

铜在鲤鱼(*Cyprinus carpio*) 鱼鳃微环境中的形态分布

龙爱民, 陶澍*, 刘长发(北京大学城市与环境学系, 北京 100871)

摘要: 利用 Playle 设计的装置测定了不同铜暴露水平下鲤鱼鳃部进出水中的游离铜离子浓度、粘液含量及有关参数。用 MINEQA2 和单配位体模型联合的试算方法计算了不同形态铜含量以及鳃部粘液对铜的络合能力。结果表明, 利用该算法可以获得鱼鳃微环境金属形态分布的准确结果, 同时可以得到与鱼鳃粘液络合能力有关的参数。随着暴露铜含量增加, 粘液分泌量随之增加, 鱼鳃微环境 pH 和碱度也有所上升。鱼鳃粘液的络合当量浓度(Cu/C)和稳定常数(对数)分别为 0.95mmol/mg 和 5.32。就铜形态分布而言, 鱼鳃微环境与外部水相的主要差别表现在相对较高的羟基络合态铜含量以及占总量 3%~20% 的鱼鳃粘液络合态铜。

关键词: 鲤鱼; 鳃微环境; 铜; 粘液; 形态

中图分类号: X174 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2000)04-0006-05

Copper Speciation in the Gill Microenvironment of *Cyprinus carpio*

Long Aimin, Tao Shu, Liu Changfa(Department of Urban and Environment Sciences, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract Concentrations of free copper and mucus and other parameters including pH and alkalinity of the gill microenvironment of *Cyprinus carpio* exposed to copper of various levels were determined using Playle's apparatus. MINEQA2 was applied to calculate the copper speciation and single-site complexation model was employed for characterizing the complexation capacity of gill mucus for copper. A procedure of trial and error with the two approaches involved was developed for the speciation calculation. It was shown that excretion of mucus was positively correlated to the total copper level in water. It was found that in the gill microenvironment, both pH and alkaline are higher than that in the bulk water, causing the difference in copper speciation. From 3 to 20% of copper in the microenvironment was mucus complexed.

Keywords: *Cyprinus carpio*; gills; microenvironment; mucus; copper; speciation

考虑重金属的效应时, 形态是关键的因素^[1]。因此, 研究环境因素对形态分布及生物毒性的影响, 以便在形态与毒性关系的基础上建立更完善的水质标准正成为国内外环境科学工作者研究的重点之一。

在受污染的水体中, 鳃部吸收是鱼体重金属吸收的主要途径。其由磷脂组成的鳃膜能提供带净负电荷的表面, 可以直接吸附游离金属离子^[2]。关于鱼体通过鳃部对金属的吸收过程和机理有大量研究, 这些研究较全面地阐述了对简单离子、水合离子及羟基络合物的鱼鳃吸收的机理^[3], 并建立了金属-鳃反应的平衡模

型^[4], 计算出一些相关的重要参数^[5]。研究表明, 鱼体能通过其调节功能, 保持相对稳定的鳃部微环境条件, 从而对重金属的鳃吸收产生一定影响^[5]。然而, 由于其复杂的生理活动, 鱼鳃对金属的吸附过程远非简单的物理化学或化学过程。譬如, 鳃部不断分泌的粘液对金属有络合作用, 会在某种程度上影响鱼鳃对金属的吸收^[6]。因此, 深入研究鳃部粘液的释放及其与金

基金项目: 国家杰出青年基金资助项目(49525102)
作者简介: 龙爱民(1970~), 男, 湖南衡阳人, 在读博士, 主要研究方向为环境生物地球化学。
收稿日期: 1999-10-14
* 通讯联系人

属的相互作用对深入了解鱼鳃对金属的吸收有重要意义.

本文探讨了鲤鱼(*Cyprinus carpio*) 鳃部粘液对铜离子的络合特性及对水溶液中铜形态分布的影响.

1 材料与方法

1.1 实验用水与用鱼

实验用人工河水参照长江水系平均离子含量配制, 其基本离子组成分别为: Ca^{2+} 0.71, Mg^{2+} 0.324, Na^{+} 0.144, Cl^{-} 1.733, K^{+} 0.009, SO_4^{2-} 0.324 mmol/L. 实测 pH 6.7. 水温 23℃. 实验用鱼为购自北京通州地区的鲤鱼(*Cyprinus carpio*), 平均重量 276g, 实验前于水族箱中驯养 5~7d.

1.2 实验装置及暴露实验

鱼鳃微环境实验装置见图 1. 用浓度为 0.1g/L, pH 值为 6.5 左右(用 KOH 溶液调节)的普鲁卡因对鱼体进行麻醉. 用 4-0 号手术线将取自医用手套的乳胶膜缝合在鱼嘴周围. 利用该膜将实验水箱分隔为仅保留鱼嘴通道的 2 部分(图 1 中左室与右室). 此外, 在距后缘 1cm 处的鳃盖骨上钻一直径约 6mm 小孔, 用 PE-90 聚乙烯导管穿过. 待鱼完全恢复后, 将鱼固定在实验装置中. 利用鳃部导管收集鳃部出水. 通过溢流装置维持 2 室的液面的平衡. 暴露实验中, 在左室中, 根据其中水的体积(实验中控制为 1.4L) 分别加入不同体积浓度为 1mol/L 的 CuSO_4 溶液, 得到不同的铜的最终暴露浓度(0.5、1.0、2.5、5.0、10 和 20 $\mu\text{mol/L}$). 同步测定鱼鳃进水(左室)和出水(导管导出水)中游离离子铜、碱度、pH、IC 和 TOC 含量.

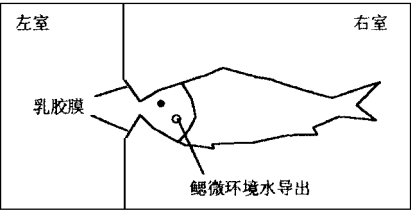


图 1 鳃部微环境测定装置

Fig. 1 The apparatus for gill micro-environment study

1.3 有关参数及 Cu^{2+} 含量测定

水样碱度用经过标定的 HCl 的溶液滴定. pH 值用 F-13 型酸度计测定, 有机-无机碳用岛津 5000A 总有机碳分析仪测定. 游离铜用经过 0.5mol/L 的 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 溶液活化 2h 的 $\text{P}_{\text{Cu-1}}$ 型离子选择电极铜电极(测量范围为 $10^{-1} \sim 5 \times 10^{-7} \text{mol/L}$), 配合 pH S-2 型酸度计测定. 系统用人工河水作底液标定. 即用电极在已知有关参数及总铜浓度人工河水(左室)中读得特定条件下的响应值, 同时用 MINTEQA2 计算其中游离铜离子含量, 在此基础上计算的标定曲线为:

$$E_h = 0.204M_f + 1.5016 \quad R^2 = 0.9450 \quad (1)$$

式中, E_h 为电极响应(eV), M_f 则为溶液中游离 Cu^{2+} 浓度(mol/L)的对数. 在用电极实测鳃部微环境(出水)中游离 Cu^{2+} 含量时, 该式可用作实测结果计算.

1.4 粘液络合特性表征

简单的单配位体离散络合模型可用下式表达:

$$k = \frac{[M_L]}{[M_f]\{[L_t] - [M_L]\}} \quad (2)$$

式中, k 为络合稳定常数(无量纲), $[M_L]$ 代表粘液-金属络合物浓度(mol/L), $[M_f]$ 为游离金属浓度(mol/L), $[L_t]$ 代表以络合当量计的粘液总浓度(mol/L). 如果以 $[L_0]$ (mol/mg)表示单位浓度粘液络合当量, $[L_t]$ 即为 $[L_0]$ 和以总有机碳表示的粘液质量浓度(Cl, mg/L)的乘积.

1.5 形态计算

由于无法直接测定鱼鳃微环境中络合态铜含量, 也无法直接给出粘液的络合当量浓度, 铜形态分布与粘液络合计算采用试算法, 其步骤列于图 2.

以所有 6 组实验(6 种总铜浓度条件)鳃部进出水实测游离 Cu^{2+} 浓度之差为鳃部微环境中粘液络合态铜浓度估计值, 运用单配位体络合模型(式 2)拟合得到相应的粘液络合当量浓度($L_0 = 1.001$)和络合稳定常数($\log k = 6.37$)初始值. 在此基础上利用总铜浓度、pH、碱度和常量离子浓度等参数在 MINTEQA2 中求得铜

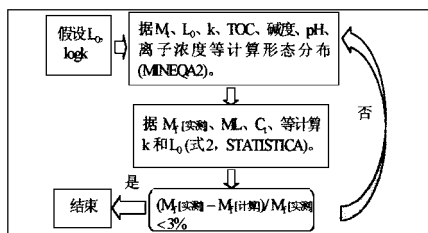


图 2 铜形态分布与粘液络合当量试算流程

Fig. 2 Flow chart of trial-and-error for calculation of copper speciation and mucus complexation

的形态分布。再用单配位体络合模型计算络合平衡求算新的 k 和 L_0 。如果络合平衡计算得到的游离铜浓度与实测结果差别较大 ($> 3\%$), 则根据新的 k 和 L_0 返回络合平衡计算, 直至计算

与实测游离铜浓度基本一致为止。

2 结果与讨论

2.1 铜对鳃粘液及 CO_2 释放的影响

正常生理活动过程中, 鱼鳃除了分泌 CO_2 , NH_3 等以保持鳃部稳定的微环境条件外^[4, 6], 还伴随着粘液的分泌。鳃部粘液主要起润滑, 防止寄生虫和病菌入侵以及免疫作用^[10]。随着铜暴露水平增加, 鳃部生理活动可能受到影响, 其分泌活动可能发生变化。研究中实测了不同铜暴露水平下总无机碳和总有机碳的变化, 藉以反映鱼鳃 CO_2 和粘液分泌量的变化。图 3 即为不同暴露水平下鱼鳃微环境中(出水)总无机碳和总有机碳含量变化。

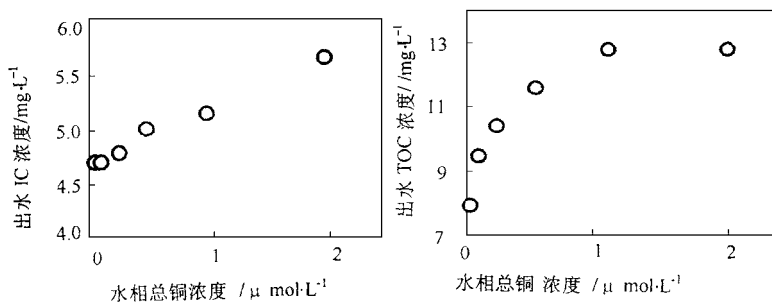


图 3 不同总铜暴露水平下鳃部出水总无机碳及有机碳含量变化

Fig. 3 Total inorganic and organic carbon concentrations in the gill microenvironment exposed to various copper concentrations

从图 3 中可以看出, 随着铜暴露水平的增加, 鱼鳃 CO_2 分泌活动加剧, 从而鳃部出水无机碳浓度呈直线上升趋势。与此同时, 鱼鳃微环境 pH 值由进水的 6.70 升至 6.84, 碱度由进水的 20.1 mg/L 升至 23.6 mg/L。有关研究证实, 在与本研究相似的体系中, 鲤鱼鳃部微环境的平衡 pH 为 8.0, 当外部 pH 低于该值时, 鳃部微环境 pH 和碱度均会增高^[4, 5]。铜暴露对鱼鳃生理活动影响另一方面表现为鳃部出水中有机碳浓度明显增加(其增加趋势为典型的指数曲线形式)。这是由于在水环境中铜浓度增加时, 作为鱼体的去毒生理反应, 鱼鳃粘液分泌量相应增加。鱼鳃粘液具有很强的络合作用, 因而将在一定程度上改变鱼鳃微环境中铜的形态分布, 起到去毒作用。从理论上说, 无机碳或者粘

液改变均将影响铜形态分布, 但由于实验中在不同的总铜暴露水平下, 出水 IC, TOC 的变化幅度较小, 不足以引起 pH 和碱度的实质性变化, 所以对形态的影响主要与粘液的络合作用有关。

2.2 MINEQA2 和单配位体络合模型联合试算结果

由于无法将 MINEQA2 的化学平衡计算模型与络合模型计算在统一的模型中完成, 本研究采用 2 步过程分别计算, 并反复循环的试算法。以 6 种总铜浓度条件下游离铜计算浓度相对于实测结果的相对误差的算术均值为指标, 图 4 表现了该试算法的收敛过程。

从图 4 可见, 随着重复次数增加, 游离铜平均计算相对误差单调下降(6 种浓度该误差均

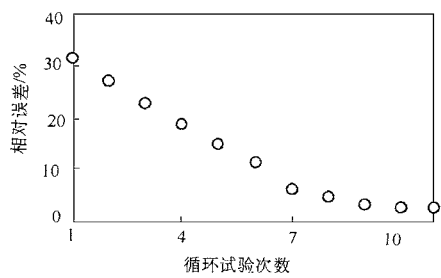


图 4 结合 MINEQA2 和单配位体络合计算的试算法的收敛过程(以游离铜计算相对误差表示)

Fig. 4 Convergence of the try-and-error calculation using MINEQA2 and complexation modeling (mean relative error of the calculated M_f at various concentrations of total copper were used as an indicator)

如此). 在本研究的条件下, 平均误差在经 10 次循环后降至 3% 以下, 其后不再下降. 此过程中计算粘液络合当量浓度和络合平衡常数计算结果在图 5 中给出.

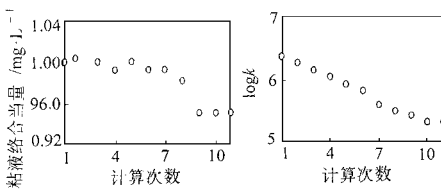


图 5 试算过程中粘液络合当量浓度和络合平衡常数逼近过程

Fig. 5 Approximation of the calculated mucus complexation equivalent concentration and stability constant during the try-and-error calculation using MINEQA2 and complexation modeling

在试算过程中, 计算粘液络合当量浓度变化不大, 始终在 1.0 附近波动, 最终稳定在 0.95. 相比之下, 络合稳定常数则稳步下降, 最后趋向一固定值. 当游离铜计算相对误差小至 3% 以下时, 计算粘液当量浓度和络合稳定常数均趋于稳定, 试算过程终止, 所获计算值即为最终计算结果.

2.3 粘液对铜的络合特征

很多模型可用来表征铜-配位体络合的定量关系, 如单配位体、双配位体和多配位体离散模型以及高斯和亲和谱连续分布模型等. 虽然

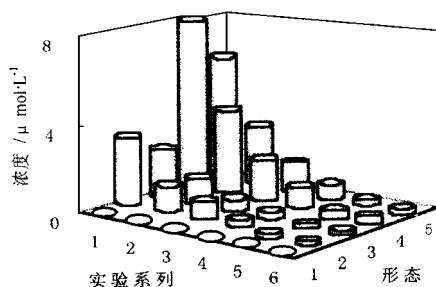
亲和模型被认为是最接近真实情况的, 但在考虑化学平衡计算时, 离散模型仍然是最适用的. 李杭等曾研究鱼鳃粘液络合性能, 其结果发现, 简单的单配位体离散络合模型即能很好地表征络合. 本研究直接采用单配位体模型(式 2).

根据试算结果, 粘液的络合当量浓度(Cu/C)和稳定常数(对数)分别为 0.95mmol/mg 和 5.32. Tao 等曾用络合滴定-ASV 测定的方法测定鲤鱼鱼鳃粘液对铅的络合稳定常数, 得到的结果为 6.75^[11]. 两者相比, 虽然用的是同样的鱼种, 但粘液对铜和铅的络合性能不同, 且采用不同测定方法, 两者没有直接可比性. Playle 和 Wood 等人在运用离子竞争模型表述鱼鳃对铜的亲性时计算了铜与整个鱼鳃反应的条件稳定常数 $\log K_{Cu-gill} = 7.4^{[5]}$. 由于 Playle 等的研究与本研究相比, 两者的实验用鱼不一, 研究方法也有差别, 因此该值与本研究测得的结果也没有直接可比性, 也不能由此简单得出鱼鳃粘液在铜的络合贡献中可以忽略不计的结论. 鱼鳃上与铜结合的点位不一定限于鱼鳃粘液. 尽管如此, 从有关研究和本研究的结果看, 鱼鳃粘液对包括铜在内的金属有较强的络合能力. 由于粘液在鱼鳃微环境中大量存在, 其对该微环境中金属的形态分布以及生物有效性的影响不容忽视.

2.4 存在和不存在鱼鳃粘液条件下的铜形态分布

6 种总铜浓度条件下, 无鱼鳃粘液的系统进水(左室)中铜形态分布计算结果如图 6 所示.

鳃部进水中由于没有鱼鳃粘液存在, 粘液络合态铜含量实际上为 0. 铜的 4 种优势形态依次为 $CuCO_3^0$, Cu^{2+} , $CuHCO_3^+$ 和 $Cu(OH)^0_2$. 在用同样成分水样进行的铅形态分布计算中曾发现在没有鱼鳃粘液的条件下, 铅的前 5 种优势形态依次为 $PbCO_3^0$, $PbOH^+$, $Pb(CO_3)^{2-}_2$, $Pb(OH)^0_2$ 和 Pb^{2+} ^[11]. 与铅相比, 碳酸盐和羟基络合态仍然是主要形态, 且 $CuCO_3^0$ 的含量同样最高. 但其余几种形态的排列顺序略有变化, 特别是游离态铜为仅次于 $CuCO_3^0$ 的第二优势形

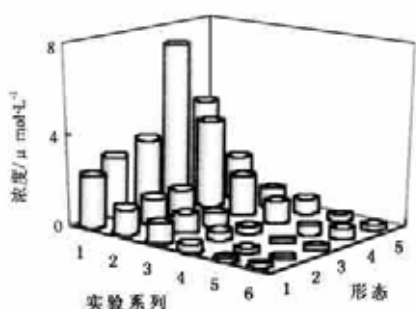


形态 1: Cu^+ -粘液 2: CuHCO_3^+ 3: $\text{Cu}(\text{OH})_2^0$ 4: CuCO_3^0 5: Cu^{2+}

图 6 无鱼鳃粘液水相铜形态分布(实验系列 1~6: 总铜浓度: 20、10、5、2、5、1.0 和 $0.5 \mu\text{mol/L}$)

Fig. 6 Copper speciation in water without fish gill mucus (total Cu: 20、10、5、2、5、1.0 and $0.5 \mu\text{mol/L}$)

态. 在鳃部微环境中, 水相无机离子含量与鱼鳃进水相差不大, 但增加了鱼鳃粘液络合剂. 计算铜形态分布如图 7 所示.



形态 1: Cu^+ -粘液 2: CuHCO_3^+ 3: $\text{Cu}(\text{OH})_2^0$ 4: CuCO_3^0 5: Cu^{2+}

图 7 有鱼鳃粘液水相铜形态分布(实验系列 1~6: 总铜浓度: 20、10、5、2、5、1.0 和 $0.5 \mu\text{mol/L}$)

Fig. 7 Copper speciation in water with fish gill mucus (total Cu: 20、10、5、2、5、1.0 and $0.5 \mu\text{mol/L}$)

与无粘液条件相比, 虽然鱼鳃微环境 pH 和碱度等条件略有变化, 铜的主要优势形态变化并不大. 较明显的变化包括 $\text{Cu}(\text{OH})_2^0$ 比重有较大上升, 且粘液络合态铜成为重要的形态之一. 在本研究涉及的总铜浓度范围内, 鱼鳃粘液络合态铜占重要的比例从 3% 到 20%. 该比例随总铜浓度下降而上升. 由于鱼鳃粘液在鱼鳃对金属的吸收过程中起到重要作用, 加上粘液不断分泌和释放的复杂动态过程, 其与金属的相互作用具有重要意义.

3 结论

随着铜暴露水平的增加, 鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 鳃微环境中无机和有机碳含量随之增加. 在外部环境 pH 为 6.70 的条件下, 微环境 pH 升至 6.84. 本研究特定条件下, 鱼鳃粘液的络合当量浓度 (Cu/C) 为 0.95 mmol/mg , 络合稳定常数(对数)则为 5.32. 由于 pH、碱度特别是具有较强络合作用的鱼鳃粘液的存在, 鳃部微环境的铜形态分布与进水不尽相同, 粘液络合态铜成为优势形态之一. 此外, 其他优势形态分布也略有变化, 如 $\text{Cu}(\text{OH})_2^0$ 有所上升.

参考文献:

- 1 Florence T M. Electrochemical approach to trace element speciation in waters. *Analyst*, 1986, **111**: 489.
- 2 Gordon K, Pagenkopf. Gill surface interaction model for trace metal toxicity to fish: Role of complexation, pH and water hardness. *Environ. Sci Technol.*, 1983, **17**: 342~347.
- 3 Andre Tessier, David R. Turner et al. Metal speciation and bioavailability in aquatic system, IUPAC series on analytical and physical chemistry of environmental system. Chichester, England: 1995, 13.
- 4 Playle R C. Modeling metal interactions at fish gills. *The Science of the Total Environment*, 1988, **219**: 147~163.
- 5 Playle R C, D George, Dixon. Copper and Cadmium binding to fish gills: Estimates of Metal-Gill Stability Constants and Modeling of Metal Accumulation. *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, 1993, **50**: 2678~2687.
- 6 刘长发, 李杭, 陶澍. 金鱼 *Carassius auratus* L. 对水中游离铅的吸收积累及鳃分泌粘液的自身保护作用. *环境科学学报*, 1999, **19**(4): 438~442.
- 7 Playle R C, C W Wood. Is precipitation of aluminum fast enough to explain aluminum deposition on fish gills? *Can. J. Fisheries and Aquatic Science*, 1990, **47**(8): 1558~1561.
- 8 David A, Dzombak et al. Metal-humate interactions. Discrete ligand and continuous distribution models. *Environ. Sci Technol.*, 1986, **20**(7): 669~675.
- 9 Eddy F B et al. Sialic acid and mucus production in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri* Richardson) in response to zinc and seawater. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1982, **735c**: 357~359.