

# 海洋沉积物中 Zn 对底栖端足类生物的毒性

韩建波<sup>1,2</sup>, 马德毅<sup>1</sup>, 闫启仑<sup>1</sup>, 王菊英<sup>1</sup>, 许道艳<sup>1</sup>, 陈淑梅<sup>1</sup>, 陈红星<sup>1</sup>, 阎吉成<sup>1</sup> (1. 国家海洋环境监测中心, 大连 116023; 2. 大连理工大学环境科学与工程学院, 大连 116023)

**摘要:**通过分析 Zn 加标沉积物中酸溶挥发性硫化物与同步提取金属的摩尔浓度差值解释 Zn 对底栖生物的毒性作用, 受试生物种选择端足类底栖生物日本大螯蜚 (*Grandidierella japonica*), 使用实验室沉积物 10-day 急性毒性生物检验方法进行检验. 分析结果表明, 当酸溶挥发性硫化物与同步提取金属的差值  $< 0 \mu\text{mol/g}$  干重时, Zn 在沉积物间隙水中的浓度非常低, 而且在生物急性毒性试验中也很少发现生物致死的现象. 相反, 当二者的差值  $> 0 \mu\text{mol/g}$  时, Zn 在沉积物间隙水中的浓度则明显升高, 而且在生物急性毒性试验中受试生物致死率迅速增加. 本研究通过将化学数据与生物短期暴露的观察结果相比较, 支持了使用酸溶挥发性硫化物作为归一化因子预测金属沾污沉积物毒性的方法.

**关键词:** *Grandidierella japonica*; 生物毒性; Zn; 酸溶挥发性硫化物; 同步提取金属; 沉积物

中图分类号: X174 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2003)06-05-0101

## Biototoxicity of Zinc in the Marine Sediment to Amphipod *Grandidierella japonica*

Han Jianbo<sup>1,2</sup>, Ma Deyi<sup>1</sup>, Yan Qilun<sup>1</sup>, Wang Juying<sup>1</sup>, Xu Daoyan<sup>1</sup>, Chen Shumei<sup>1</sup>, Chen Hongxin<sup>1</sup>, Yan Jicheng<sup>1</sup> (1. National Marine Environmental Monitoring Center, SOA, Dalian 116023, China; 2. Environmental Science and Engineering Institute, Dalian University of Technology, Dalian 116023, China)

**Abstract:** The utility of simultaneously extracted metals/acid-volatile sulfide (SEM/AVS) differences was investigated to explain the biological toxicity of zinc in the sediments to benthic organisms exposed in the laboratory to sediments. Amphipod *Grandidierella japonica* was selected to 10-day acute toxicity test for this purpose. The investigation results showed that when the molar difference between  $\text{SEM}_{\text{Zn}}$  and AVS (i.e.,  $\text{SEM}_{\text{Zn}} - \text{AVS}$ ) was  $< 0 \mu\text{mol/g}$ , the concentration of zinc in the sediment interstitial water was low and few toxic effects were observed. Conversely, when  $\text{SEM}_{\text{Zn}} - \text{AVS}$  exceeded  $0 \mu\text{mol/g}$ , a dose-dependent increase in the relative concentration of zinc in the pore water was detected and apparent organisms toxic effects were observed. Together, the chemical data from this study compare with observations made in short-term exposures and thus support the use of AVS as a normalization phase for predicting toxicity in metal-contaminated sediments.

**Key words:** *Grandidierella japonica*; biototoxicity; zinc; acid-volatile sulfide; simultaneously extracted metals; sediments

大量的文献已经证明沉积物中痕量金属的生物可利用性或毒性与自由金属离子的浓度直接相关, 而不是金属的总浓度. 换言之, 沉积物中金属的毒性效应水平与该污染物的干重归一化浓度不一定呈对应关系, 而是与沉积物间隙水中溶解态重金属浓度相关<sup>[1-5]</sup>, 同样干重归一化浓度的金属在不同的沉积物中可能会产生迥然相异的生物效应. 这种差异是由于沉积物中金属的毒性受该金属与沉积物中其它成分的结合类型和结合程度的影响而产生的. 这些成分包括有机络合物和无机氧化物及硫化物, 它

们对金属的生物可利用性具有一定的调控作用.

酸溶挥发性硫化物 (Acid Volatile Sulfide, AVS) 被认为是调控沉积物中二价金属离子活性的主要分配相<sup>[6]</sup>. 由于硫离子与有毒金属在缺氧的沉积物中生成不溶性的金属硫化物, 二者的亲和力极大, 因此会直接影响金属自由离

基金项目: 国家自然科学基金项目 (40076029)

作者简介: 韩建波 (1972~), 辽宁大连人, 男, 博士研究生, 主要研究方向为沉积物污染化学.

收稿日期: 2003-01-23; 修订日期: 2003-05-18

子在沉积物各相中的分配,从而影响金属的生物毒性.一些有关淡水和海洋沉积物中 Cd、Cu、Pb、Co、Ni、Zn 和 Ag 的生物毒性试验(包括膝沟藻属的 *Gonyaulax tamarensis*<sup>[1]</sup>, 端足类的 *Hyalella azteca*<sup>[7]</sup>、*Rhepoxynius abronius*<sup>[8]</sup>、*Ampelisca abdita*<sup>[5,9]</sup> 和 *Leptocheirus plumulosus*<sup>[4]</sup> 等,多毛类的 *Neanthes renaceodontata*<sup>[2]</sup>、*Capitella capitata*<sup>[5]</sup> 等,寡毛类的 *Lumbriculus variegatus*<sup>[3,10,11]</sup> 等,腹足类的 *Helisoma* sp.<sup>[10]</sup> 等,小型底栖桡足类动物<sup>[12]</sup>,摇蚊属的幼体<sup>[13]</sup> 等)均证明了金属毒性与 AVS 之间的相关性.

在复杂的沉积物环境中,金属元素优先结合的分配相也因元素而异,例如有机质被认为是 Cu 的主要结合相<sup>[14]</sup>.鉴于不同海洋沉积环境条件下不同金属显示出的毒性差异和不同区域受试生物种对污染物敏感性的差异,本研究选择迁移能力较弱、位于食物链末端的河口底栖端足类生物作为受试生物种,检验 AVS 归一化方法用于海洋沉积物中 Zn 对河口底栖端足类生物日本大螯蜚生物毒性的预测,以确定金属 Zn 的生物可利用性与同步提取金属(Simultaneously Extracted Metals,SEM) Zn 与 AVS 差值之间以及间隙水(Interstitial Water,IW)中 Zn 浓度  $IW_{Zn}$  与生物毒性之间的关系.

## 1 材料与方法

### 1.1 沉积物样品的采集

2002 年春季和夏季在大连龙王塘潮间带采集洁净的未受金属污染的表层 50 mm 沉积物样品.样品在采集后 30 min 转移至实验室.沉积物在有机玻璃板的搅拌压迫下过 0.5 mm 尼龙筛,小于 0.5 mm 粒径沉积物再经电动搅拌均一化,装入容器中,并充氮密闭,4℃下保存,待下一步用作加标试验和生物检验的沉积物基质.经测定表明该基质的有机质含量为 0.8%,粒度组成为 24%砂,70%粉砂,6%粘土.

### 1.2 受试生物的采集

生物检验受试种为底栖端足类日本大螯蜚(*Grandidierella japonica*),采集于大连河口潮间带地区.该动物生活于沉积物表层,对环境的盐度和粒度的适应范围较宽,采回后的试验动

物,在实验室驯化 3~7d 后,备沉积物生物检验用.

### 1.3 沉积物的金属加标方法

加标前将已过筛的沉积物基质均一化,测定沉积物基质 AVS 含量(方法与下述加标后沉积物 AVS 的测定相同).然后,将该沉积物经再次均一化后称取若干份,分别置于广口玻璃容器中.根据此沉积物 AVS 的浓度和单样重量,在  $[Zn^{2+}]/[AVS]$  摩尔浓度比在 0~6.4 之间依次加入不等量  $Zn(NO_3)_2$  的水溶液,使  $[Zn^{2+}]$  和  $[AVS]$  摩尔浓度差在  $0\mu mol/g$  左右的范围内形成浓度梯度系列.电动搅拌使每一容器内加标后的沉积物均一化.密闭充氮,放置至少 2d 以达到反应平衡.

### 1.4 沉积物间隙水的采集及测定方法

采用膜渗透交换技术采集试验沉积物的间隙水.所设计加工的间隙水采集器为一内径 24 mm、高 25 mm、壁厚 4 mm 的聚乙烯材质的中空柱体,其内注满洁净海水,敞口端缚以直径为 60 mm、 $0.45\mu m$  孔径醋酸纤维滤膜封闭.在本次研究中,因主要关注亚表面层的生物地球化学反应,所以将上述已备好的间隙水采集器埋置于距沉积物表面以下 10 mm 深度.在间隙水采集器内去离子水与沉积物间隙水达 48h 交换平衡后<sup>[15]</sup>,取出采集器,其内溶液即代表试验沉积物的间隙水.该溶液中金属含量以原子吸收分光光度法测定.同时取部分溶液测定间隙水中 Fe 的含量.

### 1.5 沉积物中 AVS 及 SEM 的测定

采用氮载气冷法酸溶硫化物分析技术测定沉积物中 AVS 和 SEM<sup>[15]</sup>.本次研究的试验采用 4~5 套反应-吸收瓶串联方式,首尾端点空白试验表明,在以乳胶管相联结的每一反应-吸收子系统间没有因多组串联而发生  $H_2S$  传递沾污.使用碘量法测定 AVS 值,火焰原子吸收法测定 SEM 含量.

### 1.6 金属加标沉积物的急性毒性检验方法

10 天底栖端足类日本大螯蜚急性毒性试验参照 ASTM 推荐的原则和方法设计执行<sup>[16,17]</sup>.沉积物基质即为上述有毒金属加标后

并达反应平衡的 0.5 mm 粒径湿沉积物. 首先将每一个不同 Zn 浓度的沉积物样分装于 4 个 1000 mL 烧杯, 使烧杯底部沉积物厚度约为 25 ~ 35 mm. 在每 4 个一组的平行样中的 2 个沉积物子样中埋设间隙水采样装置. 然后, 在避免对表层沉积物剧烈扰动条件下, 逐一容器加入 500 mL 洁净海水作为上覆水. 放置这些烧杯于 20 °C 恒温水浴中. 24h 后, 每一平行组中一具间隙水采样装置的平行子样被移出, 供测试第 0 d 初始  $SEM_{Zn}$ 、AVS 和间隙水 Zn 浓度, 其余容器则在更新上覆水后投入 20 只经驯化、个体大小均匀、行为正常的试验动物. 这些底栖端足类动物被投入后, 0.5 h 内便潜入沉积物中. 在持续 10 d 的急性试验中, 每日更新上覆水并监控空调与水浴以保持 20 °C 试验温度. 第 10 天试验结束时, 每一平行组内的另一埋有间隙水采集装置的平行子样被用于测定第 10 天  $SEM_{Zn}$ 、AVS 和间隙水中 Zn 浓度, 所有子样均被用于动物计数, 统计死亡率. 按照 Mearns 等<sup>[8]</sup>提出的判断毒性的方法, 将致死率大于 24 % 的沉积物样品视为有毒性, 而致死率  $\leq 24\%$  的沉积物样品视为无毒性.

## 2 结果与讨论

在进行的 4 组试验中, 第 1、2 组试验在天气炎热, 硫化物含量较高的夏季进行, 而第 3、4 组在天气凉爽, 硫化物含量较低的春季进行. 从急性生物毒性试验第 0 天到第 10 天, AVS 受硫酸盐还原菌的作用而升高, 而 SEM 则会因每天更换上覆水而损失. 因此本试验采用的 AVS、SEM 和 IW 的数据均为第 0 天和第 10 天数据的平均值. 图 1 为 Zn 的干重浓度与底栖生物致死率之间的相关关系, 如果单独比较图 1 的第 1 组和第 2 组样品, 或者单独比较第 3 组和第 4 组样品, 可以发现在一定的区域和时间段内, 沉积物中金属的总浓度与底栖生物的致死率具有显著的相关性, 但是如果沉积物的基质或者样品采集时间发生变化, 例如将第 1、2 组和第 3、4 组比较, 相关关系就会出现矛盾的情况. 第 1 组和第 2 组的 Zn 加标沉积物样品在总浓度 1.65 ~ 11.68  $\mu\text{mol/g}$  干重的范围内都使端足类生物

产生了急性毒性响应 ( $> 24\%$  致死率), 而第 3 组和第 4 组的 Zn 加标沉积物样品在金属总浓度 0.25 ~ 6.90  $\mu\text{mol/g}$  干重的范围内均未发生生物的急性毒性响应 ( $< 24\%$  致死率). 1.65 ~ 6.90  $\mu\text{mol/g}$  干重的范围是金属生物毒性产生与未产生相互重叠的区域, 显然单独依靠金属总浓度难以准确判断金属的毒性. 而这四组沉积物样品产自同一区域, 有机质和粒度基本相同, 只有硫化物含量存在明显差异, 第 1、2 组的沉积物样品产自夏季, 硫化物含量较高, 大约为 7.6  $\mu\text{mol/g}$ , 第 3、4 组的沉积物样品产自春季, 硫化物含量较低, 大约为 2.5  $\mu\text{mol/g}$ . 因此推论是硫化物含量导致生物毒性出现阈值不同的现象.

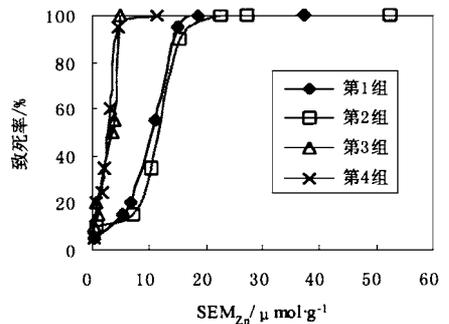


图 1 端足类生物 *G. japonsica* 暴露于 Zn 加标沉积物中的致死率与 SEM 的摩尔浓度的相关性  
 Fig.1 Percent mortality of amphipods *G. japonsica* exposed to zinc-spiked sediments as a function of the sum of the molar concentrations of SEM

理论上, 沉积物中的 AVS 会将金属固定, 与之形成稳定、难溶的金属硫化物, 从而降低金属的生物活性, 在 AVS 含量充足的情况下, 也就是  $SEM \cdot AVS < 0$  的情况下, 金属将被 AVS 完全固定, 只有在  $SEM \cdot AVS > 0$  时, 超过 AVS 结合容量的金属自由离子才能对生物产生毒性. 当对沉积物中金属的干重摩尔浓度与 AVS 的摩尔浓度进行差值归一化时, 可以发现互相矛盾的重叠区域因使用硫化物归一化而消失, 沉积物中底栖生物的致死率与 AVS 归一化后的有毒金属含量间具有明确的相关关系, 而且可以用垂直虚线标识的  $SEM \cdot AVS = 0$  处作为金属被硫化物固定的无生物活性与具有潜在生物活性的临界线 (见图 2). 在 13 个  $SEM \cdot AVS$

<0 的沉积物样品中,有 12 个(92.3%) 没有产生毒性效应 (<24% 致死率),剩余 1 个的致死率为 25%,而 SEM- $AVS > 0$  的 15 个沉积物样品均显示生物毒性随差值的增加而增强的趋势,实验结果验证了理论上的推测。

AVS 处在向终端产物过渡的亚稳态,但其转化速率很慢,会在缺氧沉积物中存在较长过渡时间.当 AVS 同弱结合态或离子态有毒痕量金属并存时,它便成为  $S^{2-}$  配体的供源并与有毒痕量金属发生如下化学反应: $2Me^{n+} + nFeS(固) \rightarrow Me_2S_n(固) + nFe^{2+}$  生成更难溶金属硫化物 ( $Me_2S_n$ ) 和  $Fe^{2+}$  自由离子.结果,AVS 便成为吸收有毒金属,使之生成生物不可获得的难溶金属硫化物的重要固定剂.金属硫化物都具有非常小的的溶度积常数  $K_{sp}$ ,这也使  $S^{2-}$  比起其它结合配体(有机碳、铁锰氧化物、碳酸盐)更加具有竞争力<sup>[6]</sup>,因此有毒金属被固定的程度将首先依赖于  $S^{2-}$  供源 AVS 的存在量.如图 3 所示.随着沉积物中  $SEM_{Zn}$  的增加,间隙水中 Fe 自由离子的浓度也相应增加,二者之间存在着显著的正相关关系.这说明  $Zn^{2+}$  置换了 FeS 中的  $Fe^{2+}$ ,形成  $K_{sp}$  更小,更稳定的 ZnS.由此可以断定作为 AVS 主要组成部分的 FeS 确实是有毒金属元素 Zn 的吸收相,它通过控制有毒金属元素在沉积物-间隙水系统中分配来控制金属元素化学活性和生物毒性,这从另一方面验证了 AVS 影响金属活性的机理,也说明了金属的毒性与它在自然界中的形态有着密切的关系,那些容易释放出金属自由离子的形态才具有较强的毒性。

分析间隙水采集器中间隙水的金属自由离子浓度,并绘制与生物毒性实验观测到的致死率之间的相关关系(图 4).以平行虚线标识的致死率 = 24% 处作为判断生物是否出现金属毒性响应的临界线,在沉积物样品显示毒性(致死率大于 24%)的 18 个样品中,间隙水中金属的浓度与生物毒性试验的观测结果具有显著的剂量响应的关系.这说明金属被底栖端足类生物利用的主要途径是通过间隙水完成的,当  $SEM- $AVS < 0$$  时,间隙水中的 Zn 浓度非常低,基本

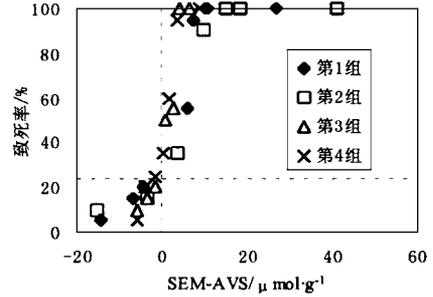


图 2 端足类生物 *G. japonica* 暴露于 Zn 加标沉积物中的致死率与 AVS-SEM 的干重摩尔浓度差值的相关性  
Fig.2 Percent mortality of amphipods *G. japonica* exposed to zinc-spiked sediments as a function of the sum of the molar concentrations of SEM minus the molar concentration of AVS

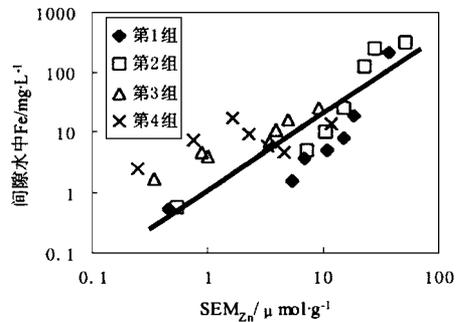


图 3 Zn 加标沉积物中金属总的浓度 SEM 与间隙水中 Fe 离子浓度的相关性  
Fig.3 IW concentrations of Fe as a function of the sum of the molar concentrations of SEM

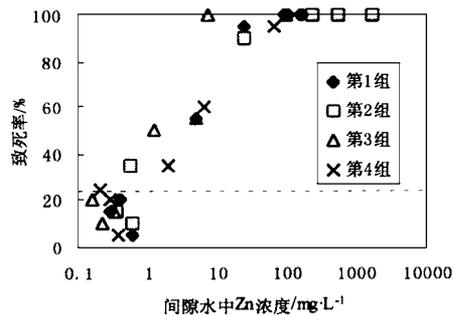


图 4 端足类生物 *G. japonica* 暴露于 Zn 加标沉积物中的致死率与间隙水中金属浓度的相关性  
Fig.4 Percent mortality of amphipods *G. japonica* exposed to zinc-spiked sediments as a function of IW concentrations of zinc

上与对照样品的值相当,即使 SEM 的浓度非常高(达到  $6.90 \mu mol/g$ ),也没有发现端足类生物 *G. japonica* 产生急性毒性效应.当  $SEM- $AVS > 0$$  时,间隙水中 Zn 自由离子的浓度则

显著增长,并且伴随着生物毒性试验中底栖生物致死率的相应提高.这不仅说明利用间隙水中金属的浓度预测或判断金属的生物可利用性是一种有效的手段,而且说明了金属对生物产生毒性的最有效的途径,而 AVS 正是通过改变金属的形态控制了这一影响途径,从而决定了金属的生物毒性.

### 3 小结

显然,Zn 在环境中的生物可利用性与其在环境中存在的形态有密切联系,并且生物、物理和化学方面的因素都会影响金属在环境中的形态.理论上,综合使用硫化物、有机碳、铁锰氧化物以及粒度等影响因素对金属的生物可利用性进行判断会得到更加准确的结果,但是由于缺乏合适的数学模型而难以应用,而在硫化物含量丰富的缺氧沉积物中,使用 SEM 与 AVS 差值归一化的方法进行沉积物中 Zn 对底栖端足类生物 *G. japonica* 的毒性预测取得了较好的效果.相关关系明确,即当  $SEM_{Zn} - AVS < 0 \mu\text{mol/g}$  时,Zn 基本不显示生物毒性,而当  $SEM_{Zn} - AVS > 0 \mu\text{mol/g}$  时,超出 AVS 结合容量的 Zn 浓度与其毒性具有显著的相关关系.这不仅说明 AVS 是缺氧沉积物中控制 Zn 在固相和水溶相之间分配的主要因子,而且说明使用 AVS 的含量判断 Zn 在缺氧沉积物中的生物毒性具有较好的效果.

致谢 对李丽娟在化学分析实验中的辛勤工作谨表谢意.

### 参考文献:

- Anderson DM, Morel FMM. Copper sensitivity of *Gonyaulax ta marensis* [ J ]. *Limnol Oceanogr.*, 1978, **23**: 283 ~ 295 .
- Pesch CE, Hansen DJ, Boothman WS, Berry WJ, Mahony JD. The role of acid-volatile sulfide and interstitial water metal concentrations in determining bioavailability of cadmium and nickel from contaminated sediments to the marine polychaete *Neanthes arenaceodentata* [ J ]. *Environ. Toxicol. Chem.*, 1995, **14**: 129 ~ 141 .
- Ankley GT, Leonard EN, Mattson VR. Prediction of bioaccumulation of metals from contaminated sediments by the oligochaete, *Lumbriculus variegatus* [ J ]. *Water Res.*, 1994, **28**: 1071 ~ 1076 .
- De Witt TH, Swartz RC, Hansen DJ, McGovern D, Berry WJ. Bioavailability and chronic toxicity of cadmium in sediment to the estuarine amphipod *Leptocheirus plumulosus* [ J ]. *Environ. Toxicol. Chem.*, 1996, **15**: 2095 ~ 2101 .
- Hansen DJ, Berry WJ, Mahony JD, Boothman WS, Di Toro DM, Robson DL, Ankley GT, Ma D, Pesch CE. Predicting the toxicity of metal contaminated field sediments using interstitial concentration of metals and acid-volatile sulfide normalizations [ J ]. *Environ. Toxicol. Chem.*, 1996, **15**: 2080 ~ 2094 .
- Di Toro DM, Mahony JD, Hansen DJ, Scott KJ, Hicks MB, Mayr SM, Redmond MS. Toxicity of cadmium in sediments: the role of acid volatile sulfide [ J ]. *Environ. Toxicol. Chem.*, 1990, **9**: 1487 ~ 1502 .
- Hare L, Carignan R, Huerta Diaz MA. A field study of metal toxicity and accumulation by benthic invertebrates: Implications for the acid volatile sulfide ( AVS ) model [ J ]. *Limnol. Oceanogr.*, 1994, **39**: 1653 ~ 1668 .
- Mearns AJ, Swartz RC, Cummins JM, Dinnel PA, Plesha P, Chapman PM. Inter-laboratory comparison of a sediment toxicity test using the marine amphipod *Rhepoxynius abronius* [ J ]. *Mar. Environ. Res.*, 1986, **19**: 13 ~ 37 .
- Berry WJ, Cantwell MG, Edwards PA, Serbst JR, Hansen DJ. Predicting toxicity of sediments spiked with silver [ J ]. *Environ. Toxicol. Chem.*, 1999, **18**: 40 ~ 48 .
- Carlson AR, Phipps GL, Mattson VR, Kosian PA, Cotter AM. The role of acid volatile sulfide in determining cadmium bioavailability and toxicity in fresh water sediments [ J ]. *Environ. Toxicol. Chem.*, 1991, **10**: 1309 ~ 1319 .
- Liber K, Call DJ, Markee TP, Schmude KL, Balcer MD, White man FW, Ankley GT. Effects of acid-volatile sulfide on zinc bioavailability and toxicity to benthic macroinvertebrates: A spike&sediment field experiment [ J ]. *Environ. Toxicol. Chem.*, 1996, **15**: 2113 ~ 2125 .
- Green AS, Chandler GT, Blood ER. Aqueous-, porewater-, and sediment-phase cadmium: Toxicity relationships for a meiobenthic copepod [ J ]. *Environ. Toxicol. Chem.*, 1993, **12**: 1497 ~ 1506 .
- Timmermans KR, Peeters W, Tonkes M. Cadmium, zinc, lead and copper in *Chironomus riparius* ( Meigen ) larve ( Diptera, chironomidae ): Uptake and effects [ J ]. *Hydrobiologia*, 1992, **241**: 119 ~ 134 .
- Correia AD, Costa MH. Effects of sediment geochemical properties on the toxicity of copper-spiked sediments to the marine amphipod *Gammarus locusta* [ J ]. *The Sci. Total. Environ.*, 2000, **247**: 99 ~ 106 .
- 王菊英,马德毅,闫启仑,陈红星. 海洋沉积物中酸溶硫化物对二价金属镉的地球化学特征和生物毒性的影响 [ J ]. *海洋与湖沼*, 2001, **32**(5): 16 ~ 21 .
- 闫启仑,马德毅,郭皓. 锦州湾沾污沉积物急性毒性的海洋端足类检验 [ J ]. *海洋与湖沼*, 1999, **30**(6): 629 ~ 634 .
- American society for testing and materials. Guide for conducting 10-day static sediment toxicity tests with marine and estuarine amphipods [ R ]. E 1367-92. In *Annual Book of ASTM Standards*, Vol. 11.05. Philadelphia, PA, USA, 1995. 767 ~ 792 .