

# 重金属铅在刺参组织的蓄积、分配、排放规律研究

赵元凤<sup>1</sup>, 吴益春<sup>3</sup>, 吕景才<sup>1</sup>, 蒋子龙<sup>2</sup>, 刘陆洋<sup>2</sup>, 程振远<sup>2</sup>, 常亚青<sup>2</sup>

(1. 大连水产学院海洋环境工程学院, 辽宁 大连 116023; 2. 农业部海洋水产增养殖学与生物技术重点开放实验室, 辽宁 大连 116023; 3. 浙江省舟山市水产研究所, 浙江 舟山 316000)

**摘要:**采用暴露实验方法,研究了海水中铅在刺参内脏、纵肌、体壁组织内吸收、积累和排放规律。结果表明,铅浓度为  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,在不投喂的情况下,各组织中铅蓄积量随暴露时间增加而增大,第 12 d 达到吸收平衡,此时铅蓄积量( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  干重)为内脏(162.76)>纵肌(138.61)>体壁(71.14)。蓄积速率为内脏团>纵肌>体壁,这表明内脏是铅蓄积的主要部位。染毒 18 d 后将刺参分为两组均移入清洁海水中,分别在投喂普通饵料和投喂添加海藻多糖的普通饵料的条件下,进行排放实验,结果表明,随排放时间增加各组织铅蓄积量明显下降,第 24 d 时各组织中铅大部分排出。未添加多糖一组排放率为纵肌(59.12%)>内脏团(52.02%)>体壁(47.86%),添加多糖组各组织铅排放率要高于未添加多糖组,为内脏团(80.29%)>纵肌(67.85%)>体壁(51.41%)。表明,受铅污染的刺参在清洁海水暂养一段时间后,各组织器官均能排放出一部分重金属,其中可食用部分体壁可排出大约 50%,饵料中添加海藻多糖对重金属铅的排放有明显促进作用。

**关键词:**铅;刺参;蓄积;排放;多糖

**中图分类号:**X503.225 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2008)04-1677-04

## Accumulation, Distribution and Excretion of Lead in the Tissues of *Apostichopus Japonicus* Liao

ZHAO Yuan-feng<sup>1</sup>, WU Yi-chun<sup>3</sup>, LU Jing-cai<sup>1</sup>, JIANG Zi-long<sup>2</sup>, LIU Lu-yang<sup>2</sup>, CHENG Zhen-yuan<sup>2</sup>, CHANG Ya-qing<sup>2</sup>

(1. College of Marine Environmental Engineering, Dalian Fisheries University, Dalian 116023, China; 2. Key Laboratory of Mariculture and Biotechnology, Ministry of Agriculture, Dalian 116023, China; 3. Zhoushan Fisheries Research Institute of Zhejiang Province, Zhoushan 316000, China)

**Abstract:** With exposure experiment, this paper studied the accumulation and elimination of lead(Pb) in the viscera, longitudinal muscle bands and body wall of *Apostichopus japonicus* Liao. It was demonstrated that when the lead concentration was  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , each tissue's lead accumulation increased with the elapse of time, on the 12th day the tissues' lead accumulations reached equilibrium. At that time, the accumulation of lead in the tissues were in the sequences of viscera ( $162.76 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )>longitudinal muscle bands ( $138.61 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )>body wall ( $71.14 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). Uptake rates were in the sequences of viscera> longitudinal muscle bands> body wall, which meant that viscera was the main target for Pb accumulation. Then, remaining animals were transferred to clean seawater for the elimination phase of 24 days. These animals mentioned above were divided into two groups. One group was fed with common diet, the other group was fed with common diet adding amylase. It was demonstrated that the Pb accumulations in the tissues decreased with the elapse of time. On the 24th day after moving, the Pb eliminations were nearly at the end. The elimination rates of the group adding amylase in the common diet were in the sequences of viscera (80.29%)> longitudinal muscle bands(67.85%)> viscera(51.41%), and they were greater than the other group. It was suggested that adding amylase in the common die could accelerate the elimination rates of lead in the tissues of *Apostichopus japonicus* Liao.

**Keywords:** lead; *Apostichopus japonicus* Liao; accumulation; elimination; amylase

收稿日期:2008-01-20

**基金项目:** 辽宁省教育厅科学研究计划(05L088、05L087); 农业部暨辽宁省省级高校海洋水产增养殖学与生物技术重点开放实验室开放课题(K2006-06); 辽宁省省级高校水生生物学重点实验室开放基金(KLHB-06-09); 十一五国家支撑计划项目(2006BAD09A01); 辽宁省重大科技攻关项目(2005203003)

**作者简介:** 赵元凤(1954—), 女, 教授, 主要从事海洋环境方面研究。E-mail: zhaoyuanfeng@dlfu.edu.cn

目前,海洋重金属污染已经引起国内外学者的极大关注。随着工业废水排放量的增加,我国水域重金属污染日趋严重,这给水生生物的生存环境造成了严重影响。所有的水生生物都在某种程度上积累重金属,积累量视金属类型和生物种类而异。与其他污染物相比,重金属极难降解,不易分解,脂溶性强,被摄入动物体内后即溶于脂肪,很难分解排泄,就会长期残存在生物体内。随着摄入量的增加,这些物质在体内的浓度会逐渐增大,最终通过食物链转移,使处于高位营养级的生物受到毒害,甚至威胁到人类健康,因而成为人们关注的食品安全问题<sup>[1-4]</sup>。重金属铅在动物体内的半衰期很长,为已知的最易在体内蓄积的毒物。目前国内外对铅在各组织器官的富集和分布以及代谢研究较多<sup>[5,6]</sup>,而关于铅对刺参影响的研究鲜有报道。刺参属于底栖生物,以底泥为食,属于易受铅污染的水生生物,人体在食用刺参时是否存在潜在危险成了人们关注的焦点。本文对海水中铅在刺参内脏、纵肌和体壁组织的蓄积及在饲料中添加多糖对重金属排放的影响进行了初步研究,旨在为海洋污染的综合治理及生态风险评价提供参考资料。

## 1 材料和方法

### 1.1 试剂与仪器

浓硝酸、30%过氧化氢、氢氧化钠、硝酸铅均为优级纯;Metrohm 746 型极谱仪、MiLLi-Q 高纯水设备、pHS-3CB 型酸度计、温度计、可调式恒温电热板、101C-1B 型电热鼓风干燥箱、微量进样器等。

### 1.2 实验用刺参

刺参(*Apostichopus japonicus* Liao)购自黑石礁海域附近刺参养殖场,平均体重(18.1±2.5)g。实验前,将购进的刺参在天然海水中暂养5d,使其尽量排尽体内粪便。试验期间水温为(15.4±2)℃,总碱度为(2.75±0.16)mg·L<sup>-1</sup>,pH为8.20±0.20。为避免残饵和粪便对重金属形态影响,暂养期间不投喂。排放期间投喂的饲料来自原养殖场。

### 1.3 实验方法

挑选暂养5d后大小均匀刺参120头,平均放入装有40L染毒液的3个60L PVC水箱(60cm×40cm×25cm)中,染毒液用新鲜海水和铅储备液配制。每个水箱放刺参40头,染毒液铅浓度均为0.5mg·L<sup>-1</sup>(在实验前所用的水箱,均预先用等浓度的染毒液进行预处理,以消除器壁对铅吸附的影响),水体充氧,可以认为水体中重金属的浓度分布均匀。每隔24h更

换等浓度染毒海水一次,每隔2d取样一次,每次随机取刺参3头,解剖取体壁、内脏、纵肌组织,经烘干称重、消化、中和、定容后用Metrohm 746型极谱仪采用阳极溶出伏安法测铅含量;以时间对铅蓄积量作图,当吸收曲线达平衡后,终止染毒实验,将余下的刺参分为两组移入清洁海水中,分别在投喂普通饵料和在普通饵料中添加海藻多糖的条件下,进行排放实验,第0、3、6、11、16、21、24d取生物样品进行测定,按前面方法处理后测其铅含量。暴露实验进行18d,排放实验进行24d。

### 1.4 样品的处理和测定

实验期间取样时随机取刺参3头,迅速解剖取体壁、纵肌、内脏团组织,用生理盐水冲洗干净并用滤纸吸干表面水分后分别置于50mL烧杯中,称取湿重,在105℃下烘干4~5h至样品恒重,在分析天平上精确称取一定量的刺参组织。按照《海洋监测规范》中样品消解的方法,先用几滴水湿润,加2mL硝酸,盖上表面皿于电热板上低温加热,待泡沫基本消失后,徐徐加入1mL过氧化氢(30%),于160~200℃蒸至近干,分别补加0.5mL硝酸和过氧化氢,蒸至近干再重复一次,用水洗净表面皿,洗涤液并入消化液中,移去表面皿,继续蒸发,移到电炉上(约450℃)加热至不溶物呈白色(除尽有机物质),加入2mL盐酸,于高温电热板上蒸干,取下冷却,加入1mL(1:1)盐酸于电热板上微热浸取不溶物,用20%氢氧化钠溶液中和后全量转移至50mL容量瓶中,再用高纯水定容。

Pb含量测定采用阳极溶出伏安法在Metrohm 746型极谱仪上进行,在极谱仪电解池中加入1mL 3mol·L<sup>-1</sup> KCl溶液和20mL硝化液,分别测定不同硝化样品的金属浓度。实验所用玻璃器皿在使用前均用10%硝酸浸泡24h以上。曝气时间300s,富集时间120s,扫描电压范围-1150~50mV,扫描速度60mV·s<sup>-1</sup>。

### 1.5 数据处理和分析

重金属离子在刺参组织中的浓度按下列公式计算:

$$\text{刺参组织内金属离子含量} = \frac{C \times 50}{W} \quad (\text{单位 mg} \cdot \text{kg}^{-1})$$

干重)

式中:C表示极谱仪测得浓度,mg·L<sup>-1</sup>;W表示样品的干重,g。数据处理采用SPSS13.0版中的数据分析工具库软件进行统计分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 刺参对铅的蓄积

在 18 d 的染毒实验期间,海水中铅被刺参不断蓄积,大约在第 12 d 达到平衡。刺参的体壁、纵肌和内脏团组织铅蓄积量均随暴露时间增加而增大(图 1)。内脏团中铅蓄积量增加最快,其蓄积速率为  $12.06 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,达到平衡后铅蓄积量约为  $149.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  干重。纵肌中铅蓄积量增加速率仅次于内脏团,其蓄积速率为  $11.14 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,达平衡后其蓄积量为  $135.77 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  干重。体壁中铅蓄积量增加最慢,其累积速率为  $5.94 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,达平衡后其蓄积量为  $72.35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  干重。在此期间,蓄积量和蓄积速率均为内脏团>纵肌>体壁。因此,从食品安全角度看,食用刺参的体壁要更安全些。Christine de Conto Cinier<sup>[7]</sup>研究了镉在鲤组织内的积累和排放动力学。在 127 d 的染毒实验期间,肾中铅蓄积量随时间成直线迅速增加;肝中镉蓄积量前 90 d 内增加缓慢,此后急剧增加;肌肉镉蓄积量仅在 127 d 后才有较明显的增长。积累顺序为肾脏>肝脏>肌肉。这与本文十几日染毒实验期间,体壁铅蓄积量相对内脏团增加较少的结果一致。王凡等<sup>[8]</sup>研究了栉孔扇贝对镉的累积和排出,发现栉孔扇贝对镉的蓄积规律为内脏团>鳃>肌肉。李来好等<sup>[9]</sup>对罗非鱼、南美白对虾对重金属富集的研究表明,罗非鱼内脏重金属含量明显高于肌肉组织,虾头为虾重金属富集的主要部位。刺参的呼吸器官为呼吸树,实验中将呼吸树与肠放在一起算为内脏团,所以这些研究的结论与本文基本一致。笔者认为,内脏团成为铅蓄积的主要组织是因为它包括呼吸树和消化器官,其中呼吸树为刺参的呼吸器官,需要与外界进行气体交换,这比较利于水中离子穿过,从而可能成为刺参从水中吸收重金属的首要部位<sup>[6]</sup>。内脏团的蓄积量较体壁和纵肌多可能还与金属硫蛋白(MT)的诱导作用有关<sup>[6,10]</sup>。MT 是分子量较低(6~7 kDa)、富含半胱氨酸的蛋白质,通过半胱氨酸的残基与过渡金属键联,其主要生物学功能是调节刺参体内自由金属离子的浓度,以减少重金属离子的毒害作用。重金属离子能激活 MT 基因的转录,MT 基因得到大量的表达。刺参内脏组织 MT 含量较高,进入刺参体内多余的重金属离子将和 MT 结合,储存于体内。由于重金属离子的诱导作用,Pb 在刺参内脏积累量逐渐增加。相比之下,体壁对重金属的亲合性远比上述器官、组织弱,所以体壁内的蓄积量较低。

## 2.2 刺参对铅的排放

排放实验期间,刺参各组织中铅蓄积量随排放时间的增加逐渐下降(图 2,图 3)。至排放的第 24 d,

未在饵料中添加多糖(图 2)组刺参对铅排出速率为  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,内脏团(3.53)>纵肌(3.41)>体壁(1.42),排放率为纵肌(59.12%)>内脏(52.02%)>体壁(47.86%)。陆超华等<sup>[11]</sup>研究近江牡蛎对铅的累积和排出。结果表明,近江牡蛎从暴露状态移入天然海水中后,体内的铅就开始排出,且排出较快。至实验末期(第 35 d),近江牡蛎体内累积的铅排出率达 81.1%,

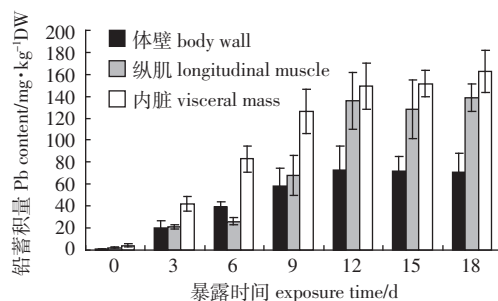


图 1 刺参各组织铅蓄积量随暴露时间的变化

Figure 1 Lead accumulation in the tissues of *Apostichopus japonicus* Liao with the elapse of time

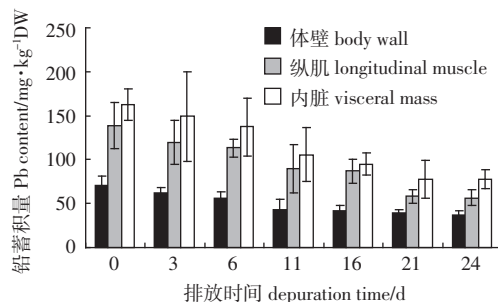


图 2 刺参各组织铅蓄积量随排放时间的变化(不添加多糖)

Figure 2 Lead accumulation in the tissues of *Apostichopus japonicus* Liao with the elapse of depuration time (without amylase in the diet)

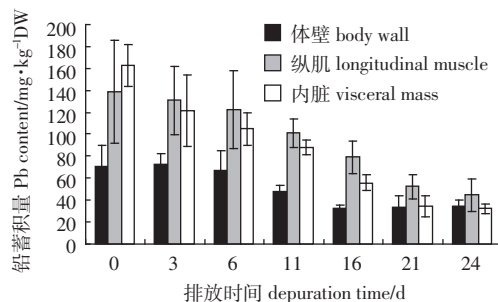


图 3 刺参各组织铅蓄积量随排放时间的变化(添加多糖)

Figure 3 Lead accumulation in the tissues of *Apostichopus japonicus* Liao with the elapse of depuration time (add amylase in the diet)

铅从近江牡蛎体内排出的生物学半衰期为 14 d。这与本文结果基本一致,说明刺参对水环境中铅累积是净累积型,其体内铅含量与水体中铅浓度存在简单线性关系。因此,刺参体内铅含量能如实地反映水环境重金属铅污染状况和水域近期重金属铅污染过程。

饵料中添加多糖(图 3)组刺参对铅排出速率( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )为内脏团(5.44)>纵肌(3.92)>体壁(1.52)。排出率为内脏(80.29%)>纵肌(67.85%)>体壁(51.41%)。从中可以看出在饵料中添加多糖可以明显提高刺参组织铅的排出速率和排出率( $P<0.05$ ),表明,饵料中添加海藻多糖对重金属铅的排出有促进作用。对此,国内外均未见报道。赵玲等<sup>[12]</sup>研究表明,藻细胞对金属离子的吸附,主要是多糖的吸附作用,多糖与金属离子的结合主要是通过多糖的-OH 和-CONH<sub>2</sub> 与金属离子进行络合作用的。由此推测在本实验中,在饲料中添加多糖有可能变成使得重金属转化成更易于被刺参组织排出的络和形态。

### 3 结论

综上所述,铅浓度为  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,刺参对铅的富集量随着时间逐渐增加,大约第 12 d 各组织均达到吸收平衡,蓄积量为内脏团>纵肌>体壁。染毒 18 d 后将刺参移入清洁海水中并投喂饲料,随排放时间增加,各组织中铅蓄积量明显下降。在饲料中添加多糖组各组织铅排放率和排出速率都要高于未添加多糖组。结果表明,受铅污染,刺参在清洁海水中养殖超过 20 d,期间投喂饲料添加多糖,体壁中重金属含量可以达到食用标准。饵料中添加海藻多糖对重金属铅的排放有促进作用。

#### 参考文献:

- [1] Bryan G W. Pollution due to heavy metals and their compounds[C]// Kinne O, ed. Marine Ecology. Chichester: John Wiley & Sons, 1984. 1289-1430.
- [2] Eisler R. Trace metal concentrations in marine organisms[M]. New York: Pergamon Press, 1981. 77-84.
- [3] Kennish M J. Practical handbook of estuarine and marine pollution[M]. Boca Raton, FL: CRC Press, 1997. 291-292.
- [4] Rainbow P S. The significance of trace metal concentrations in marine invertebrates[C]// Dallinger R and Rainbow P S, eds. Ecotoxicology of metals in invertebrates. Boca Raton: Lewis, 1993. 4-23.
- [5] 刘长发, 陶 澍, 龙爱民. 金鱼对铅和镉的吸收蓄积 [J]. 水生生物学报, 2001, 25(4): 344-349.  
LIU Chang-fa, TAO Shu, LONG Ai-min. Accumulations of lead and cadmium in goldfish, *carassius auratus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2001, 25(4): 344-349.
- [6] Allen P. Soft-tissue accumulation of lead in the blue tilapia, *Oreochromis aureus* (Steindachner), and the modifying effects of lead and mercury [J]. *Biological Trace Element Research*, 1995, 50(3): 193-208.
- [7] Christine de Conto Cinier. Kinetics of cadmium accumulation and elimination in carp *Cyprinus carpio* tissues [J]. *Comparative biochemistry and physiology*, 1999, 122(3): 345-352.
- [8] 王 凡, 赵元凤, 吴益春, 等. 栉孔扇贝对 Cd 的累积和排出 [J]. 湛江海洋大学学报, 2005, 25(4): 96-98.  
WANG Fan, ZHAO Yuan-feng, WU Yi-chun, et al. Accumulation and elimination of *Chlamys farreri* to Cadmium [J]. *Journal of Zhanjiang Ocean University*, 2005, 25(4): 96-98.
- [9] 李来好, 杨贤庆, 郝淑贤, 等. 罗非鱼、南美白对虾对重金属富集的研究 [J]. 热带海洋学报, 2006, 25(4): 61-65.  
LI Lai-hao, YANG Xian-qing, HAO Shu-xian, et al. A study of heavy metal enrichment in *Oreochromis niloticus* and *Litopenaeus vannamei* [J]. *Journal of Tropical Oceanography*, 2006, 25(4): 61-65.
- [10] 王海黎, 陶 澍. 生物标志物在水环境中的应用 [J]. 海洋环境科学, 1999, 19(5): 421-426.  
WANG Hai-li, TAO Shu. Application of biomarkers in aquatic environmental research [J]. *Marine Environmental Science*, 1999, 19(5): 421-426.
- [11] 陆超华, 周国君, 谢文造. 近江牡蛎对 Pb 的累积和排出 [J]. 海洋环境科学, 1999, 18(1): 33-38.  
LU Chao-hua, ZHOU Guo-jun, XIE Wen-zao. Accumulation and elimination of *Crassostrea rivularis* to lead [J]. *Marine Environmental Science*, 1999, 18(1): 33-38.
- [12] 赵 玲, 尹平河, Qiming Yu, 等. 海洋赤潮生物原甲藻对重金属的富集机理 [J]. 环境科学, 2001, 22(4): 43-45.  
ZHAO Ling, YIN Ping-he, Qiming Yu, et al. Bioaccumulation mechanism of red tide alga *prorocentrum micans* for heavy metal ions [J]. *Environmental Science*, 2001, 22(4): 43-45.