

文章编号: 1000-0615(2016)09-1431-09

DOI: 10.11964/jfc.20160110226

饲料中Pb和Cd在中华绒螯蟹体内的吸收与释放特性

张美琴¹, 陈海仟², 吴光红^{1*}

(1. 江苏省淡水水产研究所, 江苏 南京 210017;

2. 安捷伦科技(中国)有限公司, 上海 200080)

摘要: 为获知饲料中重金属与中华绒螯蟹各组织间的富集与释放特性, 应用生物富集双箱动力学模型, 模拟中华绒螯蟹分别在Pb含量为10.21、22.01、40.81 mg/kg, Cd含量为1.78、2.80、4.48 mg/kg的饲料驯养过程中, 其鳃、肝胰腺和肌肉对Pb和Cd的生物富集与释放特性, 为Pb与Cd在中华绒螯蟹体内的分布、富集和迁移提供理论依据, 为中华绒螯蟹安全生产提供指导。同时通过非线性拟合得到中华绒螯蟹对饲料中Pb和Cd的富集速率常数 k_1 、排出速率常数 k_2 、生物富集系数BCF、生物半衰期 $B_{1/2}$, 富集平衡时生物体内Pb和Cd含量 C_{Amax} 等动力学参数。结果显示: ①中华绒螯蟹对饲料中的Pb和Cd具有明显的富集, 蟹鳃、肝胰腺和肌肉中Pb的含量与富集时间和饲料中Pb的添加量表现出了很好的正相关, 在富集的第48天, 各组织器官中Pb的含量达到最大, 在鳃中的含量分别为0.18、1.14、1.27和1.91 mg/kg; 肝胰腺中含量分别为1.00、2.17、2.33和3.50 mg/kg; 肌肉中含量分别为0.18、0.73、1.00和1.35 mg/kg。鳃和肝胰腺对饲料中Cd的吸收与Pb情况类似, 在富集的第48天, 4个饲料组蟹鳃中的浓度值均达到最高, 分别为0.026、0.073、0.107和0.154 mg/kg; 肝胰腺除了在C组实验的第24天含量达到最高, 为1.90 mg/kg外, 其他3组实验, 在富集的第48天含量达到最高分别为0.33、1.05和1.24 mg/kg, C组在第48天的含量有所降低, 为1.76 mg/kg。但是肌肉中Cd含量没有明显的规律。②中华绒螯蟹对Pb和Cd的生物富集和释放都较缓慢。达到平衡状态时, 鳃、肝胰腺、肌肉各组织器官中Pb含量分别为1.07~1.69、4.87~4.95、0.79~1.28 mg/kg, 鳃、肝胰腺中Cd含量分别为0.06~0.14和1.25~2.66 mg/kg。Pb和Cd在组织器官中的生物富集系数(BCF)范围分别为0.03~0.48和0.03~0.87, 中华绒螯蟹对Cd的富集能力明显高于Pb; Pb和Cd在各组织器官的生物学半衰期($B_{1/2}$)范围分别为9~67 d和8~48 d。中华绒螯蟹对Pb的排除能力明显低于Cd。③Pb和Cd在中华绒螯蟹组织器官中的富集具有选择性, 在经不同含量Pb和Cd的饲料驯养后得到统一含量分布规律: 肝胰腺>鳃>肌肉。

关键词: 中华绒螯蟹; 饲料; 铅; 镉; 吸收; 释放

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)作为中国的优势水产品, 深受世界消费者喜爱的同时, 也成为了国内外众多食品安全工作者关注和研究的对象, 他们在中华绒螯蟹富集重金属方面开展了大量的工作^[1-3], 但这些工作主要集中在中华

绒螯蟹通过水环境吸收富集重金属。王亚炜等^[4]认为, 1990年以前, 来源于水相之外的重金属的吸收没有得到研究人员的广泛重视, 缺乏相应的研究, 其原因可能是之前的研究人员认为食物或者底泥中的重金属不是生物体内吸收重金

收稿日期: 2016-01-08 修回日期: 2016-04-25

资助项目: 江苏省农业科技自主创新项目[CX(13)3095; CX(15)1011]; 江苏省科技基础设施建设计划(BM2015018)

通信作者: 吴光红, E-mail: ghwu2007@163.com

属的主要来源。但是,目前研究已证明,重金属进入生物体内的途径主要有2种,分别是食物(包括底泥和食物链传递)和体表渗透的作用^[5];且越来越多的研究证明,来源于食物的重金属是其体内重金属生物富集的重要来源,对于一些捕食浮游生物或者底泥的无脊椎动物来说,甚至是主要的吸收方式^[6-7]。研究认为,重金属可经饲料、饮水、空气及其他接触方式被动物所摄入,其中饲料和饮水是最主要的途径。当有害重金属通过饲料、饮水等途径进入动物体内,并蓄积于机体各组织器官,将影响动物神经系统、新陈代谢和免疫机能等^[8]。环境学家和食品安全工作者们开展了大量关于重金属的生物效应、重金属生物富集、迁移路径和重金属生物有效性等方面的研究^[9-11],而很少有关于通过日常摄食富集重金属方面的研究报道。本实验从影响中华绒螯蟹富集重金属最重要的来源之一的饲料出发,通过在饲料中添加不同浓度的Pb与Cd,分析其在中华绒螯蟹各组织中的富集与释放特性,力求系统研究其与中华绒螯蟹体内重金属含量的关系,为Pb与Cd在中华绒螯蟹体内的分布、富集和迁移提供理论依据,为中华绒螯蟹安全生产提供指导。

1 材料与方法

1.1 材料

实验生物 中华绒螯蟹均采自江苏溧阳长荡湖水产养殖场,数量450只,雌雄各半,6月龄,体质量(67.6±2.3)g,壳长(45.2±3.9)mm,壳宽(49.7±4.3)mm。实验前流水暂养1周,挑选健康的中华绒螯蟹为实验生物。

试剂 乙酸铅(AR, C₄H₆O₄Pb×3H₂O, 浙江省温州市东升化工试剂厂)、氯化镉(AR, CdCl₂×2.5H₂O, 上海金山亭新化工试剂厂),用于配制饲料中Pb和Cd。65.0%~68.0%浓硝酸(AR, HNO₃, 国药集团化学试剂有限公司),用于样品的前处理。

实验用水与场地 取用江苏省淡水水产研究所禄口实验基地符合国家渔业水质标准的净化池塘水作为中华绒螯蟹的养殖实验用水。该水体中部分离子浓度: [Na⁺] 33 mg/L、[Ca²⁺] 71 mg/L、[K⁺] 18 mg/L、[Mg²⁺] 15 mg/L、[Cl⁻] 112 mg/L、[SO₄²⁻] 62 mg/L、[NO₃⁻] 5 mg/L; 实验暴露重金属

Pb的本底浓度为2.3×10⁻⁴ mg/L, Cd的本底浓度为8×10⁻⁵ mg/L; pH 7.3±0.6; 水温(21.2±2.3) °C, 实验均在自然温度下进行。中华绒螯蟹驯养在实验基地养殖实验专用的正方形水泥池(2.4 m×2.4 m×1 m)中进行。

饲料 实验参照蟹类的营养需求及和蟹饲料配方设计^[12-13], 生产基础饲料, 并设为对照组, 另外在基础饲料中分3组分别添加目标重金属, 设为A组、B组和C组, 每组3个平行, 进行实验用饲料的生产。饲料组成见表1。

表1 饲料成分

Tab. 1 Feed formulation

原料 ingredients	含量/% content
鱼粉 fish meal	35
豆粕 bean pulp	23
花生 peanut	8
面粉 flour	25.5
鱼油 fish oil	3
黄明胶 oxhide gelatin	1.5
啤酒酵母 beer yeast	2
预混料 premix	2

注: 每千克预混料中的成分指标, V_A≥1250 KIU; V_D≥220 KIU; V_E≥3250 KIU; V_{K3}≥320 mg; V_{B1}≥110 mg; V_{B2}≥850 mg; V_{B6}≥120 mg; V_{B12}≥3.0 mg; 生物素≥2000 mg; Mn≥5000 mg; Zn: 1600~2400 mg; Cu: 18 000~24 000 mg; 碘≥50 mg; 硒: 30~60 mg; 水分≤10%

Notes: Composition index per kilogram in premix, V_A≥1250 KIU; V_D≥220 KIU; V_E≥3250 KIU; V_{K3}≥320 mg; V_{B1}≥110 mg; V_{B2}≥850 mg; V_{B6}≥120 mg; V_{B12}≥3.0 mg; biotin≥2000 mg; Mn≥5000 mg; Zn: 1600~2400 mg; Cu: 18 000~24 000 mg; I≥50 mg; Se: 30~60 mg; water content≤10%

由于目标重金属属于微量级别, 为提高Pb和Cd在成品饲料中的均匀度, 遵循逐级预混原则。成品饲料中Pb和Cd的实测含量见表2。

仪器 原子吸收光谱仪(Solaar M6)、微波消解仪(Milestone Bthos1)、平板赶酸仪(Lab Tec 1)、超纯水仪(Elixs 5+Milli-Q Academic)。

1.2 方法

中华绒螯蟹对饲料中Pb和Cd的富集与释放实验分为富集和释放两个阶段, 富集阶段进行48 d, 释放阶段进行34 d, 整个实验过程持续82 d。驯养实验在经过清洗与暴晒过的正方形水泥池中进行, 共12组。每组对应的池中放入80只中华

表2 饲料中Pb和Cd的实测含量
Tab.2 Concent of Pb and Cd in feed

重金属 heavy metal	formulation				mg/kg, n=5
	对照组 blank group	A组 group A	B组 group B	C组 group C	
Pb	0.131±0.009	10.21±1.41	22.01±1.86	40.81±5.63	
Cd	0.019±0.002	1.78±0.19	2.80±0.63	4.48±0.44	

绒螯蟹, 池中加入约2000 L净化池塘水并流水驯养。每天07:00、17:00进行饲料的投喂, 投喂量按中华绒螯蟹每天摄食自身体质量的5%~8%计算, 早晚投喂量比例3:7。天晴多投, 阴雨天少投; 透明度高可多投, 透明度低应少投; 发现过夜剩余饵料应减少投。在富集阶段的第0、3、7、14、24、34、45天分别从各池中取中华绒螯蟹6只(雌雄各3只, 以消除性别差异), 分组织器官分别制样。富集阶段结束后, 以对照组饲料进行喂养, 进入释放阶段, 并在释放实验的第0、3、10、20、34天, 各取中华绒螯蟹6只(雌雄各3只), 分组织器官分别制样。实验过程中, 水体24 h充氧。实验期间无实验蟹死亡。

制样 取出实验用中华绒螯蟹, 先称重, 然后将上壳去掉, 用清洗过的不锈钢剪刀取出鳃, 用不锈钢钥匙挑出肝胰腺, 最后刮出包括螯肢在内的肌肉, 最终得到中华绒螯蟹的肌肉、鳃和肝胰腺等组织器官样品。同一水平暴露浓度中6只中华绒螯蟹的同一组织合并成一组, 分别装袋冷冻保存, 待检测。

样品前处理 准确称取待测样品0.50 g于聚四氟乙烯消化罐中, 加入5 mL硝酸, 1 mL过氧化氢, 加盖, 密闭不漏气后加外罐, 置于Milestone Bthos1中, 消解条件: 5 min, 1000 W, 140°C; 10 min, 1000 W, 200°C; 10 min, 1000 W, 200°C^[15]。消解完毕后, 将消解后的溶液移至25 mL定制试管中, 进行平板赶酸, 赶酸至体积近干, 用去离子水定容至25 mL, 上机检测。同时做空白样品。

重金属含量测定 水中重金属检测方法参考渔业水质标准(GB 11607—89), 中华绒螯蟹样品中重金属测定方法参考GB 5009.12—2010(食品安全国家标准食品中铅的测定)和GB 5009.15—2014(食品安全国家标准食品中镉的测定), 饲料中重金属测定方法参考GB/T 13080—2004(饲料中铅的测定 原子吸收光谱法)和GB 13082—91(饲料中镉的测定方法)。

实验应用模型的选择 国内外在重金属的生物毒性和生物富集研究中常用的模型: 稳态模型(steady-state model)^[15]、双曲毒理学模型(hyperbolic toxicokinetic model)^[16]、双箱动力学模型(two-compartment model)^[17]、生物动力学模型(biodynamic model)^[18]。其中以双箱动力学和生物动力学模型在水生生物富集重金属研究中应用最为广泛。实验运用生物富集双箱动力学模型计算理论中平衡状态下的动力学参数。

数据处理 采用Excel 2003、SPSS 11.5和拟合软件Origin 7.5。

2 结果

2.1 中华绒螯蟹不同组织器官对饲料中Pb的富集与释放特性

在富集阶段, 中华绒螯蟹对饲料中的Pb具有明显的吸收, 与各组织器官中Pb含量的初始值和对照饲料驯养的蟹各组织器官中Pb含量值相比, 经过添加不同含量Pb的饲料驯养的中华绒螯蟹体内Pb含量明显增加, 这在富集的各个时间点都被观察到。同时蟹鳃、肝胰腺和肌肉中Pb含量均与富集时间表现出正相关(图1)。在富集的第48天, 各组织器官中Pb的含量达到最大, 在鳃中的含量分别为0.18、1.14、1.27和1.91 mg/kg; 肝胰腺中含量分别为1.00、2.17、2.33和3.50 mg/kg; 肌肉中含量分别为0.18、0.73、1.00和1.35 mg/kg。肝胰腺中Pb富集的速度最快, 含量最高。在释放阶段, 各组织器官内Pb的含量随着释放时间的增长而减少, 表现出明显的排除过程, 在释放实验的最后一天, 4个饲料组各组织器官中Pb的含量均下降, 在鳃中的含量均降至0.10 mg/kg、肝胰腺中分别降至0.83、1.17、1.50和1.50 mg/kg、肌肉中含量均降至0.18 mg/kg。

选择对照饲料驯养的中华绒螯蟹各组织器官Pb含量作为参考样本, 以各不同饲料驯养的蟹组织器官Pb含量作为比较样本, 进行配对样本t检验, 所有检测结果差异显著($P<0.05$), 可以认为, 饲料中添加Pb可以明显增加各组织器官中Pb的含量; 同时, 对不同实验组驯养出来的中华绒螯蟹个组织器官中Pb含量做配对样本t检验, 除了经Pb含量为10.21和22.01 mg/kg饲料驯养的蟹鳃中Pb含量差异不显著($P=0.238>0.05$), 其他检测结果差异显著($P<0.05$), 可以认为, 中华绒螯蟹各组织器官中Pb含量, 与驯养饲料中

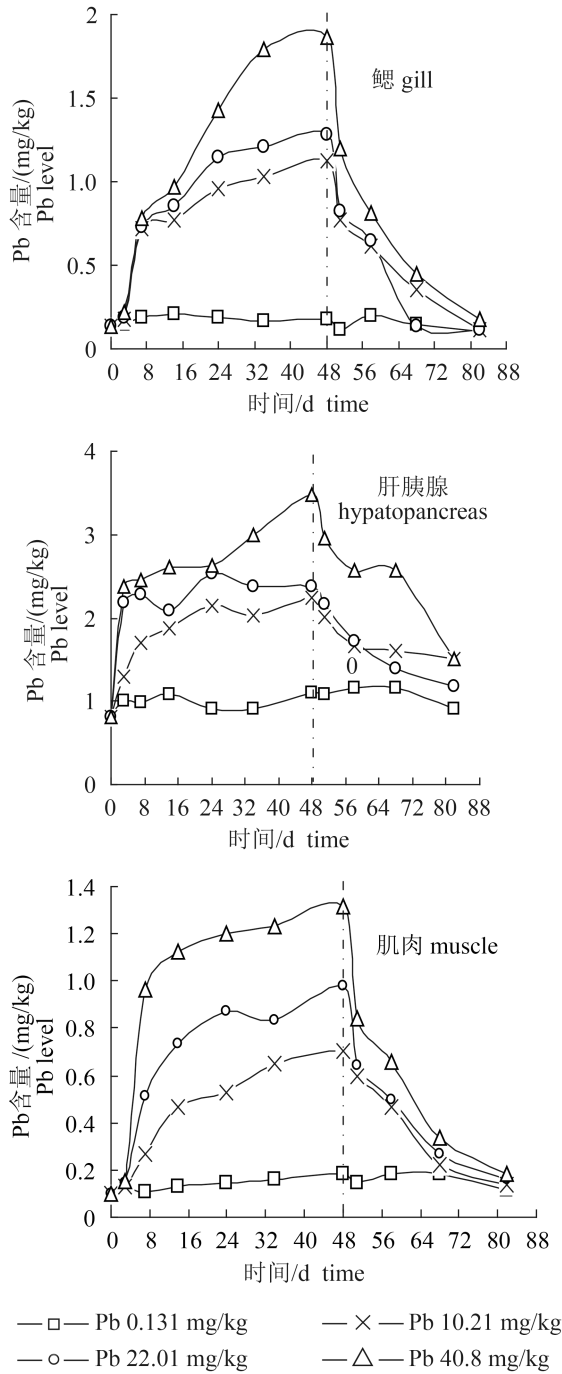


图1 中华绒螯蟹各组织器官对饲料中不同含量Pb的富集与释放

Fig. 1 The accumulation and release of Pb in the different tissues and organs of *E. sinensis*

Pb的含量有关，且成正相关。

2.2 中华绒螯蟹不同组织器官对重金属Cd的富集与释放特性

在富集阶段，中华绒螯蟹鳃和肝胰腺对饲料中的Cd具有明显的吸收，与鳃和肝胰腺中

Cd含量的初始值和对照饲料驯养的蟹鳃和肝胰腺中Cd含量值相比，经过添加不同含量Cd的饲料驯养的中华绒螯蟹体内Cd含量明显增加，这在富集的各个时间点都被观察到(图2)。同时，蟹鳃、肝胰腺中Cd含量均与富集时间表现出正相关。在富集的第48天，4个饲料组蟹鳃中的含量均达到最高，分别为0.026、0.073、0.107

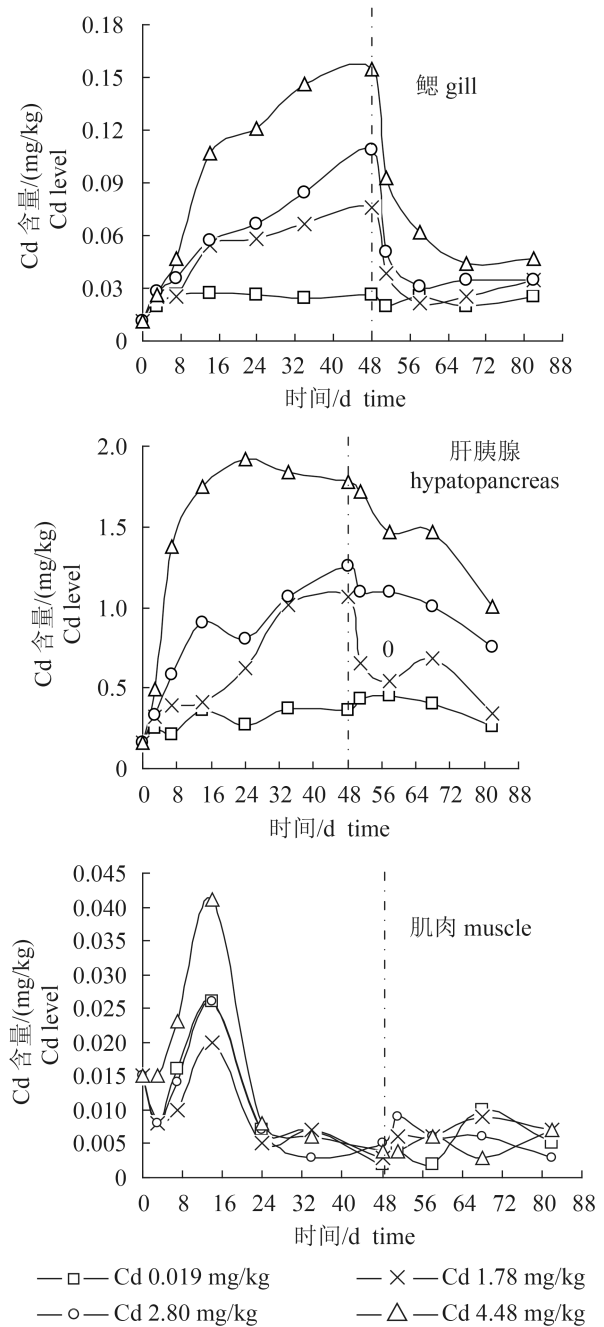


图2 中华绒螯蟹各组织器官对饲料中不同含量Cd的富集与释放

Fig. 2 The accumulation and release of Cd in the different tissues and organs of *E. sinensis*

和0.154 mg/kg; 肝胰腺除了在C组实验的第24天含量达到最高, 为1.90 mg/kg外, 其他3组实验, 在富集的第48天含量达到最高, 分别为0.33、1.05和1.24 mg/kg, C组在第48天的含量有所降低, 为1.76 mg/kg。肌肉中的Cd含量呈现出不规则变化, 在富集的第16天, 肌肉中的Cd含量达到最高, 分别为0.026、0.019、0.026和0.041 mg/kg, 且对照组和B组含量相同, 均高于A组, 随后含量陡然下降, 在富集的第24天, 各实验组肌肉中Cd含量均下降, 约为0.005~0.008 mg/kg。在释放阶段, 蟹鳃和肝胰腺中Cd的含量随着释放时间的增长而减少, 表现出明显的排除过程, 而肌肉中的含量基本没有变化。

选择对照饲料驯养的中华绒螯蟹各组织器官Cd含量作为参考样本, 以各不同饲料驯养的蟹组织器官Cd含量作为比较样本, 进行配对样本 t 检验, 所有蟹鳃和肝胰腺检测结果差异显著($P<0.05$), 而肌肉中Cd含量无显著性差异($P>0.05$), 可以认为, 饲料中添加Cd可以明显增加鳃和肝胰腺中Cd的含量; 同时, 对用不同Cd含量饲料驯养出来的中华绒螯蟹各组织器官中Cd含量做配对样本 t 检验, 除了蟹肌肉中Cd含量无显著性差异($P>0.05$), 其他所有检测结果差异显著($P<0.05$), 可以认为, 中华绒螯蟹鳃和肝胰腺中Cd含量, 与驯养饲料中Cd的含量有关, 且成正相关。

2.3 Pb和Cd在中华绒螯蟹体内组织器官中的选择性

同一含量Pb或Cd饲料驯养后的中华绒螯蟹各组织器官中Pb或Cd含量进行方差分析, 结果显示, 不同含量饲料喂养得到统一的分布规律, 且Pb和Cd的含量分布规律相同, 即肝胰腺>鳃>肌肉。

2.4 中华绒螯蟹对饲料中Pb和Cd的富集与释放动力学参数比较

除了肌肉对Cd富集与释放呈现出不规律性, 中华绒螯蟹的其他组织器官通过非线性拟合均可得到生物动力学参数。通过不同浓度的Pb和Cd的饲料驯养, 中华绒螯蟹鳃对Pb表现出了比Cd更快的富集速度, 肝胰腺对Cd表现出了比Pb更快的富集速度。中华绒螯蟹对Pb和Cd的释放都比较缓慢, 它们的释放速率无显著性差异($P>0.5$), 生物半衰期数据也能很好地反映这一

现象(表3)。在富集能力方面, Pb比Cd容易富集在鳃中, 而Cd比Pb更容易富集在肝胰腺中。

3 讨论

本实验表明, 中华绒螯蟹可以通过日常摄食, 富集食物中的Pb和Cd, 但是吸收速率和富集系数都比较小, 富集系数值都小于1, 与中华绒螯蟹对水环境中Pb和Cd的富集与释放研究结果相比^[19]则发现中华绒螯蟹对水体中的Pb和Cd具有较强的富集能力, 在蟹体内各组织器官中大量富集, Pb和Cd在组织器官中的生物富集系数(BCF)范围分别为5~51和6~3148, 中华绒螯蟹对Cd的富集能力明显高于Pb($P<0.05$); Pb和Cd在中华绒螯蟹各组织器官的生物半衰期($B_{1/2}$)范围分别为4~9 d和8~57 d, 中华绒螯蟹对Cd的排出能力明显低于Pb。平衡状态下, 鳃、肝胰腺、肌肉各组织器官中Pb和Cd的含量分别为6.47~38.19、4.37~10.13、2.12~4.04 mg/kg和20.50~47.32、78.69~157.25、0.16~0.50 mg/kg。而本实验中, Pb和Cd在组织器官中的生物富集系数(BCF)范围分别为0.03~0.48和0.03~0.87, 中华绒螯蟹对Cd的富集能力明显高于Pb($P<0.05$); Pb和Cd在中华绒螯蟹各组织器官的生物半衰期($B_{1/2}$)范围分别为9~67 d和8~48 d。中华绒螯蟹对Pb的排出能力明显低于Cd。平衡状态下鳃、肝胰腺、肌肉各组织器官中Pb含量分别为1.07~1.69、4.87~4.95、0.79~1.28 mg/kg, 鳃、肝胰腺中Cd含量分别为0.06~0.14和1.25~2.66 mg/kg。在本实验条件下, 平衡状态下中华绒螯蟹各组织中Pb含量均小于NY 5072—2002《无公害食品 渔用配合饲料安全限量》标准规定(5.0 mg/kg), 而鳃中Cd含量小于NY 5072—2002《无公害食品 渔用配合饲料安全限量》标准(0.5 mg/kg), 肝胰腺中Cd含量大于NY 5072—2002《无公害食品 渔用配合饲料安全限量》标准, 肌肉中的Cd含量在本实验中未得出生物动力学参数。

各个阶段的蟹体内Pb和Cd的含量都小于水环境暴露实验中的结果, 且差异显著($P<0.05$)。可以看出, 中华绒螯蟹对水环境和饲料中Pb和Cd的富集特性存在差别。

日常饮食是水生生物富集重金属的重要途径^[20], 本实验认为, 相比食物吸收, 水环境吸收是中华绒螯蟹富集Pb和Cd的主要途径。本实验

表3 中华绒螯蟹各组织器官对饲料中不同含量Pb和Cd的生物动力学参数

Tab. 3 The kinetic parameters of bioconcentration of lead and cadmium in feed by different tissues and organs of *E. siansises* at the different concent

金属种类 heavy metal	组织器官 tissues and organs	饲料中含量/(mg/kg) concent	k_1	k_2	BCF	$C_{Amax}/$ (mg/kg)	$B_{1/2}/$ (mg/kg)
Pb	鳃 gill	10.21	0.006 45	0.061 74	0.104 47	1.066 64	11.226 87
		22.01	0.004	0.076 01	0.052 62	1.158 27	9.119 16
		40.81	0.002 59	0.062 48	0.041 45	1.691 71	11.093 90
	肝胰腺 hepatopancreas	10.21	0.004 93	0.010 33	0.477 25	4.872 73	67.1004
		22.01	0.004 01	0.029 99	0.133 71	4.942 98	23.112 61
		40.81	0.002 55	0.021 04	0.121 20	4.946 07	32.944 26
	肌肉 muscle	10.21	0.002 66	0.034 21	0.077 76	0.793 88	20.261 54
		22.01	0.002 69	0.064 68	0.041 59	0.915 38	10.716 56
		40.81	0.002 69	0.085 66	0.031 40	1.281 57	8.091 84
Cd	鳃 gill	1.78	0.002 02	0.056 07	0.036 02	0.064 13	12.362 17
		2.80	0.001 51	0.048 33	0.031 24	0.087 48	14.341 97
		4.48	0.001 91	0.059 539	0.032 07	0.143 71	11.641 90
	肝胰腺 hepatopancreas	1.78	0.016 21	0.023 12	0.701 12	1.248 00	29.980 41
		2.80	0.012 51	0.014 41	0.868 14	2.430 81	48.101 81
		4.48	0.021 14	0.035 54	0.594 82	2.664 81	19.503 29
	肌肉 muscle	-	-	-	-	-	-

中, 中华绒螯蟹对Pb和Cd的吸收、排出速率与紫贻贝(*Mytilus edulis*)^[21]、白樱蛤(*Macoma balthica*)^[22]和纹藤壶(*Balanus amphitrite amphitrite*)^[23]等类似, 可认为中华绒螯蟹与许多水生生物一样, 可以通过食物吸收重金属, 但是这种方式在中华绒螯蟹吸收重金属的整个体系中是次要的。中华绒螯蟹通过水环境吸收Pb和Cd并在体内富集的量远比从饲料中的多。

林建云等^[25]对水产饲料中Cd的存在形态及其在养殖动物体内累积状况进行了研究, 发现水产品配合饲料及其原料中的Cd主要以蛋白结合态存在, 且以镉蛋白为主体的有机结合态镉对水产动物的毒理效应和代谢作用与离子态镉(Cd²⁺)存在着明显的差异, 镉蛋白在水产动物肌肉的积累不明显, 且没发现对养殖动物的毒害作用和Cd的累积放大作用。可见, 水产饲料中的Cd不会大量富集在养殖动物的体内。在本实验中华绒螯蟹的驯养实验中, 加入到饲料中的Pb和Cd虽然是以无机形态加入, 但是饲料中的鱼粉提供了大量蛋白质, 有可能在被蟹吸收消化的

过程中由无机态转化为有机态金属硫蛋白。

4 小结

以生物富集双箱动力学模型和生物动力学模型为基础, 探讨了中华绒螯蟹分别在Pb含量为10.21、22.01、40.81 mg/kg, Cd含量为1.78、2.80、4.48 mg/kg的饲料驯养过程中, 蟹鳃、肝胰腺和肌肉对Pb和Cd的生物富集与释放实验, 并通过非线性拟合得到中华绒螯蟹对饲料中Pb和Cd的富集速率常数 k_1 、排出速率常数 k_2 、生物富集系数BCF、生物半衰期 $B_{1/2}$ 、富集平衡时生物体内Pb和Cd含量 C_{Amax} 等动力学参数。结果表明: ①中华绒螯蟹对饲料中的Pb和Cd具有明显的富集, 蟹鳃、肝胰腺和肌肉中Pb的含量与富集时间和饲料中Pb的添加量表现出了很好的正相关, 鳃和肝胰腺对饲料中Cd的吸收与Pb情况类似, 但是肌肉中Cd含量没有明显的规律。②Pb和Cd在中华绒螯蟹组织器官中的富集具有选择性, 在经不同含量Pb和Cd的饲料驯养后得

到统一含量分布规律: 肝胰腺>鳃>肌肉。③中华绒螯蟹对饲料和水环境中Pb和Cd富集特性具有较大差异, 饲料驯养实验各个阶段的蟹体内Pb和Cd的含量都小于水环境暴露实验, 且差异显著($P<0.05$), 可以认为, 中华绒螯蟹富集Pb和Cd的途径以从水环境摄入为主, 日常饮食途径摄入的较少。

参考文献:

- [1] Roast S D, Rainbow P S, Smith B D, *et al.* Trace metal uptake by the Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*: The role of osmoregulation[J]. *Marine Environmental Research*, 2002, 53(5): 453-464.
- [2] Silvestre F, Trausch G, Péqueux A, *et al.* Uptake of cadmium through isolated perfused gills of the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2004, 137(1): 189-196.
- [3] 黄小红, 陈宏惠, 刘建昌, 等. 几种重金属离子对中华绒螯蟹N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶活性的影响[J]. *水生生物学报*, 2008, 32(6): 850-855.
Huang X H, Chen H H, Liu J C, *et al.* Effects of some heavy metal on the n-acetyl- β -d-glucosaminidase from *Eriocheir sinensis*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2008, 32(6): 850-855 (in Chinese).
- [4] 王亚炜, 魏源送, 刘俊新. 水生生物重金属富集模型研究进展[J]. *环境科学学报*, 2008, 28(1): 12-20.
Wang Y W, Wei Y S, Liu J X. Heavy metal bioaccumulation model of aquatic organisms: An overview[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2008, 28(1): 12-20 (in Chinese).
- [5] Croteau M N, Luoma S N. Delineating copper accumulation pathways for the freshwater bivalve *Corbicula* using stable copper isotopes[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2005, 24(11): 2871-2878.
- [6] Wang W X, Fisher N S. Delineating metal accumulation pathways for marine invertebrates[J]. *Science of the Total Environment*, 1999, 237-238: 459-472.
- [7] Yan Q L, Wen W X. Metal exposure and bioavailability to a marine deposit-feeding sipuncula, *Sipunculus nudus*[J]. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36(1): 40-47.
- [8] Kan C A, Meijer G A L. The risk of contamination of food with toxic substances present in animal feed[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2007, 133(1-2): 84-108.
- [9] Nakadaira H, Nishi S. Effects of low-dose cadmium exposure on biological examinations[J]. *Science of the Total Environment*, 2003, 308(1-3): 49-62.
- [10] Batzias A F, Siontorou C G. A new scheme for biomonitoring heavy metal concentrations in semi-natural wetlands[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 158(2-3): 340-358.
- [11] Peijnenburg W J G M, Jager T. Monitoring approaches to assess bioaccessibility and bioavailability of metals: Matrix issues[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2003, 56(1): 63-77.
- [12] 艾春香, 林琼武, 李少菁, 等. 蟹类的营养需求研究及其配合饲料研制[J]. *厦门大学学报(自然科学版)*, 2006, 45(S2): 205-212.
Ai C X, Lin Q W, Li S J, *et al.* Reviews on nutrient requirements and formulated feed of crabs, *Eriocheir sinensis*, *Scylla* sp., *Portunus trituberculatu*[J]. *Journal of Xiamen University (Natural Science)*, 2006, 45(S2): 205-212 (in Chinese).
- [13] 尚元富. 河蟹的营养需求与配合饲料制作[J]. *水产养殖*, 2006, 27(2): 24-26.
Shang Y F. With the nutritional needs of the crabs and feed production[J]. *Journal of Aquaculture*, 2006, 27(2): 24-26.
- [14] 张美琴, 罗玲, 陈海仟, 等. 石墨炉原子吸收光谱法测定水产品中的铝[J]. *食品科学*, 2011, 32(10): 156-159.
Zhang M Q, Luo L, Chen H Q, *et al.* Determination of aluminum in aquatic products by graphite furnace atomic absorption spectrometry[J]. *Food Science*, 2011, 32(10): 156-159 (in Chinese).
- [15] Frick W E, Khangaonkar T, Sigleo A C, *et al.* Estuarine-ocean exchange in a North Pacific estuary: Comparison of steady state and dynamic models[J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2007, 74(1-2): 1-11.
- [16] Kahle J, Zauke G P. Bioaccumulation of trace metals in the copepod *Calanoides acutus* from the Weddell Sea (Antarctica): Comparison of two-compartment and hyperbolic toxicokinetic models[J]. *Aquatic Toxicology*, 2002, 59(1-2): 115-135.
- [17] Clason B, Langston W J, Zauke G P. Bioaccumulation of

- trace metals in the amphipod *Chaetogammarus marinus* (Leach, 1815) from the Avon and Tamar estuaries (UK): Comparison of two-compartment and hyperbolic toxicokinetic models[J]. *Marine Environmental Research*, 2004, 57(3): 171-195.
- [18] Casado-Martinez M C, Smith B D, DelValls T A, *et al.* Biodynamic modelling and the prediction of accumulated trace metal concentrations in the polychaete *Arenicola marina*[J]. *Environmental Pollution*, 2009, 157(10): 2743-2750.
- [19] 陈海仟, 张美琴, 吴光红, 等. 中华绒螯蟹对Pb和Cd的富集与释放特性[J]. *水生生物学报*, 2010, 34(4): 828-836.
- Chen H Q, Zhang M Q, Wu G H, *et al.* Accumulation and release characteristics of *Eriocheir sinensis* for Pb and Cd[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2010, 34(4): 828-836 (in Chinese).
- [20] Wang W X. Interaction of trace metals with different marine food chains[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2002, 243: 295-309.
- [21] Wang W X, Fisher N S, Luoma S N. Kinetic determinations of trace element bioaccumulation in the mussel *Mytilus edulis*[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1996, 140(1-3): 91-113.
- [22] Griscom S B, Fisher N S, Luoma S N. Kinetic modeling of Ag, Cd and Co bioaccumulation in the clam *Macoma balthica*: Quantifying dietary and dissolved sources[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2002, 240: 127-141.
- [23] Rainbow P S, Blackmore G, Wang W X. Effects of previous field-exposure history on the uptake of trace metals from water and food by the barnacle *Balanus amphitrite*[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2003, 259: 210-213.
- [24] 林建云, 陈伟芬, 陈涵贞, 等. 水产饲料中镉的存在形态及其在养殖动物体内累积状况的研究[J]. *台湾海峡*, 2008, 27(4): 491-498.
- Lin J Y, Chen W F, Chen H Z, *et al.* Studies on the chemical forms of Cd in aquatic feeds and its bioaccumulations[J]. *Taiwan Strait*, 2008, 27(4): 491-498 (in Chinese).

In vivo* absorption and release characteristics of Pb and Cd in diet in *Eriocheir sinensis

ZHANG Meiqin¹, CHEN Haiqian², WU Guanghong^{1*}

(1. Freshwater Fisheries Research Institute of Jiangsu Province, Nanjing 210017, China;

2. Agilent Technologies Co., LTD in China, Shanghai 200080, China)

Abstract: To learn more about the enrichment and release characteristics of heavy metals in the feed and the tissues of *Eriocheir sinensis*, kinetic parameters were gained for biological accumulation and release of two heavy metals Pb and Cd in gill, hepatopancreas and muscle of *E. sinensis*, by using two-compartment bioconcentration model to carry out the experiment in which the crabs were exposed to the feed with Pb concent of 10.21 mg/kg, 22.01 mg/kg, 40.81 mg/kg, and Cd concent of 1.78 mg/kg, 2.80 mg/kg, 4.48 mg/kg, so as to provide theoretical basis for the distribution, migration and enrichment, and provide guiding significance for safe production eriocheir sinensis for Pb and Cd in *E. sinensis*. Heavy metal uptake rate constant (k_1), extracting rate constant (k_2), bioconcentration factor (BCF) and biological half-lives ($B_{1/2}$), equilibrium concentration of heavy metals in vivo C_{Amax} were obtained by non-linear curve fitting. The results showed: (1) The concent of Pb in crab gill, hepatopancreas and muscle exhibited an apparently positive correlation to the accumulation time as well as the concent. On the forty-eighth day of enrichment, the content of Pb in each tissue reached the maximum, the content in gill was 0.18 mg/kg, 1.14 mg/kg, 1.27 mg/kg and 1.91 mg/kg respectively; Content in hepatopancreas was 1.00 mg/kg, 2.17 mg/kg, 2.33 mg/kg and 3.50 mg/kg respectively; Content in muscle was 0.18 mg/kg, 0.73 mg/kg, 1.00 mg/kg and 1.35 mg/kg respectively; The accumulation of Cd in gill and hepatopancreas presented the similar results to that of Pb. On the forty-eighth day of enrichment, the content of Cd in gill reached the maximum, the content of was 0.026 mg/kg, 0.073 mg/kg, 0.107 mg/kg and 0.154 mg/kg respectively. In addition to the twenty-fourth day of the group C, the content of the hepatopancreas reached the highest, was 1.90 mg/kg; The other 3 groups of experiments, the highest content was reached in the enrichment of forty-eighth days, it was 0.33 mg/kg, 1.05 mg/kg and 1.24 mg/kg respectively. In group C, the content of forty-eighth days decreased, it was 1.76 mg/kg. But there was no obvious rule of Cd in muscle. (2) The accumulation and release of Pb and Cd were both slow in tissues and organs of *E. sinensis*. At steady state the concentration of Pb in crab gill, hepatopancreas and muscle ranged from 1.07 mg/kg to 1.69 mg/kg, 4.87 mg/kg to 4.95 mg/kg, 0.79 mg/kg to 1.28 mg/kg, the concentration of Cd in crab gill, hepatopancreas ranged from 0.06 mg/kg to 0.14 mg/kg, 1.25 mg/kg to 2.66 mg/kg. The bioconcentration factor (BCF) of Pb and Cd in the tissues and organs ranged from 0.03 to 0.48 and 0.03 to 0.87, respectively, indicating that the absorption of Cd was much more higher than that of Pb in *E. sinensis*. The biological half-lives of Pb and Cd in the tissues and organs ($B_{1/2}$) ranged from 9 to 67 d and 8 to 48 d, which signified that the release of Cd is significantly slower than that of Pb. (3) Pb and Cd were accumulated selectively in the major organs and tissues in *E. sinensis*. After feeding with the feed, Pb and Cd were distributed in the same way, namely, hepatopancreas > gills > muscle.

Key words: *Eriocheir sinensis*; feed; Pb; Cd; absorption; release

Corresponding author: WU Guanghong. E-mail: ghwu2007@163.com

Funding projects: Jiangsu Agriculture Science and Technology Innovation Fund[CX(13)3095, CX(15)1011]; Jiangsu Province Science and Technology Infrastructure Construction Plan (BM2015018)