铅在海水中的析出及其对急性毒性实验的影响

童一帆1,韩雪萌1,蔡文倩2,田胜艳1

(1. 天津科技大学海洋与环境学院, 天津 300457; 2. 中国环境科学研究院 环境基准与风险评估国家重点实 验室, 北京 100012)

> 摘要:铅(Pb)在海水中易产生沉淀,这将影响毒性实验中效应值的计算。本研究通过海水中不同重金属 对中国广泛分布的底栖无脊椎动物双齿围沙蚕(Perinereis aibuhitensis)以及毒理学研究常用的海水模式 生物卤虫(Artemia salina)的急性毒性实验,对比分析了海水中 Pb 的生物毒性特点以及暴露溶液中 Pb 的析出对毒性实验结果的影响。用人工海水与天然海水配制 Pb 溶液时,理论浓度为 18.7~1 200 mg/L 的 Pb 溶液中均出现大量白色沉淀。通过扫描电子显微镜能谱(SEM-EDS)对析出物进行检测,根据元素 组成推测析出物主要为氯化铅与碳酸铅。对溶液浓度进行检测发现,Pb 的实测浓度仅为理论浓度的 1/15~1/2,根据实测浓度计算的 Pb 对双齿围沙蚕和卤虫的 96 h/48 h 半数致死浓度(LCs0)值低于根据理 论浓度计算值的 1/10。对比 Pb、Cu、Cd 对双齿围沙蚕与卤虫的 LCs0 值发现,Pb 对水生生物的毒性低 于 Cu 和 Cd,且对不同生物的毒性效应存在差异。对比研究报道中 Pb 对海洋生物的急性毒性效应发现, Pb 对幼体生物的毒性效应较显著,而在海水有效溶解浓度内对成体海洋生物的毒性效应较低甚至无急 性毒性效应。结合 Pb 在海水中的析出特性及其毒性效应特点,关于海水中 Pb 的毒性研究应该更多地 针对生物的幼体阶段,开展低暴露剂量的慢性毒性实验。

关键词: Pb; 重金属; 海水; 析出; 毒性效应 中图分类号: X1715 文献标识码: A DOI: 10.11759/hykx20210104001

铅(Pb)是工业生产中广泛使用的原材料,具有 较强的生物富集性及神经毒性,目前已经被世界多 国列为"优先控制污染物"^[1]。中国《海水水质标准》 (GB 3097-1997)^[2]-类水质中对 Pb 的可允许剂量 (0.001 mg/L)与 Cd(0.001 mg/L)相同,显著低于 Cu(0.005 mg/L)。然而, 重金属对海洋生物的毒性效 应研究^[3-5]以及海水水质基准研究^[6-8]发现,水中 Pb 较 Cu、Cd 等金属对水生生物的毒性效应更低。由于 海水中 Pb 的生物毒性较低, 为得到易于观察的急性 毒性效应, Pb 对海洋生物的急性毒性实验通常需要 配制较高浓度的暴露溶液^[9-12]。例如,海水中 Pb 对 双齿围沙蚕的急性毒性效应研究中暴露溶液中 Pb 的 理论浓度高达 1 200 mg/L^[10]。配制 Pb 的海水暴露溶 液时,进入海水中的 Pb²⁺会与碳酸根形成碳酸铅(溶 解度: 7.27×10⁻⁵ g)沉淀, 从而影响溶液中溶解态 Pb 的含量^[13-14]。然而, 许多关于海水中 Pb 的生物毒性 研究报道中并未对暴露溶液中 Pb 的实际浓度进行检 测^[9-11, 15-16],同时也未明确 Pb 在海水中的析出现象对 毒性实验的影响,这将影响毒性实验数据的准确性。

文章编号: 1000-3096(2023)1-0073-08

因此,本研究通过海水中 Pb、Cu、Cd 对中国近海广泛分布的底栖无脊椎动物双齿围沙蚕(Perinereis aibuhitensis)和海洋生态毒理学常用模式生物卤虫 (Artemia salina)的急性毒性实验,分别检测暴露溶液 中金属的实际浓度以及 Pb 溶液中析出物的元素组成, 探讨 Pb 对海洋生物的急性毒性效应以及暴露溶液中 Pb 的析出行为对毒性实验结果的影响。

1 材料与方法

1.1 实验生物

分别选择环节动物门的底栖动物双齿围沙蚕和

收稿日期: 2021-01-04; 修回日期: 2021-02-28

基金项目:重点研发计划(2018YFC1407603);国家自然科学基金面上项目(41373089);天津市自然科学基金项目(18JCYBJC91200)

[[]Foundation: National Key Research and Development Program of China, No. 2018YFC1407603; National Science Foundation of China, No. 41373089; Natural Science Foundation of Tianjin, No. 18JCYBJC91200]

作者简介: 童一帆(1995—), 男, 江西省鹰潭市人, 硕士, 从事水生污 染物毒理学研究, E-mail: tongyifan123@qq.com; 田胜艳(1974—), 通信 作者, 女, 山东潍坊人, 从事海洋生态学和生态毒理研究, E-mail: tiansy@tust.edu.en; 蔡文倩(1986—), 通信作者, 女, 河南鹿邑人, 从事 水生态保护修复研究, E-mail: caiwenqian@tcare-mee.cn

节肢动物门的浮游动物卤虫作为受试生物,以比较 Pb 对不同种类水生生物的急性毒性效应。

双齿围沙蚕购自浙江台州牧海水产养殖场,体长 10~18 cm,体重 1.98~3.22 g。实验室内驯养至少 2 周 后用于毒性实验。沙蚕驯养在玻璃缸中进行,内置刚 刚没过沙蚕(约 2 cm 高)的人工海水(盐度: 18; pH 值: 8.0±0.2; 溶解氧≥7.0 mg/L),加入少量沉积物为沙蚕 提供食源,每 2 d换一次水。暴露实验开始前将沙蚕 取出,在人工海水中(无沉积物)放置 24 h以排除肠道 中的沉积物。挑选活性良好,体型大小一致的沙蚕进 行毒性暴露实验。

卤虫由新疆艾比湖品系的卤虫休眠卵孵化获得, 孵化在天然海水(采自天津市近海,盐度:33,pH: 7.8±0.1,溶解氧≥7.0 mg/L)中进行。选择孵化后3h 内,活性良好的无节幼体进行毒性暴露实验。

1.2 暴露溶液

分别配制 Pb、Cu、Cd 三种金属离子的暴露溶液 进行毒性暴露实验,以对比 Pb 与其他金属毒性的差 异。分别用去离子水溶解 CdCl₂、CuSO₄、Pb(NO₃)₂配 置 Cd²⁺、Cu²⁺和 Pb²⁺离子浓度为 160 mg/L、80 mg/L 和 12 000 mg/L 的溶液作为储备液。双齿围沙蚕的毒性实 验用盐度为 18 的人工海水稀释储备液配置; 卤虫的毒 性实验用盐度为 30 的天然海水稀释储备液配制。暴露 实验开始前 1 d 用暴露溶液浸泡暴露实验所用容器。

1.3 不同盐度海水的 Pb 溶液

用蒸馏水稀释盐度为 33 的天然海水得到盐度分别 为 30、25、20、15、10、5、1 的海水溶液,随后用不同 盐度的海水溶液稀释储备液配制理论浓度为1 200 mg/L 的 Pb 溶液,以探究 Pb 在不同盐度下的析出情况。

1.4 急性毒性暴露实验

毒性暴露实验均采用静水实验方法,暴露期间不换水。重金属对双齿围沙蚕的毒性暴露实验共设置 7个Pb暴露组,7个Cu暴露组与8个Cd暴露组以及 人工海水对照组(盐度:18)。Pb暴露溶液浓度梯度: 18.7 mg/L、37.5 mg/L、75 mg/L、150 mg/L、300 mg/L、 600 mg/L、1 200 mg/L;Cd暴露溶液浓度梯度:0.25 mg/L、 0.5 mg/L、1 mg/L、2 mg/L、4 mg/L、8 mg/L、16 mg/L、 32 mg/L;Cu暴露溶液浓度梯度:0.125 mg/L、0.25 mg/L、 0.5 mg/L、1 mg/L、2 mg/L、4 mg/L、8 mg/L。毒性 实验在 100 mL的玻璃烧杯中进行,每个烧杯放置 1条沙蚕(以避免多条沙蚕在水溶液中相互缠绕的现 象),加入 20 mL 暴露溶液,每 10 个烧杯为一组(即 10 条沙蚕),每个浓度组设置 3 个平行。急性毒性实 验进行 96 h,光照周期为 16 h/8 h(光照/黑暗),温度 为(20±1)℃。暴露期间观察并记录沙蚕的运动情况、 对外界刺激的应激能力和死亡情况。

重金属对卤虫的毒性暴露实验均设置 5 个暴露组 以及天然海水(盐度: 30)对照组。Pb 暴露溶液浓度梯度: 75 mg/L、150 mg/L、300 mg/L、600 mg/L、1 200 mg/L; Cd 暴露溶液浓度梯度: 5 mg/L、10 mg/L、20 mg/L、 40 mg/L、80 mg/L; Cu 暴露溶液浓度梯度: 4 mg/L、 8 mg/L、16 mg/L、32 mg/L、64 mg/L。毒性暴露实 验在六孔板中进行,每孔放置 5 mL 暴露溶液以及 10 只卤虫无节幼体,每个浓度组设置 5 个平行。毒 性实验进行 48 h,光照周期为 16 h/8 h(光照/黑暗), 温度为 20±1 ℃。暴露期间观察并记录卤虫的运动抑 制与死亡情况。

1.5 仪器分析

用去离子水配置的重金属储备液与海水混合时, Pb和Cu的海水溶液中均有沉淀析出,为了明确暴露 溶液中金属的实际含量以及析出物组成,将暴露溶 液经0.45 μm聚酯纤维滤膜过滤,滤液酸化后用电感 耦合等离子体质谱仪(ICP-MS, ICAPQ, Thermo Fisher Scientific, Germany)检测重金属含量。将Pb溶 液中滤膜截留的颗粒物小心刮出,干燥后,用扫描 电子显微镜(SEM, JSM-IT300LV, JEOL, Japan)与能 谱仪(EDS, X-MaxN20, Oxford Instruments, UK)分析 其尺寸、表面性状及其元素组成。

1.6 数据分析

数据分析使用 SPSS 23 For MAC 进行。通过 Probit 回归模型拟合暴露浓度-死亡率曲线,获得半数 致死浓度值(LC₅₀)。利用皮尔森相关性分析分析 Pb 溶 液中理论浓度与实测浓度、盐度与实测浓度、死亡率 与暴露浓度之间的关系, P<0.05 表明相关性显著。

2. 结果与分析

2.1 铅在海水中的析出

用人工海水和天然海水稀释 Pb 储备液配制理论 浓度为 18.7~1 200 mg/L 的溶液,各浓度溶液中均出 现大量沉淀物,表观上沉淀物的量与 Pb 浓度成正 比。用 SEM-EDS 对沉淀物进行扫描和能谱分析,结 果如图 1 所示,根据能谱结果分析发现沉淀物中有 (66.8±0.11)%的 Pb、(11.2±0.18)%的 Cl、(9.66±0.48)% 的 C、(1.13±0.19)%的 Na。由元素组成分析,海水配制的 Pb 溶液的析出沉淀物主要为 PbCl₂与 PbCO₃。

沉淀物析出显著影响了溶液中 Pb 的含量,上 清液经 ICP-MS 检测发现,暴露溶液中溶解态 Pb 的含量远低于理论值。用人工海水、天然海水以及 蒸馏水稀释获得不同盐度的天然海水配置的 Pb 溶 液中溶解态 Pb 的理论值和实测值见表 1。盐度为 18 的人工海水配制的 Pb 溶液中, Pb 的实测浓度与 理论浓度呈显著的正相关(*R*²=0.588, *P*=0.026)。理论 浓度≥150 mg/L 时(包括 150、300、600、1 200 mg/L 的 Pb 溶液), Pb 实测浓度均在 60~80 mg/L 之间, 推 测认为这个浓度范围接近 Pb 在盐度为 18 人工海水 中的饱和浓度。用盐度为 30 的天然海水配制的 Pb 溶液中, Pb 最高实测浓度为 93.2 mg/L(Pb 理论浓度 为 600 mg/L), 推测认为这是盐度为 30 的天然海水 中 Pb 的饱和浓度。用不同盐度的天然海水配制的 1 200 mg/L的溶液中, Pb 的实测浓度随盐度的降低而 升高,在盐度为 1 的海水溶液中 Pb 的实测浓度与理 论浓度相近。



图 1 海水溶液中铅析出物的能谱仪谱图与扫描电子显微镜图像 Fig. 1 Graphs of the energy-dispersive spectrum and scanning electron microscope of precipitates formed in Pb exposure solutions

人工海水			天然海水			蒸馏水稀释的天然海水			
盐度	理论值 /(mg·L ⁻¹)	实测值 /(mg·L ⁻¹)	盐度	理论值 /(mg·L ⁻¹)	实测值 /(mg·L ⁻¹)	盐度	理论值 /(mg·L ⁻¹)	实测值 /(mg·L ⁻¹)	
18	0	0	30	0	0	1	1 200	1 282	
18	18.7	1.58	30	75	9.71	5	1 200	675	
18	37.5	3.06	30	150	7.49	10	1 200	233	
18	75.0	14.9	30	300	21.4	15	1 200	167	
18	150	60.8	30	600	93.2	20	1 200	159	
18	300	64.8	30	1 200	79.0	25	1 200	139	
18	600	69.4				30	1 200	79.0	
18	1 200	76.3							

表 1	不同奕型和盐度海水中	Pb 的浓度
Tab. 1	Pb concentrations in	different types of seawater with different salinity

2.2 重金属对双齿围沙蚕的急性毒性

为期 96 h 的毒性实验期间,人工海水对照组中 沙蚕未见任何行为异常,也未出现死亡;暴露组中, 双齿围沙蚕刚进入暴露溶液中时,身体频繁收缩、卷 曲,并出现偶尔吻外翻的现象,随后渐渐趋于平静, 其中较低浓度暴露组(Pb 的理论浓度≤75 mg/L 的浓 度组; Cd 理论浓度≤8 mg/L 的浓度组; Cu 的理论浓 度≤2 mg/L 的浓度组)中, 沙蚕无明显中毒反应。而高 浓度暴露组(Pb 的理论浓度≥150 mg/L 浓度组; Cd 的 理论浓度≥16 mg/L 浓度组; Cu 的理论浓度≥4 mg/L 浓度组)中,部分沙蚕出现身体卷曲、头部肿胀、身体颜色变暗、对外界刺激不敏感以及表皮破裂等身体异常现象,并出现死亡。三种金属的暴露实验中沙蚕的反应类似。

整个急性毒性暴露期间(96 h),人工海水对照组与 较低浓度暴露组(Pb的理论浓度≤75 mg/L的浓度组; Cd 理论浓度 ≤ 8 mg/L 的浓度组; Cu 的理论浓度 ≤ 2 mg/L 的浓度组)中沙蚕未出现死亡。暴露 96 h 时, Pb 理论 浓度为 150、300、600、1 200 mg/L 的暴露组中双齿 围沙蚕的死亡率分别为10%、10%、40%、50%、Cd 理论浓度为 16、32 mg/L 的暴露组中双齿围沙蚕的死 亡率分别为 40%、70%, Cu 理论浓度为 4、8 mg/L 的 暴露组中双齿围沙蚕的死亡率分别为 60%、100%。 皮尔森相关性分析显示,双齿围沙蚕的的死亡率和 Pb、Cu、Cd 的理论暴露浓度与实测浓度均呈现显著 的正相关(P<0.05)。分别根据暴露溶液中金属浓度的 理论值和实测值进行 Probit 回归模型拟合, 推算出基 于理论值浓度和实测值浓度的 96 h LC₅₀值见表 2。 Pb、Cu 暴露溶液中沉淀析出现象导致理论值推算的 96 h LC50 值高于实测值推算的 96 h LC50 值, 对 Pb 尤为显著。对比 Pb、Cu、Cd 对双齿围沙蚕的 96 h LC50 值发现, Pb 对双齿围沙蚕的毒性显著弱于 Cu 和 Cd。

表 2 人工海水中 Pb、Cu、Cd 对双齿围沙蚕的 96 h LC₅₀ 值 Tab. 2 96 h LC₅₀ of Pb, Cu, and Cd in artificial seawater to *Perinereis aibuhitensis*

元	按理论值	计算/(mg·L ⁻¹)	按实测值计算/(mg·L ⁻¹)			
素	96 h LC ₅₀	95%置信区间	96 h LC ₅₀	95%置信区间		
Pb	1 063	(793, 1 708)	75.2	(70.3, 109)		
Cu	3.85	(2.97, 4.97)	0.37	(0.048, 0.531)		
Cd	24.5	(19.3, 32.8)	26.7	(21.6, 34.4)		

2.3 重金属对卤虫的急性毒性

毒性实验期间(48 h), 天然海水对照组中无节幼体未出现死亡, 也未见任何行为异常。暴露组中的无节幼体随暴露时间的延长出现肢角摆动频率降低、趋光性变弱、运动能力下降, 随后沉底不断颤动直至死亡。暴露 48 h 时, Pb 理论浓度为 75、150、300、600、1 200 mg/L 的暴露组中卤虫无节幼体的死亡率分别为 6%、40%、62%、80%、92%; Cd 理论浓度为 5、10、20、40、80 mg/L 的暴露组中卤虫的死亡为率分别为 4%、0%、26%、22%、86%; Cu 理论浓度为 4、8、16、32、64 mg/L 的暴露组中卤虫的死亡率分别为 30%、20%、4%、65%、75%。皮尔森相关性

分析显示, 卤虫无节幼体的死亡率和 Pb、Cu、Cd 的 理论暴露浓度与实测浓度均呈现显著的正相关 (P<0.05)。分别根据暴露溶液中金属浓度的理论值和 实测值进行拟合, 推算出基于理论值浓度和实测值 浓度的 48 h LC₅₀ 值见表 3。对比 Pb、Cu、Cd 对卤 虫(实测浓度计算)的 48 h LC₅₀值发现, Pb 对卤虫无 节幼体的毒性强度与 Cd 类似, 显著弱于 Cu。

表 3 天然海水中 Pb、Cu、Cd 对卤虫的 48 h LC₅₀ 值 Tab. 3 48 h LC₅₀ (mg/L) of Pb, Cu, and Cd in natural seawater to Artemia salina

元	按理论值	计算/(mg·L ⁻¹)	按实测值计算/(mg·L ⁻¹)		
素	48 h LC ₅₀	95%置信区间	48 h LC ₅₀	95%置信区间	
Pb	581		51.2	(42.8, 60.7)	
Cu	36.9	_	6.74	(2.83, 24.4)	
Cd	52.7	(36.7, 87.3)	61.0	(41.6, 104)	

3 讨论

3.1 Pb 在海水中的析出及其对急性毒性实验的影响

对污染物进行室内生态毒理学测试是评估其潜 在生态风险的有效研究手段。环境污染物对海洋生 物的室内毒性实验中通常以天然海水或组配的人工 海水(模拟天然海水)为介质配制毒性暴露溶液。用海 水配制 Pb 的毒性暴露溶液时,无论人工海水还是天 然海水配制的 Pb 溶液中均有大量白色不溶物析出。 天然海水通常呈弱碱性,主要包含 Na⁺、K⁺、Ca²⁺、 Mg²⁺、Cl⁻、SO²⁻、Br⁻、CO²⁻、HO⁻3等离子。天然海 水中游离态 Pb 含量极低, Pb 主要以 PbCO₃、PbCl⁺、 PbCl₂、PbCl⁻3、PbOH⁺等形态存在^[13]。PbCO₃(溶解度: 7.27×10⁻⁵ g)与 PbCl₂(溶解度: 0.99 g)在水中的溶解度 较低,当用海水配制 Pb 溶液时,海水中 PbCl₂ 与 PbCO₃ 积累达到饱和时便会形成沉淀析出,沉淀物的 SEM-EDS 检测结果也证实了这一点。

由于 PbCl₂与 PbCO₃的析出,海水体系的暴露溶 液中 Pb 的实测浓度显著低于理论浓度。人工海水与 天然海水配置的暴露溶液中,Pb 实测浓度仅为理 论值的 1/15~1/2。不仅如此,通过海水中 Pb 对双 齿围沙蚕与卤虫的急性毒性实验发现,实测值计 算的 96 h/48 h LC₅₀低于理论值计算的 1/10。隋国斌 等^[14]通过海水中 Pb 对皱纹盘鲍的急性毒性实验发现, Pb 理论浓度为 10 mg/L 的溶液中已经出现沉淀。海水 中 Pb 对不同生物的毒性数据表明(表 4),诸多研究中 Pb 最大理论暴露浓度远大于 10 mg/L,因此,沉淀析 出现象已经很大程度上影响了暴露溶液中 Pb 的实际 浓度。尽管如此,许多关于 Pb 对海洋生物的急性毒 性的研究仅通过 Pb 的理论浓度计算 Pb 对不同海洋 生物的 LC₅₀ 值^[9-10, 15, 17],而未检测暴露溶液中 Pb 的 实际浓度。此外,暴露介质盐度的不同也会影响 Pb 在海水中的析出情况,进而影响暴露溶液中 Pb 的毒 性^[18]。因此,进行海水中 Pb 毒性实验数据的比较时 应该考虑到实验条件细节,尤其是暴露溶液中 Pb 的 实际赋存状态及浓度表达(是否实际检测)。

毒性实验数据是环境基准推导的基础,对毒性数据的筛选是环境基准值推导的核心^[18]。为获得合理的毒性数据,海水中 Pb 的水质基准研究工作针对毒性实验过程、受试物种、暴露时间、毒性指标以及暴露溶液理化性质进行了严格的筛选^[6,8,18-19]。例如,洪鸣等^[6]通过筛选受试生物为中国本土物种的毒性数据推导中国海洋生物对 Pb 的耐受性水质基准。单阳阳和李正炎^[18]为消除不同盐度对 Pb 毒性的影响,通过盐度校正的方法计算出了标准盐度(28)下中国河口 Pb 短期水质基准和长期水质基准。尽管 Pb 在海水中极易析出并影响暴露溶液中 Pb 的实际浓度,目前的基准研究中对 Pb 毒性数据的筛查也未考虑暴露浓度是否为实际检测。基于 Pb 理论浓度与实测浓度的对比,暴露溶液中 Pb 浓度是否为实际检测值应当成为海水水质基准推导中数据筛查工作的重要指标。

3.2 Pb 对海洋生物的急性毒性效应

急性毒性实验易于操作,实验周期较短,是评估生 物对污染物的耐受性以及污染物毒性的有效方法。对比 Pb、Cu、Cd 对双齿围沙蚕与卤虫的 LCso 值发现, Pb 的 生物毒性效应低于 Cu 与 Cd, 此发现与许多研究结果一 致^[3-5, 16]。而且, 许多研究发现, Pb 在海水中的溶解限度 内无急性生物毒性效应。例如, 霍礼辉^[4]进行的 Pb、Cd、 Cu对泥蚶 Tegillarca granosa 的毒性研究发现, Pb 的急性 毒性效应远低于 Cu、Cd, 在已经出现沉淀析出的 Pb 的 暴露溶液(Pb 理论浓度为 15.8 mg/L)中成体泥蚶无一死 亡。Snell 等^[3]进行的7种金属对轮虫 Brachionus plicatilis 的急性毒性研究发现, Pb 在标准海水的溶解度范围内 (无沉淀析出)对轮虫无急性毒性效应。隋国斌等^[14]在盐 度为 30 的海水中进行 Pb 对皱纹盘鲍 Haliotis discus hannai 的急性毒性研究发现, Pb 的理论浓度为 10 mg/L 的溶液中便有沉淀产生, 而幼鲍(6 月龄)在所有暴露浓 度中未出现任何死亡。本研究进行暴露预实验时发现, Pb的理论浓度高达1 200 mg/L 时才对双齿围沙蚕和卤 虫产生显著的急性毒性效应。

此外,实验所用海水类型、盐度、pH、温度等因 素都会影响暴露溶液中 Pb 的实际溶解态浓度,因此根 据理论浓度计算的 LC50 值难以比较不同生物对 Pb 敏 感性的差异,这种影响在 Pb 理论浓度较高的海水暴露 溶液中尤为显著。例如,在 Pb 的理论浓度为 150、300、 600、1 200 mg/L 的人工海水溶液中 Pb 的实测浓度范 围均在 60~80 mg/L。然而,相当数量的研究报道中使 用了根据海水中 Pb 的理论浓度计算的 LC₅₀ 值。本文 特别汇总了文献报道中 Pb 对不同海洋生物的急性毒 性数据, 见表 4, 其中根据实测值计算效应值的报道 极少, 目不同物种对Pb的敏感性差异很大。其中, 96 h LC50值最低的是半滑舌鳎 Cynog lossussemilaevis 初孵 仔鱼^[16]和方斑东风螺 Babylonia areolata 面盘幼体^[15], 即便理论值计算的 96 h LC₅₀ 仅为 1.03 和 1.07 mg/L, 受试生物为幼体阶段是其效应值低的主要原因[20]。此 外, 两种糠虾幼体^[5,21]对 Pb 也较为敏感, 实测值计算 的96 h LC50 值分别为3.13 与4.27 mg/L,这可能也与受 试生物均为幼体阶段有关。因此,由于 Pb 在海水中易 析出且生物毒性较弱,对海水中 Pb 的生物毒性的研究 应该更多地针对生物的幼体阶段,开展低暴露剂量、长 暴露时间的慢性毒性暴露实验。

4. 结论

用海水配制 Pb 理论浓度为 18.7~1 200 mg/L 的暴露溶液时,溶液中出现大量白色沉淀,通过 SEM-EDS 检测析出沉淀物的元素组成发现析出物 主要为 PbCl₂与 PbCO₃。检测暴露溶液中 Pb 的实 际浓度发现, Pb 的实测浓度仅为理论浓度的 1/15~1/2, 根据实测浓度计算的 Pb 对双齿围沙蚕 与卤虫的96 h/48 h LC50 值低于根据理论浓度计算值 的 1/10, 这会影响毒性效应值以及以毒性效应值为 数据基础推导的水质基准的准确性。对比 Pb、Cu、 Cd 对双齿围沙蚕与卤虫的 96 h/48 h LC50 值发现, Pb 对水生生物的毒性低于 Cu 和 Cd, 并且对不同生物 的毒性效应存在差异。汇总研究报道中 Pb 对不同海 洋生物的急性毒性数据发现, Pb 对幼体生物的毒性 效应较为显著, 而在海水的溶解度范围内(无沉淀析 出)对成体生物的急性毒性效应较低甚至无急性毒性 效应。结合 Pb 在海水中的析出特性,关于海水中 Pb 的毒性研究应该更多地针对生物的幼体阶段,开展 低剂量、长时间的慢性毒性暴露实验。

表 4 铅对海洋生物的急性毒性效应 Tab. 4 Acute toxicity effect of Pb in marine organisms

			8					
		生长阶段	实验用水	盐度	最大理论暴露_ 浓度/(mg·L ⁻¹)	96 h LC ₅₀ (95%置信区间)		参考
门	种					理论值 ^a	实测值	文献
						$/(mg \cdot L^{-1})$	$/(mg \cdot L^{-1})$	
环节动物	双齿围沙蚕	戓休	人工海水	18	1 200	1 063	75.2	木研究
小门剑刮	Perinereis aibuhitensis	JA IP				(793, 1708)	(70.3, 109)	ተወገቢ
	双齿围沙蚕	成休	人工海水	28	1 200	686	b	[10]
	Perinereis aibuhitensis	AAIT				000		[10]
旋体动物	皱纹盘鲍	6月龄	砂滤海水	30	10	>10	b	[14]
扒件奶的	Haliotis discus hannai	0 11 64						
	方斑东风螺	面盘幼体	砂滤天然海水	28	40	1.07	b	[15]
	Babylonia areolata					(0.582, 1.97)		[10]
	泥东风螺	3月龄	砂滤天然海水	30	625	88.5	b	[12]
	Babylonia lutosa		·> ·····					
节肢动物	波纹巴非蛤	成体	人工海水	31	4.37	4.11	b	[22]
	Paphia undulata	<i>/</i>				(3.23, 4.01)		
	菲律宾蛤仔	成体	砂滤海水	20	50	14.3	b	[11]
	Ruditapes philippinarum					(11.6, 17.6)		
	近江牡蛎	成体	b	35	160	43.5	b	[9]
	Ostrea rivularis							[2]
	泥蚶	成体	天然海水	b	15.8	>15.8	b	[4]
	Tegillarca granosa	AATT				10.0		[']
	印度对虾	后期幼体	b	20	b	7.22	b	[17]
	Penaeus indicus	/H//JJ-JJ11				(10.3, 5.69)		[1/]
	糠虾	幼体	天然海水	5	b	b	1.14 (0.84, 1.44)	[5]
	Neomysis integer	-5311						[9]
	糠虾	幼体	天然海水	25	b	b	4.27 (3.54, 5.71)	[5]
	Neomysis integer	-9411						[-]
	糠虾	幼体	天然海水	30	b	b	$3 13(2 35 \infty)$	[21]
	Mysidopsis bahia	-9 9 IT					5.15(2.55, ~~)	[21]
脊索动物	半滑舌鳎	初照仔鱼	b	20	8	1.03	b	[16]
	Cvnog lossussemilaevis	101/1711 巴		30		1.05		

注:^a:未提及暴露溶液检测的毒性数据被判定为理论值, —^b: 文献未提及

参考文献:

- 周文敏, 傅德黔, 孙宗光. 水中优先控制污染物黑名 单[J]. 中国环境监测, 1990(4): 1-3.
 ZHOU Wenmin, FU Deqian, SUN Zongguang. Blacklist of priority control pollutants in water[J]. Environmental Monitoring in China, 1990(4): 1-3.
- [2] 国家环境保护局.海水水质标准: GB 3097—1997[S]. 北京:中国标准出版社, 1998: 7.
 National Environmental Protection Bureau. Sea water quality standard: GB 3097—1997[S]. Beijing: Standards Press of China, 1998: 7.
- [3] SNELL T W, MOFFAT B D, JANSSEN C, et al. Acute toxicity tests using rotifers. III. Effects of temperature, strain, and exposure time on the sensitivity of

Brachionus plicatilis[J]. Environmental Toxicology and Water Quality, 1991, 6: 63-75.

- [4] 霍礼辉. 泥蚶对重金属(铜、铅、镉)的富集和响应初步研究[D]. 宁波: 宁波大学, 2012.
 HUO Lihui. Preliminary studies on accumulation and response of heavy metal (copper, lead and cadmium) in *Tegillarca granosa*[D]. Ningbo: Ningbo University, 2012.
- [5] VERSLYCKE T, VANGHELUWE M, HEIJERICK D, et al. The toxicity of metal mixtures to the estuarine mysid *Neomysis integer (Crustacea Mysidacea)* under changing salinity[J]. Aquatic Toxicology, 2003, 64(3): 307-315.
- [6] 洪鸣,王菊英,张志锋,等.海水中金属铅水质基准 定值研究[J].中国环境科学,2016,36(2):626-633.
 HONG Ming, WANG Juying, ZHANG Zhifeng, et al.

Study on seawater quality criteria for lead[J]. China Environmental Science, 2016, 36(2): 626-633.

- [7] DURÁN I, BEIRAS R. Ecotoxicologically based marine acute water quality criteria for metals intended for protection of coastal areas[J]. Science of The Total Environment, 2013, 463/464: 446-453.
- [8] 杜建国,赵佳懿,陈彬,等.应用物种敏感性分布评估重金属对海洋生物的生态风险[J]. 生态毒理学报,2013,8(4):561-570.
 DU Jianguo, ZHAO Jiayi, CHEN Bin, et al. Assessing the ecological risks of heavy metal to marine organisms

the ecological risks of heavy metal to marine organisms species sensitivity distributions[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2013, 8(4): 561-570.

- [9] 李晓梅, 郭体环, 张来军. 铅对近江牡蛎的急性毒性研究[J]. 琼州学院学报, 2015, 22(5): 77-80.
 LI Xiaomei, GUO Tihuan, ZHANG Laijun. Acute Toxicity of Pb to *Crassostrea rivularis*[J]. Journal of Qiongzhou University, 2015, 22(5): 77-80.
- [10] TIAN Y L, LIU H J, WANG Q X, et al. Acute and chronic toxic effects of Pb²⁺ on polychaete *Perinereis aibuhitensis*: morphological changes and responses of the antioxidant system[J]. Journal of Environmental Sciences, 2014, 26(8): 1681-1688.
- [11] 刘琼玉,洪华生,蔡立哲.重金属锌、铅对菲律宾蛤 仔的急性毒性试验[J]. 台湾海峡, 1997, 16(1): 50-54.
 LIU Qiongyu, HONG Huasheng, CAI Lizhe. Acute toxicity test of zinc and lead to *Ruditapes philippinarum*[J]. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 1997, 16(1): 50-54.
- [12] 林国清. 4 种重金属盐对泥东风螺幼螺的急性毒性试验[J]. 福建农业学报, 2012, 27(3): 232-236.
 LIN Guoqing. Acute toxieity tests of four heavy metal salts to juvenile snail of *Babylowia latosa*[J]. Fujian Jourmal of Agricultural Sciences, 2012, 27(3): 232-236.
- [13] MILLERO F, WOOSLEY R, DITROLIO B, et al. Effect of ocean acidification on the speciation of metals in seawater[J]. Oceanography, 2009, 22(4): 72-85.

[14] 隋国斌,杨凤,孙丕海,等.铅、镉、汞对皱纹盘鲍 幼鲍的急性毒性试验[J].大连海洋大学学报,1999, 14(1): 22-26.
SUI Guobing, YANG Feng, SUN Pihai, et al. The acute toxicity tests of Pb, Hg and Cd to larvae of *Haliotis Discus* Hannai Ino[J]. Journal of Dalian Ocean University, 1999, 14(1): 22-26.

[15] 谢湘筠, 林勇斌, 柯才焕. 重金属铅、镉对方斑东风

螺幼体的急性毒性试验[J]. 漳州师范学院学报(自然 科学版), 2007(4): 93-96.

XIE Xiangyun, LIN Yongbin, KE Caihuan. Acute toxicity tests of the lead and cadmium to *Babylonia Areolate* veliger larvae[J]. Journal of Zhangzhou Normal University, 2007(4): 93-96.

- [16] 柳学周, 徐永江, 兰功刚. 几种重金属离子对半滑舌 鳎胚胎发育和仔稚鱼的毒性效应[J]. 海洋水产研究, 2006, 27(2): 33-42.
 LIU Xuezhou, XU Yongjiang, LAN Gonggang. Toxic effects of several heavy metals on the embryos, larvae of *Cynoglossus semilaevis* Günther[J]. Marine Fisheries
- Research, 2006, 27(2): 33-42.
 [17] CHINNI S, KHAN R N, YALLAPRAGADA P R. Acute toxicity of lead on tolerance, oxygen consumption, ammonia-n excretion, and metal accumulation in *penaeus indicus* postlarvae[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2002, 51(2): 79-84.
- [18] 单阳阳,李正炎.基于盐度校正法的中国河口铅水生 生物水质基准制定[J]. 生态毒理学报,2020,15(5): 272-287.

SHAN Yangyang, LI Zhengyan. Derivation of water quality criteria of lead for the protection of chinese estuarine species based on salinity correction method[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(5): 272-287.

- [19] CHURCH B G, VANSPRANG P A, CHOWDHURY M J, et al. Updated species sensitivity distribution evaluations for acute and chronic lead toxicity to saltwater aquatic life[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2002, 36(1): 2974-2980.
- [20] GROSELL M, BLANCHARD J, BRIX K V, et al. Physiology is pivotal for interactions between salinity and acute copper toxicity to fish and invertebrates[J]. Aquatic Toxicology, 2007, 84(2): 162-172.
- [21] LUSSIER S M, GENTILE J H, WALKER J. Acute and chronic effects of heavy metals and cyanide on *Mysidopsis bahia* (crustacea: mysidacea)[J]. Aquatic Toxicology, 1985, 7(1): 25-35.
- [22] 符修正, 于淑池, 袁艳菊, 等. 铅对波纹巴非蛤的急性毒性和组织蓄积性研究[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(10): 137-139, 143.
 FU Xiuzheng, YU Shuchi, YUAN Yanju, et al. Study on lead's acute toxicity and accumulation on *Paphia undulata*[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2016, 44(10): 137-139, 143.

Precipitation of Pb in seawater and its impact on acute toxicity test

TONG Yi-fan¹, HAN Xue-meng¹, CAI Wen-qian², TIAN Sheng-yan¹

(1. College of Marine and Environmental Sciences, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China; 2. State Environmental Protection Key Laboratory of Estuary and Coastal Environment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China)

Received: Jan. 4, 2021

Key words: Pb; metals; seawater; precipitation; toxicity effect

Abstract: Lead (Pb) tends to precipitate in seawater, which could influence the calculation of effect value in toxicity tests. In this study, the toxicity of Pb in seawater and the impact of precipitation on acute toxicity were investigated through the acute toxicity test of metals to *Perinereis aibuhitensis*, a widely distributed benthic invertebrate in China, and *Artemia salina*, which is a commonly used model organism in marine ecotoxicology. The precipitates appeared in all exposure solutions with nominal Pb concentrations ranging from 18.7 to 1 200 mg/L, whether prepared by artificial or natural seawater. According to the elemental compositions of precipitates detected by scanning electron microscopy and energy-dispersive X-ray, the main components of the precipitate were PbCl₂ and PbCO₃. The actual concentrations of Pb detected by inductively coupled plasma mass spectrometry were just 1/15 to 1/2 of the nominal concentrations. The 96 h/48 h LC₅₀ values of Pb to *Perinereis aibuhitensis* and *Artemia salina* calculated by actual concentrations were less than 1/10 of that calculated by nominal concentrations. Comparing the 96 h LC₅₀ of Pb, Cd, and Cu to *Perinereis aibuhitensis* and *Artemia salina*, Pb showed less toxicity than Cu and Cd. Comparing the acute toxicity data of Pb in previous studies, Pb was relatively more toxic to larval marine organisms but less or not toxic to adult marine organisms at its solubility limit in seawater. Considering the precipitation characteristic of Pb in seawater, a low-dose chronic exposure experiment to the larva of marine species is quite beneficial when evaluating the Pb ecosystem risk.

(本文编辑:杨 悦)