

研究简报

鱼体汞的甲基化及其甲基汞的吸收与代谢

METHYLATION OF MERCURY AND METHYLMERCURY METABOLISM IN FISH BODY

蔺玉华 张冰艳 卢健民 刘兰 关海红

(中国水产科学院黑龙江水产研究所, 哈尔滨 150076)

Lin Yuehua, Zhang Bingyan, Lu Jianmin, Liu Lan and Guan Haihong

(Heilongjiang Fisheries Research Institute, CAFS, Harbin 150076)

刘子靖 郭少伟 赵淑敏

(哈尔滨市环境监测中心站, 150076)

Liu Zijing, Guo Shaowei and Zhao Shumin

(Environmental Monitoring Center of Harbin, 150076)

关键词 鱼类, 汞甲基化, 代谢

KEYWORDS fish, methylation of mercury, metabolism

存在于水体的各种形态的汞,在微生物的作用下可转化成甲基汞。甲基汞通过食物链的富集作用进入鱼体[Wood, 1974]。进入鱼体无机汞是否经甲基化作用生成甲基汞?自70年代一直争论不一[Folmai等, 1978; Naibonne等, 1978]。国内外有关鲤科鱼类鱼体甲基汞代谢方面的文章未见报道。甲基汞的毒性和半衰期约超过无机汞几倍,所以研究汞污染对人体健康的影响,搞清鱼体吸收汞的组织和器官以及蓄积和排泄情况,为控制和治理汞污染水体提出科学依据十分必要。

一、材料和方法

实验鱼为本所松浦试验场的当年鲤(*Cyprinaus caipio*)鱼种,平均体重10.0g,平均体长4.7cm。实验毒物为化学纯 $HgCl_2$ 和进口分析纯 CH_3ClHg , Ait·806100。实验容器40L,盛试验液30L。实验用水为曝气自来水, pH 7.4,总硬度3.79德国度,溶解氧5-6.0 mg/L。甲基化实验水温为21℃-25℃,汞吸收与排泄实验水温为17℃-20℃。

实验鱼先在实验水族箱暂养两周,暂养期间每天投饲无汞颗粒饲料。实验期间不投饲。气泵充气,每天更换实验用水一次。甲基化实验参照富德义等[1982]的方法。经预试验后,确定试验剂量按0.3 mgHg/Kg 体重。

实验组(T)注射 HgCl_2 和葡萄糖 1 g/kg 体重。对照组(C)只注射葡萄糖。在注射后的第2、4、7天取鱼样。

汞吸收与排泄实验采用水体染毒法。实验组事先配制为 18.63 mg CH_3ClHg /100ml 储存液,用时每次取 1 ml 储存液直接加入养鱼水族箱 30L 水体(最终水体浓度 $5\mu\text{g/L}$)。首次染毒在 8 小时内重新换水加药,以后每天换水加药。每天用 GC-VISTA600 色谱监测浓度。其浓度变化范围与设计的实际浓度相比控制在 $\pm 10\%$, 每天用储存液来调整。实验组水体含 $5\mu\text{g/L}$ CH_3ClHg , 对照组不含汞。在实验开始后 24h、96h、168h 分别取 6 尾鱼,尾静脉抽血取血浆,同时取肌肉和内脏各器官装入小袋。排泄实验是在染毒 24h 后将鱼放入无汞清水中。每天更换实验水。上述两实验各组均设平行试验,每水族箱放养 6 尾鱼。各时期取的鱼血浆、肌肉和内脏保存在 -30°C 冰箱中。

甲基汞测定采用王书海[1979]的方法,取背部肌肉和内脏器官称湿重,匀浆、浓 HCl 消化、离心,取上清液,加 CuSO_4 消除干扰,调 pH 至 3,通过巯基棉富集,用 2N HCl 洗脱,用苯萃取,使甲基汞在电子捕获检测器上有反应。用 GC-VISTA600 色谱仪(美国 Walian)测定。

表1 鱼体汞甲基化实验结果

Table 1 The results of methylation of mercury in fish body

组 织	实验天数	对照组(C)	实验组(T)	组间平均值百分比(%) ^a
鳃	2	0.0109	0.0657	1044
	4	0.0049	0.0920	
	7	0.0046	0.0825	
肝	2	0.0152	0.0444	1537
	4	0.0000	0.0910	
	7	0.0000	0.1135	
肠	2	0.0322	0.0450	302
	4	0.0000	0.0656	
	7	0.0079	0.0510	
肌肉	2	0.0095	0.0135	24
	4	0.0087	0.0137	
	7	0.0138	0.0137	

注:a 示 T 组平均值减 C 组平均值差除以 C 组平均值,数据为 5 尾平均数。

二、结果与讨论

鱼体汞甲基化实验结果如表1和图1。从表1和图1可见实验组鱼的肝、鳃、肌肉甲基汞含量在第2天开始出现较微的甲基化。至第7天三次取样的甲基汞含量平均值以肝组织的含量增加最快(0.11 mg/L),而肌肉(0.014 mg/L)最慢。甲基汞含量的变化趋势为肝>肠>肌肉。实验表明鱼体自身存在甲基化作用。这一结论与于常荣等[1992]实验结果相同。在水体环境中的金属汞 Hg 、无机汞 Hg^{2+} 、烷基汞和 RHg^+ 在一定的生物化学、物理条件下,可以互相转化,许多形式的汞在厌氧微生物作用下最终转化为甲基汞或二甲基汞。Wood[1968]利用甲烷细菌的游离细胞提取物。证明烷基 B_{12} 类型的化合物如烷基钴氨素,能作为烷化剂使无机汞转化为甲基汞和二甲基汞[富德义等,1982]。水环境的甲基汞经食物链和水体进入鱼体。而直接进入鱼体的无机汞又是怎样转化成甲基汞的?是否鱼体体内也有烷化剂。目前这一问题尚不清楚。

用5μg/L 甲基汞染毒鲤鱼24h、96h、168h 后取样,测定九种组织器官的汞蓄积结果(图2和图3)。由图2、图3可见,甲基汞吸收与蓄积情况以鳃组织吸收最快,而肌肉和脑最慢,染毒168h 各组织的汞含量变化趋势依次为:鳃>肾>血液>脾>肠>肝>心>肌肉>脑。

染毒24h 放入无汞清水168h 后的排泄百分比变化趋势分别为:鳃(%)75.27>脑47.08>血液43.43>肠38.71>心36.03>脾31.27>肾26.37>肝12.31>肌肉11.36。

此实验表明水中的甲基汞首先被鳃吸附和吸收,然后经过血液进入内脏和肌肉。并在此蓄积。肌肉组织含量最低,排出也最慢。毒物一般由肾脏排泄或经肝脏化解、从而降到较低水平。由此看出,捕获被重金属污染的鲤鱼于清水中暂养一段时间、然后再分析鱼体内重金属的排出情况,当残留量很少时,可考虑去内脏食用。同理排入江水污染物经一段自然净化,污染浓度可降低,鱼肉可供食用。

取5μg/L 甲基汞染毒168h 的鲤鱼样本,石蜡切片

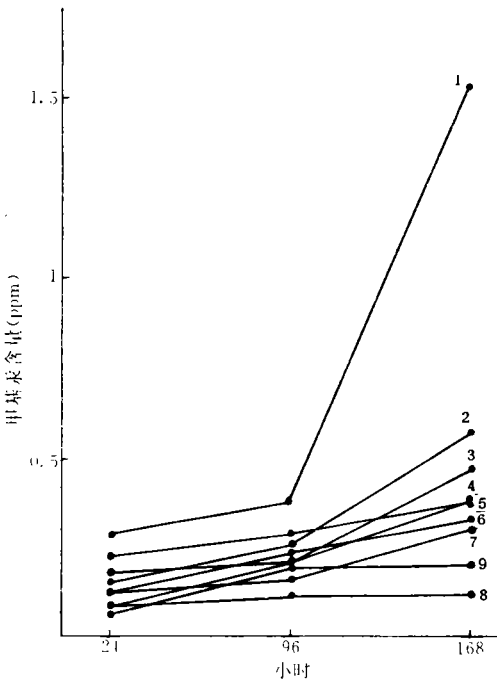


图2 5ppb 甲基汞染毒鲤鱼各器官和组织于不同染毒时间内甲基汞含量。(数据为6条鱼的平均数)
Fig. 2 Concentrations of methylmercury (MMC) in various organs and tissues of carp after continuous exposure to 5ppb MMC for different periode of time (date showed mean values of six fish)

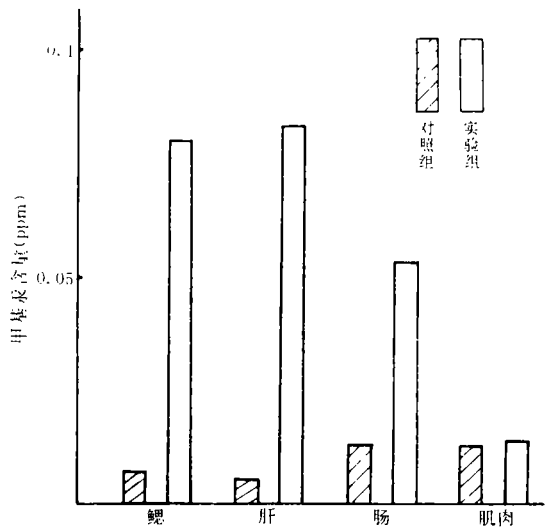


图1 鱼汞甲基化测定结果
(数据是7天内三次测定平均值)

Fig. 1 Methylation of mercury in fish body measured results (date showed mean values of three times measured within 7 days)

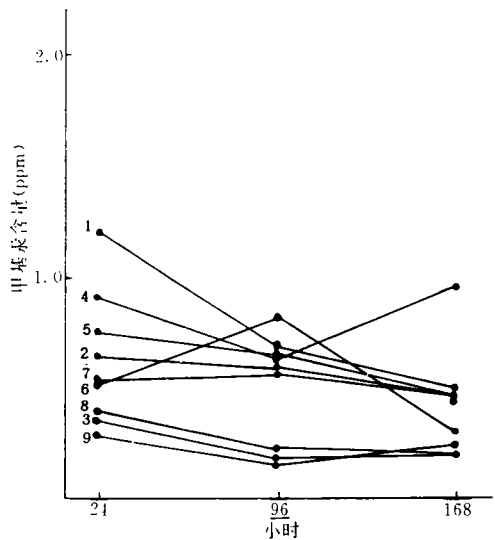


图3 5ppb 甲基汞染毒鲤鱼24小时后各器官和组织的甲基汞于清水排泄状况。(数据为6条鱼平均数)。
Fig. 3 Elimination of methylmercury (MMC) by the various organs and tissues of carp after a 24-hour exposure to 5ppb MMC and subsequent transfer to mercury free water (date showed the mean values of six fish)

1. 鳃 2. 肾 3. 血液 4. 脾 5. 肠 7. 心 8. 脑 9. 肌肉

观察鳃、肝、脑组织、光镜检查未见细胞有任何变化。原子吸收分光光度计火焰法测试血浆 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 离子、七检验也未见显著差异(数据未列)。根据 Folmar[1978]和 Narbonne[1978]对鳃丝线粒体中 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性进行的生化分析,用葡萄糖氧化酶法测定的血浆血糖浓度,用聚丙烯酰胺凝胶平板电泳法对乳酸脱氢酶(LDH)同工酶谱带对实验组与对照组的鳃、肝、血液进行的分析测定结果均无显著差异。这些实验结果表明,用 $5\mu\text{g/L}$ 甲基汞染毒鲤鱼,在7天内对细胞的某些酶活性、血糖浓度和内环境中血浆离子浓度无影响。

参 考 文 献

- [1] 于常荣等, 1992. 鱼体汞甲基化的研究. 中国环境科学, **12**(3): 236-239.
- [2] 王书海, 1979. 巯基棉——气相色谱法分析水生物等样品中的甲基汞. 环境科学, (4): 36.
- [3] 富德义等, 1982. 影响汞的生物甲基化作用的环境因素. 中国环境科学, (4): 49-54.
- [4] Folmar, L. C., *et al.*, 1978. Inhibition of rat brain ATPase PNPase and ATP-32P exchange by chlorinated-diphenyl ethanes and cyclodiene insecticides. *Bul. Environm. Contam Toxicol*, **4**: 481-486.
- [5] Narbonne, J. F. *et al.*, 1978. Polychlorinated biophenyls; Effect of diet level on ATPase activity in rats. *Bul. Environm. Contam. Toxicol*, **20**(2): 184-190.
- [6] Wood, J. M., 1968. Synthesis of methylmercury compounds by extracts of methanogenic bacterium. *Nature*, **220**: 173-174.
- [7] ——, 1974. Biological cycles for toxic elements in the environment. *Science*, **183**: 1049-1052.