010 年中国近岸海域环境质量公报. 北京:国家环境保护总局
- 郭远明. 2008. 海洋贝类对水体中重金属的富集能力研究. 见:中国海洋大学硕士研究生学位论文
- Cajaraville MP, Bebianno MJ, Blasco J and 3 others. 2000. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. Sci Total Env 247(2-3): 295-311
- Farrington JW, Goldberg ED, Risebrough RW and 2 others. 1983. U. S. "Mussel Watch" 1976~1978: An overview of the trace-metal, DDE, PCB, hydrocarbon and artificial radionuclide data. Env Sci Tech 17(8): 490-496
- Funes V, Alhama J, Navas JL. 2006. Ecotoxicological effects of metal pollution in two mollusc species from the Spanish South Atlantic littoral. Environmental Pollution 139(2): 214-223
- Liu, ZK, Lan YF. 1991. The pollution of heavy metal and human health. Science Garden Plot (2): 35
- Shuai JS, Wang L. 2001. Discussion about the health impact of heavy metal and the countermeasure. Environment and Exploitation 16(4): 62