

金鱼对铅和镉的吸收蓄积

刘长发 陶 澍 龙爱民

(北京大学城市与环境学系, 北京 100871)

摘要: 研究了铅、镉暴露实验中金鱼不同器官组织吸收积累铅、镉的过程及蓄积量。结合到金鱼鳃上的铅、镉可用 Langmuir 吸附等温式描述。最大结合容量 $B_{\max}$ 为: 铅 0.9424 mmol/kg 干重; 镉 $1.7662 \text{ }\mu\text{mol/kg}$ 干重, 条件稳定常数 $\log K$ 为: 铅 7.80; 镉 6.38。Hill 结合特征常数为: 铅 1.012; 镉 1.175, 表明金鱼鳃上仅有一种类型的 Pb^{2+} 或 Cd^{2+} 结合位点。鳃中铅、镉含量与血液含量以及血液铅、镉含量与肾、肝中的含量呈正相关关系。肾脏对铅、镉的蓄积量高于其他器官。

关键词: 金鱼; 铅; 镉; 吸收; 积累

中图分类号: X174

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2001)04-0344-06

因与生物必需元素竞争结合位点, 铅、镉具有很高的生物毒性。天然水中铅、镉的形态分布受各种生物和非生物因素的影响, 一般认为只有重金属的水合离子和羟基络合离子是生物有效形态^[1]。多数作者研究重金属的鱼鳃吸收时采用金属离子的游离形态即水合离子^[2-4]。最近, 一些学者将金属地球化学模型、腐殖酸络合模型和阳离子竞争模型组合成一个称为生物配位体模型(Biotic Ligand Model, BLM)的新模型, 用于预测金属离子结合鱼鳃或其他毒性作用位点^[5,6]。在重金属离子的吸收机理方面, 早期研究认为, 金属穿过鱼鳃上皮被假定是从水到血液梯度驱动的被动扩散, 但后来的研究观察到可饱和的过程控制二价金属穿过呼吸上皮, 表示了一种可饱和的鳃吸收机制^[7]。最近对虹鳟吸收镉的研究发现镉离子从水相到鳃部的移动是被动扩散或易化扩散穿过鳃细胞钙通道的过程^[8], 而在鳃与血液之间的分配往往成正相关关系^[9]。对鱼体不同器官蓄积重金属的研究发现, 肾脏和肝脏是鱼体受重金属攻击的靶器官有最大的积累量^[10-12]。而在进入血液循环的铅、镉如何被肾脏和肝脏吸收蓄积的研究方面则很少报道。本研究通过水相铅、镉的形态计算和室内实验测定金鱼不同器官组织吸收积累重金属铅、镉的基础上, 探讨金鱼对水相暴露铅、镉的吸收积累特征。

1 材料与方法

1.1 实验用鱼和实验条件 金鱼(*Carassius auratus* var.) 采自北京市通州区, 平均体重

收稿日期: 2000-06-17; 修改日期: 2001-02-27

基金项目: 国家杰出青年基金(49525102); 辽宁省科学技术基金(001055)资助项目

作者简介: 刘长发(1964-), 男, 内蒙古通辽市人, 现在大连水产学院养殖系工作, 主要从事水产增殖养殖环境和水生毒理学方面的教学与科研工作。E-mail: liucf@mail.dlptt.ln.cn

通讯作者: 陶 澍, E-mail: taos@urban.pku.edu.cn

为: 铅实验 $9.77 \pm 2.92 \text{g}$, 镉实验 $23.96 \pm 4.31 \text{g}$ 。采回后在实验室内以曝气的自来水暂养, 投喂市售颗粒饵料。实验前驯养 5d 使其排出肠内粪便, 再用自行配制的人工河水驯化 1d 后用于实验。人工河水参照我国主要河流常量离子平均含量配制, 其常量离子含量为: Ca^{2+} 0.710 、 Mg^{2+} 0.324 、 Na^{+} 0.143 、 K^{+} 0.009 、 Cl^{-} 1.421 、 SO_4^{2-} 0.324mmol/L 、实测总碱度($\text{HCO}_3^{-} + \text{CO}_3^{2-}$), 铅实验 $0.359 \pm 0.047 \text{mmol/L}$ 、镉实验 $0.676 \pm 0.227 \text{mmol/L}$ 。实验期间水温控制在 $23 \sim 25^{\circ}\text{C}$, 实测 pH 为: 铅实验 9.01 ± 0.01 , 镉实验 8.84 ± 0.05 。为避免残饵和粪便对实验金属形态的影响, 驯养及实验期间不投喂。

1.2 步骤 暴露实验是将鱼投放在含不同金属浓度(表 1)的装有 10L 的水族箱中进行为期 10d 的充气养殖。每个实验浓度组中包括 4 尾实验鱼重复, 不设浓度组重复。暴露实验结束后, 将鱼断尾取血, 再分别解剖出鳃、肝、肾、肠、肌肉等组织器官。

表 1 暴露实验的金属浓度

Tab. 1 Exposure concentrations of lead and cadmium ($\mu\text{mol/L}$)

实验组 Treatment No.	0	1	2	3	4	5	6
总铅 Total concentration of Pb^{2+}	0	1.448	2.896	4.344	5.792	7.239	8.687
游离态铅 Concentration of free $\text{Pb}^{2+} \times 10^{-2}$	0	0.555	1.029	2.017	2.343	3.372	2.866
总镉 Total concentration of Cd^{2+}	0	0.445	0.890	2.669	4.448	6.227	8.006
游离态镉 Concentration of free Cd^{2+}	0	0.080	0.143	0.479	0.799	1.135	3.281

1.3 分析方法 于盛放样品的消解罐中加入约 5mL 浓 HNO_3 (GR) 和 $2\text{mLH}_2\text{O}_2$ (GR) 封盖, 在 CEMMDS2000 微波消解装置中消解后于调温电炉上蒸干并加入少量去离子水溶解, 1mol/L NaOH (GR) 溶液调 pH 至中性后定容待测。样品测定采用阳极溶出伏安法在配有 303 悬汞电极的 PAR- 384 极谱仪上进行。曝气时间 180s, 富集时间 120s, 平衡时间 30s, 扫描范围- $0.8 - 0.2\text{mV}$, 扫描速度 4mV/s 。

1.4 数据分析 采用 MINTEQA2 程序计算水中游离态 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 的浓度。并采用 Langmuir 吸附等温式拟合鱼鳃对游离态 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 的结合。鱼鳃结合游离态 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 的特性用 Hill 分析^[4]描述。

2 结果与讨论

2.1 金属经鱼鳃的吸收蓄积

结果表明, 暴露于不同金属浓度体系中的金鱼鳃对铅、镉的吸收量随着水相游离态 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 的浓度增加而增加。用鳃部蓄积量对计算的体系游离态金属浓度作图, 得到图 1 的结果。从图中可见, 鳃蓄积量随水相游离态金属离子浓度增加而增加, 但增加幅度随浓度增加而减缓。这一关系可用 Langmiur 吸附等温式从热力学平衡角度加以描述:

$$B_{\text{Pb}} = \frac{0.9424 \times 63451990[\text{Pb}^{2+}]}{1 + 63451990[\text{Pb}^{2+}]} (r = 0.985); B_{\text{Cd}} = \frac{1.7662 \times 2391778[\text{Cd}^{2+}]}{1 + 2391778[\text{Cd}^{2+}]} (r = 0.960)$$

从拟合结果可以看出, 除个别点外, 近似平衡条件下鱼鳃铅、镉的蓄积量与水相游离态 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 浓度的定量关系可以用简单的吸附平衡关系表述。据此可求得金鱼鳃对 Pb^{2+} 的单层饱和结合量为 0.9424mmol/kg 干重, Cd^{2+} 为 $1.7662\mu\text{mol/kg}$ 干重, 条件稳定常数 $\log K_{\text{Pb- 鳃}} = 7.80$, $\log K_{\text{Cd- 鳃}} = 6.38$ 。许多研究者曾发现鱼鳃结合重金属的可饱和

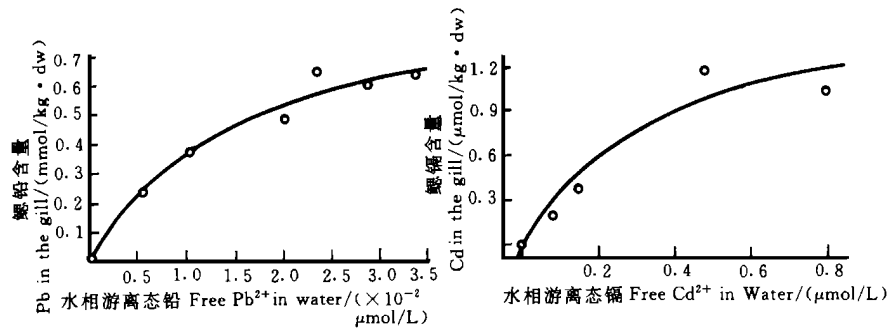


图 1 鳃部铅镉蓄积量随水相游离态浓度变化及 Langmuir 等温线拟和结果

Fig. 1 Accumulation of lead and cadmium in the gills with various metal concentration in the water and the results of Langmuir fitting

现象, 并用 Langmuir 等温式描述了金属在鱼鳃上的结合强度和结合位点数^[3, 4]。尽管生物配位体模型可用来预测金属在鱼鳃上的结合^[5, 6], 但在特定的水质, 如 pH、碱度、硬度条件下仍可用游离离子活度模型, 即 Langmuir 等温式的热力学平衡模型描述。金属在鱼鳃部的结合特点还可用 Hill 方法分析研究:

$$\log [B_T \times (1 - B_T)^{-1}] = H_n \times \log [M_e]$$

其中, B_T 为总结合百分数, $B_T \times (1 - B_T)^{-1}$ 为“受体”占据分数, M_e 为游离态金属的浓度, H_n 为 Hill 常数。根据实验得到的数据作出图 2 所示的 Hill 分析曲线(铅: $Y = 4.859$

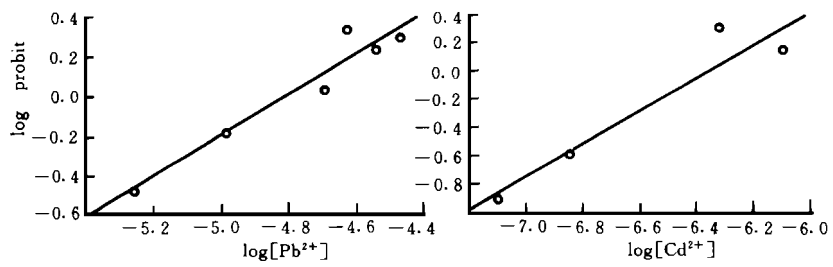


图 2 Hill 分析曲线

Fig. 2 Hill plots of bound lead or cadmium on the gills

+ 1.012X($r = 0.964, p < 0.0019$); 镉: $Y = 7.485 + 1.175x$ ($r = 0.953, p < 0.074$)). 据此方法得到的 Hill 常数 H_n 为: 铅实验 1.012, 镉实验 1.175, 表明无论是 Pb^{2+} 还是 Cd^{2+} , 金鱼鳃上结合位点之间没有协作性或鳃上仅有一种类型的 Pb^{2+} 结合位点。平均每尾金鱼鳃上 Pb^{2+} 的总结合位点数约为 1.62×10^{-5} mmol(每尾金鱼平均鳃重约为 96mg, 含水率约为 82.1%), Cd^{2+} 为 7.01×10^{-5} μmol(平均鳃重约为 221.8mg)。与其他有关研究相比, Pb^{2+} 在金鱼鳃上的结合亲和力($\log K_{Pb-鳃} = 7.80$)与 Cu^{2+} 在胖头 (*Pimephales promelas*) 鳃上的结合亲和力($\log K_{Cu-鳃} = 7.4$)相近, 但低于 Cd^{2+} 在胖头 鳃上的结合亲和力($\log K_{Cd-鳃} = 8.6$)^[3]; Cd^{2+} 与金鱼鳃的结合亲和力($\log K_{Cu-鳃} = 6.38$)则更低。一种金属对生物配位体的相对亲和力大小是比较金属与生物配位体形成离子键与共价键的趋势, 可用金属离子的 X_{mr}^2 和 Z^2/r 值的大小衡量。 X_{mr}^2 可以理解为相对于离子相互作用的

共价相互作用重要性的一种度量, Z^2/r 则是阳离子形成离子键能力指数。离子键成键作用越强, 越趋于结合含氧配位体, 金属离子与配位体的结合越紧密, 而共价键成键作用越强, 则越趋于结合富含氮或硫的配位体, 金属离子与配位体的结合越松散。生物体内的常量金属离子属于 A 型金属离子, 微量营养金属属于边界线金属离子, 而 B 型金属离子则多属于不被生物利用或毒性金属离子。据此分类 Pb^{2+} 属于近边界线但具明显 B 型特征, 的金属离子、 X_m^2r 为 6.406, Z^2/r 为 3.39; 而 Cd^{2+} 具明显的边界线金属离子特征、 X_m^2r 为 2.713, Z^2/r 为 4.21^[14]。 Pb^{2+} 趋于与含氮或硫的配位体共价配合。虽然属于边界线类型特征的 Cd^{2+} 不仅可以结合含氮或硫的配位体, 也可以结合含氧的配位体, 但很可能以结合含氮或硫的配位体为主。在鱼鳃表面覆有一层由葡糖胺聚糖(透明质酸, 硫酸软骨素)组成的成分复杂的富氧、氮、硫等电子供体的粘液, 为金属离子的结合提供位点。当粘液组成成分相对稳定时, 其与金属离子的结合取决于金属离子的性质。

2.2 由鳃到血液的转移

尽管很多金属离子的透膜机理被用于解释重金属离子穿过鱼鳃上皮的过程, 但是对控制重金属穿过鱼鳃上皮的机理尚不甚明了。早期的研究认为鳃(*Pleuronectes platessa*)吸收 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 是从水到血液浓度梯度驱动的被动扩散^[7]; 虹鳟(*Salmo gairdneri*)鳃吸收 Cd^{2+} 是鳃中氯细胞钙通道的被动扩散或易化扩散^[8]。从结果来看, 暴露 10d 的金鱼血液中的金属含量与鳃中的金属含量呈显著性线性相关: 铅实验 $Y = 0.013 + 0.343X$, $r = 0.932$, $p < 0.007$; 镉实验 $Y = 0.022 + 0.471X$, $r = 0.844$, $p < 0.017$ (图 3)。

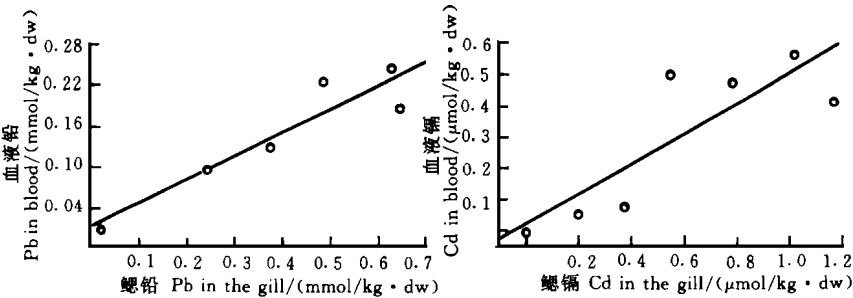


图 3 血液和鳃中金属含量的关系

Fig. 3 Plots for concentration of blood metals against gill metals

2.3 肝、肾对铅、镉的蓄积

由于可以快速大量合成金属硫蛋白使重金属得以大量蓄积, 所以肾脏和肝脏成为重金属蓄积的重要靶器官。在对金鱼进行的为期 10d 的暴露实验中, 可以观察到肝脏和肾脏的铅、镉积累量与血液中铅、镉含量呈显著的线性关系(图 4)。肾脏对铅、镉的积累量明显大于肝脏, 尤其是对铅的蓄积, 即金鱼在血液中金属含量相同的情况下肾脏蓄积了更多的金属。在对奥丽亚罗非鱼 *Oreochromis aureus*^[10]、虹鳟^[11]、日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)^[12] 吸收、蓄积镉的研究中发现肾脏是蓄积量最大的器官。

2.4 肠、肌肉对铅、镉的蓄积

图 5 为在 10d 金属暴露实验中观察到的肠、肌肉中铅、镉含量与血液中铅、镉含量的关系。从图中可以看出肠、肌肉的铅、镉蓄积量与血液中的铅、镉含量基本没有相关关系。

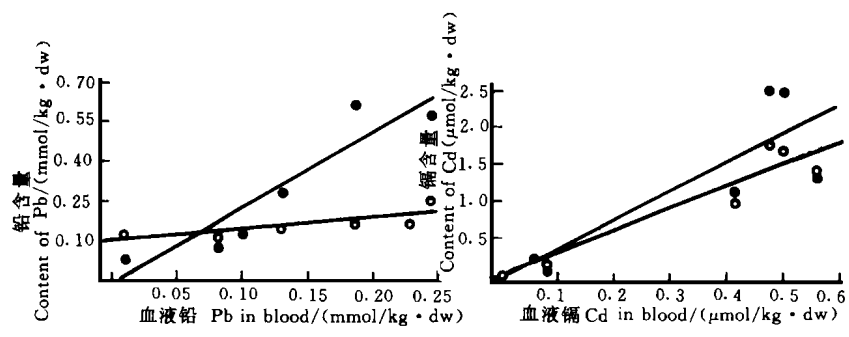


图4 肝(○)、肾(●)与血液中铅、镉含量的关系

Fig. 4 Plots for concentration of liver or kidney metals against blood metals
肾脏- 血液铅: $Y = -0.071 + 2.860X$, $r = 0.924$, $p < 0.008$; 肝脏- 血液铅:
 $Y = 0.105 + 0.423X$, $r = 0.795$, $p < 0.059$
肾脏- 血液镉: $Y = -0.042 + 3.884X$, $r = 0.872$, $p < 0.010$; 肝脏- 血液镉:
 $Y = 3.009X$, $r = 0.954$, $p < 0.0008$

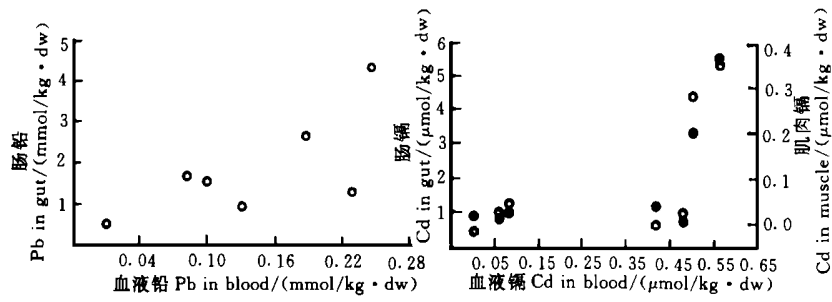


图5 肠、肌肉与血液中铅、镉的关系肠镉(○); 肌肉镉(●)

Fig. 5 Plots for concentration of gut or muscle metals against blood metals

这可能是肠中金属含量受到了水中金属的影响,因为金鱼可能会“饮”进少量水。肌肉因对金属的蓄积量很少,因而在 10d 的暴露实验中不能观察到规律性的变化。对奥丽亚罗非鱼^[10]和日本鳗鲡^[12]的研究也观察到肌肉很少蓄积镉。

暴露于水相铅、镉中的金鱼对铅、镉的鳃吸收蓄积可用 Langmuir 吸附等温式描述其热力学平衡状态。金鱼鳃上仅有一种类型的 Pb^{2+} 或 Cd^{2+} 结合位点。鳃中铅、镉含量与血液含量以及血液铅、镉含量与肾、肝中的含量呈正相关关系。肾脏在 10d 的暴露实验中表现出最高积累量。

参考文献:

[1] Pagenkopf G K. Gill surface interaction model for trace- metal toxicity to fishes: role of complexation, pH, and water hardness [J]. *Environ. Sci. Technol.*, 1983, **17**(6): 342—346
[2] Hudson R J M. Which aqueous species control the rates of trace metal uptake by aquatic biota? Observations and predictions of non- equilibrium effects [J]. *The Science of the Total Environment*. 1998, **219**: 95—115
[3] Playle R C, Dixon D G, Bumison K. Copper and cadmium binding to fish gills: estimates of metal- gill stability constants and modeling of metal accumulation [J]. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 1993, **50**: 2678—2687

- [4] Reid S D, McDonald D G. Metal binding activity of the gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 1991, **48**: 1061—1068
- [5] Meyer J S, Santore R C, Bobbitt, J P, et al. Binding of nickel and copper to fish gills predicts toxicity when water hardness varies, but free- ion activity does not [J]. *Environ. Sci. Technol.*, 1999, **33**(6): 913—916
- [6] Brown P L, Markich S J. Evaluation of the free ion activity model of metal- organism interaction: extension of the conceptual model. *Aquat. Toxicol.*, 2000, **51**: 177—194
- [7] McKim J M. Physiological and biological mechanisms that regulate the accumulation and toxicity of environmental chemicals in fish [A]. In: Hamelink J L, Langdrum P F, Bergman H L, et al. (Eds.). Bioavailability: Physical, chemical, and biological interactions [M]. Boca Raton: Lewis Publishers, 1994, 179—201
- [8] Verboost P M, van Rooij J, Flik G, et al. The movement of cadmium through freshwater trout branchial epithelium and its interference with calcium transport [J]. *J. Exp. Biol.*, 1989, **145**: 185—197
- [9] 刘长发, 李杭, 陶澍. 金鱼 *Carassius auratus* var. 对水中游离态铅的吸收积累及鳃分泌粘液的自身保护作用 [J]. *环境科学学报*, 1999, **19**(4): 438—442
- [10] Allen P. Chronic accumulation of cadmium in the edible tissue of *Oreochromis aureus* (Steindachner): modification by mercury and lead [J]. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1995, **29**: 8—14
- [11] Thomas D G, Cryer A, Solbe J F deLG, et al. comparison of the accumulation and protein binding of environmental cadmium in the gills, kidney and liver of rainbow trout (*Salmo gairneri* Richardson) [J]. *Comp. Biochem. Physiol.* 1983, **76C**(2): 241—246
- [12] Yang H- N, Chen H- C. Uptake and elimination of cadmium by Japanese eel, *Anguilla japonica*, at various temperature [J]. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1996, **56**: 670—676

ACCUMULATIONS OF LEAD AND CADMIUM IN GOLDFISH, *CARASSIUS AURATUS*

LIU Chang fa, TAO Shu and LONG Armin

(Department of Urban and Environmental Sciences, Peking University, Beijing 100871)

Abstract: Accumulations of lead and cadmium in gills, blood, liver, kidney, gut and muscle of goldfish, *Carassius auratus* var. exposed to various concentrations of either lead or cadmium were studied. The Langmuir isotherms were employed to describe the gill surface binding activity of lead or cadmium. The binding capacities ($B_{\max}$) and conditional equilibrium constants ($\log K$) were 0.9424 mmol/kg dry wt and 7.80 for lead, 1.7662 μ mol/kg dry wt and 6.38 for cadmium, respectively. The binding cooperativities (H_n) were very closed to unit (1.012 for lead and 1.175 for cadmium) indicating independent binding to the sites with one apparent affinity. There were positive correlations of metal contents between gills and blood and between blood and kidney or liver. There were more metal accumulated in kidney than in other organs.

Key words: Goldfish; Lead; Cadmium; Uptake; Accumulation