

栉孔扇贝对无机砷的富集与排出特征研究

孙福新, 李 晓, 王 颖, 吴志宏, 刘天红, 孙元芹, 卢 璐

(山东省海水养殖研究所, 山东 青岛 266002)

摘要: 以栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)为试验生物, 应用生物富集双箱动力学模型, 研究了暴露在不同质量浓度的 As^{3+} 溶液中, 栉孔扇贝对无机砷的耐受性; 通过对富集与排出过程中栉孔扇贝体内无机砷含量的动态监测及对检测结果的非线性拟合, 得出栉孔扇贝富集无机砷的吸收速率常数(k_1)、排出速率常数(k_2)、生物富集因子(BCF)、生物半衰期($B_{1/2}$)等动力学常数。试验结果显示, 扇贝对无机砷的吸收速率(常数 k_1)随着外部水体中 As^{3+} 质量浓度的增大呈减小趋势, 而吸收速率(常数 k_2)与水体中 As^{3+} 质量浓度无明显相关性; 生物富集系数 BCF 随着外部水体 As^{3+} 质量浓度的增大而减少; 平衡状态下栉孔扇贝体内无机砷含量(C_{Amax})与暴露水体中的 As^{3+} 质量浓度之间呈较强的线性相关($R^2=0.9267$); 栉孔扇贝对无机砷排出率较高, 代谢 30 d 后, 排出率可达到 84.17%; 无机砷在栉孔扇贝体内的生物半衰期较短。根据试验结果推算出, 在二类海水水质标准下养殖的栉孔扇贝符合食用标准。

关键词: 栉孔扇贝(*Chlamys farreri*); 无机砷; 生物富集; 排出

中图分类号: S917

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2011)04-0083-06

砷(As)是一种毒性较高的污染元素。自然状态下, 转移到生物体内的砷可能会随着时间的延长转变为各种价态的砷化物形式。一般认为, 砷原子以共价形式与其他物质形成的砷化合物统称为有机砷, 如甲基砷酸(DAM)、砷甜菜碱(AsB)等; 以离子键结合形成的砷化合物和砷单质通常称为无机砷, 通常指 As^{3+} 、 As^{5+} 。其中无机砷具有较高的毒性, 有机砷则相对毒性较低。近几年, 研究者通过反复抽样研究了不同食品种类及人们日常饮食中无机砷和有机砷化合物的个体含量水平, 表明人们日常饮食中大多数含有砷, 其中大约 90% 的砷来自于水产品^[1], 因此砷也就成为水产品检验的一项必检项目。

入土壤的 As 将被带入海中。这是造成部分海湾贝类体中 As 含量高于其他生物非必需元素的主要原因之一。

目前对双壳贝类重金属积累的研究已诸多报道, 如陆超华^[2-4]等将近江牡蛎作为海洋重金属 Zn、Cu、Pb 污染检测生物的研究; 王凡^[5-7]等关于栉孔扇贝对 Pb、Cu、Cd 积累排放规律的研究, 但是关于无机砷的富集与代谢规律的研究甚少。笔者认为, 这应该与砷在水产品中以多种形态存在有关, 增加了研究的难度。项目作者研究无机砷在栉孔扇贝体内的富集与代谢情况, 目的在于揭示栉孔扇贝对无机砷的生物富集规律及特征, 以期为海洋环境质量评价和生

态风险评估提供参考, 为人们防止砷污染、安全食用水产品提供建议, 为贝类养殖水环境标准的制订提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验用扇贝

栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)来自青岛即墨鳌山卫养殖场, 12 月龄, 大小基本一致(壳宽 4.90 ~ 5.90 cm; 壳高 5.20 ~ 6.08 cm; 体质量 19.0 ~ 25.2 g), 随机分组。

1.1.2 海水

海水采自山东省海水养殖研究所鳌山基地育苗场。海水先逐级沉淀, 后经砂滤池处理制得。水质分析结果: pH 7.96~8.20; 盐度 31.18 ± 0.34 ; 氨氮 2.97~4.54 $\mu\text{g/L}$; 亚硝酸盐 0.005~0.010 mg/L ; 溶解氧大于 6.0 mg/L ; 砷本底值 0.905 $\mu\text{g/L}$; 符合 GB 3097-1997 国家一类海水标准^[8]。

1.1.3 试剂与仪器

As_2O_3 为水口山矿务局衡阳实业总公司(A . R)

收稿日期: 2010-07-12; 修回日期: 2010-09-26

基金项目: 国家海洋局海洋公益性行业科研专项经费项目(200805031)

作者简介: 孙福新(1960-), 男, 研究员, 主要研究方向: 水产养殖及水环境生态, 电话: 0532-82686340, E-mail: sunfx817@163.com

生产,用去离子水配成含 As^{3+} 质量浓度为 810 mg/L 的储备液,然后再稀释成实验所需要的各质量浓度。

充氧泵、盐度计、温度计、电子天平和 pH 计。

1.2 试验方法

1.2.1 栉孔扇贝的暂养

试验前将栉孔扇贝表面附着物刷洗干净,于池中暂养一周。暂养期间,水温 12.0 ± 0.7 , pH 8.14 ± 0.03 , 保持充氧,自然光照下进行。每天 8:00 时定时投喂小球藻,并且及时剔除暂养阶段死亡的栉孔扇贝。

1.2.2 暴露液的质量浓度梯次设定

暴露液由 1.1 中新鲜海水和 As_2O_3 储备液(质量浓度 810 mg/L)配制。设 4 个试验组和 1 个对照组,试验组质量浓度分别为 0.006 mg/L, 0.06 mg/L, 0.3 mg/L, 0.6 mg/L, 对照组采用新鲜海水。

1.2.3 栉孔扇贝对无机砷的富集和排出试验

试验在 5 个 300 L 的聚乙烯水族箱中进行,养殖水体 270 L,各放入 200 只经暂养净化后的栉孔扇贝。保持室温和自然光照,期间海水平均温度为 $19.25^\circ C \pm 0.86^\circ C$ 。富集阶段进行 35 d,各水箱加入 270 L 含有不同质量浓度的 As^{3+} 暴露溶液;排出阶段进行 30 d,将各试验箱中换成 270 L 自然海水。采用半静态法,每隔 24 h 更换 1 次实验海水。每天 8:00 时和 17:00 时投喂饵料。

1.2.4 试验取样

试验过程中分别在第 0、5、10、15、20、25、30、35、40、50、55、65 天取样,每次取样 5 个,用不锈钢刀剥肉去壳后打浆,打浆后的样品装入密封的塑料瓶,置于 $-20^\circ C$ 的冰箱中保存至带回实验室进行分析。

1.3 分析方法

生物样品采用微波消解,无机砷含量参照 GB5009.11-2003《食品中总砷及无机砷的测定》^[9] 中无机砷氢化物原子荧光光度法测定。

1.4 生物富集双箱动力学模型

生物富集系数 BCF 测定采用修正的双箱动力学模型方法^[10]。

实验的两个阶段用方程描述为:

富集阶段($0 < t < t^*$, t^* 为富集阶段结束的天数):

$$C_A = C_0 + C_w \frac{k_1}{k_2} (1 - e^{-k_2 t}) \quad (1)$$

C_0 为实验开始前栉孔扇贝体内无机砷的含量

($\mu g/g$, 干质量), C_w 为水体中 As^{3+} 质量浓度(mg/L), C_A 为栉孔扇贝体内无机砷的含量($\mu g/g$, 干质量)。

排出阶段($t > t^*$):

$$C_A = C_w \frac{k_1}{k_2} (e^{-k_2(t-t^*)} - e^{-k_2 t}) \quad (2)$$

式中, k_1 为生物吸收速率常数, k_2 为生物排出速率常数。

由公式(1)、(2)对富集和排出过程中栉孔扇贝体内无机砷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:

$$BCF = k_1/k_2 = \lim_{t \rightarrow \infty} C_A/C_w \quad (3)$$

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:

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

富集达到平衡时,生物体内重金属的含量 C_{Amax} 由公式(5)计算:

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

2 结果与分析

2.1 重金属富集与排出试验结果

试验过程中养殖水体较清澈,投饵量适宜,未有残饵污染水质情况。没有出现扇贝异常死亡情况,实验组的最高死亡率与对照组的死亡率相差 18%,差异不大。

栉孔扇贝对无机砷的生物富集曲线如图 1 所示,由图 1a 可以看出扇贝在天然海水中,对无机砷的富集量很少,且没有显著的规律性。当暴露于 As^{3+} 溶液质量浓度为 0.006 mg/L、0.06 mg/L、0.3 mg/L、0.6 mg/L 时,生物富集拟合曲线如图 1b、图 1c、图 1d 和图 1e 所示。

2.2 重金属富集与排出试验动力学参数

海洋生物对砷的吸收实际上取决于砷进出生物体内的速率,相对的速率变化决定了生物对砷的积累。Zauke 等^[11]认为,不同作者应用双箱动力学模型得到的实验数据存在差异,原因包括实验生物的种属差异,实验设计(现场实验或室内模拟实验)及实验装置差异,海水中金属质量浓度,以及不同作者对模型的不同修正。笔者认为因为对于无机砷的富集阶段和排出阶段,栉孔扇贝处于不同的水环境下,应该存在两阶段各自的吸收速率和排出速率,因此对数据进行了分段拟合。

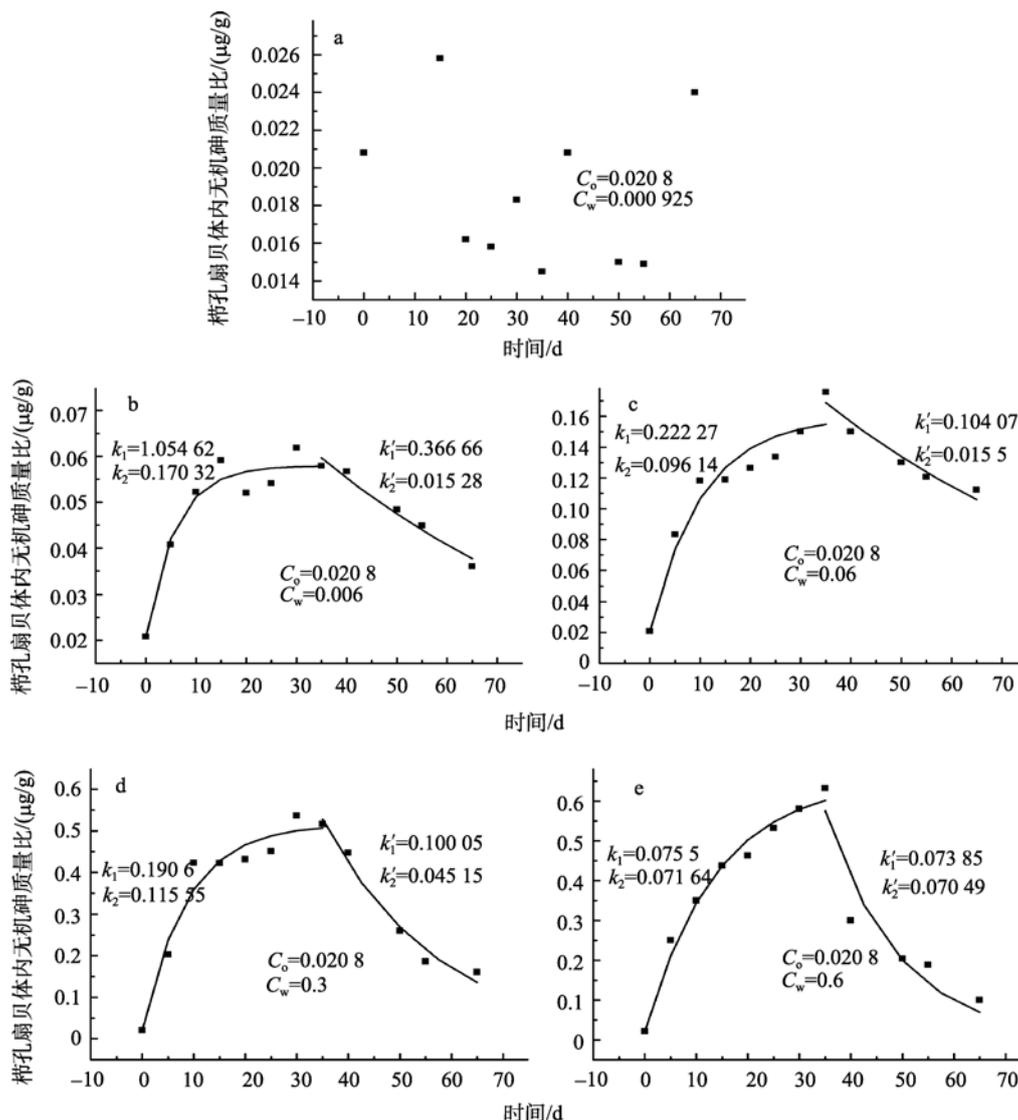


图 1 栉孔扇贝对无机砷的生物富集与排出拟合曲线

Fig. 1 The bio-enrichment of inorganic arsenic by *Chlamys farreri*

由图 1 的拟合曲线, 得到吸收速率 $k_1(k_1')$, 排出速率 $k_2(k_2')$, 然后根据方程(3)、(4)、(5)得到栉孔扇贝对无机砷生物富集动力学参数 BCF、 C_{Amax} 、 $B_{1/2}$ 。表 1 为栉孔扇贝对无机砷富集阶段的动力学参数, 表 2 为栉孔扇贝无机砷排出阶段的动力学参数。

栉孔扇贝在不同质量浓度的 As^{3+} 溶液中, 富集

达到平衡时, 体内无机砷的含量 C_{Amax} 与外部水体质量浓度的关系如图 2 所示。

由表 1 可以看出, 无机砷在栉孔扇贝体内的 BCF 值较小。陆超华^[2]等研究表明近江牡蛎对 Cu 的生物富集系数 BCF 可达 2 765; 张少娜^[12]等研究表明紫贻贝在 As 质量浓度为 100 $\mu\text{g/L}$ 的情况下, BCF

表 1 栉孔扇贝在不同质量浓度 As^{3+} 溶液中富集阶段各动力学参数

Tab. 1 The kinetic parameters of inorganic arsenic at the accumulation period of *Chlamys farreri*

C_w (mg/L)	k_1	k_2	BCF	C_{Amax} ($\mu\text{g/g}$)
0.006	1.054 62	0.170 32	6.192 0	0.037 2
0.06	0.222 27	0.115 89	1.921 6	0.115 3
0.3	0.190 6	0.115 55	1.649 5	0.494 9
0.6	0.075 5	0.071 64	1.053 9	0.632 3

表 2 栉孔扇贝在不同质量浓度 As³⁺溶液中富集后的排出阶段各动力学参数

Tab. 2 The kinetic parameters of inorganic arsenic at the elimination period of *Chlamys farreri*

C _w (mg/L)	k ₁ '	k ₂ '	B _{1/2}
0.006	0.366 6	0.015 28	45.36
0.06	0.104 07	0.015 5	44.72
0.3	0.100 05	0.045 15	15.35
0.6	0.073 85	0.070 49	9.83

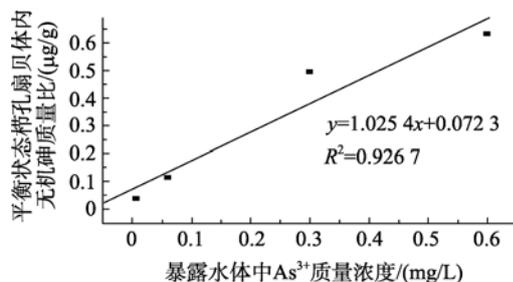


图 2 栉孔扇贝体内无机砷含量与暴露水体中 As³⁺质量浓度的关系

Fig. 2 The relationship between the concentrations of inorganic arsenic in the tissue of *Chlamys farreri* and the concentrations of As³⁺ in the exposure water

为 15.41, 而同样质量浓度下对 Cd 的 BCF 达到 851.3, 紫贻贝对其他重金属 Hg、Pb 的富集能力要更强, 紫贻贝富集重金属的能力为 Hg>Pb>Cd>As。王晓丽^[10]等对牡蛎重金属生物富集动力学特性研究表明, 牡蛎的富集能力为 Hg>Cd>Pb>As。说明贝类对无机砷的富集能力要较低。对于本试验来说, 也符合这一规律。这一方面表明贝类对重金属的积累情况与重金属种类有关, 另一方面也表明贝类体内毒性强的无机砷含量不高。张毅等^[13]在海洋调查中也表明有 10 种海洋动物体内的无机砷占总砷百分率均小于 1.8%, 有机砷百分率均高于 98.2%。

由表 2 可以看出, 无机砷在栉孔扇贝体内的代谢速率相对来说较快, As³⁺的质量浓度越低, 无机砷在栉孔扇贝体内的半衰期 B_{1/2} 也越长。造成这一现象的原因可能是由于在砷的毒性作用下, 栉孔扇贝

自身的代谢机制受到无机砷的影响而发生改变。砷的代谢速率随着体内无机砷含量的下降, 栉孔扇贝要把富集到体内的无机砷完全排出体外需要较长的时间。

由图 2 可以看出, 栉孔扇贝富集无机砷, 在平衡状态下, 体内金属含量 C_{Amax} 随着外部水体 As³⁺质量浓度的增大而增大, R²=0.9267, 呈正相关性。

2.3 重金属的排出情况

在富集阶段扇贝体内蓄积的无机砷含量随着时间的增加而增加, 并且在第 35 天达到积累最大值, 表 3 计算了在不同质量浓度 As³⁺溶液中富集后的最终排出率。排出率最高可达到 84.17%。虽然在排出阶段结束后, 栉孔扇贝体内无机砷含量都高于试验前栉孔扇贝体内的初值, 但是最终值都低于安全限量的值(0.5mg/kg), 已达到食用标准^[14]。

2.4 栉孔扇贝养殖水体中 As 安全限量讨论

重金属污染物通过食物链的传递进入人体, 给人类的安全和健康造成了潜在危害, 引起了世界各国的高度重视, 但由于生物的多样性, 重金属代谢的复杂性, 以及各地饮食习惯的差异等因素, 有关重金属安全限量的标准尚未统一^[15]。中国虽有海水水质标准等, 但是对于具体的养殖品种水体的要求没有统一。目前虽然有关于 Hg、Pb、Cd 的安全限量的讨论, 但是关于 As 的少有人讨论。

NY5062-2008《无公害食品扇贝》^[14](适用于栉孔扇贝、海湾扇贝、虾夷扇贝)中安全指标中指出无

表 3 栉孔扇贝在不同质量浓度 As³⁺溶液中富集后对无机砷的排出率

Tab. 3 The elimination rates of inorganic arsenic after accumulation in different concentrations of As³⁺

暴露溶液 As ³⁺ 质量浓度 (mg/L)	栉孔扇贝体内质量比(μg/g)			排出率(%)
	试验前	富集后	排出后	
0.006	0.020 8	0.057 9	0.036	37.82
0.06	0.020 8	0.175 6	0.112 2	36.10
0.3	0.020 8	0.516 2	0.160 3	68.95
0.6	0.020 8	0.631 7	0.1	84.17

机砷 0.5 mg/kg, 通过无机砷的生物富集参数(取最大值)可以换算出栉孔扇贝养殖水体中的安全限量为 0.08 mg/L。这一数值与 GB3097-1997 海水二类砷限量为 0.03 mg/L 比较, 发现本研究的最低限量值比 GB3097-1997 规定的适宜水产养殖的二类海水限量值高出 1.6 倍。因此在二类水质标准下养殖的栉孔扇贝符合食用标准。

3 结论

富集阶段初期, 在高质量浓度 As^{3+} 的胁迫下, 进入栉孔扇贝体内的无机砷远大于代谢排出的无机砷, 造成无机砷在栉孔扇贝体内的快速积累, 如果无机砷在栉孔扇贝体内蓄积的质量浓度达到一定值, 会对栉孔扇贝产生毒害作用, 影响到栉孔扇贝的代谢活动和摄食活动等, 最终导致死亡。本实验中未发现栉孔扇贝大量异常死亡, 说明所采用的 As^{3+} 质量浓度还不足以使无机砷在栉孔扇贝体内产生致命的毒害作用, 说明栉孔扇贝对砷具有一定的耐受性。

富集阶段, 栉孔扇贝对无机砷的吸收速率 k_1 随着外部水体 As^{3+} 质量浓度的增加而减小, 栉孔扇贝对无机砷的排出速率 k_2 随着水体 As^{3+} 质量浓度的增加而减小; 排出阶段, 栉孔扇贝对无机砷的吸收速率 k_1 随着富集状态下水体中 As^{3+} 质量浓度的增加而减小, 而排出速率 k_2 基本上随着富集状态下水体中 As^{3+} 质量浓度的增加而增加。

栉孔扇贝对无机砷的富集系数 BCF 随着外部水体 As^{3+} 质量浓度的增加而减小。

栉孔扇贝富集无机砷, 在平衡状态下, 体内金属含量 C_{Amax} 随着外部水体 As^{3+} 质量浓度的增大而增大, 呈正相关性。

无机砷在栉孔扇贝体内的半衰期较短, 且半衰期随着 As^{3+} 质量浓度的增大而缩短。

栉孔扇贝对无机砷的排出率较高, 最高可达到 84.17%。

根据试验结果推算, 在二类海水水质标准下养殖的栉孔扇贝完全食用标准。

本试验研究了无机砷在栉孔扇贝体内的富集与排出规律, 但鉴于水体的环境体系往往是多种金属离子的混合体系, 多种离子共存时可能存在某种协同、拮抗或加和作用, 另外饵料、试验器材等对重金属有一定的吸附作用, 盐度、温度等也会影响贝类代谢, 这些因素都可能会对栉孔扇贝对无机砷的富集产生一定影响, 诸多问题还有待我们去进一步的

研究。

参考文献:

- [1] Adams, M A, Bolger P M, Gunderson E L. Dietary intake and hazards of arsenic [C]// Chappell W R, Abernathy C O, Cothorn C R. Arsenic: Exposure and Health Science and Technology Letter. England: Northwood, 1994: 41-49.
- [2] 陆超华, 谢文造, 周国君, 等. 近江牡蛎作为海洋重金属 Cu 污染监测生物的研究[J]. 海洋环境科学, 1998, 17(3): 17-23.
- [3] 陆超华, 周国君, 谢文造, 等. 近江牡蛎对 Pb 的累积和排出[J]. 海洋环境科学, 1999, 18(1): 33-38.
- [4] 陆超华, 谢文造. 近江牡蛎作为海洋重金属锌污染监测生物[J]. 中国环境科学, 1998, 18(6): 527-530.
- [5] 王凡, 赵元凤, 吴益春, 等. 栉孔扇贝对海水中 Pb 积累排放规律[J]. 水产养殖, 2005, 26(2): 1-6.
- [6] 王凡, 赵元凤, 吕景才. 铜在栉孔扇贝组织蓄积、分配、排放的研究[J]. 水利渔业, 2007, 27(3): 84-87.
- [7] 王凡, 赵元凤, 吴益春. 栉孔扇贝对 Cd 的累积和排出[J]. 湛江海洋大学学报, 2005, 25(4): 95-98.
- [8] 中华人民共和国国家标准. GB3097-1997 海水水质标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 1997.
- [9] 中华人民共和国国家标准. GB5009. 11-2003 食品中总砷及无机砷的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [10] 王晓丽, 孙耀, 张少娜. 牡蛎对重金属生物富集动力学特性研究[J]. 生态学报, 2004, 24(5): 1086-1090.
- [11] Zauke G P, von Lemm R, Meurs H G, et al. Validation of estuarine gammarid collectives (Amphipoda: Crustacea) as biomonitors for cadmium in semi-controlled toxicokinetic flowthrough experiments[J]. Environ Pollut, 1995, 90: 209-219.
- [12] 张少娜, 孙耀, 宋云利. 紫贻贝(*Mytilus edulis*)对 4 种重金属的生物富集动力学特性研究[J]. 海洋与湖沼, 2004, 35(5): 438-444.
- [13] 张毅. 渤海湾砷的生物富集及其在底泥中的积累[J]. 海洋环境科学, 1990, 9(4): 24-29.
- [14] 中华人民共和国农业部行业标准. NY5062-2008 无公害食品扇贝[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [15] ROESIADIG. Metallothionein in metal regulation and toxicity in aquatic animals[J]. Mar Environ Res, 1984, 13: 177-194.

Bio-enrichment and elimination of inorganic arsenic by *Chlamys farreri*

SUN Fu-xin, LI Xiao, WANG Ying, WU Zhi-hong, LIU Tian-hong, SUN Yuan-qin, LU Jun
(Marine Culture Institute of Shandong Province, Qingdao 266002, China)

Received: Jul., 12, 2010

Key words: *Chlamys farreri*; Inorganic arsenic; Bio-concentration; Elimination

Abstract: The bio-enrichment and elimination of inorganic arsenic in *Chlamys farreri* were investigated in a semi-static system. Uptake rate constant (k_1), elimination rate constant (k_2), bio-enrichment factor (BCF), and biological half-life ($B_{1/2}$) were characterized based on the two-compartment model by nonlinear curve fitting. Under our experimental conditions, the uptake rate constant (k_1) and BCF were decreased with the increase of the concentration of As^{3+} , while the elimination rate constant (k_2) was not distinctly related. The maximal metal contents in test organism (C_{Amax}) at steady-state were in the linear proportion to As^{3+} concentrations through short exposure ($R^2=0.9267$). Elimination of inorganic arsenic from *C. farreri* was rapidly and completely; the elimination reached to 84.17 % after 30 days. Our results suggest that *C. farreri* cultivated in the second level of sea water quality standard should be safe.

(本文编辑: 梁德海)

(上接第 82 页)

Morphological study of the peripheral blood cells of highfin grouper *Cromileptes altivelis*

WANG Jing-xiang^{1,2}, LI Jia-er¹, OU You-jun¹

(1. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China; 2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Received: Apr., 7, 2010

Key words: *Cromileptes altivelis*; blood cells; morphology

Abstract: Using the Wright-Giemsa double staining method and improved blood smears of two staining methods, the peripheral blood cells of the *Cromileptes altivelis* were studied by light microscopy. Six major types of cells were recognized: erythrocyte, neutrophil, eosinophilic granulocyte, monocyte, lymphocyte, and thrombocyte. In blood smears, erythrocyte division, divided thrombosis cells, the shadow of erythrocyte, and leukocyte aggregation could be observed. The quantities of erythrocytes and leukocyte were $1.7462 \times 10^6 / \text{mm}^3$ and $4.7817 \times 10^3 / \text{mm}^3$, respectively. The percentages of lymphocytes, thrombocyte, neutrophil and monocytes were 37.26%, 30.82%, 23.57% and 8.35% respectively, while eosinophilic granulocyte was few. The microstructure of the above cells was described. The size of small lymphocyte was the smallest while that of the monocyte was the largest; the number of neutrophil was the least while that of lymphocytes was the most in the blood cells.

(本文编辑: 谭雪静)