

# 五氯苯酚(PCP)在鱼体胆囊内积累的研究\*

谭 渝 云

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

## 提 要

鱼体吸收水中的异生物质能迅速、大量地分配主胆囊。胆囊的功能好像一个强烈的生物浓集器, 杂交鲫暴露在含 PCP 水溶液中 48h, 胆囊对五氯苯酚(PCP)的富集系数(BCF)高达 11365。胆囊积累和排除 PCP 是随水温升高而增快的。草鱼胆汁内积累的 PCP 90% 以上为结合态, 并随暴露时间延长而增加, 48h 残留达到 904mg/kg; BCF 为 6027。草鱼暴露在自来水和东湖水中 48h, 用气相色谱分析胆汁内的有机物分别为 24 和 25 个。这一结果说明了鱼胆汁可能用于监测水中某些异生物质

**关键词** 鱼胆囊, 积累, 监测。

评价化学品对环境风险性的重要指标之一即该物质在水生生物体的生物富集系数(BCF)。在研究鱼体吸收、代谢和排泄水中的异生物质时, 发现鱼的胆囊好像是一个强烈的生物浓缩器, 能够迅速地、大量地积累进入鱼体的异生物质。

Statham 等报道了虹鳟胆汁对甲基萘、DDT、四氯联苯等九种化学物具有很高的积累量, 并进行了石油污染的监测<sup>[1]</sup>。另一些学者在研究洗涤剂、芳香烃、多氯联苯、氯酚类和石油在鱼体内代谢时, 也指出了胆汁对上述物质的 BCF 可达到 500—12000<sup>[2-8]</sup>。Zimmermann 等从 Rhina 河水中分析出 35 种有机诱变化合物, 并发现暴露在此河水中的虹鳟胆汁的诱变活性为河水的  $10^4$  倍<sup>[9]</sup>。因此, 研究鱼体在吸收、代谢水中的异生物质时胆囊的重要作用, 以及试图应用鱼胆汁作为水污染监测的方法愈来愈引起了人们的关注。

作者是以五氯苯酚(PCP)为水中的代表污染物, 研究了鱼胆囊积累和排除 PCP 与时间和水温之间的关系、PCP 在鱼胆汁内存在的形态, 并应用鱼胆汁对武昌东湖水污染状况进行了初步的比较研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 试验鱼, 杂交鲫(Hybrid crucian carp)是由中国科学院水生生物研究所遗传育种室培育的新品系。草鱼(*Ctenopharyngodon idellus* Cuvier et Valenciennes)是从中国科学院水生生物研究所养殖场及洪湖取得。

\* 国家自然科学基金及本所所长基金资助课题。

1994年5月3日收到。

**1.1.2**  $^{14}\text{C}$ -PCP 是德国环境与健康研究中心生态化学研究所提供。 $^{14}\text{C}$  标志在苯环上, 比放射活度为 251.6. M Bq / mmol。

非标志的 PCP 为上海试剂一厂生产, 含量不低于 98%。

**1.1.3** 测定胆汁的  $^{14}\text{C}$ -PCP 的放射活度的试剂、仪器见文献[10]。

**1.1.4** 紫外分光光度计, 751 型

**1.1.5** 气相色谱仪, SC-7 型, 四川分析仪器厂产品。

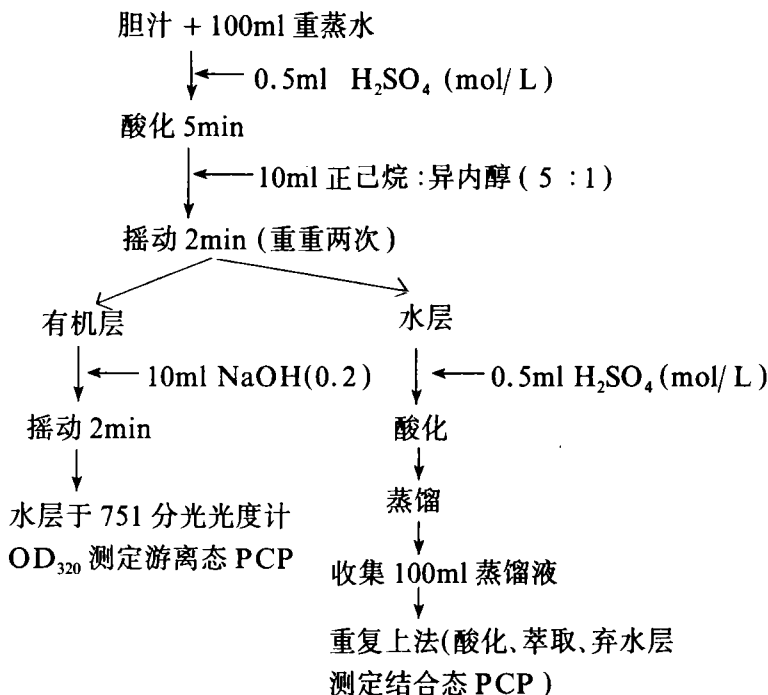
## 1.2 试验方法

**1.2.1**  $^{14}\text{C}$ -PCP 在杂交鲫胆囊内的积累和排除试验 试验步骤和测定胆囊的  $^{14}\text{C}$ -PCP 残留方法见文献[10]。

**1.2.2** 温度对杂交鲫胆囊积累和排除 PCP 的影响 试验在冬季气温 1—3℃ 下进行。将在实验室喂养的杂交鲫分 4 组处理, 每组 4 尾鱼体重 5g 左右, 放入水容积为 1L 的试验缸内。将缸置于温度 3°、13°、23°、33℃ 的恒温水浴内, 让其自然升温, 在不喂食条件下暂养 48h。试验开始时, 分别在 4 个试验缸内加入  $^{14}\text{C}$ -PCP 和 PCP 贮液使水溶液的放射活度为 300dpm / ml, PCP 浓度为 0.05mg / L。暴露 24h 后取出两尾鱼分析胆囊内  $^{14}\text{C}$  的活度。同时将另两尾鱼置于相同温度的清水内, 12h 换水一次, 24h 后测定鱼体胆囊的  $^{14}\text{C}$  活度。

**1.2.3** 草鱼胆汁内 PCP 存在的形态研究 从本所试验场取得的草鱼体重约 20g 在实验室条件下喂养 4 周。将 16 尾鱼放入 50L 经活性炭过滤的自来水中, 水溶液 PCP 的浓度为 0.15mg / L, 水温 25℃。暴露 6、12、24、48h 分别取 4 尾鱼解剖后取出胆囊, 用针刺破将胆汁收集至小管内, 称其重量大约 0.5g。

胆汁内游离态(原体)和结合态 PCP 的分析步骤如下:



**1.2.4 应用草鱼胆汁进行水污染监测** 从洪湖试验场得到的草鱼体重 50g 左右, 取 15 尾鱼的胆汁作为对照。另外, 在 50L 活性炭过滤的自来水及东湖污水口附近的水样中, 分别放入 15 尾鱼。在充气条件下水温 25℃ 暴露 48h。试验结束后, 取出草鱼的胆汁合并称重, 并加入 100ml 重蒸水。有机化合物的萃取及分析步骤如下。

在水与胆汁混合液中加入 1ml 浓硫酸, 60℃ 保温半小时。再加入 2g 氯化钠, 在分液漏斗中用二氯甲烷萃取 3 次, 用量分别为 10, 8, 7ml, 每次摇动 2min。合并 3 次萃取液于另一分液漏斗中。以 2% 的硫酸钠溶液每次 10ml 将二氯甲烷液洗至中性。有机层通过无水硫酸钠过滤入具塞量筒内。加入 0.5ml 浓硫酸, 充分摇动量筒, 静止 48h, 将有机层吸出浓缩至 0.2ml, 在气相色谱上分析胆汁内的有机化合物。

气相色谱条件: 石英毛细管柱, 长 25m, 内径 0.24mm, 涂渍 OV-1701。柱温: 90℃ (1min)  $\xrightarrow{6^{\circ}\text{C}/\text{min}}$  320℃ (24—30min)。气化室温度: 230℃, 火焰离子 (FID) 检测器 FID 温度: 300℃。

2 结果与讨论

2.1 草鱼胆囊重与体重的关系

经过了对多种鱼筛选, 确定以草鱼和杂交鲫作为试验的材料鱼<sup>[10]</sup>。体重 250g 以下的草鱼, 体重与胆囊重的关系如图 1, 其回归方程式为:

$G = 0.00743W - 0.022$ , 式中 G——胆囊重, W——鱼体重, 相关系数为  $r = 0.98$

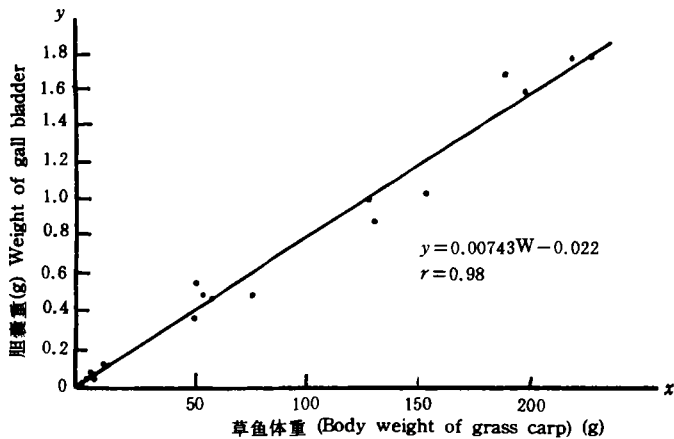


图 1 草鱼胆囊重与体重的相关性

Fig.1 Relationship between body weight and gall bladder weight in grass carp

2.2 杂交鲫胆囊对 PCP 的积累与排除

杂交鲫暴露在 25 ° 及 3℃ 含 PCP 的水溶液中, 胆囊积累和排除 PCP 与试验时间之间的关系见图 2。

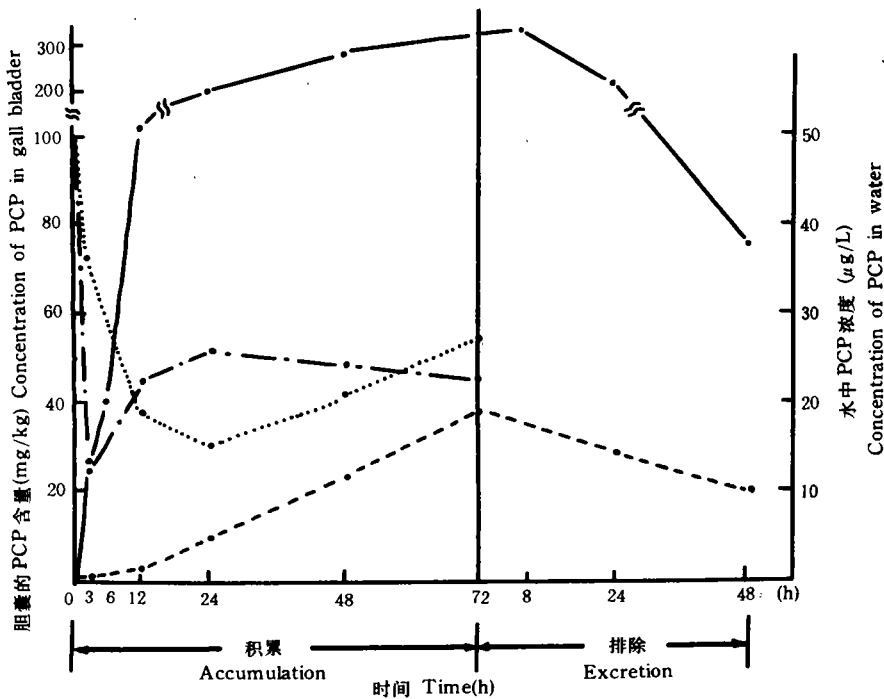


图2 在两种水温下胆囊对PCP的积累与排除

Fig.2 Accumulation and excretion of gall bladder in hybrid crucian carp at 3° and 25°. ——25°C 胆囊 gall bladder, ——3°C 胆囊 gall bladder, - · - 25°C 水 water, ···· 3°C 水 water.

图中显示出两种温度下鱼胆囊内PCP的含量均是随暴露时间的延长而升高的。作者在前文中已报道,鱼体在25°和3°C暴露在含PCP水中72h,除胆囊外其他器官PCP残留的峰值分别为3和24h。这是与水中PCP浓度的变化密切相关的<sup>[11]</sup>。而胆囊积累PCP与水中PCP浓度的变化关系不明显,是持续上升的。在25°C的排除试验中,鱼体接触清水8h,胆囊PCP的残留仍然上升;直至24h才逐步下降。鱼体是通过鳃吸收水中异生物质,并通过血液循环分配至各组织和器官,因而水中异生物质浓度的改变立即会引起鱼体的各组织器官内含量的变化。而胆囊是一个特殊器官,它好似一个强烈的生物浓集器,分配至肝脏的异生物质随胆汁的分泌向胆内输送,而胆向外排放则相对是比较慢的。

表1指出了杂交鲫在25°C时吸收和排除PCP试验中,PCP在胆囊内的分配比。通常杂交鲫的胆囊只占鱼体重的0.4%左右,但积累PCP的数量是十分可观的。在暴露48h胆内PCP的BCF达到11365,是暴露3h的35倍。胆囊积累的与鱼吸收的PCP之比从暴露3h的5.82%上升到48h的62.61%,是逐渐向胆内浓集。在排放试验中,前文已阐明鱼体各组织器官内PCP残留量下降得很快<sup>[11]</sup>,并且在向清水排放的同时也向胆囊转移,以至在48h鱼体内PCP的90.35%都集中在胆囊内。同时在此过程中,胆囊的重量不断增加,在48h为通常状态下的3倍。因此,进一步说明了鱼胆囊在积累和排泄进入体内的异生物质是一个特殊的器官。

温度对杂交鲫胆囊积累和排除PCP有明显的影响,鱼体暴露在含PCP水中24h,比

较了 4 种水温下胆囊对 PCP 的积累及排除速率(表 2)。

表 1 水温 25℃ PCP 在杂交鲫胆囊的分配

Tab.1 Distribution of PCP in gall bladder of hybrid crucian carp under 25℃

时间 time (h)	鱼体重 (1) (g)	胆囊重 (2) (g)	胆重 / 体重 (3) %	整体 PCP 放射活度(4) (dpm)	胆 PCP 放 射活度(5) (dpm)	胆活度 / 总活 度 %(6)	BCF*
吸收							
3	3.7264	0.0150	0.40	61059	3556	5.82	2280
6	4.3500	0.0168	0.39	45467	5870	12.91	2520
12	4.5274	0.0153	0.34	49782	16133	32.41	5531
24	2.9731	0.0081	0.27	22796	11674	52.21	6781
48	3.7272	0.0170	0.46	66966	41925	62.61	11365
72	5.0250	0.0153	0.31	77798	47706	61.32	12096
排除							排除率(%)
8	3.9906	0.0135	0.34	78475	39818	49.59	—5.78
24	4.7620	0.0204	0.43	65535	46405	70.81	35.92
48	3.3691	0.0412	1.22	36294	32791	90.35	77.58

\*  $BCF = \frac{\text{胆内PCP残留mg / kg}}{\text{水中PCP浓度mg / L}}$

- (1) weight of fish body (2) weight of gall bladder
- (3) weight of gall bladder / weight of fish body
- (4) C<sup>14</sup> activity of PCP in whole body
- (5) C<sup>14</sup> activity of PCP in gall bladder
- (6) C<sup>14</sup> activity of PCP in gall bladder / C<sup>14</sup> activity of PCP in body weight

表 2 水温对杂交鲫胆囊积累和排除 PCP 的影响

Tab.2 Effect of temperature on accumulation and depuration of gall bladder in hybrid crucian carp

水 温 water temperature ℃	积 累 accumulation		排 除 Excretion		
	C—dpm / g	PCP mg / kg	<sup>14</sup> C—dpm / g	PCP mg / kg	%
3	399555	57.74	305668	44.17	23.50
13	1191706	172.21	737547	106.58	38.11
23	1458021	210.72	792439	114.51	45.65
33	2044957	295.51	938426	135.61	54.11

可见,进入鱼体的 PCP 在胆囊内的积累及排除都是随温度上升而增快的。鱼体的某些器官也具有类似的规律。Barron 等指出虹鳟心脏输出是随温度上升成线性增加的,并证明邻苯二甲酸二异辛酯在虹鳟体内积累是随温度升高而增加的<sup>[12,13]</sup>。所以,鱼体组织和器官积累水中异生物质的数量是与血液循环的速率有关。

2.3 PCP 在胆汁内存在的形态

草鱼暴露在含 PCP 的水溶液中 48h, 分析了胆汁内 PCP 的形态及其含量与暴露时间之间的关系 (图 3), 可见, 在草鱼胆汁内 90% 以上的 PCP 是与其他物质相结合的形态存在的, 并且游离态和结合态的 PCP 都是随暴露时间的延长而增加的。结合态 PCP 在暴露于含 0.15mg / L PCP 水中 6h, 含量为 223mg / kg, BCF 为 1487; 到 48h 升高至 904mg / kg, BCF 为 6027。因此, PCP 在进入胆囊之前在肝内可能就开始与其他物质相结合。Kobayashi 等已鉴定在鱼胆汁内与 PCP 结合的物质是  $\beta$ -葡萄糖苷酸, 并指出不仅是 PCP, 其他苯酚类化合物如: O-氨基酚, 酚红对硝基酚等也是与葡萄糖苷酸相结合以后进入胆汁<sup>[14]</sup>。因此, 当鱼暴露到含苯酚类化合物的水中, 与葡萄糖苷酸相结合进入胆汁后, 再进入肠内, 这种反应可能是苯酚类化合物在鱼体内的一种解毒机制。

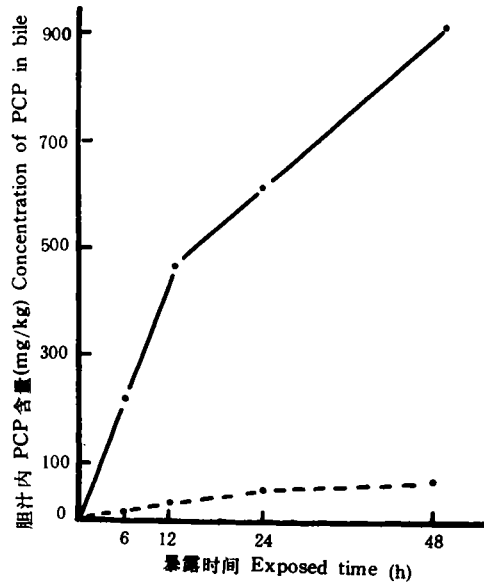


图 3 草鱼胆汁内积累的结合态及游离态 PCP 的变化

Fig.3 Accumulation of free-and conjugated-PCP in bile of grass carp exposed to PCP.

— · — 结合态 Conjugated-PCP, ——— 游离态 Free-PCP

2.4 应用胆汁进行水污染监测

在洪湖水中养殖的草鱼和暴露在自来水和东湖排污口附近湖水中 48h 的草鱼, 取其胆汁用气相色谱法分析, 三种胆汁内有机化合物的色谱峰如图 4。可见, 在洪湖水、自来水和东湖水中暴露的草鱼胆汁内的有机化合物峰分别为 7、24 和 25 个。洪湖是湖北省最大的浅水湖泊, 由于湖区周围发展工业很少, 湖中水草资源丰富水质良好, 因此养殖的草鱼胆汁内的有机化合物仅分析出 7 个。自来水的水源为东湖, 虽然经过沙滤、曝气、消毒处理, 但仍未完全去除大量的有机化合物。直接分析自来水和东湖, 其含有的有机化合物分别为 34 和 54 种<sup>1)</sup>。暴露在自来水和东湖水中草鱼胆汁的色谱峰的保留时间是接近的, 但峰的高低区别较大。自来水中鱼胆汁的大部分峰高只有东湖水的 1 / 2, 说明含

1) 李植生等 东湖及自来水中有机污染物分析, 待发表。

量大大降低了。鱼体吸收水中的有机物质通过分析胆汁显示出的有机峰比直接从水中分析的少一些。这一差异可能是在水中存在的某些化合物被鱼体吸收较少,并在体内代谢中转化消失。对于这些在鱼胆汁内被检测出的有机化合物是可以进行定性和定量分析的,但这项工作还有待进一步研究。

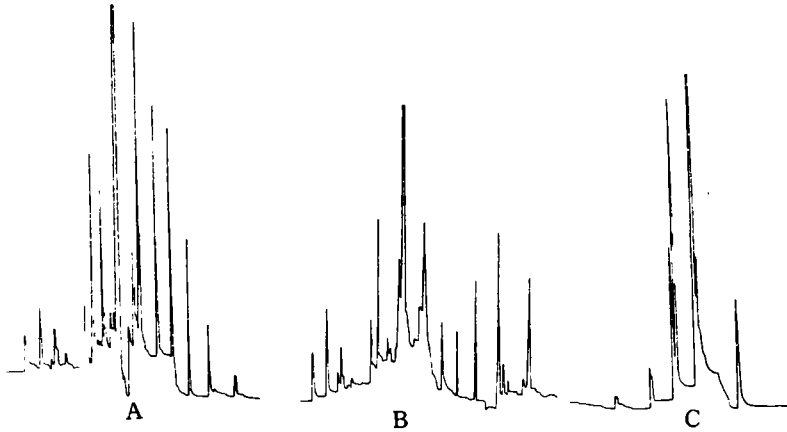


图4 在三种水中草鱼胆汁的色谱峰比较

图例 A—东湖水进样:2 $\mu$ l B—自来水进样:4 $\mu$ l C—洪湖水进样:4 $\mu$ l

Fig.4 Comparison of chromatograms of bile in grass carp exposed in three types of water. A. Donghu lake water 2 $\mu$ l, B. Tap water 4 $\mu$ l, C. Honghu lake water 4 $\mu$ l.

上述试验结果表明,利用鱼胆汁进行水污染监测具有一定的应用前景。

### 参 考 文 献

- [1] Statham C N, Melancon M J, Lech J J. Bioconcentration of xenobiotics in trout bile: A proposed monitoring aid for some waterborne chemicals. *Science*. 1976, 193: 680—681.
- [2] 谭渝云, 张雨元, 陈军建.  $^{14}\text{C}$ 标志直链烷基苯磺酸钠在鱼体内的积累分布和释放. *中国环境科学*, 1991, 11(2): 125—129.
- [3] Tovell P W A, Howes D, Newsome C S. Absorption, metabolism and excretion by goldfish of the anionic detergent sodium lauryl sulphate. *Toxicology*. 1975, 4: 17—29.
- [4] Kimerle R A, et al. Bioconcentration of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) in bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Water Res.*, 1980, 15: 251—256
- [5] Krahn M M, et al. Determination of individual metabolites of aromatic compounds in hydrolyzed bile of English sole (*Parophrys vetulus*). from polluted sites in puget sound, Washington. *Arch. Environ. Contam.*, 1987, 16: 511—522.
- [6] McCain B B, et al. Uptake of aromatic and chlorinated hydrocarbons by juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in a urban estuary. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 1990, 19: 10—16.
- [7] Kobayashi K, Akitake H. Studies on the metabolism of chlorophenols in fish—I Absorption and excretion of PCP by goldfish. *Bull. Japan. Soci. Scien. Fish.*, 1975, 41(1): 87—92.
- [8] Nava M E, Engelhardt, F R. Compartmentalization of ingested labelled petroleum in tissues and bile of the american eel (*Anguilla rostrata*). *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, 1980, 24: 879—885.
- [9] Zimmermann F K, Taylor-mayer R E. Mutagenicity testing in environmental pollution control. Publi. New York, 1985, 86—88.
- [10] 谭渝云, 八种鱼的胆囊等器官对五氯苯酚积累的比较研究. *水生生物学报*. 1995, 19(增刊): 123—128.

- [11] 谭渝云, 杂交鲫吸收五氯苯酚的研究. 水生生物学报. 1995, 19(增刊): 115—122.
- [12] Barron M G, Tarr B D, Hayton W L. Temperature dependence of Di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) pharmacokinetics in rainbow trout. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1987, 88: 305—312.
- [13] Barron M G, Tarr B D, Hayton W L. Temperature-dependence of cardiac output and regional blood flow in rainbow trout, *Salmo gairdneri richardson*. *J. Fish. Biol.*, 1987, 31: 735—744.
- [14] Kobayashi K, Kimura S, Shimizu E. Studies of the metabolism of chlorophenols in fish—IX Isolation and identification of pentachlorophenyl- $\beta$ -glucuronide accumulated in bile of goldfish. *Bull. Japan. Soci. Scien. Fish.*, 1977, 43(5): 601—607.

## STUDIES ON THE ACCUMULATION OF PENTACHLOROPHENOL (PCP) IN GALL BLADDER OF FISH

Tan Yuyun

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

### Abstract

The xenobiotics in water absorbed by fish can be rapidly transported to the gall bladder. The bioconcentration factor (BCF) of PCP in gall bladder of hybrid crucian carp was 11365 after 48h exposure. The accumulation and excretion of PCP in gall bladder were increased with the rise of water temperature. More than 90% of the whole PCP were conjugated-PCP in the bile of the grass carp. The biliary concentration of the conjugated-PCP increased with the exposure duration and reached a level of 904 mg / kg and a BCF of 6027 at 48h. The bile of grass carp exposed in both tap water and Donghu lake water for 48h was founded 24 and 25 compounds (chromatogram) respectively as measured by GC. The results suggest that it is suitable to monitor xenobiotics in water.

**Key words** Gall bladder of fish, Accumulation, Monitoring