

浮萍生物富集洛克沙肿与阿散酸的动力学特性研究^{*}

王付民^{1, 2}, 张璐³, 陈杖榴¹

(1. 华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642)

2. 广东省野生动物救护中心, 广东 广州 510600

3. 华南农业大学林学院, 广东 广州 510642)

摘 要: 通过静态法和半静态法研究了浮萍 *Lemna minor* 生物富集 0.1、0.5、1.0、2.0 mg L⁻¹ 洛克沙肿、阿散酸 (以砷计) 的动力学过程。静态法的研究结果表明: 大约 55 d 浮萍生物富集各个质量浓度的洛克沙肿、阿散酸均基本达到平衡; 0.1、0.5、1.0、2.0 mg L⁻¹ 洛克沙肿的生物富集系数 (BCF) 分别为: 3 116.7、1 308.0、548.4、355.0; 0.1、0.5、1.0、2.0 mg L⁻¹ 阿散酸的 BCF 分别为: 690.0、341.1、255.9、179.8。而且浮萍对各个质量浓度的洛克沙肿、阿散酸的 BCF 随水体浓度升高而减小。半静态法研究结果表明: 浮萍对洛克沙肿、阿散酸的生物富集系数 (BCF)、吸收速率常数 (K_1) 随水体质量浓度的增大而减小; 同等质量浓度的洛克沙肿的吸收速率常数 (K_1) 大于阿散酸。

关键词: 浮萍 *Lemna minor*; 洛克沙肿; 阿散酸; 生物富集

中图分类号: S859.79 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2007) 04-0079-05

有机肿饲料添加剂 (洛克沙肿、阿散酸) 具有抗寄生虫病、促进动物生长、改善动物生产品质等多重作用, 在畜牧养殖业中被大量使用。有资料显示, 仅仅美国火鸡养殖业中使用的洛克沙肿, 进入环境的砷已接近 9×10^5 kg。2004 年, 在中国则有 6×10^6 kg 的砷进入环境中^[1]。据国内外有关资料, 这些含砷的排泄物或以有机肥料进入农田, 或直接排至鱼塘、河流^[2-3]。

目前, 国内外已对有机肿饲料添加剂引起的生态毒性非常关注, 但研究资料很少; 尤其是探讨如何治理有机肿饲料添加剂对养殖场鱼塘污染, 防止其随水生食物链的转移而危害人类健康的资料尚为空白。浮萍 *Lemna minor* 是在水塘中广泛分布的一种浮游植物, 为多种水生动物的饵料; 尤其对重金属有较强的富集能力, 近年来在国内外日益受到关注并进行一定研究^[4-5]。本研究重点研究浮萍对洛克沙肿、阿散酸的生物富集动力学特性, 以期评估有机肿随水生食物链的初步传递及在水塘中污染的治理提供资料。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 浮萍 采集于中科院华南植物所池塘, 经

鉴定为细脉浮萍 (背景砷含量低于检测限); 采集后在实验条件下培养一周后进行试验。

1.1.2 药物 洛克沙肿原粉 ($w=96.3\%$), 其中 $w(\text{砷})=28.5\%$, 批号 004030; 阿散酸原粉 ($w=99.1\%$), 其中 $w(\text{砷})=34.5\%$, 批号 004010; 广州惠华动物保健品有限公司。

1.2 方法

1.2.1 有机肿在静水中的消减试验 在试验条件下进行洛克沙肿、阿散酸在静水中的消减试验, 其质量浓度分别为: 0.1、0.5、1.0、2.0 mg L⁻¹ (以砷计), 定期补充蒸发水分, 并分别在 1、5、13、18、24、33、37、42、50、55 d 采集水样待测, 以了解有机肿的挥发情况。

1.2.2 静态与半静态试验砷浓度设置 根据有机肿在静水中的消减试验的结果, 正式确定试验水体的砷浓度分别为: 0.1、0.5、1.0、2.0 mg L⁻¹ (以砷计)。

1.2.3 静态法试验 试验在室内池中进行, 每池中加 200 L 水, 1 kg 浮萍, 水温在 18~25℃之间, pH 在 6.75~7.23 之间。静态法富集时间为 55 d 试验期间不换水, 定期补充水分。分别在 1、5、13、18、24、33、37、42、50、55 d 采集浮萍鲜质量约 15 g; 在试验结束时 (第 55 天) 采集水样 50

* 收稿日期: 2006-11-03

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目 (30130140)

作者简介: 王付民 (1977 年生), 男, 博士, 工程师; 通讯联系人: 陈杖榴; E-mail: chenzz@scau.edu.cn

以测定试验结束时水体的砷质量浓度; 以上各样品均为 3 个重复, 各样品取出后置于 -20°C 保存。

1.2.4 半静态法试验 试验在室内池中进行, 每池中加 200 L 水, 1 kg 浮萍, 水温在 $18\sim 25^{\circ}\text{C}$ 之间, pH 在 6.75~7.23 之间。半静态法分富集与排出两个阶段, 富集时间为 37 d 排出时间为 15 d 富集试验期间, 每 2 d 更换一次同浓度的水, 以保持水体砷浓度稳定; 富集阶段分别在 1、3、5、10、16、20、28、37 d 采集浮萍 15 g 排出阶段将浮萍转移至流动清水中, 并分别在 38、39、40、45、48、50、52 d 采集浮萍 15 g 以上各样品均为 3 个重复, 各样品取出后置于 -20°C 保存。

1.2.5 实验应用模型 一半静态双箱动力学模型^[6-7]

半静态双箱动力学模型见图 1。

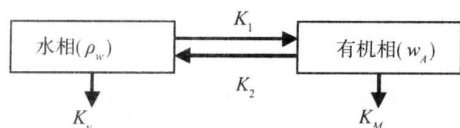


图 1 半静态双箱动力学模型

Fig 1 Semi-static system

模型中各参数意义: K_1 为生物吸收速率常数; K_2 为生物体排出速率常数; K_v 为挥发速率常数; K_M 为生物体的代谢速率常数; ρ_w 为水体污染物质量浓度 (mg L^{-1}); w_A 为生物体内污染物质量分数 (mg kg^{-1})。

由双箱动力学模型得方程 (1)、(2) 为:

水相:

$$\frac{d\rho_w}{dt} = K_2 w_A - (K_v + K_1) \rho_w \quad (1)$$

有机相:

$$\frac{dw_A}{dt} = K_1 \rho_w - (K_2 + K_M) w_A \quad (2)$$

根据有机砷在静水中消减试验, 消减速率 K_v 很小可以忽略不计, 故 $K_v=0$ 因每 2 d 更换一次同样砷浓度的水 (200 L), 由浮萍吸收及排出的砷对水体的砷浓度基本无影响, 可忽略不计。

因此, 方程 (1) 可简化为 (3):

水相:

$$\frac{d\rho_w}{dt} = 0 \quad (3)$$

因为生物体对有机砷的代谢很少, 因此 $K_M=0$ 则方程 (2) 可简化为 (4):

有机相:

$$\frac{dw_A}{dt} = K_1 \rho_w - K_2 w_A \quad (4)$$

由方程 (4) 得出富集过程方程 (5) ($0 < t < t^*$), 其中 t^* 为富集阶段结束的天数 (d)。

$$w_A = \rho_w K_1 / K_2 (1 - e^{-K_2 t}) \quad (5)$$

由方程 (4) 得出排出过程方程 (6) ($t > t^*$)

$$w_A = \rho_w K_1 / K_2 (e^{-K_2(t-t^*)} - e^{-K_2 t}) \quad (6)$$

由方程 (5)、(6), 通过非线性拟合得到 K_1 、 K_2 。理论上, 平衡状态下, BCF 可用式 (7) 表示:

$$\text{BCF} = K_1 / K_2 = \lim_{t \rightarrow \infty} w_A / \rho_w \quad (7)$$

金属的生物半衰期指的是生物生命活动过程中, 体内富集的金属含量排出一半所需的时间。用式 (8) 表示为:

$$B_{1/2} = \ln 2 / K_2 \quad (8)$$

富集达到平衡时, 生物体内金属含量 $w_{A\max}$ 用式 (9) 表示为:

$$w_{A\max} = \text{BCF} \times \rho_w \quad (9)$$

生物体内金属浓度达到 $w_{A\max}$ 的 99% 时, 所需时间 T 用式 (10) 表示为:

$$T_{0.99 w_{\max}} = 6.64 B_{1/2} \quad (10)$$

1.3 数据的处理与分析

采用统计分析软件 Statistica 进行数据分析^[8]。

2 结果与分析

2.1 洛克沙肿、阿散酸在静水中自然消减的结果

在模拟试验的条件下, 55 d 内洛克沙肿、阿散酸的消减率均小于 20%, 根据 OECD 化学物质实验规范, 可采用静态法进行富集试验。

2.2 浮萍对洛克沙肿、阿散酸的静态生物富集试验结果

浮萍对洛克沙肿、阿散酸的富集在 55 d 时已基本达到富集平衡。以浮萍对洛克沙肿、阿散酸 55 d 的砷富集值作为最大富集量, 以试验结束时的水体砷含量为浮萍达到最高富集量时的水体总砷质量浓度, 计算 BCF 结果见表 1。由表 1 可以看出, 浮萍在洛克沙肿各个质量浓度下的生物富集系数均大于浮萍在阿散酸的各个质量浓度下的生物富集系数; 而且, 随着有机砷质量浓度的升高, 浮萍的生物富集系数减小。

2.3 浮萍对洛克沙肿、阿散酸半静态生物富集试验结果

图 2 是浮萍对不同质量浓度洛克沙肿的半静态生物富集动力学曲线; 图 3 是浮萍对不同浓度阿散酸的半静态生物富集动力学曲线。由方程 (5)、(6) 对富集和排出过程进行非线性拟合, 得到吸收速率常数 K_1 、排出速率常数 K_2 , 然后根据方程 (7)、(8)、(9)、(10) 得到浮萍对洛克沙肿、阿散酸的生物富集的其它动力学参数 BCF、 $w_{\max}$ 、 $B_{1/2}$ 、 $T_{0.99 w_{\max}}$ 。

表 1 浮萍对洛克沙肿、阿散酸的静态生物富集系数¹⁾

Tab 1 The BCF of *Lemna minor* to roxarsone and arsanilic acid using static system

药物	药物质量浓度 / (mg L ⁻¹)	w _A /(mg kg ⁻¹)	ρ _w /(mg L ⁻¹)	BCF
洛克沙肿	0.1	102.851 ± 4.86 a	0.033 ± 0.003 a	3116.7
	0.5	315.227 ± 10.43 b	0.241 ± 0.020 b	1308.0
	1.0	373.458 ± 16.52 c	0.681 ± 0.021 c	548.4
	2.0	525.339 ± 13.94 d	1.478 ± 0.072 d	355.0
阿散酸	0.1	59.336 ± 3.59 a	0.086 ± 0.006 a	690.0
	0.5	140.202 ± 4.05 b	0.411 ± 0.015 b	341.1
	1.0	229.515 ± 10.90 c	0.897 ± 0.014 c	255.9
	2.0	338.224 ± 10.59 d	1.881 ± 0.126 d	179.8

1) w_A为 55 d时浮萍内的砷质量分数; ρ_w为 55 d时水体中砷质量浓度; 平均值 ± 标准差 (Mean ± S.D., n=3) 后的字母相同表示在 α=0.05的水平上差异不显著

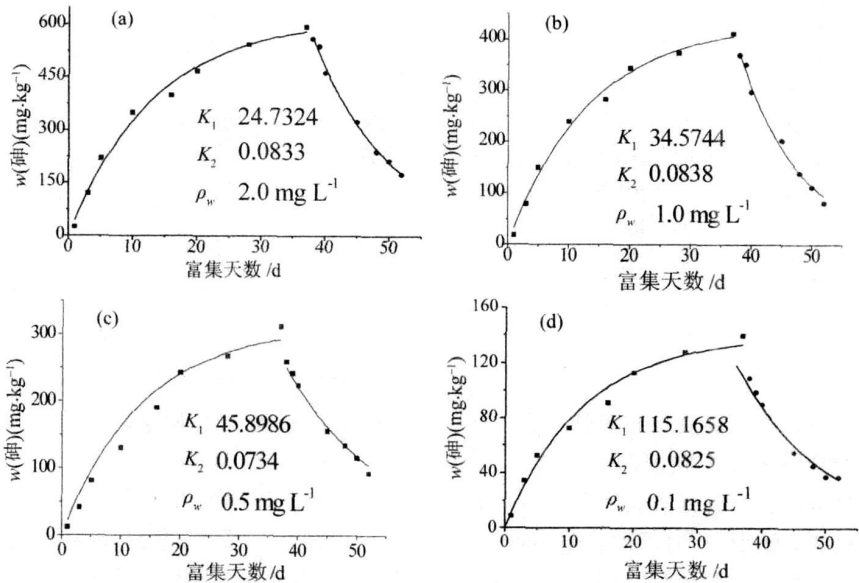


图 2 浮萍对洛克沙肿的半静态生物富集动力学曲线

Fig 2 The bioconcentration curves of *Lemna minor* to roxarsone using semi-static system

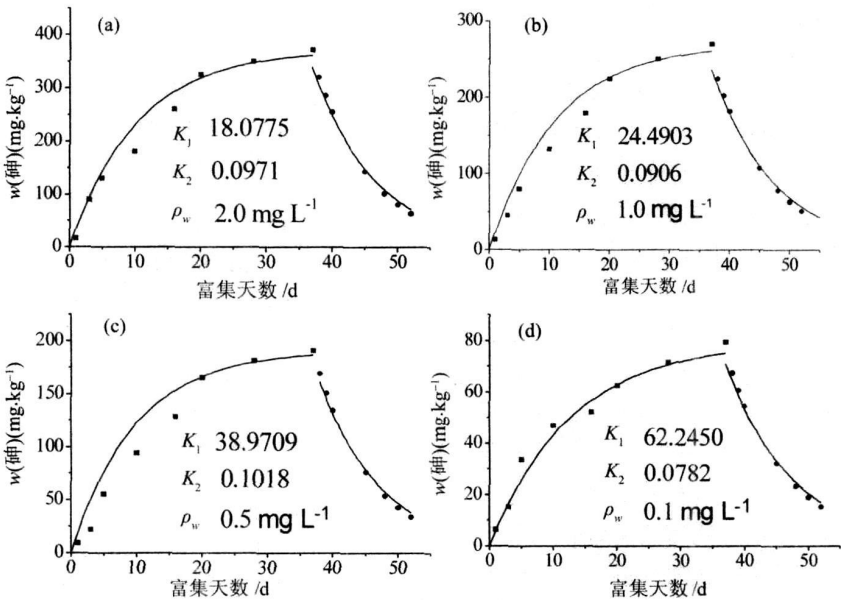


图 3 浮萍对阿散酸的半静态生物富集动力学曲线

Fig 3 The bioconcentration curves of *Lemna minor* to arsanilic acid using semi-static system

表 2 为由浮萍对阿散酸、洛克沙肿的富集动力学参数。由表可以看出：① 浮萍对洛克沙肿、阿散酸的生物富集系数（BCF）随水体质量浓度的增大而减小；② 浮萍对洛克沙肿、阿散酸的吸收速率常数（ K_1 ）随水体质量浓度的增加而减小；消除速率常数（ K_2 ）没有呈现出明显的规律性；③ 浮萍对同等质量浓度的洛克沙肿的吸收速率常数大

于阿散酸；④ 静态试验结果表明浮萍内最大砷质量分数（ W_{max} ）随水体的砷质量浓度的升高而增大，呈显著的正相关（洛克沙肿： $r=0.9445$ $P<0.05$ ；阿散酸： $r=0.9881$ $P<0.05$ ）。半静态试验结果也呈现类似的规律（洛克沙肿： $r=0.9792$ $P<0.05$ ；阿散酸： $r=0.9724$ $P<0.05$ ）。

表 2 浮萍对有机砷（洛克沙肿、阿散酸）半静态生物富集动力学参数
Tab 2 The kinetic parameters of bioconcentration of L.ennamino to roxarsone and arsenic acid using semi-static system

药物	药物质量浓度 / (mg L ⁻¹)	K_1	K_2	BCF	W_{max} / (mg L ⁻¹)	$B_{1/2}$ /d	$T_{0.99W_{max}}$ / d
洛克沙肿	0.1	115.1658	0.0825	1395.95	139.60	8.40	55.78
	0.5	45.8986	0.0734	625.32	312.66	9.44	62.68
	1.0	34.5744	0.0838	412.58	412.58	8.27	54.91
	2.0	24.7324	0.0833	296.91	593.82	8.32	55.25
阿散酸	0.1	62.2450	0.0782	795.97	79.60	8.86	58.83
	0.5	38.9709	0.1018	382.82	191.41	6.81	45.22
	1.0	24.4903	0.0906	270.31	270.31	7.65	50.80
	2.0	18.0775	0.0971	186.17	372.34	7.14	47.41

3 讨论

静态法实验操作简单，能反映有机砷在水体中实际状况，其试验结果不仅反映浮萍对洛克沙肿、阿散酸原型药物的富集，而且代表其对其它各种含砷的各种代谢物的富集情况，与实际更为接近；但该试验周期较长，富集达到平衡的时间点又很难确定。半静态法，操作较为复杂，仅能反映浮萍对洛克沙肿、阿散酸原型药物的富集与消除能力。但是通过较短的实验时间，能准确预测浮萍对有机砷的富集与消除情况。另外有研究资料表明，洛克沙肿、阿散酸在动物体内主要以原型形式随粪尿排出体外^[9-11]，进入水环境中；在目前有机砷原型药物在水体中的转归尚不清楚，而且受光照、微生物、气温等各种复杂因素影响的前提下^[11-12]，初步了解浮萍对有机砷的富集能力仍有具有重要意义。

静态试验研究表明，浮萍在 37~55 d 砷的升高趋势极其缓慢；半静态模型进行预测的结果显示，浮萍对这两种各个浓度的有机砷达到富集平衡的时间（ $T_{0.99W_{max}}$ ）在 45~62 d 之间，表明半静态模型能较准确的预测浮萍对有机砷的富集。另外试验结果显示，静态试验的生物富集系数要大于半静态的生物富集系数，这可能主要与静态实验中水体的砷含量不断下降有关，另外也可能与这两种有机砷代谢为其它含砷化合物有关。另外，无论静态还

是半静态试验结果均表明浮萍对洛克沙肿的各个浓度的生物富集系数均大于阿散酸；说明浮萍对洛克沙肿的富集能力要强于阿散酸，具体原因尚不清楚，有待于进一步探讨。

目前，浮萍等水生植物对砷（有机或无机砷）等有较强的富集能力是国内外关注和研究的热点^[12]，本研究也同样表明浮萍对洛克沙肿、阿散酸具有较强的生物富集能力，在解决有机砷饲料添加剂对鱼塘等水体的污染上具有广阔前景。

参考文献：

[1] WANG FM, CHEN Z L, ZHANG L, et al. Arsenic uptake and accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) at different growth stages following soil incorporation of roxarsone and arsenic acid[J]. *Plant and Soil* 2006, 285: 359-367.

[2] LI FB, ZHONG JH, TAN J. Environmental impact and its control of intensive industrialized piggy in Guangdong province[J]. *Soil and Environmental Sciences* 1999, 8(4): 245-249.

[3] HAN FX, KINGERY W L, SELMHM, et al. Arsenic solubility and distribution in poultry waste and long-term amended soil[J]. *Science of the Total Environment* 2004, 320: 51-61.

[4] PATRICIA M, ANDREA S, ALICIA F C. Aquatic macrophytes potential for the simultaneous removal of heavy metals (Buenos Aires, Argentina) [J]. *Chemosphere* 2004, 57: 997-1005.

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[5] NICHOLAS R A, SIEVEN P K, KATHRYNK C. Lead and nickel removal using *Microspora* and *Lemna minor* [J]. *Bioresource Technology* 2003 89 41—48

[6] RIITERHOFF J, ZAUKE G P. Calibration of the estuarine amphipods *Gammarus zaddachi* Sexton as bioindicators: Toxicokinetics of cadmium and possible role of inducible metal binding proteins in Cd detoxification [J]. *Aquat Toxicol* 1996 34 351—369

[7] WALKER C H. Essay review: Kinetic models to predict bioaccumulation of pollutants [J]. *Functional Ecology* 1990 4 295—301

[8] Statsoft Inc. STATISTICA for Windows (Computer Program Manual) [CP/DK]. Tulsa: Statsoft Inc 1997

[9] BROWN B L, SLAUGHER A D, SCHREIBER M E. Controls on roxarsone transport in agricultural watersheds [J]. *APPL Geochem* 2005 20 123—133

[10] BEDNAR A J, GARBARNO J R, FERRER J, et al. Photodegradation of roxarsone in poultry litter leachates [J]. *Sci Total Environ* 2003 302 237—245

[11] GARBARNO A J, BEDNAR J R, RUTHERFORD D W, et al. Environmental fate of roxarsone in poultry litter: I. Degradation of roxarsone during composting [J]. *Environmental Science and Technology* 2003 37 1509—1514

[12] QIAN J H, ZAYED A, ZHU Y H. Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants: Uptake and accumulation of trace elements by twelve plant species [J]. *J Environ Qual* 1999 28(5): 1448—1455

Researches on the Kinetic Characteristics of Bioconcentration of Roxarsone and Arsanilic Acid in Duckweed (*Lemna minor* L.)

WANG Fum in¹, ZHANG Li², CHEN Zhang-li³

- (1. College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;
2. Guangdong Province Wildlife Rescue and Rehabilitation Center, Guangzhou 510600, China;
3. College of Forestry, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: This study researched on the bioconcentration ability of duckweed (*Lemna minor* L.) to the different concentrations (0, 1, 0.5, 1.0, 2.0 mg L⁻¹) of roxarsone and arsanilic acid (presented as As concentration) by static system and semi static system. To the different concentrations of roxarsone and arsanilic acid, the results of static system showed that duckweed had reached bioconcentration equilibrium about 55 day. The bioconcentration factor (BCF) of duckweed to the different concentrations of roxarsone were 3116.7, 1308.0, 548.4, 355.0 and to the different concentrations of arsanilic acid were 690.0, 341.1, 255.9, 179.8. Furthermore, the bioconcentration factor (BCF) were decreased with the increase of the roxarsone and arsanilic acid in water. The results of semi static system showed that the bioconcentration factor (BCF) and uptake rate constant (K₁) were decreased with the increase of the roxarsone and arsanilic acid in water, and to the same concentration, uptake rate constant (K₁) of roxarsone was higher than arsanilic acid. With static system and semi static system, the maximal As contents (w_{max}) in duckweed presented significantly positive correlation with As concentration in water. The results also meant that duckweed has potent prospect in water system polluted by roxarsone and arsanilic acid.

Key words: *Lemna minor* L.; roxarsone; arsanilic acid; bioconcentration