

铜在牙鲆(*Paralichthys olivaceus*) 组织蓄积、分配及排放的研究*

赵元凤 吕景才 吴益春 宋晓阳 王凡
刘长发 赵冲 郑伟

(农业部海洋水产增养殖学与生物技术重点开放实验室 大连 116023;
大连水产学院生命科学与技术学院 大连 116023)
(大连水产学院生命科学与技术学院 大连 116023)

提要 采用暴露实验方法,研究了海水中 Cu 在牙鲆(*Paralichthys olivaceus*) 内脏、肌肉、鳃组织内吸收、积累和排放规律,海水中总有机碳(TOC) 浓度、配体种类对铜吸收的影响及其与海水表观络合容量(A_{CuCC}) 的关系。结果表明,Cu 浓度为 0.5mg/L 时,各组织内 Cu 蓄积量随暴露时间增加而增大,第 13 天均达吸收平衡,此时 Cu 蓄积量(mg/kg) 为内脏 971.89 > 肌肉 204.99 > 鳃 90.04。染毒 13 天牙鲆在清洁海水中排放结果表明:随排放时间增加各组织 Cu 蓄积量下降,第 8 天接近排放平衡。此时各组织 Cu 排出率为:肌肉 89% > 鳃 86.5% > 内脏 83.7%。海水中 TOC 浓度、种类对牙鲆 Cu 蓄积有明显影响,当 TOC 浓度相同时,孔石莼分泌物比牙鲆分泌物更能降低 Cu 在牙鲆组织内吸收和蓄积量;当 TOC 种类相同时,随 TOC 浓度升高,各组织铜蓄积量均明显下降,表明海水 TOC 能降低牙鲆组织对 Cu 的吸收和积累。 A_{CuCC} 随 TOC 浓度增加有明显上升趋势,并与 TOC 浓度呈线性相关。

关键词 铜,牙鲆,蓄积,总有机碳(TOC)

中图分类号 X174

重金属是主要的海洋污染物之一,易被生物体吸收富集,转化为毒性更大的金属有机化合物,再经食物链传递,从而危害人体健康。随着近岸水产养殖业的快速发展,养殖产生的废物(粪便、残饵、分泌物)增多,其中存在可与重金属相互作用的活性介质,这些活性介质对水域中重金属污染物的行为产生影响,从而对重金属的生物有效性产生影响。重金属对水生生物的毒性不仅取决于其总量,更重要的是重金属的存在形态,不同形态重金属的生物有效性有很大差异(于志刚等,1999;张少娜等,2004)。陆超华等(1998)研究了牡蛎对海水中铜的积累和排出,Christine(1999)研究了镉在鲤鱼组织内吸收排放动力学。关于牙鲆组织对 Cu 吸收、积累和排放规律及海水中 TOC 浓度、种类对铜吸收影响研究国内外未见报道。为此,作者对重金属铜在牙鲆内脏、肌肉、鳃组织内

吸收、积累和排放规律及海水中 TOC 浓度、种类对铜吸收的影响进行了研究,以期海洋污染的综合治理及生态风险评价提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

浓硝酸、30% 过氧化氢、氢氧化钠、 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 均为优级纯;Metrohm 746 型极谱仪、SHIMADZU 的 TOG-VcpH 总有机碳测定仪、MiLLi-Q 高纯水设备、pHS-3CB 型酸度计、温度计、可调式恒温电热板、101G-1B 型电热鼓风干燥箱、微量进样器等。

1.2 实验用鱼

实验用牙鲆(*Paralichthys olivaceus*) 购自大连太平洋海珍品养殖场,平均体长(4.77 ± 0.98) cm,平均体重(4.13 ± 1.02) g,实验前在天然海水中暂养 5 天,使其尽量排尽体内粪便。为避免残饵和

* 国家自然科学基金资助项目,30271029 号。赵元凤,副教授,E-mail: zhaoyuanfeng@dlfu.edu.cn

粪便对金属形态影响, 暂养及实验期间不投喂。实验期间水温为(17.0 ± 0.3) °C, 总碱度为(2.40 ± 0.20) mg/L, pH= 7.95 ± 0.25。

1.3 暴露实验

1.3.1 牙鲆对铜的吸收、排放实验 挑选暂养5天后大小均匀牙鲆50条, 平均放入装有80L染毒液的两个120L玻璃缸中, 染毒液用新鲜海水和Cu储备液配制。每缸放鱼25条, 两缸染毒液Cu浓度均为0.5mg/L(在实验前所用的养鱼玻璃缸, 均预先用等浓度的染毒液进行预处理, 以消除器壁对Cu吸附的影响)。每隔24h更换等浓度染毒海水一次, 每隔1天取样一次, 每次随机取鱼三尾, 解剖取鱼鳃、内脏、肌肉组织, 经烘干称重、消化、中和、定容后用Metrohm 746型极谱仪采用阳

极溶出伏安法测铜含量; 以时间对铜蓄积量作图, 当吸收曲线达平衡后, 终止染毒实验, 将余下的牙鲆移入盛有80L天然海水的玻璃缸内进行排放实验, 排放期间每隔24h更换天然海水一次, 每两天取样一次, 按前面方法处理后测其铜含量。暴露实验进行13天, 排放实验进行12天。

1.3.2 海水中TOC浓度、种类对牙鲆铜吸收的影响 在10个48L玻璃缸中设置Cu²⁺浓度均为0.5mg/L, TOC浓度不同的海水见表1。每缸放牙鲆3尾, 实验期间连续24h充气, 不换水, 每天监测温度、pH、碱度和TOC。第9天终止实验将鱼全部取出, 解剖取鱼鳃、内脏、肌肉组织, 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铜含量。

表1 不同TOC浓度(mg/L)暴露实验(mg/L)

Tab. 1 Concentration (mg/L) of TOC for the exposure experiment

编号	海水 0	混合 1	混合 2	混合 3	混合 4	混合 5	鱼水 1 [#]	鱼水 2 [#]	藻水 1 [#]	藻水 2 [#]
1 天	1.567	3.921	5.184	7.311	8.768	14.27	3.677	4.043	4.116	4.503
3 天	1.678	3.999	5.456	7.351	8.868	14.29	3.769	4.170	4.267	4.942
5 天	1.836	3.969	5.434	7.610	9.040	14.34	4.008	4.553	4.402	5.350
7 天	2.226	4.369	5.513	7.965	9.525	14.39	4.108	4.767	5.088	5.741
平均	1.830	4.070	5.400	7.570	9.050	14.29	3.890	4.380	4.470	5.130

注: 表中海水0组为天然海水; 鱼水1[#]组、2[#]组所用水是通过将若干尾牙鲆放入盛天然海水的水槽中充气不换水养殖几天后获得的具有一定TOC浓度(富含牙鲆分泌物)的海水。藻水1[#]组、2[#]组是用天然海水与养孔石莼所得TOC浓度较高的藻水混合而成, 其TOC浓度与养鱼水相接近; 从混合1—5组TOC浓度逐渐升高, 所用水是将养鱼水和养藻水按1:1比例混合后再用天然海水稀释成TOC浓度不同的海水。表4同

1.4 样品的处理与测定

随机取鱼3尾, 用高纯水将鱼体冲洗干净后解剖取鳃、内脏、肌肉组织, 分别置于50ml烧杯中, 称取湿重, 在105 °C下烘干4h至样品恒重, 在分析天平上精确称取干重。按照《海洋监测规范》(国家海洋局, 1991)样品消解方法, 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, 缓缓加入1ml过氧化氢(30%), 于160—200 °C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 °C)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。

Cu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 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, 扫描电压范围为-1150—50mV, 扫描速度为60mV/s。

1.5 数据处理与分析

铜离子在鱼体组织中的浓度按下列公式计算:

$$\text{鱼组织内铜离子含量} = \frac{C \cdot 50}{W}$$

式中, C表示极谱仪测得的浓度(单位为mg/L), W表示样品的干重(单位为g), 数据处理采用Ex-

cel7.0 版中的数据分析工具库软件进行统计分析。

1.6 A_{CuCC} 和 K_c 的测定方法

在 6 个按规定洗净干燥的小烧杯中, 用移液管分别移取待测水样 20ml, 用微量取液器移取铜的标准液于各烧杯中, 使各烧杯中铜的浓度分别为 0、10、20、30、40、50 μ g/L; 摇匀后放置 24h, 使 C_{Cu} 与海水中的配体充分络合, 依次测出各锥形瓶中游离态铜含量 (C_{CuL})。依据铜离子与有机配体 1:1 络合模型推得的关系式 $\frac{C_{Cu}}{C_{CuL}} = \frac{C_{Cu}}{A_{CuCC}} + \frac{1}{K_c \cdot A_{CuCC}}$ (该公式中各浓度单位均为 mol/L), 以 $C_{Cu} - C_{CuL} / C_{CuL}$ 作图为一一直线, 从该直线的斜率 $1/A_{CuCC}$ 和截距 $1/K_c \cdot A_{CuCC}$ 可求出 K_c 和 A_{CuCC} (Charles, 1979)。按上述方法测定天然海水和 TOC 浓度不同海水中的 A_{CuCC} 和 K_c 。

2 结果与讨论

2.1 牙鲆组织铜蓄积量与暴露时间的关系

牙鲆内脏团、鳃、肌肉组织铜蓄积量随暴露时间增加而增大(表 2), 第 13 天均达到平衡。在 13 天的暴露过程中, 内脏团铜蓄积速率、蓄积量均增加最快, 其蓄积速率为 74.76mg/(kg·d), 达到平衡后铜蓄积量为 971.89mg/kg 干重。鳃中铜蓄积第 4 天即接近平衡, 在暴露 13 天的过程中, C_{Cu} 的蓄积速率为 7.23mg/(kg·d), 达平衡后其蓄积量为 90.04mg/kg 干重。肌肉中铜蓄积量刚开始增加较缓慢, 染毒 5 天后开始加速, 第 12 天达到平衡, 在暴露 13 天的过程中, 肌肉对 Cu 的累积速率为 15.77mg/(kg·d), 达到平衡后其蓄积量为 204.99mg/kg 干重。由表 2 比较可见, 染毒的前 7 天铜在牙鲆各组织中蓄积速率次序为: 内脏团 > 鳃 >

肌肉, 7 天后, 鳃的蓄积速率逐渐减慢, 肌肉蓄积速率明显上升, 在此期间, 铜在牙鲆各组织中蓄积速率次序为: 内脏 > 肌肉 > 鳃。

Christine(1999) 研究了镉在鲤组织内的积累和排放动力学, 在 127 天的染毒实验期间, 肾镉随时间成直线迅速增加; 肝镉前 90 天内增加缓慢, 此后急剧增加; 肌肉镉仅在 127 天后才有较明显的增长。积累顺序为肾脏 > 肝脏 > 肌肉。本文中 13 天染毒实验期间肌肉铜蓄积量刚开始增加较缓慢, 染毒 5 天后开始加速, 积累达平衡后铜蓄积量内脏团 > 肌肉, 与 Christine(1999) 研究结果相一致。

内脏团(包括肝、肾)成为鱼体蓄积重金属的主要部位, 与铜对金属硫蛋白(MT) 诱导作用有关(Allen, 1995; 王海黎等, 1999), MT 的主要生物学功能是调节鱼体内自由金属离子的浓度, 以减少重金属离子特别是 Cu 这种非生物必需元素的毒害作用。重金属离子能激活肝脏中 MT 基因的转录, 使 MT 基因得到大量的表达。鱼的肝脏和肾脏等组织的 MT 含量较高, 进入鱼体内多余的重金属离子将与 MT 结合, 在体内被储存起来。由于重金属离子的诱导作用, 使 Cu 在牙鲆肝脏和肾脏积累增加。

肌肉铜开始增加较慢, 染毒 5 天后开始加速, 是因为进入鱼体的重金属主要被肾脏和肝脏积累。相比之下, 肌肉对金属的亲性远比肝、肾脏弱, 只有当肝、肾脏积累重金属超过其合成金属硫蛋白能力时, 肌肉中铜蓄积才开始增加(Suresh *et al.*, 1993)。染毒的前 7 天铜在鳃的蓄积量大于肌肉, 可能与鳃的特殊结构利于水中离子穿过, 鳃成为鱼体直接从水中吸收重金属的主要部位(Allen, 1995) 有关。

表 2 牙鲆各组织中铜蓄积量(mg/kg 干重)随暴露时间的变化

Tab.2 Copper accumulation (mg/kg DW) in the tissues of *P. olivaceus* with the elapse of time

暴露时间(d)	0	1	2	3	4	7	9	12	13
内脏团 Cu	6.472	87.23	298.0	368.5	457.1	606.2	937.2	892.9	971.9
鳃 Cu	3.901	15.69	43.94	60.27	80.63	85.53	88.07	95.39	94.04
肌肉 Cu	2.612	14.49	13.27	20.80	52.25	59.78	126.1	221.4	203.4

2.2 牙鲆铜排放实验结果

通常重金属离子从鱼体组织排出途径包括鱼鳃、胆汁、排泄物、皮肤和粘液, 排出途径要多于吸

收途径。从表 3 可见, 牙鲆移入清洁海水中后, 鳃、肌肉、内脏团中铜含量随排放时间的增加逐渐下降。至排放的第 10 天牙鲆内脏团内累积的 Cu

表 3 牙鲆各组织中铜蓄积量(mg/kg 干重)随排放时间的变化

Tab. 3 Copper accumulation (mg/kg DW) in the tissues of *P. olivaceus* with the elapse of depuration time

排放时间(d)	0	1	2	3	5	6	8	10	12
内脏团 Cu	971.9	868.7	797.7	732.4	701.8	558.2	253.6	174.8	141.6
鳃 Cu	94.04	78.72	47.85	36.68	30.64	22.26	9.406	12.67	12.22
肌肉 Cu	203.4	138.7	84.53	91.60	76.68	45.89	21.58	20.67	22.19

排出率达 83.7%, 其排出速度为 69.19mg/(kg·d); 鳃 Cu 排出速率先快后慢, 至排放的第 8 天 Cu 的排出率达 86.5%, 其排出速度为 10.58mg/(kg·d); 肌肉 Cu 排出速率较快至排放的第 8 天, 牙鲆肌肉 Cu 排出率达 89%, 其排出速度为 22.93mg/(kg·d), 三种组织中铜排出速率顺序为: 内脏团>鳃>肌肉; 铜排出百分率顺序为: 肌肉>鳃>内脏团。这一顺序与 Christine(1999) 报道鲤组织镉排放规律不同, 鲤经 127 天染毒实验后在清水排放 42 天, 肾镉仍持续增加, 肝镉变化不明显, 肌肉镉明显降低。这可能是铜和镉的排出机理不同, 也可能与海水鱼和淡水鱼排出重金属的途径不同有关, 其原因有待于进一步探讨。

陆超华等(1998)研究了牡蛎对海水中铜的积累和排出, 表明牡蛎对海水中铜有较强的富集能力, 铜积累与时间呈显著线性正相关, 但体内积累的铜排出缓慢, 第 35 天铜排出率仅为 13%。这一结果表明: 受金属铜污染的牙鲆, 经转入清洁海水排出一段时间后仍可达到食用标准, 但牡蛎受重金属污染后, 体内的重金属排出极为缓慢, 难以达到食用标准。至于其他海水鱼是否也具有与牙鲆相类似的规律还有待于进一步探讨。

2.3 TOC 浓度对牙鲆组织铜积累影响

在复杂的天然水环境中, 因铜存在形态不同

其生物有效性不同。决定铜对鱼类毒性的因素不仅包括它在水环境中的总量, 更重要的是其化学形态(John *et al.*, 1968; Charles, 1979)。

在 9 天的 TOC 浓度对铜蓄积影响实验中, 各组铜浓度均为 0.5mg/L。从 0—5 组配体种类相同, 随着 TOC 浓度增加, 牙鲆各组织铜蓄积速率及蓄积量均明显下降。海水 0 组 TOC 浓度为 1.830mg/L 最低, 其内脏团、鳃、肌肉组织铅蓄积量分别为 689.6、80.65、65.52mg/kg 干重, 蓄积速率分别为 76.6、8.96、7.28mg/(kg·d), 在 6 个组中是最高的; 混合 5 组 TOC 浓度为 14.29mg/L 最高, 其内脏团、鳃、肌肉组织铜蓄积量分别为 89.41、16.69、9.752mg/kg 干重, 蓄积速率分别为 9.93、1.85、1.08mg/(kg·d), 在 6 个组中是最低的; 铜在三种组织的蓄积量顺序不变, 仍为: 内脏团>鳃>肌肉(表 4)。

此结果表明: (1) TOC(牙鲆、孔石莼混合分泌物)能使进入水体的游离态铜转化为较稳定的络合态, 而显著降低牙鲆组织对 Cu 的吸收和积累; (2) TOC 浓度变化不影响 Cu 在牙鲆各组织内的蓄积次序。

表 4 TOC 对牙鲆各组织中铜蓄积量(mg/kg 干重)的影响

Tab. 4 Effect of TOC on accumulation (mg/kgDW) of copper in the tissues of *P. olivaceus*

组别	海水 0	混合 1	混合 2	混合 3	混合 4	混合 5	鱼水 1 [#]	鱼水 2 [#]	藻水 1 [#]	藻水 2 [#]
内脏团 Cu	689.6	398.7	317.4	265.3	206.0	89.41	423.6	485.4	246.0	207.5
鳃 Cu	80.65	66.32	69.65	43.65	38.69	16.69	68.98	72.45	45.64	39.56
肌肉 Cu	65.52	52.50	56.84	30.86	21.89	9.752	62.48	63.10	36.98	32.89

各组铜浓度均为 0.5mg/L, 海水 0 组 TOC 浓度为 1.830mg/L 时, 牙鲆肌肉中铜蓄积量为 65.52mg/kg 干重; 混合 5 组 TOC 浓度为 14.29mg/L 时,

牙鲆肌肉中铜蓄积量为 9.752mg/kg 干重, 仅为海水 0 组的 0.15 倍。这表明, 对海洋重金属污染进行生态风险评价时, 不能只看海水中重金属的浓

度, TOC 浓度也是评价海洋重金属污染不可缺少的一个重要指标。

海水中铜在牙鲆鳃、肌肉、内脏组织的蓄积量均 TOC 浓度呈显著的负相关(表 5)。为此, 建议对海洋重金属污染进行生态风险评价时, 要在测

定出海水中重金属浓度的同时, 测定出海水 TOC 浓度, 然后依据重金属在鱼体蓄积量与海水 TOC 浓度相关方程计算评价海洋重金属污染状况, 并据此对生态风险做出评价。

表 5 TOC 浓度与牙鲆各组织内铜蓄积量(mg/ kg 干重) 的关系

Tab. 5 Relationship between concentration of TOC and accumulation (mg/ kgDW) of copper in the tissues of *P. olivaceus*

TOC 浓度(mg/L)	1. 830	4. 070	5. 400	7. 570	9. 050	14. 29
内脏团 Cu	689. 6	389. 7	317. 4	265. 3	206. 0	89. 41
鳃 Cu	80. 65	66. 32	69. 65	43. 65	38. 69	16. 69
肌肉 Cu	65. 52	52. 50	56. 84	30. 86	21. 89	9. 752

2.4 海水中不同种类配体对牙鲆组织铜积累影响

鱼水 1[#]、2[#] 和藻水 1[#]、藻水 2[#] 及混合 1 组的 TOC 浓度相近, 但配体种类不同, 鱼水 1[#]、2[#] 中配体主要是牙鲆分泌物; 藻水 1[#]、藻水 2[#] 组配体主要是孔石莼分泌物; 而混合 1 组中配体主要是前二者的混合物。比较各组中内脏团、鳃、肌肉中铜蓄积量, 发现均为鱼水> 混合 1 组> 藻水, 这表明: 三类配体对铜的亲性顺序为鱼水< 混合 1< 藻水, 即孔石莼分泌物与 Cu 的络合物比牙鲆分泌物与 Cu 的络合物更稳定、能更显著地降低牙鲆组织对 Cu 的吸收和积累。

海水 0 组牙鲆各组织铜蓄积量最高, 表明牙鲆、孔石莼分泌物均能显著降低牙鲆组织对 Cu 的吸收和积累。

2.5 TOC 与 A_{CuCC}关系

按 1.6 所述的方法测定了黑石礁海区天然海

水的 A_{CuCC}和 K_c, TOC 浓度不同(孔石莼分泌物含量不同) 海水的 A_{CuCC}和 K_c, 结果见表 6。

本实验中配体种类一定, 温度、pH、ALK 变化不大, 可看成是定值, 随着 TOC 浓度的升高, A_{CuCC} 明显升高, 并与 TOC 浓度呈线性关系(图 1) 方程为 $y = 90. 262x + 76. 595$, 相关系数为 $R^2 = 0. 9563$, 在此实验条件下测得的络合常数与反应物浓度没有明显关系, 即络合常数不随配体浓度变化而变化。大连黑石礁海区天然海水表观铜络合容量为 229. 25nmol/L。条件形成常数 $\lg K_c = 7. 36$ ($K_c = 2. 29 \times 10^7$)。陈春华(1997) 测定了海口湾海水的 A_{CuCC}和 K_c, 结果表明: 海口湾海水的表观络合容量变化范围为 $3. 46 \times 10^7 - 4. 76 \times 10^8$ nmol/L。比较可见, 大连黑石礁海区海水的表观络合容量略低于海口湾海水。

表 6 TOC 浓度与 A_{CuCC}及 K_c 关系

Tab. 6 Relationships among the concentration of TOC and A_{CuCC} and K_c

编号	1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]	5 [#]
温度(℃)	20	21	21	22	22
pH	8. 12	8. 32	8. 62	8. 76	9. 1
碱度(mg/L)	2. 33	2. 38	2. 41	2. 46	2. 51
TOC(mg/L)	1. 25	4. 65	5. 64	7. 46	9. 34
A _{CuCC} (nmol/L)	229. 3	474. 6	563. 2	676. 9	997. 7
lgK _c	7. 36	7. 03	7. 48	7. 65	6. 87

注: 1[#] 为天然海水, 2[#] —5[#] 为有 TOC 浓度梯度的含孔石莼分泌物的海水

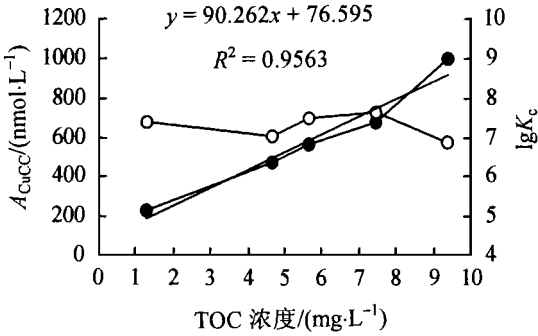


图 1 TOC 与 A_{CuCC} 及 lgK_c 的关系

Fig. 1 Relationships among TOC and A_{CuCC} and lgK_c .

—●— A_{CuCC} ; —○— lgK_c ; ——线性(A_{CuCC})

3 结论

3.1 铜浓度为 0.5 mg/L 时, 牙鲆各组织内铜蓄积量随染毒时间增加而增大, 第 13 天均达平衡, 此时 Cu 蓄积量 (mg/kg 干重) 为: 内脏 971.89 > 肌肉 204.99 > 鳃 90.04。染毒牙鲆清洁海水中排放随时间增加, 内脏团、鳃、肌肉铜含量逐渐下降, 第 8 天接近排放平衡。此时三种组织铜排出率为: 肌肉 89% > 鳃 86.5% > 内脏团 83.7%。

3.2 铜浓度及配体种类一定时, 随着 TOC 浓度升高, 内脏团、鳃、肌肉铜蓄积量均明显下降, 但次序不变。表明: TOC (牙鲆、孔石莼混合分泌物) 能显著降低牙鲆组织对 Cu 的吸收和积累; TOC 浓度变化不影响 Cu 在牙鲆各组织的蓄积次序。

3.3 当 TOC 浓度相同时, 孔石莼分泌物比牙鲆分泌物更显著降低 Cu 在牙鲆组织内的吸收和蓄积量。

3.4 当海水配体种类相同时, 随 TOC 浓度升高, A_{CuCC} 明显上升, 并与 TOC 浓度成线性关系。大连黑石礁附近海域的沙滤天然海水表观铜络合容量为 229.25 nmol/L, 条件稳定常数 $lgK_c = 7.36$ 。

参 考 文 献

于志刚, 张 经, 史峰岩等, 1999. 一种评价重金属污染对大型海藻毒性效应的新方法. 海洋与湖沼, 30(3): 199—204 [Yu Z G, Zhang J, Shi F Y *et al.*, 1999. New method for evaluating toxicity of heavy metals on marine

macroalgae. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 30(3): 199—204]

王海黎, 陶 澍, 1999. 生物标志物在水环境研究中的应用. 中国环境科学, 19(5): 421—426 [Wang H L, Tao S, 1999. Application of biomarker in aquatic environment research. *China Environmental Science*, 19(5): 421—426]

陆超华, 谢文造, 周国君, 1998. 近江牡蛎作为海洋重金属镉污染监测生物的研究. 中国水产科学, 5(2): 79—83 [Lu C H, Xie W Z, Zhou W J, 1998. Studies on *Grassostrea rivularis* as a biological indicator of cadmium pollution. *Journal of Fishery Sciences of China*, 5(2): 79—83]

陈春华, 1997. 海口湾海水表观重金属络合容量研究. 海洋学报, 19(5): 69—75 [Chen C H, 1997. The seaport gulf sea water form view heavy metals complex the capacity research. *Acta Oceanologica Sinica*, 19(5): 69—75]

张少娜, 孙 耀, 宋云利等, 2004. 紫贻贝 (*Mytilus edulis*) 对 4 种重金属的生物富集动力学特性研究. 海洋与湖沼, 35(5): 438—445 [Zhang S N, Sun Y, Song Y L *et al.*, 2004. Kinetic features of four heavy metals bioaccumulation of mussel *Mytilus edulis*. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 35(5): 438—445]

国家海洋局, 1991. 海洋监测规范. 北京: 海洋出版社, 87—99

Allen P, 1995. Soft-tissue accumulation of lead in the blue tilapia, *Oreochromis aureus* (Steindachner), and the modifying effects of cadmium and mercury. *Biological Trace Element Research*, 50(3): 193—208

Charles Chakoumakos, 1979. Toxicity of copper to *Cutthroat trout* (*Salmo clarki*) under different conditions of alkalinity, pH, and hardness. *Sci Technol*, 13: 213—218

Christine de Conto Cinier, 1999. Kinetics of cadmium accumulation and elimination in carp *Cyprinus carpio* tissues. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 122: 345—352

John B Spagure, 1968. Promising anti-pollutant: chelating agent NTA protects fish from copper and zinc. *Nature*, 220(5174): 1345—1346

Suresh A, Sivaramakrishna B, Radhakrishnaiah K, 1993. Patterns of cadmium accumulation in the organs of fry and fingerlings of freshwater fish *Cyprinus carpio* following cadmium exposure. *Chemosphere*, 26: 945—953

ACCUMULATION, DISTRIBUTION AND EXCRETION OF MARINE COPPER CONTAMINATION IN THE TISSUES OF *PARALICHTHYS OLIVACEUS*

ZHAO Yuan-Feng, LI Jing-Cai, WU Yi-Chun¹, SONG Xiao-Yang², WANG Fan³,

LIU Chang-Fa, ZHAO Chong¹, ZHENG Wei¹

(¹Key Laboratory of Mariculture and Biotechnology, Ministry of Agriculture, Dalian, 116023; College of Life

Science and Technology, Dalian Fisheries University, Dalian, 116023)

(²College of Life Science and Technology, Dalian Fisheries University, Dalian, 116023)

Abstract The authors studied the behavior of marine contaminant copper in biological insights of the accumulation, distribution and excretion in or from visceral mass, muscles and gills of *Paralichthys olivaceus*. Effects of total organic carbon (TOC) and its concentration in seawater on the accumulation of copper in *P. olivaceus*, and the relationship between TOC and the apparent complex capability of seawater to copper (A_{CuCC}) were studied. It was demonstrated that when copper concentration is 0.5mg/L, the copper content in every party of the tissue increase with time. In the 13th day, copper accumulation in the tissues reached equilibrium with the figures of 971.89mg/kg in visceral mass, > 204.99mg/kg in muscles and > 90.04mg/kg in gills. During purification days, the copper concentration in the animal body decreased with time. In the 8th day of the cleaning, the equilibrium reached. The percentages of Cu excretion were 89% in muscle, > 86.5% in gill and > 83.7% in visceral mass. Concentration of TOC in the seawater had significant effect on copper accumulation. It was found that at the same TOC concentration, *Uva pertusa* secretion could reduce the copper accumulation better than that of *P. olivaceus*. In the same species, the copper accumulation decreased significantly with increasing TOC. This is because that TOC in seawater can reduce the bioavailability of copper. On the other hand, the A_{CuCC} has linear positive relation with the TOC.

In this experiment, sample *P. olivaceus* are in average (4.77 ± 0.98) cm long and (4.13 ± 0.12) g weight. They were raised for 5 days before the experiment for the purpose of totally expelling the faeces. To avoid the effect of diets and faeces on the distribution of heavy metals, the fish were not fed in the period of experiment.

Experiment on copper accumulation in *P. olivaceus*: 5 days after being raised, every 50 *P. olivaceus* are placed indoor in two 120L glass jars with 80L Cu-poisoned seawater solution; the Cu concentration was 0.5mg/L. Recharge the solution daily with the toxicant to keep the original concentration. At the same frequency, 3 animal individuals are sampled. Sampled fish are dissected in to part of gills, visceral mass and muscle. Each part is dehydrated, weighted, dissolved and neutralized; the copper accumulation is then measured on Metrohm 746 VA Trace Analyzer. When equilibrium of copper accumulation in the fish body is reached, transfer the remaining fish to two the same jars in 80L pure seawater. Refresh daily with the pure seawater daily. Sample is taken every two days. The copper accumulation and samples are measured in the same manner. The experiment lasted 13 days.

The measurement of A_{CuCC} and K_c : 20ml water sample are placed in 6 clean and dried small beakers by pipet, then the copper standard liquid are placed in each beakers by microsyringe to make the concentrations of copper to be 0, 10, 20, 30, 40, 50 μ g/L. 24 hours later, copper and ligand were fully complexed, and then free copper ions in each beaker were measured. A relational formula was established based on the 1:1 ratio of Cu complexation and organic ligands. A_{CuCC} and K_c of pure seawater and seawaters with different TOC could be measured according to the above method.

Key words Copper, *Paralichthys olivaceus*, Accumulation, Total organic carbon (TOC)