|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **分类号** |  | **密 级** |  |
| **U D C** |  | **编 号** |  |



**硕 士 学** 位 论 **文**

**基于 ICP-MS 的菲律宾蛤仔体内 Pb 含量和溯源研究**

石 振 家

指导教师姓名 王华副教授

专 业 名 称 海洋Th物学

论文答辩日期 2014 年 5 月 30 日

学位授予日期 2014 年 6 月

Content and traceability of Pb in clam

*Ruditapes philippinarum* with ICP-MS

**Thesis Submitted to Dalian Ocean University**

**For the degree of Master of Marine Biology**

**By Zhenjia Shi**

**Thesis Supervisor: Hua Wang**

**Lijun Wang**

**May 2014**

本 研 究 工 作 得 到 国 家 海 洋 公 益 性 行 业 科 研 专 项

(200905020)、辽宁省教育厅计划项目(L2011117)和辽宁省科学事业公益研究基金项目(2012005002)资助，特此致谢！

摘 要

本文通过实验室模拟和近岸滩涂养殖区取样两种途径，利用电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)对菲律宾蛤仔体内Pb的含量进行检测，并通过Pb同位素的“指纹特征”，追溯了菲律宾蛤仔体内铅的可能来源，得到如下的结果：

(1)小球藻对Pb的吸收富集研究，实验设置了7组不同浓度的Pb（由20 μg/L到200

μg/L），观察Pb对小球藻的生长情况的影响，结果表明随着Pb浓度增加，小球藻的吸光值和密度均逐渐减小，吸光值由0.902下降到0.217，藻密度由1.08×106 个/mL下降到6.12×105个/mL，Pb对小球藻显示明显的胁迫作用；同时，结果显示小球藻对Pb吸附可以很快达到平衡。在不同的Pb浓度下，小球藻对海水中外加Pb源的吸收量可达到外加量的82%-95%。同时，计算小球藻体内的206Pb/207Pb、207Pb/208Pb和206Pb/208Pb比值，发现与外源加入到海水中Pb的背景一致，证实小球藻体内Pb的来源是吸附海水中的溶解态Pb。

(2)以吸附Pb的小球藻为饵料，选取不同规格的菲律宾蛤仔为实验对象，追溯菲律宾蛤仔对Pb的富集途径。分别设置三组实验—小球藻-菲律宾蛤仔食物链富集过程、206Pb海水-菲律宾蛤仔富集过程、以及206Pb海水与小球藻-菲律宾蛤仔食物链富集过程。通过测定三组菲律宾蛤仔体内206Pb、207Pb、208Pb同位素含量，研究菲律宾蛤仔对Pb的富集情况，且通过206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb的丰度比值判定Pb的来源。研究结果证实小球藻-菲律宾蛤仔食物链富集过程是菲律宾蛤仔体内Pb的主要富集途径。

(3)为了评价滩涂养殖区贝类体内重金属Pb的污染情况，并追溯贝类体内Pb的可能来源，本研究选取黄海北部的大连金石滩、大李家和皮口3个典型滩涂养殖区为监测点，以滩涂养殖区内的菲律宾蛤仔为周年监测对象，并采用稳定同位素示踪技术追溯菲律宾蛤仔体内Pb的可能来源。研究结果表明，大连典型滩涂养殖区海水中Pb的周年监测结果均优于国家二类海水水质标准，表层沉积物中Pb的潜在生态风险性属于轻微生态危害程度，菲律宾蛤仔体内Pb的含量周年内均小于无公害水产品的限量标准。同时，菲律宾蛤仔体内Pb稳定同位素206Pb/207Pb值与表层沉积物的比值相接近，表明菲律宾蛤仔体内Pb可能主要来源于表层沉积物。

**关键词：**铅； ICP-MS；小球藻；菲律宾蛤仔；溯源

Abstract

Using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) to detect the Pb content in the clam *Ruditapes Philippines* under both simulated experimential condiation and coastculture areas offshore, because of" fingermark characteristic" of the isotope Pb, the possible source of Pb in *R. philippinarum* could be traced. The results as following:

(1) Adsorption of Pb in *Chlorella vulgaris*. In this experiment, in order to observe the effect of different Pb concentration on the growth of *C. vulgaris*, different Pb concentrations was set. The results showed that with the Pb concentration increased from 20μg/L to 200μg/L, the absorption value and cell density of *C. vulgaris* were both decreased. The absorption value decreased from 0.902 to 0.217, the density of *C. vulgaris* decreased from 1.08×10 6 number/mL to 6.12×10 5 number /mL, this indicated that the inhibit effects of Pb on *C. vulgaris* growth was obviously appeared. In addition, it can be found the *C. vulgaris* has ability on Pb adsorptipon, and can reach the adsorbed equilibrium very quickly. The adsorption rate of *C. vulgaris* reached

82%-95% at the end of experiment. Meanwhile, the value of 206Pb/207Pb, 207Pb/208Pb, 206Pb/208Pb

In *C. vulgaris* was checked*.* It is confirmed that the Pb source of *C. vulgaris* is adsorbing from dissolved Pb2+ in seawater.

(2) In order to trace the source of Pb in *R. philippinarum*, the *C. vulgaris* - *R. philippinarum* food chain enrichment processes was investigated, including both 206Pb in seawater - *R. Philippines* adsorption process and *C. vulgaris*–*R. Philippines* food chain enrichment process.

Based on the ratio of 206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb in seawater, *C. vulgaris*, and *R.*

*Philippinarum*, it could be concluded that the *C. vulgaris* - *R. philippinarum* food chain enrichment processes is the important way of Pb enrichment.

(3) In order to assess the lead pollution in Dalian typical coastculture areas and trace the pollution source, Dalian Jinshitan, Dalijia and Pikou were served as the typical monitoring area, and *R. philippinarum* was selected as the target shellfish. Meanwhile, the possible source of lead in *R. philippinarum* was traced using a stable isotope tracer technique. The results showed that the concentration of lead in seawater was below the second degree of Sea Water Quality Standard, as well as the potential ecological risk of lead in the sediment was belonged to the light degree. The content of lead in *R. philippinarum* was below the limit standard of pollution-free

Aquatic product. At the same time, the value of 206Pb/207Pb in *R. philippinarum* was approximate to the sediment, which indicated the lead in *R. philippinarum* maybe came from the sediment.

**Key Words**: Lead; ICP-MS; *Ruditapes Philippines*; *Chlorella vulgaris*; Tracement

目 录

[摘 要](#_Toc686667845) 2

[Abstract](#_Toc686667846) 2

[第一章 Pb稳定同位素示踪技术在海洋Th物体内Pb含量和溯源研究进展](#_Toc686667847) 4

[1.1 海洋环境中重金属影响的研究进展](#_Toc686667848) 4

[1.2 重金属对海洋Th物的影响研究](#_Toc686667849) 5

[1.2.1 海洋Th态环境中微藻吸附重金属的研究进展](#_Toc686667850) 5

[1.2.2 双壳贝类对重金属富集的研究进展](#_Toc686667851) 5

[1.2.3 重金属在海洋Th物食物链上富集的研究进展](#_Toc686667852) 5

[1.3 铅稳定同位素的示踪溯源技术原理及依据](#_Toc686667853) 6

[1.3.1 ICP-MS分析方法的原理及特点](#_Toc686667854) 6

[1.3.2 ICP-MS分析方法对重金属污染的溯源研究进展](#_Toc686667855) 6

[1.4 本文研究内容、意义及实验的技术路线](#_Toc686667856) 6

[1.4.1 研究内容](#_Toc686667857) 6

[1.4.2 研究科学意义及经济、社会效益分析](#_Toc686667858) 6

[1.4.3 研究技术路线图](#_Toc686667859) 6

[第二章 Pb稳定同位素在海水-海水小球藻传递过程中的吸附含量和溯源研究](#_Toc686667860) 7

[2.1 引言](#_Toc686667861) 7

[2.2 实验材料与仪器](#_Toc686667862) 7

[2.2.1 实验材料](#_Toc686667863) 7

[2.2.2 实验仪器](#_Toc686667864) 7

[2.3 实验步骤与分析方法](#_Toc686667865) 8

[2.3.1 小球藻吸附Pb的实验步骤](#_Toc686667866) 8

[2.3.2 海水和海水小球藻中Pb稳定同位素含量的测方法](#_Toc686667867) 8

[2.4 实验结果与讨论](#_Toc686667868) 8

[2.4.1 海水小球藻对海水中Pb的吸附作用](#_Toc686667869) 8

[2.4.2 海水小球藻体内Pb稳定同位素的溯源研究](#_Toc686667870) 11

[第三章 Pb稳定同位素在海水与海水小球藻-菲律宾蛤仔食物链上的Th物富集和溯源研究](#_Toc686667871) 14

[3.1 引言](#_Toc686667872) 14

[3.2 实验材料与方法](#_Toc686667873) 14

[3.2.1 实验材料](#_Toc686667874) 14

[3.2.2 实验仪器](#_Toc686667875) 14

[3.3 实验具体步骤及分析方法](#_Toc686667876) 14

[3.3.1 菲律宾蛤仔富集Pb的实验步骤](#_Toc686667877) 14

[3.3.2 菲律宾蛤仔中Pb稳定同位素含量的检测方法](#_Toc686667878) 15

[3.3.3 海水小球藻、菲律宾蛤仔对Pb的富集系数与传递系数的算法](#_Toc686667879) 15

[3.4 实验结果与讨论](#_Toc686667880) 15

[3.4.1 海水小球藻-菲律宾蛤仔食物链的富集过程中蛤仔体内Pb含量和溯源研](#_Toc686667881) 15

[3.4.2 206Pb海水-菲律宾蛤仔吸附过程中蛤仔体内Pb含量和溯源研究](#_Toc686667882) 19

[3.4.3 206Pb海水与海水小球藻-菲律宾蛤仔两种富集过程共存蛤仔体内Pb含量和溯源研究](#_Toc686667883) 21

[1.0041 ~1.2082、0.9639~1.2144，与表6 中第二组实验只含206Pb 海水环境介质中的](#_Toc686667884) 23

[3.4.4 菲律宾蛤仔富集平衡后体内Pb的分布情况](#_Toc686667885) 23

[第四章 大连典型滩涂养殖区菲律宾蛤仔体内Pb含量和溯源研究](#_Toc686667886) 25

[4.1 引言](#_Toc686667887) 25

[4.2 实验材料与方法](#_Toc686667888) 25

[4.2.1 采样地点和时间](#_Toc686667889) 25

[4.2.2 实验材料](#_Toc686667890) 25

[4.2.3 样品采集和测定方法](#_Toc686667891) 25

[4.3 结果与讨论](#_Toc686667892) 25

[4.3.1 金石滩、大李家和皮口滩涂养殖区海水中Pb含量及评价](#_Toc686667893) 25

[4.3.2 金石滩、大李家和皮口滩涂养殖区表层沉积物中Pb含量及评价](#_Toc686667894) 27

[4.3.3 金石滩、大李家和皮口滩涂养殖区菲律宾蛤仔体内Pb含量及评价](#_Toc686667895) 30

[4.3.4 金石滩、大李家和皮口滩涂养殖区菲律宾蛤仔体内Pb的溯源](#_Toc686667896) 31

[第五章 结论与建议](#_Toc686667897) 31

[5.1 结论](#_Toc686667898) 31

[5.2 建议](#_Toc686667899) 31

[参考文献](#_Toc686667900) 31

[攻读学位期间发表的论文目录](#_Toc686667901) 35

[独创性说明](#_Toc686667902) 35

[学位论文版权使用授权书](#_Toc686667903) 35

[附录1：](#_Toc686667904) 36

[附录2：](#_Toc686667905) 70

# 第一章 Pb稳定同位素示踪技术在海洋Th物体内Pb含量和溯源研究进展

近年来，随着对重金属的开采、冶炼、加工活动日益增多，工业废物的排放不当等原因造成近岸海域污染程度日益严重。目前，在我国近岸海域的港湾、河口和排污口等地区，均检测到不同程度的重金属污染。重金属类污染物在环境中只有形态和价态的变化，很难在环境中彻底去除或降解，对人类身体健康构成严重威胁[1]。因此，重金属污染研究逐渐成为国内外普遍关注的热点，对其污染研究可为有效地控制和治理提供重要依据。

铅是自然界中普遍存在的重金属元素，具有潜在危害的重要污染物之一，因其可随着采矿、燃煤、冶炼和含铅汽油的燃烧等人类活动进入人类的生存环境中，并通过环境和食物链进入生物体内。根据报道，我国很多城市的大气铅污染都非常严重，城市儿童血铅含量普遍偏高，引起广泛关注[2-7]。临床医学证明，当人们通过饮食等途径摄入大量的铅时，铅会在人体内蓄积，在神经、免疫、心血管、生殖等系统产生毒害作用。

因此，准确判定环境中铅污染的来源，降低突发性铅污染危害的发生概率，追溯食品以及水产品中铅污染的源头显得尤为重要。在Pb污染区首先要对Pb的源头进行调查取样，通过对样品痕量Pb的分析，追溯Pb元素的迁移途径和转化过程，进而对污染源头进行有效控制[8]。可见，重金属溯源技术的相关研究对生态环境的有效保护及人们生活质量的提高有着十分重要的意义。

## 1.1 海洋环境中重金属影响的研究进展

21世纪是海洋的世纪，海洋不仅拥有着丰富的矿产资源、油气资源、生物资源，同时还有开发滨海旅游业、可再生资源的巨大潜力。例如国内的沿海地区如珠江三角洲，其仅占国土面积的0.4%，人口数量却可达全国的3%左右，每年创造GDP占全国的9%左右[9]。随着沿海地区的经济飞速发展，海洋中各种资源的利用与开发不断加大，很多大中城市近岸海域污染程度日益加剧，特别是在陆岸工业发达地区的港湾、河口和排污口等近岸海域，普遍出现海洋生物体内重金属含量超标现象。因此，海洋生态资源的保护和可持续发展，逐渐发展为环境科学、海洋科学等研究领域的重要课题之一。近岸海域是复杂的生态体系，为涉海活动最为频繁的区域。由于海上溢油、赤潮现象频发，近岸海水的水质不断恶化，

近海生态系统被破坏严重，众多海洋生物死亡绝迹，海产品受到污染的报道层出不穷[10-11]。近些年来，世界范围的近岸海洋生态系统中的重金属种类复杂、其含量均有不同程度的升高，又极难降解、长期存在，故普遍受到关注[13-14]。2009年，据国家海洋公告显示，我国近海域污染严重，面积约达13.7万平方公里，渤海湾、莱州湾、杭州湾、长江口等部分大中城市近岸水体中主要的污染物为石油类、多氯联苯和多种重金属[12]。据统计，目前在海水中发现的重金属达45种，但最受关注的是Hg、As、Cd和Pb，由于其可在生物体内蓄积和残留，被认为是海洋生态系统中危害极大的一类环境污染物质[15-17]。

海洋中重金属元素的生物地球化学过程是相当复杂的，包括物理、化学和生物过程

[18-19]。首先，重金属元素由大气沉降和径流输入到海洋，一部分被表层的浮游植物吸收，

一部分被水体中的颗粒物质所吸附，由于重力作用沉降到海底，进入沉积物中。进入沉积物中的重金属通过解吸、扩散作用等可返回到水体中，浮游植物和悬浮颗粒物可以被海洋生物通过食物链累积，直到其死亡后又回到生态系统中；另一部分重金属由于络合作用与水中胶体和有机物质结合，从而进行了迁移转化。所以，重金属污染物在水环境中的分布和含量、存在形态和迁移转化规律，对生物的影响和防治等方面的研究都引起学者广泛关注[20] 。

海洋环境中的重金属来源主要分为天然来源和人为来源两大类[21]。海洋环境中重金属的天然来源包括，岩石风化、地质运动、火ft喷发、潮流动力作用、近岸侵蚀等过程；人为来源主要是人类涉海活动而造成的近海重金属污染，径流输入、大气沉降、近海排污等是近海重金属的主要人为来源[22]。国内外很多学者通过研究发现，入海河流携带着大量的悬浮物和人类陆源排放的污染物，在进入近岸海域处由于环境化学条件和水动力条件等综合作用，悬浮物和污染物易造成近海重金属的污染，证明了入海径流输入是近海重金属的主要来源[23-24]。大气沉降是重金属转移输入近岸海域的重要途径，由于大气中含有重金属的微小颗粒、粉尘等，可以在风力作用下进行长距离输送，再通过海-气界面进入海洋环境中[25-26].90%的近海排污是海洋环境中重金属的直接来源，人们生活产生的含有重金属的废水排放、频繁的涉海活动，是引起重金属元素在海洋环境中富集的主要原因[27-29]。

可见，海洋生态系统中重金属的来源相当复杂，只有对污染的来源进行研究，才能更有效地治理污染。很多学者研究海洋环境中重金属污染，一般都围绕着水体、生物体和沉积物在水环境中的存在形态和迁移转化进行研究，但追溯重金属污染来源的研究较少。

## 1.2 重金属对海洋Th物的影响研究

微藻是海洋生态系统中的初级生产者，其在光合和呼吸作用过程中，可以吸收CO2并释放O2，是海洋中的其他生物赖以生存的物质基础和能量来源[30, 31]。微藻在近岸水域生态系统中，是很多经济水产品的优质饵料，在初级生产者中占有很大比例。近些年来有研究发现，由于海洋中微藻对生态系统中存在的重金属具有很强的吸附作用，并且可以通过食物链传递进入海洋生物体内，导致水产品重金属污染事件在人们生活中屡见不鲜。

双壳贝类是海洋环境中具有较强的生物富集能力的底栖水生生物之一，是我国水产养殖业最主要的组成部分，对多种重金属有着极强的富集能力，是海洋生态环境中重金属污染程度的指示生物。这些贝类的生活区主要是近岸海域，或海洋污染物浓度较高的潮间带地区，由于贝类动物本身不能游动、属于滤食性动物、富集能力强、生长位置相对稳定、水体受到污染时不易躲避、从而导致贝类体内重金属含量过高。2004年，我国贝类的总产值达到1162.86万吨，其中贻贝和扇贝分别可达71.74和91.04万吨；蛤类和牡蛎的产量更

是高达279.90和375.09万吨。欧洲是我国水产业的出口贸易大国，20世纪90年代末由于养殖贝类污染严重，欧盟市场曾禁止进口原产于中国的养殖贝类。近些年，由于我国对水产品安全的不断重视，水产品的食品安全有了大大提升。因此，积极地开展重金属对贝类的污染研究，有助于更好地解决与治理贝类的食品安全问题。

### 1.2.1 海洋Th态环境中微藻吸附重金属的研究进展

当重金属进入微藻细胞内，能够与多种催化活性酶中的巯基结合成稳定的硫醇盐，从而抑制了酶的活性，导致生物机体的代谢活动降低[32]。有研究表明，重金属离子含量升高到较高浓度时则抑制其生长，小球藻在不同浓度的Pb溶液中可以生长，但Pb会对小球藻的生长情况有影响，表现出明显的抑制作用[32]；但当重金属离子含量较低时，可能有助于海洋微藻的生长，这种低浓度促进、高浓度抑制的作用被称为Hormesis效应。

可见，微藻吸附重金属的机理较为复杂，一般其吸收的过程分为胞内吸收转化和胞外结合沉积两个主要步骤，具体的途径如图1所示[32]。在水体环境中，溶解态形式的重金属极易被微藻吸附在细胞壁上，吸附速度较快，不需要能量等条件，通过微藻细胞的主动运输过程将其运送到细胞内，其中生物吸附和主动运输为生物富集的主要途径，大约分别占总富集量的80%和20%。很多研究学者普遍认可络合、离子交换这两种吸附机理，其中离子交换作用是最能说明微藻生物对重金属的吸附过程。微藻中的多糖中含有藻酸盐与硫酸盐有着显著的离子交换能力，Chojnacka对螺旋藻（*Spirulina*）细胞壁羧基和磺酸根的研究，

就证明了羧基和磺酸根的离子交换能力决定了螺旋藻细胞吸附重金属的能力[33]。

物理吸收

主动运输

表面吸收

络合、螯合

生物吸收

离子交换

表面沉积

或结晶

被动扩散

生物吸附

生物累积

图1 微藻吸收重金属的主要途径

Fig. 1 The main way of microalgae absorb heavy metals

国内外学者对重金属在海洋微藻的生长、繁殖作用的影响做了大量研究，研究发现海水小球藻对重金属具有较强的吸附能力、能够在其含量很高时表现出极强的耐受能力，故经常被用于处理含重金属的工业污水[34]，其吸附能力可能受微藻生长环境（如：pH、温度等）影响。已有研究表明，表面吸附在小球藻吸附重金属的过程中起主导作用，由于重金属离子可以直接与微藻细胞表面的官能基团（如-OOOH、-OH等）发生配位，故吸附速率极快[35]。李英敏[36]对活性小球藻的生物吸附能力进行了研究，结果表明在pH值为7.0左右的Pb溶液中，小球藻可以很快达到指数生长期，小球藻对Pb的最强吸附率可达75%左右，吸附10min左右就达到平衡状态。

### 1.2.2 双壳贝类对重金属富集的研究进展

几乎所有的海洋生物都可以在某种程度上富集重金属，其累积量可能与重金属的类型、生物种类等因素有关[37, 38]。海洋双壳类动物主要包括贝类、牡蛎、蛤类等，是一类分布广泛、活动性差、主营固着，对水体环境中的多种污染物都具有较强的生物富集能力的底栖滤食性生物。在双壳类动物中，某些被作为重金属指示生物，其重金属积累水平比海水中高出多个数量级[39]。上世纪80年代后，双壳贝类尤其是贻贝被广泛作为指示生物，应用于各种海水重金属污染监测。全世界各国也开展了很多环境监测项目。如：全球贻贝监测计划[40]、美国贻贝监测计划[41]、欧盟BEEP项目[42]、中国贻贝监测计划、美国BEST项目[43]等以全球贻贝监测计划为例，地中海各国家利用紫贻贝(*Mytilusgalloprovincialis*)等生物来评价沿海环境的污染程度[44]；在希腊，主要利用紫贻贝(*Mytilusgalloprovincialis*)作

为港口、河口近海海域重金属污染的指示生物[45]。在我国，菲律宾蛤仔是沿海养殖的经济贝类之一，是天然海区的底栖生物群落中常见的优势种[46, 47]。天然海区中，菲律宾蛤仔对

Pb有显著的累积作用[48]。

国内外大量学者对双壳贝类软体动物的积累重金属作用开展了大量研究。崔可铎等

[49]、Amiard-Triquel[50]和Chan[51]分别对紫贻贝(*Mytilus edulis*)，毛蚶(*Scapharca subcrenata*)与翡翠贻贝(*Perna viridis*)作过累积重金属和对重金属的耐受力等研究；刘琼玉等[52]对菲律宾蛤仔体中Zn、Pb的急性毒性进行了实验，实验结果表明，重金属Zn、Pb对菲律宾蛤仔都具有生理毒性；叶思源等[53]在对胶州湾菲律宾蛤仔的Pb生物富集能力调查中，发现蛤仔对痕量金属Pb的富集作用显著，生物富集系数均值可达36，Pb在菲律宾蛤仔中的含量仅低于海水中的沉积物，但与底层海水Pb的含量相比，有时可高出3个数量级；蔡立哲等[54]对菲律宾蛤仔在水体中Pb浓度为32μg/L、暴露15 d条件下进行大量实验，对Zn、

Pb的积累特征进行分析。结果表明，暴露15 d后，菲律宾蛤仔体内的Pb含量竟达到空白组的5倍，并计算出Zn、Pb的富集系数分别为1128和1290，发现双壳贝类积累重金属的能力会随水体中重金属浓度的增加而增加。以上众多研究发现，双壳贝类在海洋环境中积累重金属的能力具有相似性，其体内重金属含量与外界水体重金属含量呈正线性关系[48, 55]。

### 1.2.3 重金属在海洋Th物食物链上富集的研究进展

自上世纪50年代，日本发生了著名的水俣事件开始，人们发现重金属能够沿食物链的积累与传递，因此受到普遍关注。各国学者引入了多种生物模型，通过模拟计算重金属对生物的有效性，在这方面的研究取得了丰富的新成果。目前，有关海洋生物通过食物链累积和传递重金属方面也有大量的报道[56-58]。

国内学者在厦门海区抽样调查，发现厦门港有6种重金属在水体中的含量远远小于生存其中的鱼类体内的重金属含量，差距甚至达几个数量级之多。同时，检测结果显示中华白海豚体内的金属含量也远高于鱼类体内的金属含量，检测成年中华白海豚的肌肉中发现有6种重金属含量，竟可以达到鱼体内重金属含量的7倍，其中重金属Hg含量最高，可达到鱼体内的90倍左右，由此看出中华白海豚的重金属含量之所以较高是由于食物链累积的生物放大作用。因此，研究重金属在各种海洋生物的食物链上的累积能力和相关的生理生化过程，逐渐成为现今众多学者讨论的热点话题，目前重金属随食物链的累积和传递的相关报道受到广泛关注。如在浮游植物到浮游动物，再到鱼类这条食物链积累与传递过程中，重金属Hg的含量会随着食物链营养级的降低而升高，而重金属Cd的情况恰好相反

[59]. 一般不同生物的食物链传递重金属的含量不同，生物放大作用也不同，且食物链之间

还彼此联系、相互影响，组成了复杂的营养级关系，它们如何影响重金属的传递过程目前还在深入研究，也是生态毒理学研究的重要课题。

在天然环境中，海水中的重金属存在形式主要有两种，即离子形式的溶解态和固体化合物形式的颗粒态。离子形式的溶解态金属在水体中主要是无机金属离子、水合金属离子、羟基络合物、碳酸盐络合物及与有机质结合的络合物；固体化合物形式的颗粒态金属主要是悬浮颗粒物与水体中微小颗粒沉积物。例如海洋中的双壳贝类是主营固着滤食性生物，一方面其可以用鳃来过滤大量的海水，海水中溶解态的重金属离子可被其过滤吸收。另一方面，食物形式存在的颗粒态重金属含量要比相同环境中的离子态重金属含量高几个数量级[60]。海洋动物对溶解态的重金属主要通过表皮的直接吸附，而颗粒态形式的浮游生物中的重金属一般通过动物对食物的摄食和消化过程来累积[61,62]。同时，大量研究发现海洋生物累积重金属的主要方式是摄食吸收，消化道上的肠道粘膜占有较大的表面积，为积累重金属提供了有利条件，所以海洋生物的消化道也是累积重金属最重要的器官，其吸收效率与重金属的浓度和理化性质有关，在一定的重金属浓度范围内，浓度越高吸收越多[63]。海洋动物对重金属的吸收是个复杂生物理化过程，不同的生物个体对同一种重金属的吸收能力不同，同一生物对不同种重金属的吸收也不同。总的来说，影响海洋生物吸收重金属的因素有两种，其一是生物因素，其二种非生物因素。生物因素包括生物个体的大小差异、年龄差异、器官差异、性别差异、以及繁殖状态等[64-66]；非生物因素包括各种环境因子，如盐度、温度、pH值、季节变化、及水动力变化等[67-70]；非生物因素和生物因素可能发生相互作用，同时影响海洋生态环境中双壳类累积重金属的能力。

近年来，采用实验模拟和自然环境抽样调查两种方式研究在重金属作用下，生物通过细胞膜吸附和转运重金属的生物过程已经明确[71]，为了更准确的去除天然环境和实验模拟的实验差异，很多学者已将动力学模型和实验室模拟测定联合起来，对水生生物的重金属吸收途径进行了比较详细的描述[72]。动力学模型可以将关键性的生理学和地球化学参数准确测定出来，可以计算出重金属在水生生物体内的累积量[73-74]。通过实验中参数的准确测量，还可以判定哪种暴露途径对于水生生物的重金属累积相对重要，因此本文采用实验室模拟和天然养殖区调查两种方式，结合Pb各同位素在菲律宾蛤仔体内的累积量和贡献率，进而追溯菲律宾蛤仔体内Pb污染来源。

## 1.3 铅稳定同位素的示踪溯源技术原理及依据

自然界中铅有4种稳定性同位素：204Pb、206Pb、207Pb、208Pb，丰度比分别是51.28%～

56.21%、17.62%～22.1%、20.84%～27.48%、1.04%～1.65%[1]。铅同位素几乎不产生同位素分馏，这是由于其分子的质量数大，不同分子之间相对质量差小。因此，铅同位素在次生作用过程中，当所在系统的物理化学条件发生改变时，其组成一般也不会发生很大变化，铅同位素丰度比值主要取决于污染源地区的铅元素初始浓度，基本不会受到后期地质地球化学作用影响[75-77]。在测定环境污染程度时，只要将各研究对象和各种源区的铅同位素组成测定出来，就可以通过其同位素比值来进行准确判定，通常被用作环境污染的标识物。

在自然界中，生物体生存本就在不断地与外界进行着物质交换和能量循环，环境、气候、生物本身代谢类型等因素均会影响同位素的地球化学分布，其不同来源物质中同位素自然丰度比也不同，显示出特意的“指纹”效应，区分不同来源的物质[75-77]。此外，不同于放射同位素，稳定性同位素没有放射性，不但可以追踪污染物质的迁移、转化等过程，并且不会造成二次污染，因此，利用稳定性同位素的溯源技术可以使解析结果稳定可靠[78]。

铅稳定同位素示踪溯源技术正逐步成为一种强有力的科研技术手段，铅稳定性同位素在示踪多源污染方面被广泛应用，Pb与其它亲硫元素(Hg, Ag, Sb, Zn及Cu等)重金属污染源方面相比有着无可比拟的优势[79-80]，利用Pb同位素示踪溯源技术研究沉积物中Pb稳定性同位素的组成特征“指纹图谱”，可以推断出环境中重金属污染物的可能来源或迁移途径[81-84]，基于铅同位素“指纹图谱”分析技术的可行性，能较好的测定出铅稳定性同位素的丰度比，使其在实验测量中误差显著小于样品中铅同位素比值的变化，有助于观测到各样品之间铅的同位素比值的差异，进而研究Pb污染源的变化，追溯铅污染源头并计算不同污染源对铅污染的贡献率，为研究环境污染和实际应用提供了有效的科学依据。

### 1.3.1 ICP-MS分析方法的原理及特点

1980年发表了第一篇电感耦合等离子体质谱技术（ICP-MS）文章[85]，Barnes[86]曾预言“二十一世纪将是电感耦合等离子体质谱仪器激增的时代”。ICP-MS主要应用于金属元素的微量及痕量分析，同时在同位素比值分析、形态分析等方面的应用也比较普遍[87-88]。电感耦合等离子体的离子源，具有较高的单电荷分析物离子产率，较低的氧化物、双电荷离子及其他分子加合物离子产率。ICP-MS的分析一般选用离子线，在ICP放电中有待测物离子的存在。因此，一个简便的计算[89]表明，在电感耦合等离子体中，绝大多数金属元素大都呈现出高度的电离状态而存在。电离度α可由（1）式计算：

α= = (1)





上式中na—原子数目密度；

ni—离子数目密度；

ne—电子数目密度；

KM—取决于电离温度的Saha平衡常数，（2）式为KM的计算方法[90]：

(2)

上式中za—原子的配分函数；

zi—离子的配分函数；

Vi—电离电位；

K—Boltzmann常数。

电离温度Tion和电子数目密度ne确定以后，则可以计算出电离度，进一步实现电感耦合等离子体质谱技术对痕量、超痕量金属元素的精确检测。ICP-MS法进行分析具有稳定性好、检测限低、线性范围宽、基体效应和自吸效应小、精密度高、可快速进行多金属元素同位素比值分析等优点，使得它逐渐成为实验室分析检测金属元素的主要方法和判断金属元素来源的有效手段。

### 1.3.2 ICP-MS分析方法对重金属污染的溯源研究进展

随着人们对环境保护和生命科学的关注，ICP-MS的分析对象已转向环境、生物、食品等学科的痕量和超痕量元素分析。随着质谱技术的不断提高，相关处理技术的不断进步，国内外学者采用了多种等离子体质谱应用于测量，并且通过其测量的结果对仪器精度做出了评价[96-97]. ICP-MS作为无机痕量和超痕量元素分析的一种重要手段，发挥了相当大的作用。

近些年来，在相关同位素丰度比质谱测量的发表文章中，ICP-MS的应用占到40%，成为排名第一的质谱技术。在同位素丰度比测量的所有应用中，环境应用约占10%[95]。随着人们对重金属环境污染的重视，国内外学者做了大量关于土壤、大气、水体与河道沉积物的铅稳定同位素的溯源技术研究[92,93, 98-103]。同时，在各种生物样品中铅稳定性同位素的样品前处理方法和测定分析方法已经相当的成熟[91]，并且为医药研究也提供了有力的依据

[94]. 同位素示踪法在食品中的溯源技术研究也有了相当大的进展，这类研究为人们的饮食

健康提供了有力保障。同位素“指纹”分析对人们日常食品的产地溯源也是很适用的，食品如酒、饮料与乳品，肉类和蔬果，谷物等均可以用此方法分析[104-106]。可见，ICP-MS 是

一种优越的质谱技术，具有较强的同位素丰度比测量能力，可为多种痕量金属的同位素进行精确分析，而且ICP的检出限已经可以满足环境领域中许多痕量和超痕量元素的具体测定要求。

综上所述，同位素溯源技术在各研究应用中有良好的前景，应加大这方面的研究力度，但由于具体的检测流程没有统一规范，ICP-MS的检测费用相对较高等原因，所以国内的溯源技术在水产品实际检测中还未具体应用。基于目前同位素溯源技术的研究成果，并与其它相关监测技术相结合，就可以有效地推动我国水产品安全追溯制度体系的完善。

## 1.4 本文研究内容、意义及实验的技术路线

### 1.4.1 研究内容

1.建立不同环境介质中铅同位素检测分析方法

（1）确定电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法检测海水、沉积物和生物样品中铅操作程序；

（2）考察样品中铅同位素特征含量的分析方法。

2.采用实验模拟和水产养殖区调查方式追溯蛤仔体内铅污染的来源

（1）利用人工模拟水生生态系统考察不同污染源的铅在菲律宾蛤仔体内的蓄积状况；

（2）考察特定海水养殖区内海水、沉积物和蛤仔体内铅污染来源。

3.建立基于稳定同位素示踪技术的蛤仔体内铅溯源的技术体系

（1）利用铅同位素丰度特征差异建立不同污染源的铅同位素指纹图谱；

（2）利用对应分析法和因子分析法对污染源贡献率进行分析并建立相关模型。

### 1.4.2 研究科学意义及经济、社会效益分析

按照“源头控制为主”和“基于风险评估”的国际通行的海洋环境管理的理念和要求，目前的海水环境的监测指标和评价体系中，缺乏以调查危害物来源或取证为目的的追溯技术。因此，研究利用Pb稳定同位素指纹图谱技术，选择菲律宾蛤仔作为指示生物，采用室内模拟实验和水产养殖区采样调查的方式，追溯蛤仔体内铅污染来源，并建立铅污染溯源体系。本研究对实施环境污染治理，完善海水养殖产地源头的食品安全科学管理，提高水产品质量安全水平，保障消费者身体健康，促进水产品出口，都具有十分重要的意义。

### 1.4.3 研究技术路线图

本文选取底栖贝类中的典型代表菲律宾蛤仔作为指示生物，利用铅稳定同位素指纹图

菲律宾蛤

谱对菲律宾蛤仔体内重金属铅来源进行溯源，将水产养殖学、海洋环境科学和同位素化学相结合，为食品安全科学管理服务，目前并未见到相关研究报道。为了更详尽的介绍本文的研究思路，绘制技术路线图如下：

沉积物

特定养殖区采样分析

海水

基于 ICP-MS 的菲律宾蛤仔体内 Pb 含量及溯源研究

水生生态系统实验室模拟



样品预处理

海水中溶解态

206Pb

小球藻食物链传递

海水溶解态

206Pb

与小球藻食物链投喂同时进

海水经过过滤，用硝酸 1:10 稀释

蛤仔剥壳、沉积物冷冻干燥后消化处理

电感耦合等离子质谱法检测菲律宾蛤仔体内的

206Pb、207Pb、208Pb 含量

菲律宾蛤仔体内的 206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb 丰度比值进行溯源分析解析菲律宾蛤仔体内的 Pb 污染来源

# 第二章 Pb稳定同位素在海水-海水小球藻传递过程中的吸附含量和溯源研究

## 2.1 引言

海水小球藻(*Chlorella vulgaris*)，绿藻门小球藻属，是一种通过光合作用，生长、繁殖的单细胞海洋微藻，其直径仅为3-8μm，在海水中分布极其广泛。微藻是海洋初级生产者，它们进行光合作用摄取营养盐的同时释放氧气，并把有机碳转换为无机碳，直接或间接地提供物质基础给海洋中的其它高营养级生物[107, 108]。近年来研究发现，微藻对水体中的重金属有极强的吸附作用，是海洋生态系统中的双壳贝类、甲壳类等经济动物的优质饵料，研究发现重金属可以在贝类、甲壳类等海洋生物的呼吸、摄食等过程中进入其体内不断累积，甚至表现出明显地生物放大作用。

微藻对重金属的胁迫作用敏感，生长周期较短，又易于培养，与其他的水生生物相比较来看，适宜作为毒性试验材料。30年代初，研究人员开始研究藻类与重金属的关系。30到50年代，金属对藻类营养方面的作用被人们发现[109]，50年代以后，多种重金属对藻类生长的胁迫作用引起人们的广泛重视，当时Cu对藻类的毒性作用备受关注[110-114]。60年代，人们就认识到藻类有富集水体中重金属的能力。近10年，由于水污染日益严重，藻类能够吸附水体中有毒重金属的研究又逐渐受到重视。一方面，人们发现藻类的这种能力可以起到改善环境和回收资源的作用[115]；另一方面，小球藻是对重金属不断富集，有一定的生物放大作用，其通常作为经济贝类、鱼类的饵料，重金属的毒性可通过食物链传递给下一营养级的生物。综上所述，微藻对重金属的吸附作用和食物链传递效应有进一步研究的价值。

海洋微藻对重金属的吸附作用一般比较复杂，目前认为主要是重金属离子交换和多糖结合作用的原因，微藻的细胞壁结构复杂，其内层主要成分是纤维素，外层的微纤丝多孔多层结构的主要成分复杂，包括果胶质、纤维素、聚半乳糖硫酸酯和多糖等等。藻细胞可以释放多种的胞外产物附着在细胞壁外，对小球藻的细胞壁进行化学分析发现多种化合物。正是这些官能团（如羧基、羟基、醛基等）易与金属离子结合[32]。赵玲等[116]提出主要由于多糖的参与，海洋原甲藻才能有效地吸附Pb，多糖的官能团与金属离子的结合应是吸附

Pb作用的关键角色。吸附过程经过藻细胞胞外结合与沉积，进而发生胞内吸收与转化，最后达到吸附平衡[32]。还有研究表明，可能由于多糖的参与，海洋原甲藻才能有效地吸附Pb，

另外，李英敏[36]等研究发现pH、光照、小球藻的生长状况、Pb在水中的浓度等均会影响微藻对Pb的吸附浓度，在小球藻的藻细胞密度达到一定时，其对水中Pb的吸附率随着Pb的浓度增大。因此，尽管小球藻对重金属的胁迫作用敏感，但对Pb有明显的吸附和生物富集作用，同时生长周期短、易于大量培养，故本文选取小球藻作为实验材料。

## 2.2 实验材料与仪器

### 2.2.1 实验材料

海水小球藻藻种由大连海洋大学水生生物重点实验室藻种库提供；

实验用海水，为大连黑石礁海区正常海水；

铅标准物质溶液(GBW04425)，国家标准物质中心；

微孔滤膜(0.22μm, 0.45μm)，北京景辉凯越科技有限公司；

实验万用电炉，JKFQ-1000, 3000W，江苏兴化市俊辉电热电器厂

电热板，DB-4, 1300W，常州国华电器有限公司；

康威营养盐，由大连海洋大学水生重点实验室自制（配制过程见附录二）；

计数板，HL-JS，武汉恒岭科技有限公司；

锥形瓶(5L, 250 mL)，蜀牛玻璃仪器有限公司；

离心管(50 mL)，南通鑫翔实验耗材公司

PET样品瓶，广州市源誉塑料包装制品有限公司；

聚四氟坩埚(30 mL)，广州市源誉塑料包装制品有限公司；

硝酸(HNO3)，优级纯，天津科密欧仪器有限公司；

高氯酸(HClO4)优级纯，天津科密欧仪器有限公司；

### 2.2.2 实验仪器

pH计，PHS-3C，上海精密科学仪器有限公司；

便携式盐度测试仪，A301729，美国Thermo Eutech公司；

实验室真空抽滤装置，TT50，北京景辉凯越科技有限公司；

可见光分光光度计，722N，上海精密科学仪器有限公司；

光学显微镜，CX41-12C02，日本奥林巴斯公司；

电子分析天平，FA2104A，上海精天电子仪器有限公司；

低速离心机，北京医用仪器有限公司；

电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)，Agilent 7500，美国安捷伦科技公司。

## 2.3 实验步骤与分析方法

### 2.3.1 小球藻吸附Pb的实验步骤

海水小球藻藻种在20℃室温条件下，光暗周期为正常昼夜，培养用海水为大连黑石礁海区砂滤海水，pH为8.01-8.27，盐度为26.0-27.5，经过0.45μm滤膜过滤，在电炉上加热，至沸腾继续加热20-30 min，至蒸汽完全上升至瓶上部，使锥形瓶完全灭菌杀毒，封口、冷

却后以1: 1000加入康威营养盐进行培养，每天摇动1-2次，对海水小球藻进行计数并测定

吸光值，在培养第16 d，海水小球藻生长密度为1.08×106个/mL，吸光值为0.902时到达指数生长期。取此时期的海水小球藻细胞分别放入250mL的锥形瓶中，向各锥形瓶中投入0μg/L、20μg/L、40μg/L、80μg/L、100μg/L、140μg/L、180μg/L、200μg/L含有206Pb、

207Pb、208Pb的铅标准溶液，每个浓度设3组平行。培养条件同上，分别测量每组的吸光值

（图2），同时选取5个浓度组每隔2日进行计数（图3），每组海水小球藻的生长密度数据详见附录1，观察不同Pb浓度下的生长状态。小球藻培养16 d，分别取每组海水小球藻的样品通过0.45μm滤膜过滤，测量每个浓度下海水小球藻吸附的Pb浓度，以及小球藻生长过程中每日海水中Pb浓度（图4、5）。

### 2.3.2 海水和海水小球藻中Pb稳定同位素含量的测方法

取培养小球藻时的海水样品经0.45 μm滤膜过滤，用浓硝酸以1: 9稀释样品后，装入

PET样品瓶待测；把含各Pb浓度的小球藻经过0.22μm滤膜过滤，未通过滤膜的海水小球藻经冷冻干燥后，称取3 g，放至聚四氟坩埚中，在通风橱中对每个坩埚内加入5 mL硝酸，在250℃下盖上盖子恒温加热2-3 h，加热完毕后，每个坩埚分别加入2 mL高氯酸和2 mL硝酸，2-3 h后开盖赶酸，分别加入50%硝酸与去离子水，反复多次最终定容到PET样品瓶内（瓶已提前称重）至30 mL左右，前处理过程用重量法剔除误差，准备上机待测。将以上处理好的样品用电感耦合等离子体质谱仪（ICP-MS）检测Pb同位素的含量。ICP-MS的仪器参数为真空压力在5×10-4 Pa，通风速度在5 m3/min，氩气压力在0.7 Mpa。

## 2.4 实验结果与讨论

### 2.4.1 海水小球藻对海水中Pb的吸附作用

近些年，随着重金属环境污染研究被逐渐重视，有报道称较低浓度重金属离子对海洋中微藻的生长有一定的促进作用，如周银环等[117]研究发现在Pb浓度低于200μg/L时，绿色巴夫藻内叶绿素a的含量增加，促进了光合作用，有利于绿色巴夫藻的生长和繁殖，但本研究发现Pb对小球藻生长起到胁迫作用，可能是由于Pb附着在微藻藻壁上阻碍了营养吸收，Pb易与多种酶的催化活性部分中的巯基结合成稳定的硫醇盐，从而抑制了酶的活性，影响海洋微藻的正常代谢，Pb浓度越高对微藻的生长抑制作用越明显[47]。图2为海水小球藻在不同Pb浓度下的吸光度随着培养时间变化情况。图3为不同浓度Pb对海水小球藻生长密度的影响。由图2到3可见，小球藻的吸光值和生长密度均随着Pb浓度的增加逐渐减小，当小球藻培养到16 d，对照小组小球藻的吸光值为0.902，藻密度为1.08×106个/mL；200μg/L组的吸光值为0.217，藻密度为6.12×105个/mL。实验结果说明随着Pb浓度升高，海水小球藻的生长受到抑制，但海水小球藻在Pb浓度逐渐增加的过程中，小球藻仍显示了很强的耐受性。

很多相关报道显示，海洋微藻对水环境中的重金属和其它污染物有去除作用，可以有效地改善水环境[115]。因此，在每天观察小球藻的生长情况进行吸光值和计数的同时，检测了每日培养小球藻的海水中剩余的Pb含量，结果如图4所示。实验结果表明，小球藻对海水中的Pb表现出很强的吸附作用，且吸附时间很短。第1 d，海水小球藻的吸附量即可达到海水中不同浓度Pb初始浓度的一半左右，海水小球藻在6-8 d即可达到吸附平衡。培养14-16 d，通过对小球藻的平衡浓度进行检测，观察小球藻内的吸附浓度，选取达到吸附平衡时，吸附率较高的Pb浓度下生长小球藻进行大批培养，离心后作为饵料待用。

1.4

1.2

1.0

Absorption

0 ug/L

20 ug/L

40 ug/L

80 ug/L

100 ug/L

140 ug/L

0.8 180 ug/L

200 ug/L

0.6

0.4

0.2

2 4 6 8 10 12 14 16

Time (d)

图2 不同Pb浓度下海水小球藻的吸光值

Fig. 2 the Chlorella absorption of different Pb concentrations

1.2x106

8.0x105

Number/mL

0 ug/L 40ug/L 100ug/L

140ug/L

200ug/L



4.0x105

0.0

2 4 6 8 10 12 14

Time (d)

图3 不同浓度Pb对海水小球藻Th长密度的影响

Fig. 3 The effect of different Pb content on chlorella growth density

200

180

160

Pb concentration (ug/L)

140

120

100

80

60

40

20

0

0 ug/L

40 ug/L

80 ug/L

100 ug/L

180 ug/L

200 ug/L

0 2 4 6 8 10 12 14 16

Time (d)

图4 海水小球藻Th长过程每日海水的Pb浓度曲线

Fig. 4 The concentration curve of Pb in the daily seawater which the Chlorella growth process



191.90

The *Chlorella* absorption concentration

168.805

140.705

134.675

106.62

94.250

78.530

51.665

32.785

7.948

200

160

*Chlorella* concentration (ug/kg)

120

80

40

0

20 40 60 80 100 120 140 160 180 200

The Pb concentration in seawater

图5 海水小球藻达到吸附平衡的Pb浓度

Fig. 5 The Pb concentration of adsorption equilibrium in*Chlorella*

由图4的结果可知，在不同Pb浓度下生长的小球藻在富集第1 d即可吸附水体浓度的一半，2-8 d逐渐达到吸附平衡，在培养16 d对小球藻体内的Pb浓度进行测量，如图5所示，除了20μg/L的Pb浓度下，小球藻对其的吸附率只达到39.1%，其他不同浓度的Pb吸收率均可达到82%-95%。在海水中，Pb一般为溶解态和颗粒态存在，易发生价态或是形态的变化，一般不易被降解，所以会长期存在与水中，小球藻对其表现出较高的耐受性，又有显示出极强的吸附能力。

本文研究了Pb 在海水-小球藻的传递过程中的海水小球藻的富集情况，并通过研究

206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb的同位素丰度比值来确定小球藻中Pb的来源。海水小球藻吸附Pb达到平衡时，可用BCFZ来描述Pb在海水-海水小球藻传递过程中的富集情况，BCFZ = CZ/CW，其中C0为海水中Pb的初始浓度，CZ为小球藻吸附的Pb浓度，CW为小球藻对Pb达到吸附平衡后，海水中剩余的Pb浓度。表1是通过上式计算出小球藻对海水中Pb的吸附情况。

表1 吸附平衡时Pb在海水-海水小球藻传递过程中的富集情况

Tab. 1 The absorbed steady state enrichment of Pb transfer in the process of seawater-Chlorella

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| C0(μg /L) | Cw(μg /L) | Cz(μg /kg) | BCFZ |
| 20 | 11.052 | 7.947 | 71 |
| 40 | 6.215 | 32.785 | 527 |
| 80 | 1.470 | 78.530 | 5342 |
| 100 | 2.750 | 94.250 | 3427 |
| 140 | 3.325 | 134.675 | 4050 |
| 180 | 9.195 | 168.805 | 1835 |
| 200 | 7.100 | 191.900 | 2703 |
|  |  |  |  |

由表1可知，随着C0的浓度不断增大，BCFZ的值由小逐渐变大，但在Pb初始浓度大于140μg/L时，小球藻对Pb的BCFZ逐渐减小。由图3到4可见，Pb初始浓度大于140

μg/L，小球藻的生长情况明显受到胁迫，吸光值和生长密度明显减小，小球藻对Pb的吸附作用也有所降低。可见，虽然小球藻在Pb浓度增加的条件下，生长受到了抑制，但是在200μg/L的Pb浓度下，仍可在上述培养条件下，16 d左右达到指数生长期，并在14-16

d内可以在很高吸附率的条件下，达到吸附平衡。故我们选取100μg/L、200μg/L在5L的锥形瓶中进行大规模培养，达到吸附平衡后取出离心，每次离心30min，转数为4000 r/min，然后弃去上清液取下层海水小球藻藻浓缩液，把海水小球藻浓缩液合并，冷冻干燥后做为饵料待用，饵料中Pb的浓度分别为93.287 mg/g, 194.452 mg/g。

### 2.4.2 海水小球藻体内Pb稳定同位素的溯源研究

以上实验研究了小球藻对海水中Pb的吸附作用，发现小球藻对海水中的Pb有吸附作用，且吸附率高达82%-95%。众所周知，小球藻是生态系统中双壳贝类等滤食性水生生物的饵料，海水中的Pb可以通过小球藻-菲律宾蛤仔食物链传递下去，并有研究表明水生生物可能通过自身的代谢机能，对水体中的重金属有生物放大和生物浓缩作用在其体内积累

[32]. 可见，研究小球藻体内Pb来源，对其下一营养级生物体内Pb来源的研究有指导意义。

本研究用ICP-MS测定7组不同浓度梯度(20μg/L、40μg/L、80μg/L、100μg/L、140μg/L、180μg/L、200μg/L)下206Pb、207Pb、208Pb在海水和小球藻中的含量，检测结果如表2、3所示。

表2 海水小球藻Th长的海水中206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb同位素比值

Tab. 2 Isotopic ratio of206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb in the seawater of *C. vulgaris*

| 206Pb/207Pb | | 207Pb/208Pb | |  | 206Pb/208Pb | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 范围 | 均值 | 范围 |  | 均值 | 范围 | 均值 |
| 0.9535~0.9943 | 0.9655±0.0541 | 1.0140~1.1005 | 1.0568±0.0433 | | 0.9708~1.0394 | 0.98128±0.0872 |
|  |  |  |  | |  |  |

表3 海水小球藻体内的206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb同位素比值

Tab. 3 Isotopic ratio of206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb in *C. vulgaris*

| Pb | 206Pb/207Pb | | 207Pb/208Pb | | 206Pb/208Pb | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| C(0 μg /L) | 范围 | 均值 | 范围 | 均值 | 范围 | 均值 |
| 20 | 0.9529~0.9614 | 0.9508±0.0042 | 1.0151~1.0196 | 1.0174±0.0031 | 0.9969~0.9987 | 0.9979±0.0012 |
| 40 | 0.9629~0.9673 | 0.9651±0.0031 | 1.0182~1.0229 | 1.0206±0.0032 | 0.9849~0.9850 | 0.9885±0.0001 |
| 80 | 0.9659~0.9693 | 0.9676±0.0024 | 1.0127~1.0155 | 1.0141±0.0019 | 0.9782~0.9843 | 0.9813±0.0043 |
| 100 | 0.9778~0.9895 | 0.9836±0.0081 | 0.9996~1.0091 | 1.0044±0.0067 | 0.9868~0.9892 | 0.9880±0.0017 |
| 140 | 0.9657~0.9893 | 0.9775±0.0163 | 1.0045~1.0052 | 1.0049±0.0004 | 0.9707~0.9938 | 0.9823±0.0 168 |
| 180 | 0.9927~0.9964 | 0.9945±0.0026 | 0.9901~0.9909 | 0.9905±0.0005 | 0.9837~0.9866 | 0.9852±0.0021 |
| 200 | 0.9639~0.9831 | 0.9735±0.0135 | 1.0025~1.0089 | 1.0057±0.0045 | 0.9725~0.9856 | 0.9791±0.0092 |
|  |  |  |  |  |  |  |

表3的实验结果表明，海水小球藻体内的206Pb/207Pb范围在0.9529~0.9964，207Pb/208Pb范围在0.9901~1.0229, 206Pb/208Pb范围在0.9725~0.9987。与表2海水的各Pb同位素丰度比值比较，不同浓度小球藻的206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb范围与培养其海水的环境背景范围基本一致，因此可以判定，小球藻体内的Pb是通过吸附海水中Pb得到的，控制微藻、大型藻类等浮游植物的铅污染，最有效的途径就是控制海水中的铅污染来源。浮游植物是海洋生态系统中最主要的初级生产力，是海洋其它生物的能量和物质来源，其吸附的Pb可能通过食物链传递到更高营养级的生物体内，更可能在更高的生物体内富集并放大。很多的经济贝类、鱼虾都以海洋微藻等浮游植物为饵料，直接影响海洋中水产品的食品安全。因此，本文对微藻等浮游植物体内Pb的吸附和来源的研究，可为海洋环境重金属污染和防治提供可靠依据。

# 第三章 Pb稳定同位素在海水与海水小球藻-菲律宾蛤仔食物链上的Th物富集和溯源研究

## 3.1 引言

铅是自然界中普遍存在的重金属元素，随着采矿、冶炼、燃煤和含铅汽油的燃烧等人类活动的加剧，大量的铅通过大气沉降、工业废水、地表径流等途径排入环境中，在工业发达地区的近岸海域铅含量有所增加。海洋生物暴露于该环境下，其很多器官和组织中可蓄积高浓度的铅，并通过食物链进行迁移和转化，直接威胁水产品的食用安全。因此，准确判定海洋生物体内铅污染来源，追溯水产品中铅污染的源头，降低突发性铅污染危害发生的概率显得尤为重要。

铅在自然界中存在的4种稳定的同位素208Pb、207Pb、206Pb和204Pb，丰度范围分别为

51.28%～56.21%，17.62%～22.10%，20.84%～27.48%与1.04%～1.65%[118]. 铅同位素质

量大，同位素间的相对质量差较小，几乎不产生同位素分馏作用，铅同位素组成具有明显的“指纹特征”，由于铅同位素的组成特征在该元素形成时就存在了，外界环境条件的变化对其影响很小[118]。不同来源的Pb所具有的铅元素的“指纹特征”不同，该“指纹特征”不会随元素的迁移和转化而发生改变[119]。因此，通过对样品中铅同位素组成分析，就可以示踪样品中铅污染的来源，若结合相应的模型，可计算各污染源的相对贡献率。目前，铅稳定同位素示踪技术已在食品、大气、土壤和沉积物中得到应用，但在水产品污染源溯源方面的研究较少。例如，魏益民等[104]编写的《植源性食品污染源溯源技术研究》中，对铅稳定同位素在牛肉、茶叶、水稻、蔬菜等食品中铅污染来源进行了溯源解析。尚婷等[120]采用铅同位素示踪技术对南海表层沉积物铅的来源进行了分析，结果表明南海不同海区沉积物中Pb具有相似的主体来源。Spencer等[121]以鱼体为研究对象，对水体铅污染物来源进行了探索，结果表明鱼体器官铅同位素特征值包含了该水域人类活动污染源信息和相邻海域同位素特征信息，表明该海域鱼体受到多个污染源的污染。以上研究结果表明，铅的稳定性同位素示踪技术可以用于以上各方面的铅溯源研究。在近岸海域中，鱼类对铅的蓄积能力相对较弱，而底栖贝类对海水中铅的蓄积能力相对较强，富集量较高，选择贝类作为指示生物进行铅污染溯源的研究将会更具有代表性，可目前未见基于铅稳定同位素技术的贝类体内铅溯源的相关研究报道。

菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)，帘蛤科(Veneridae)，是我国的四大经济贝类之一，

其适应性极强、生长速度也快、养殖周期也较短，并且广泛的分布于我国沿海地区，有很大的经济价值[32]。近些年来，我国东部沿海地区，贝类养殖生产快速发展，出口规模甚至扩大至欧洲等国家，海水中的贝类养殖已发展成沿海经济带的重要产业之一。但是，部分大中城市近岸局部海域污染程度日益加剧，导致滩涂贝类养殖的生态环境受到严重威胁，贝类产品食用安全性问题越来越受到国内外消费者的高度关注。为了保障消费者身体健康，促进贝类产品出口，提高贝类产品质量安全水平，相关职能部门加强了滩涂贝类养殖区域的环境监控工作，实施了贝类有毒有害物质残留监控计划。但是，现已查明的可能对滩涂贝类产品质量安全产生影响的环境中重金属来源并未列入现有的监控指标和评价体系中，凸显原有的海水滩涂贝类食品安全监控与评价已不适应目前海水滩涂贝类产业发展的需要，也不能满足海水滩涂贝类产地源头食品安全科学管理的要求。

因此，有必要利用Pb同位素组成具有的明显“指纹特征”，根据环境污染物质与其来源区的Pb同位素组成一致性，利用人工模拟水生生态系统的方法，考察不同污染源的Pb在菲律宾蛤仔体内的蓄积状况，分析不同环境介质中的铅在迁移转化过程对贝类富集的影响，追踪铅在生物体内的来源特性及铅同位素特征信息，为建立重金属对海洋环境危害的预警技术提供科技支撑。

## 3.2 实验材料与方法

### 3.2.1 实验材料

菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)，取庄河附近海区；

206Pb标准物质溶液，德国Merck公司；

HDPE聚乙烯水箱，535×390×300，江苏无锡宜兴海逸投资有限公司；

电磁充气泵，AC0-001，上海耀德机电五金有限公司；

聚四氟坩埚，30 mL，广州市源誉塑料包装制品有限公司；

电热板，DB-4, 1300W，常州国华电器有限公司；

硝酸(HNO3)，优级纯，天津科密欧仪器有限公司；

高氯酸(HClO4)优级纯，天津科密欧仪器有限公司；

PET样品瓶，60 mL，广州市源誉塑料包装制品有限公司。

### 3.2.2 实验仪器

pH计，PHS-3C，上海精密科学仪器有限公司；

便携式盐度测试仪，A301729，美国Thermo Eutech公司；

实验室抽滤装置，TT50，北京景辉凯越科技有限公司；

电子分析天平，FA2104A，上海精天电子仪器有限公司；

电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)，Agilent 7500，美国安捷伦科技公司。

## 3.3 实验具体步骤及分析方法

### 3.3.1 菲律宾蛤仔富集Pb的实验步骤

菲律宾蛤仔取自庄河附近海区，菲律宾蛤仔壳长分别为1.0±0.50 cm、2.0±0.45 cm、5.0±0.32 cm，体重分别为0.5±0.12 g、1.0±0.11 g、14.0±0.52 g，实验用海水取自大连市黑石礁近岸海域表层海水，经砂滤后使用，盐度为28.5-29.0, pH为8.1-8.3。取3个尺寸为(40×30×25) cm的聚乙烯水箱，把菲律宾蛤仔按照3种体长的分成3组，平均加入20 L

海水，先在每个水箱里放入3个规格各400只菲律宾蛤仔进行暂养，每24 h换一次水，并

保持充氧状态，水温控制在24.0-25.5℃，在暂养7 d后，取出极少行动异常和死亡的蛤仔，

再抽取每个规格的蛤仔各20只作为样品空白，其余大部分正常蛤仔作为富集实验的对象，准备进行实验。

取同样规格的9个聚乙烯水箱，把每个体长的蛤仔分别再分三组，每个水箱中200只蛤仔，进行分组实验。第一组进行投饵实验，每日投喂含206Pb、207Pb、208Pb标准溶液培养的小球藻为饵料，饵料中Pb的浓度分别为93.287 mg/g和194.452 mg/g，每次投喂3 g饵料，每日定时换水投饵；第二组进行菲律宾蛤仔对海水中溶解态的Pb吸收实验，向海水中加入只含206Pb的标准溶液；第三组投饵和海水中溶解态的Pb吸收实验共同进行。以上各组每24 h换一次水，换水前取水样100 mL。在富集实验的第0、5、10、15、20、30、35 d进行取样，每次随机取20只生长正常的蛤仔，进行蛤仔体内206Pb、207Pb、208Pb的含量检测。

### 3.3.2 菲律宾蛤仔中Pb稳定同位素含量的检测方法

将蛤仔去壳、解剖，然后捣碎、搅匀，称取样品3 g，放至聚四氟坩埚中，在通风橱中对每个坩埚内加入5 mL硝酸， 生物样品和生物空白坩埚在250 ℃下，盖上盖子恒温加

热2-3 h，加热完毕后，每个坩埚分别用加入2 mL高氯酸和2 mL硝酸，2-3h后开盖赶酸，分别加入50 %硝酸与去离子水，反复多次最终定容到PET样品瓶内（瓶已提前称重）30 mL左右，前处理方法均采用重量法剔除误差。到此前处理结束，准备上机待测。对菲律宾蛤仔中Pb同位素含量的测定，用ICP-MS进行检测，养殖蛤仔所用海水的Pb同位素含量分析方法，以及仪器的参数见第二章2.3.2。

### 3.3.3 海水小球藻、菲律宾蛤仔对Pb的富集系数与传递系数的算法

海水小球藻对Pb的富集系数：BCFz = Cz/Cw; (3)

菲律宾蛤仔对Pb的富集系数：BCFB = CB/Cw; (4)

Pb在海水小球藻-菲律宾蛤仔食物链的传递系数：BMF = CB/Cz. （5）

式3-5中：BCFz为海水小球藻对Pb的富集系数；BCFB为菲律宾蛤仔对Pb的富集系数；BMF则表示Pb在海水小球藻-菲律宾蛤仔食物链的传递系数；Cz是海水小球藻吸附的Pb浓度(mg/kg)；CB是菲律宾蛤仔体内富集的Pb浓度(mg/kg)；Cw表示水体中Pb浓度

(mg/L)。

## 3.4 实验结果与讨论

### 3.4.1 海水小球藻-菲律宾蛤仔食物链的富集过程中蛤仔体内Pb含量和溯源研

究

本实验在投饵前，分别离心出浓度为93.287 mg/g和194.452 mg/g的206Pb、207Pb、208Pb

标准溶液的海水小球藻作为饵料，实验设置三种规格的菲律宾蛤仔体长分别为1.0±0.50

cm、2.0±0.45 cm、5.0±0.32 cm，体重分别为0.5±0.12 g、1.0±0.11 g、14.0±0.52 g，每隔24 h换水、投饵，在富集实验的第0、5、10、15、20、30、35 d取菲律宾蛤仔样品20只，用ICP-MS检测其体内的Pb含量随着时间的变化如图6、7所示。可见，随着富集天数的不断增加，蛤仔体内的Pb浓度逐渐增大，实验结果证实菲律宾蛤仔可以通过摄食富集Pb。图6与图7比较可知，蛤仔的大小也是影响富集浓度的因素之一，相比体积小的蛤仔，大蛤仔对Pb表现出较好的耐受能力，并随着蛤仔的规格逐渐增大，大蛤仔体内的富集浓度也比体积小的大；另外，以Pb浓度为194.452 mg/g的海水小球藻作为饵料的菲律宾蛤仔体内浓度，明显大于以吸附浓度为93.287 mg/g的饵料的菲律宾蛤仔，说明饵料中

Pb的含量也影响了菲律宾蛤仔的富集浓度，可见Pb可以沿着海水小球藻-菲律宾蛤仔食物链传递。Pb在水体中的存在形式一般以离子态或是颗粒态吸附在有机体上，菲律宾蛤仔以

滤食形式和直接吸收水中溶解态两个方式吸收重金属，将胃含物中Pb转化为金属硫蛋白逐渐富集到体内[32]。

60



A

50 B

C

Pb concentration(ug/kg)

40

30

20

10

0

0 5 10 15 20 25 30 35

Time (d)

图6投喂Pb浓度为93.287 mg/g的206Pb、207Pb、208Pb标准溶液海水小球藻饵料的菲律宾蛤仔体内Pb

含量

（A）体长：1.0±0.50 cm,体重：0.5±0.12 g (B)体长：2.0±0.45 cm,体重：1.0±0.11 g (C)体长：5.0±0.32cm,

体重：14.0±0.52 g

Fig. 6 Pb content of*Ruditapes philippinarum* which feed with 93.287 mg/g concentration of 206Pb、207Pb、208Pb on *Chlorella*

(A) L: 1.0±0.50 cm, W: 0.5±0.12 g (B) L: 2.0±0.45 cm, W: 1.0±0.11 g (C) L: 5.0±0.32cm, W: 14.0±

0.52 g

100



A

80 B

C

Pb concentration(ug/kg)

60

40

20

0

0 5 10 15 20 25 30 35

Time (d)

图7投喂Pb浓度为194.452 mg/g的206Pb、207Pb、208Pb标准溶液海水小球藻饵料的菲律宾蛤仔体内Pb

含量

（A）体长：1.0±0.50 cm,体重：0.5±0.12 g (B)体长：2.0±0.45 cm,体重：1.0±0.11 g (C)体长：5.0±0.32cm,

体重：14.0±0.52 g

Fig. 7 Pb content of*Ruditapes philippinarum* which feed with 194.452 mg/g concentration of 206Pb、207Pb、208Pb on *Chlorella*

(A) L: 1.0±0.50 cm, W: 0.5±0.12 g (B) L: 2.0±0.45 cm, W: 1.0±0.11 g (C) L: 5.0±0.32cm, W: 14.0±

0.52 g

另外，研究发现Pb可通过食物链累积，并产生生物放大效应，且可用BMF来估算并表示出来，若BMF的计算值大于1，则Pb对菲律宾蛤仔有明显的生物放大作用。王文雄等[122]则证实了海洋生态环境系统中，较高浓度的金属污染物的主要传递因素为食物链，并非环境介质。表4的结果显示在菲律宾蛤仔富集30 d达到富集平衡，随着饵料中Pb浓度由93.287 mg/g上升到194.452 mg/g，蛤仔体内的BCFB减小，可能是由于随着蛤仔不断滤食的Pb含量升高，蛤仔自身调节降低摄食率，加快代谢作用，因此蛤仔体内的Pb生物富集系数就降低。众所周知，生物的积累有毒有害物质的方法主要包括生物富集和生物放大两种。生物富集作用是蛤仔在环境介质生活过程中，通过呼吸或是其他途径对水体中的污染物逐渐吸收并累积，使自身的重金属浓度超过环境介质的现象。本文实验的环境介质是海水，见表4的实验结果可以发现，小球藻和菲律宾蛤仔都可以在水体中直接富集Pb. BCFB主要是描述蛤仔对海水中Pb的富集程度，BMF主要是描述蛤仔对小球藻体饵料中Pb的富集程度。一般来说，金属污染物会随着食物链传递，进入下一营养级的生物，可能产生生物放大作用。见表1与表4，以小球藻和菲律宾蛤仔的BCF值比较，小球藻对Pb的吸附作用远远大于菲律宾蛤蛤仔。由BMF的值可见，菲律宾蛤仔的传递系数均小于1，说明菲律宾蛤仔通过海水小球藻食物链的累积Pb的过程，未明显发生生物放大效应。

表 4 稳态时Pb在海水小球藻-菲律宾蛤仔食物链富集过程中的分布

Tab. 4 The distribution in the erichment process of Pb in food chain on the*Chlorella* - *Ruditapes philippinarum*

At steady state

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 蛤仔规格（cm） | C0(mg/g) | Cw（μg/L） | CB（μg/kg） | BCFB | BMF |
| 1.0±0.50 | 93.287 | 56.961 | 42.038 | 73 | 0.0213 |
| 1.0±0.50 | 194.452 | 124.847 | 72.126 | 58 | 0.0215 |
| 2.0±0.45 | 93.287 | 53.952 | 44.047 | 81 | 0.0236 |
| 2.0±0.45 | 194.452 | 121.772 | 76.228 | 63 | 0.0233 |
| 5.0±0.32 | 93.287 | 53.753 | 44.247 | 82 | 0.0239 |
| 5.0±0.32 | 194.452 | 121.208 | 77.792 | 64 | 0.0236 |
|  |  |  |  |  |  |

表5 说明了菲律宾蛤仔在三种不同的规格下，海水小球藻-菲律宾蛤仔食物链过程中蛤

仔体内206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb同位素比值的范围和均值差别均不明显。可见，不同规格的蛤仔体内的Pb来源一致，对富集浓度的影响主因应仍是富集的途径。表5的所有206Pb/207Pb 范围为0.9529~1.1927，所有207Pb/208Pb 范围为0.9456~1.0207，所有

206Pb/208Pb范围为0.9539~1.2089，均与表2海水小球藻的各Pb同位素背景值范围相近，这可以证实第一组菲律宾蛤仔体内的Pb含量来源是通过海水小球藻-菲律宾蛤仔食物链过程传递而来的。

表5 海水小球藻-菲律宾蛤仔食物链过程中蛤仔体内206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb

比值

Tab. 5 Isotopic ratio of206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb in the *Ruditapes philippinarum* which in the

*Chlorella* - *Ruditapes philippinarum* food chain process

| 蛤仔规格 | 206Pb/207Pb | | 207Pb/208Pb | | 206Pb/208Pb | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| （cm） | 范围 | 均值 | 范围 | 均值 | 范围 | 均值 |
| 1.0±0.50 | 0.9529~1.1173 | 1.0108±0.00 39 | 0.9456~1.0096 | 1.0072±0.00 56 | 0.9539~1.0926 | 0.9819±0.00 42 |
| 2.0±0.45 | 0.9547~1.1927 | 1.0689±0.1002 | 1.0008~1.0136 | 1.0086±0.00 41 | 0.9683~1.2089 | 1.0780±0.0 998 |
| 5.0±0.32 | 0.9537~1.0858 | 1.0226±0.0691 | 1.0000~1.0207 | 1.0121±0.0067 | 0.9670~1.0942 | 1.0347±0.0667 |
|  |  |  |  |  |  |  |

### 3.4.2 206Pb海水-菲律宾蛤仔吸附过程中蛤仔体内Pb含量和溯源研究

为了进一步查明蛤仔的富集含量的途径，是通过海水小球藻-菲律宾蛤仔食物链过程富集，还是从水中的溶解态Pb中直接吸收，本研究设置了第二组实验，同样选取三种规格的菲律宾蛤仔体长分别为1.0±0.50 cm、2.0±0.45 cm、5.0±0.32 cm，体重分别为0.5±0.12 g、1.0±0.11 g、14.0±0.52 g，在饲养菲律宾蛤仔的海水中加入只含206Pb的铅标准物质，不投喂任何饵料，每日换水、通入氧气，饲养35 d，每隔5 d，随机抽取20只蛤仔，测量这组菲律宾蛤仔体内的Pb浓度，结果如图8、9所示。实验结果显示，菲律宾蛤仔可以通过水中直接吸收溶解态的Pb，富集时间对其影响明显，随着天数的增加，体内的Pb浓度明显增大，到富集的第30 d达到富集平衡，但吸收率仅达水体浓度的20%左右。与图6、7比较，菲律宾蛤仔通过食物链富集的Pb含量明显高于在海水溶解态中直接吸收的Pb含量。

15



A B

12 C

Pb concentration(ug/kg)

9

6

3

0

0 5 10 15 20 25 30 35

Time (d)

图8 海水浓度为100μg/L 206Pb的海水中的菲律宾蛤仔体内Pb含量

（A）体长：1.0±0.50 cm,体重：0.5±0.12 g (B)体长：2.0±0.45 cm,体重：1.0±0.11 g (C)体长：5.0±0.32cm,

体重：14.0±0.52 g

Fig.8 The Pb content of the *Ruditapes philippinarum* which lived with 100μg/L 206Pb in the breeding process (A) L: 1.0±0.50 cm, W: 0.5±0.12 g (B) L: 2.0±0.45 cm, W: 1.0±0.11 g (C) L: 5.0±0.32cm, W: 14.0

±0.52 g

25

A B

20 C

15

Pb concentration(ug/kg)

10

5

0

0 5 10 15 20 25 30 35

Time (d)

图9 海水浓度为200μg/L 206Pb的海水中的菲律宾蛤仔体内Pb含量

（A）体长：1.0±0.50 cm,体重：0.5±0.12 g (B)体长：2.0±0.45 cm,体重：1.0±0.11 g (C)体长：5.0±0.32cm,

体重：14.0±0.52 g

Fig.9 The Pb content of the *Ruditapes philippinarum* which lived with 200μg/L 206Pb in the breeding process (A) L: 1.0±0.50 cm, W: 0.5±0.12 g (B) L: 2.0±0.45 cm, W: 1.0±0.11 g (C) L: 5.0±0.32cm, W: 14.0±

0.52 g

表6 为海水中投入206Pb进行菲律宾蛤仔对海水中的溶解态Pb吸收实验，养殖海水中

206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb同位素比值的范围和均值；表7则是在实验进行30 d，蛤仔体内的Pb达到吸附平衡时，菲律宾蛤仔体内206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb同位素比值范围和均值，菲律宾蛤仔体内的206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb同位素比值范围为0.9596~1.6407、0.9629~1.0229、0.9629~1.9850，与表6 中只含206Pb 海水介质中

206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb同位素比值的范围相差甚远，可见菲律宾蛤仔体内Pb

的来源并非是海水中的溶解态Pb。

表6 206Pb海水中206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb同位素比值

Tab. 6 Isotopic ratio of206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb in the seawater which only have 206Pb

| 206Pb/207Pb | | 207Pb/208Pb | |  | 206Pb/208Pb | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 范围 | 均值 | 范围 |  | 均值 | 范围 | 均值 |
| 1.9797~2.9909 | 2.1853±0.7151 | 1.0406~1.0941 | 1.06735±0.0378 | | 2.0601~3.2724 | 2.6662±0.8572 |

根据第二组实验Pb同位素丰度比的范围和均值结果，与第一组实验结果比较并分析，可以判定小球藻-菲律宾蛤仔食物链的传递过程，是海洋生态环境系统中菲律宾蛤仔体内主要的生物富集途径，蛤仔通过呼吸或其他作用可以吸收海水中的溶解态Pb，但吸附浓度只能达到Pb浓度的20%，可见此途径不是菲律宾蛤仔体内富集Pb的主要途径。

表7 在206Pb海水中菲律宾蛤仔体内的206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb同位素比值

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 蛤仔  规格 | 206Pb/207Pb | | 207Pb/208Pb | | 206Pb/208Pb | |
| （cm） | 范围 | 均值 | 范围 | 均值 | 范围 | 均值 |
| 1.0±0.50 | 0.9596~1.1953 | 1.0313±0.0 801 | 1.0027~1.0155 | 1.0086±0.00 51 | 0.9644~1.2985 | 1.0401±0.0726 |
| 2.0±0.45 | 0.9617~1.2073 | 1.1627±0.0031 | 1.0182~1.0229 | 1.0216±0.0032 | 0.9849~1.9850 | 1.2885±0.00 27 |
| 5.0±0.32 | 0.9937~1.6047 | 1.2651±0.0031 | 0.9629~0.9673 | 1.0345±0.003 9 | 0.9629~1.3673 | 1.0651±0.00 23 |
|  |  |  |  |  |  |  |

Tab. 7 Isotopic ratio of206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb in the *Ruditapes philippinarum* which in the seawater only have 206Pb

### 3.4.3 206Pb海水与海水小球藻-菲律宾蛤仔两种富集过程共存蛤仔体内Pb含量和溯源研究

前两部分实验分别讨论菲律宾蛤仔体内Pb含量在海水小球藻-菲律宾蛤仔食物链富集过程和海水中的溶解态Pb直接吸收过程的富集和溯源情况，证实海水小球藻-菲律宾蛤仔

食物链对Pb的富集过程，是海洋生态环境系统中菲律宾蛤仔体内最主要的生物累积途径；同时蛤仔通过呼吸或其他作用可以吸收海水中的溶解态Pb，但富集的量很小。为了更好的模拟实际海洋环境，Pb不可能仅在单一的途径进入蛤仔体内，故设计了第三组实验，仍设置3种规格，菲律宾蛤仔对Pb富集及溯源情况。图10、11分别是在投喂和表面暴露两种情况下，蛤仔体内的Pb浓度。其与海水小球藻-菲律宾蛤仔食物链的富集实验中蛤仔的Pb浓度相比，Pb浓度有所增加；与206Pb养殖海水中的溶解态Pb吸附实验中的蛤仔Pb浓度相比，Pb浓度增加明显；两种浓度共存情况下，第三组蛤仔体内Pb浓度有所增长，但并未发生成倍增长。可见，蛤仔可以从两种途径中富集Pb，但两种传递途径并未产生协同效应。另外，表8是两种条件共存的条件下，菲律宾蛤仔富集30 d达到稳态时，体内Pb含量的分布情况，蛤仔规格并未对蛤仔体内的Pb浓度有所影响；但Pb较高浓度的BCFB值，反而小于初始浓度较低的BCFB值，这可能是蛤仔在Pb含量较高时，自身代谢调节变化造成的。表8与表6相比，BCFB值明显升高，BCFB是反应蛤仔体内对海水中溶解态Pb的富集情况，与表1中BCFZ的值相比，可以发现海水小球藻对水体的中Pb的吸附作用更明显，海水小球藻相对于蛤仔更容易富集水中溶解态的Pb；另外，表中所有的BMF值依然小于1，可见仍未发生明显的生物放大效应。



A B

C

70

60

50

Pb concentration (ug/kg)

40

30

20

10

0

0 5 10 15 20 25 30 35

Time (d)

图10 206Pb为100μg/L海水中，并投喂Pb浓度为93.287 mg/g的206Pb、207Pb、208Pb的海水小球藻的菲律宾蛤仔体内Pb含量

（A）体长：1.0±0.50 cm,体重：0.5±0.12 g (B)体长：2.0±0.45 cm,体重：1.0±0.11 g (C)体长：5.0±0.32cm,

体重：14.0±0.52 g

Fig. 10 In the breeding process of content with 100μg/L 206Pb, the Pb concentration of *philippines* which feed with 93.287 mg/g concentration of 206Pb、207Pb、208Pb on *Chlorella*

(A) L:1.0±0.50 cm, W:0.5±0.12 g (B) L:2.0±0.45 cm, W: 1.0±0.11 g (C) L: 5.0±0.32cm, W: 14.0±0.52 g

100



A B

80 C

Pb concentration(ug/kg)

60

40

20

0

0 5 10 15 20 25 30 35

Time(d)

图11 206Pb含量为100μg/L海水中，并投喂Pb浓度为194.452 mg/g的206Pb、207Pb、208Pb的海水小球藻的菲律宾蛤仔体内Pb含量

（A）体长：1.0±0.50 cm,体重：0.5±0.12 g (B)体长：2.0±0.45 cm,体重：1.0±0.11 g (C)体长：5.0±0.32cm,

体重：14.0±0.52 g

Fig. 11 In the breeding process of content with 100μg/L 206Pb, the Pb concentration of *philippines* which feed with 194.452 mg/g concentration of 206Pb、207Pb、208Pb on *Chlorella*

(A) L: 1.0±0.50 cm, W: 0.5±0.12 g (B) L: 2.0±0.45 cm, W: 1.0±0.11 g (C) L: 5.0±0.32cm, W: 14.0±

0.52 g

表 8 稳态时Pb在206Pb海水与海水小球藻-菲律宾蛤仔传递过程中的分布

Tab. 8 The distribution in the process of Pb on206Pb seawater and Chlorella - Ruditapes philippinarum at steady state

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 蛤仔规格（cm） | C0(mg/g+μg/L) | Cw（μg/L） | CB（μg/kg） | BCFB | BMF |
| 1.0±0.50 | 93.287+100 | 46.202 | 52.798 | 114 | 0.0332 |
| 1.0±0.50 | 194.452+100 | 106.093 | 91.908 | 87 | 0.0321 |
| 2.0±0.45 | 93.287+100 | 41.816 | 56.184 | 134 | 0.0391 |
| 2.0±0.45 | 194.452+100 | 102.215 | 95.785 | 93 | 0.0344 |
| 5.0±0.32 | 93.287+100 | 41.567 | 56.433 | 135 | 0.0393 |
| 5.0±0.32 | 194.452+100 | 101.510 | 96.490 | 95 | 0.0351 |
|  |  |  |  |  |  |

表9为两种富集过程共存的条件下，菲律宾蛤仔体内206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb同位素比值范围和均值。各蛤仔规格之前各同位素的比值范围和均值未见明显差异，蛤仔的大小和生长程度，未对蛤仔体内Pb的来源产生影响。表9显示第三组实验中所有规格菲律宾蛤仔体内206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb 同位素比值范围0.9526~1.2082、

## 1.0041 ~1.2082、0.9639~1.2144，与表6 中第二组实验只含206Pb 海水环境介质中的

206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb 同位素比值的范围1.9797~2.9909、1.0406~1.0941、

2.0601~3.2724相差甚远，但与第一组实验结果的表3海水小球藻-菲律宾蛤仔食物链过程中蛤仔体内的206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb同位素比值范围与均值相近，因此，两种富集途径共存的条件下，菲律宾蛤仔体内Pb的主要途径并非是海水介质中的溶解态Pb，仍是海水小球藻-菲律宾蛤仔食物链过程，且表9所显示的Pb同位素丰度比范围和均值与最初培养海水小球藻中含有206Pb、207Pb、208Pb的标准溶液基本一致。因此，对于菲律宾蛤仔这种典型的滤食性双壳类，食物链是重金属Pb传递的主要途径。

表9 206 Pb海水与海水小球藻-菲律宾蛤仔过程中蛤仔体内的206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb同位素比值

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 蛤仔规格 | 206Pb/207Pb | | 207Pb/208Pb | | 206Pb/208Pb | |
| （cm） | 范围 | 均值 | 范围 | 均值 | 范围 | 均值 |
| 1.0±0.50 | 0.9526~1.1525 | 1.0332±0.0811 | 1.0055~1.0192 | 1.0102±0.0058 | 0.9639~1.1609 | 1.0436±0.0801 |
| 2.0±0.45 | 0.9541~1.1384 | 1.0408±0.1013 | 1.0041~1.0144 | 1.0087±0.0032 | 0.9587~1.1548 | 1.0490±0.1038 |
| 5.0±0.32 | 0.9553~1.2082 | 1.0430±0.9285 | 1.0051~1.0151 | 1.0105±0.0045 | 0.9690~1.2144 | 1.05384±0.0921 |
|  |  |  |  |  |  |  |

Tab. 9 Isotopic ratio of206Pb/207Pb、207Pb/208Pb、206Pb/208Pb in the Ruditapes philippinarum which in the 206Pb seawater and *Chlorella - Ruditapes philippinarum* process

### 3.4.4 菲律宾蛤仔富集平衡后体内Pb的分布情况

以上实验结果显示菲律宾蛤仔可以在30 d达到富集平衡，可通过食物链和吸附两种途径富集颗粒态和溶解态的Pb，且Pb同位素的丰度比值进一步说明海水小球藻-菲律宾蛤仔食物链是蛤仔富集Pb的主要途径。菲律宾蛤仔达到富集平衡的过程中，不断地进行呼吸和代谢，蛤仔体内Pb是主要在消化道中累积，还是可以通过自身的吸收代谢进入其他器官，这对蛤仔等水产品的使用安全有很重要的指导意义。

故本实验选取体长为5.0±0.32 cm，体重14.0±0.52 g的蛤仔进行解剖，分成消化系统和肌肉组织两个部分，所取蛤仔消化系统包括：口、食道、胃和直肠四部分组织；肌肉组织包括：出水管、前闭壳肌、后闭壳肌和斧足四部分，考察Pb在菲律宾蛤仔体内消化系统和肌肉组织的分布情况，如表10所示。菲律宾蛤仔在海水小球藻-菲律宾蛤仔食物链途径a富集达到稳态时，蛤仔体内的Pb含量最大，其中消化系统中所含的Pb含量显著高于肌肉组织，消化系统中Pb含量达到整体浓度的69%，肌肉组织仅占整体的30%，且在含较高的Pb浓度饵料194.452 mg/g投喂条件下，体内Pb含量明显高于饵料中Pb浓度较低的93.287 mg/g投喂条件。在水中206Pb溶解态吸附途径b富集达到稳态时，206Pb浓度增大，

蛤仔体内的整体和消化系统、肌肉组织的Pb含量明显升高，消化系统中Pb含量明显高于肌肉组织，但蛤仔体内的富集率与途径a相比很低，与之前得到的结论一致，可能是由于通过体表吸附或呼吸作用的Pb，未直接进入蛤仔体内仅是吸附在体表，或是通排水代谢出体外，消化系统和肌肉组织中Pb的含量也相对较低。两种共存的c途径下，蛤仔体内Pb总量并未见明显增加，与途径a相比反而降低，可能是在环境中Pb较高的条件下，蛤仔自身的代谢机能调节引起的，但在消化系统中的Pb含量仍占总体含量的71%，为主要的分布位置，相比之下肌肉组织中Pb较低。可见，这三种途径富集条件下，海水小球藻-菲律宾蛤仔食物链仍是蛤仔富集Pb的主要途径，且富集率最高。富集30 d达到平衡时，菲律宾蛤仔体内的Pb分布位置主要在消化系统中，可达Pb富集总量的68%-71%左右，肌肉组织中则可达到体内Pb含量29%-32%。因此，在食用菲律宾蛤仔等贝类水产品时，去掉内脏可以大大降低Pb等重金属的摄入量。

表1 0 稳态时菲律宾蛤仔体内Pb分布情况

Tab. 10 The distribution of Pb content in the*Ruditapes philippinarum* at the steady state

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 富集途径 | Cz(mg/g)/Cw(μg/L) | 消化系统(μg/kg) | 肌肉组织(μg/kg) | 整体(μg/kg) |
| a | 93.287 | 37.627 | 16.483 | 53.753 |
| a | 194.452 | 83.634 | 37.574 | 121.208 |
| b | 100.000 | 7.391 | 3.979 | 11.370 |
| b | 200.000 | 12.110 | 7.113 | 19.220 |
| c | 93.287+100.000 | 28.681 | 12.886 | 41.587 |
| c | 194.452+100.000 | 72.072 | 29.438 | 101.510 |
|  |  |  |  |  |

注：（a）海水小球藻-菲律宾蛤仔过程富集后的菲律宾蛤仔体内Pb含量（b）206Pb海水-菲律宾蛤仔吸附过程富集后的菲律宾蛤仔体内Pb含量（c）206Pb海水与海水小球藻-菲律宾蛤仔食物链共同富集过程的菲律宾蛤仔体内Pb含量

Note: (a) The Pb content in the *Ruditapes philippinarum* after the enrichment through *the Chlorella* - *Ruditapes philippinarum* process (b) The Pb content in the *Ruditapes philippinarum* after the absorption through 206Pb seawater- *Ruditapes philippinarum* process (c) The Pb content in the *Ruditapes philippinarum* after the enrichment through 206Pb seawater and the *Chlorella* - *Ruditapes philippinarum* process

# 第四章 大连典型滩涂养殖区菲律宾蛤仔体内Pb含量和溯源研究

## 4.1 引言

近岸海域的滩涂养殖区是海洋系统中受人类活动影响最严重的区域之一[118]。近些年来，随着我国沿海地区经济的高速发展，海洋资源利用强度不断加大，导致滩涂贝类养殖生态环境受到严重威胁，贝类产品食用安全性问题越来越受到国内外消费者的高度关注。与此同时，由于采矿、冶炼、燃煤和化工等人类活动，大量重金属Pb通过大气沉降、工业废水、地表径流等途径进入到环境中[104]。因此，准确了解滩涂养殖区贝类体内Pb的含量，并追溯Pb的可能来源，对保障消费者身体健康和提高贝类产品质量具有重要意义。

Pb稳定同位素示踪技术是一种有效的Pb污染溯源的方法[123]。Pb同位素质量大，同位素间相对质量差较小，几乎不产生同位素分馏作用，因此Pb同位素组成具有明显的“指纹特征”。通过对样品中Pb同位素组成分析，可以了解样品中Pb的来源[124]。Li等对珠江河口沉积物中Pb同位素比值进行测定，结果显示沉积物表层中的重金属主要来源于周边工业区[125]；尚婷等采用同位素示踪技术对南海表层沉积物Pb来源进行分析，发现不同海区沉积物中的Pb具有相似的主体来源[120]。Spencer等认为海洋生物体内Pb同位素特征值包含了该水域人类活动污染源信息，并且发现监测海域内的鱼类可能受到了多个重金属污染源的污染[121]。本文选取大连近岸海域3个典型的滩涂养殖区，以滩涂养殖的菲律宾蛤仔作为指示生物，监测Pb在菲律宾蛤仔体内含量的变化，并采用Pb稳定同位素示踪技术追溯菲律宾蛤仔体内Pb的可能来源，研究结果可为贝类滩涂养殖生产和水产品产地环境管理提供科学依据。

## 4.2 实验材料与方法

### 4.2.1 采样地点和时间



图11 调查区域及采样点位置

Fig. 11 Monitoring area and sampling stations

选取黄海北部3个典型的大连滩涂贝类养殖区作为采样区域，分别为大连金石滩、大

李家和皮口海区的潮间带区域，调查区域及采样点的具体位置见图1。所有样品采集于2010

年8月、11月和2011年2月、5月。

### 4.2.2 实验材料

菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)，取庄河附近海区；

聚四氟坩埚，30 mL，广州市源誉塑料包装制品有限公司；

电热板，DB-4, 1300W，常州国华电器有限公司；

硝酸(HNO3)，优级纯，天津科密欧仪器有限公司；

高氯酸(HClO4)优级纯，天津科密欧仪器有限公司；

容量瓶（100 mL），蜀牛玻璃仪器有限公司；

PET样品瓶，60 mL，广州市源誉塑料包装制品有限公司

### 4.2.3 样品采集和测定方法

样品的现场采集和前处理方法均按照《海洋监测规范》(GB17378-2007)进行，且所有采集的菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)样品均达到商品规格，同时采集取样点海水和

表层沉积物样品。菲律宾蛤仔和表层沉积物样品中Pb的含量、海水中Pb的含量、2010年11月所采集样品中Pb同位素比值(206Pb/207Pb)均采用电感耦合等离子体质谱仪（Agilent

7500cs）测定，分析方法见第二章2.3.2所示。

## 4.3 结果与讨论

### 4.3.1 金石滩、大李家和皮口滩涂养殖区海水中Pb含量及评价

大连黄海北部3个典型滩涂养殖区海水中Pb含量的周年变化如表11所示。大连金石滩滩涂养殖区海水中Pb含量变化范围为(0.0004~0.0025) mg/L，周年平均值为(0.0013±0.0007)

mg/L；大李家滩涂养殖区海水中Pb含量变化范围为(0.0004~0.0049) mg/L，周年平均值为(0.0019±0.0015) mg/L；皮口滩涂养殖区海水中Pb含量变化范围为(0.0002~0.0044) mg/L，周年平均值为(0.0017±0.0013) mg/L。大连近岸3个典型滩涂贝类养殖区海水中Pb含量的最高值均出现在夏季，最低值均出现在春季。在同一批次的样品中，不同滩涂养殖区海水中

Pb的含量不存在明显差异。按照海域的使用功能和保护目标，适用于水产养殖区的海水水质应达到《海水水质标准》(GB3097-1997)中的二类水质标准要求，海水中Pb的含量应低于

0.005 mg/L。从表1可以看出，本次所监测的黄海北部大连近岸3个典型滩涂养殖区海水中

Pb的周年监测结果均优于国家二类海水水质标准，达到海水养殖生产的水质要求。海水中

Pb含量周年变化的可能影响因素包括底质释放、大气沉降及陆源输入等。由于不同滩涂养殖区海水中Pb的含量在同批次取样中不存在明显差异，表明本次取样的3个采样点的底质对表层海水中Pb含量的影响很小。此外，刘昌岭等[126]在研究黄海海域重金属的大气输入量时发现，大气气溶胶中元素的沉降量春季(3~5月)约占全年的45%，夏季(6~8月)约占全年的20%，这表明黄海海域重金属的大气输入量春季高于夏季，但是我们发现本次监测的滩涂养殖区海水中Pb的含量春季低于夏季，说明大气输入不是影响大连近岸滩涂养殖区海水中Pb含量周年变化的主导因素。天然海水中Pb含量的背景值低于0.000015 mg/L，田琳等[127]在2007年对北黄海海域表层海水中溶解态重金属的调查发现，春季北黄海表层海水中Pb的含量为(0.00035±0.00022) mg/L，秋季为(0.0004±0.00068) mg/L，远高于天然海水中Pb的背景值，且海水中溶解态重金属的含量呈现出沿岸海区高，中央海区低，浓度自近岸向远海逐渐减少的趋势，研究者认为北黄海表层海水中Pb的含量受沿岸人类活动影响较为明显。我们也认为大连北黄海滩涂贝类养殖区海水中Pb含量的周年变化应与陆源输入有关，地表径流的携带作用可能是导致夏秋季大连滩涂贝类养殖区海水中Pb含量高于冬春季的

原因。

表11 大连典型滩涂养殖区海水中Pb含量

Tab. 11 Lead concentrations in seawater in Dalian typical coastculture areas

|  |  | C/mg·L -1 |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 采样时间 |  |  |  |
| 2010-08 (夏季) | 金石滩  0.0025 | 大李家  0.0049 | 皮口  0.0044 |
| 2010-11 (秋季) | 0.0015 | 0.0013 | 0.0013 |
| 2011-02 (冬季) | 0.0009 | 0.0012 | 0.0010 |
| 2011-05 (春季) | 0.0004 | 0.0004 | 0.0002 |
|  |  |  |  |

### 4.3.2 金石滩、大李家和皮口滩涂养殖区表层沉积物中Pb含量及评价

大连黄海北部3个典型滩涂养殖区表层沉积物中Pb含量的变化如表12所示。大连金石滩滩涂养殖区表层沉积物中Pb含量周年变化范围为(10.1~17.0)×10 -6，平均值为(13.2±2.9)×10 -6；大李家滩涂养殖区表层沉积物中Pb含量周年变化范围为(11.9~14.4)×10 -6，平均值为(13.5±0.8)×10 -6；皮口滩涂养殖区表层沉积物中Pb含量周年变化范围为(12.4~18.3)×10 -6，平均值为(15.5±2.5)×10 -6。李淑媛等[128]调查认为北黄海细颗粒沉积物中Pb环境背景值为(11.92~20.58)×10 -6，其在1994年对北黄海海域表层沉积物中Pb的调查发现，沉积物Pb平均含量为23.46×10 -6，变化范围在(10.52~71.20)×10 -6。杜俊涛等[129]在2007年10月调查发现北黄海表层沉积物Pb平均含量为(25.2±2.4)×10 -6，含量范围为(11.6~44.3)×10 -6，

Pb含量与东海、南海含量相当，但明显高于渤海。郭福星等[130]于2009年5月对黄海表层沉积物中Pb含量进行调查分析，发现Pb平均含量为17.64×10 -6，变化范围为(8.13~33.38)×10 -6。通过与前人的工作对比可知，大连黄海北部典型滩涂养殖区表层沉积物中Pb含量与环境背景相同，未出现明显差异。此外，从表2还可以看出，各取样点表层沉积物中Pb含量的差异也并不显著。采用《海洋沉积物质量》(GB18668-2002)中的评价指标对大连金石滩、大李家和皮口滩涂养殖区表层沉积物中Pb含量进行评价，可知三个滩涂养殖区周年内Pb含量均符合国家一类海洋沉积物质量标准(Pb≤60.0×10-6)。

表12 大连典型滩涂养殖区表层沉积物中Pb的含量(鲜重)

Tab. 12 Lead concentrations in surface sediment in Dalian typical coastculture areas

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 采样时间 | 金石滩 | W/×10 -6  大李家 | 皮口 |
|  | 2010-08 (夏季) | 10.5 | 11.9 | 18.3 |  |
|  | 2010-11 (秋季) | 15.1 | 14.4 | 16.7 |  |
|  | 2011-02 (冬季) | 17.0 | 13.6 | 12.7 |  |
|  | 2011-05 (春季) | 10.1 | 14.1 | 12.4 |  |
|  |  |  |  |  |  |

为了进一步探讨表层沉积物中Pb可能对滩涂养殖生物造成的危害，可采用潜在生态风险系数法对大连近岸滩涂养殖区表层沉积物中Pb进行污染评价，该方法计算公式为[144]：

*i* i *Ci*

*Er* *Tr* *i*

*C*

*n*

式中：*E i*为表层沉积物中重金属的潜在生态风险系数；*T i*为毒物毒性响应系数，Pb的值

*r* r

选定为5[129]；*C i*为Pb的实测浓度；*C i* 为国际上常用的全球工业化前沉积物中重金属最高

*n*

背景值，Pb的值选定为25 mg/kg[129]。沉积物中重金属潜在生态风险程度的划分标准见表13，大连近岸3个典型滩涂养殖区表层沉积物中Pb的潜在生态风险评价分析结果见表14。

表13 沉积物中重金属潜在Th态风险程度的划分标准

Tab. 13 Classification for the potential ecological risk of heavy metals in the sediments

| E i r | <40 | 40~80 | 80~160 | 160~320 | ≥320 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Th态风险 | 轻微 | 中等 | 较重 | 重 | 严重 |

表14 大连典型滩涂养殖区表层沉积物中Pb的潜在Th态风险评价结果

Tab. 14 Assessment of potential ecological risk of lead in surface sediments of Dalian typical coastculture areas

| 调查区域 | 金石滩 |  | 大李家 |  | 皮口 | | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| E i 范围  r  2.0~3.4 | 均值  2.6 |  | 范围  2.4~2.9 | 均值  2.7 |  | 范围  2.5~3.7 | 均值  3.1 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
| Th态风险评价结果 | 轻微 |  | 轻微 |  | 轻微 | | |
|  |  |  |  |  |  | | |

由表14可知，以重金属的潜在生态风险系数法来评价大连近岸3个典型滩涂养殖区表层沉积物中Pb的生态风险，可见在周年内Pb的潜在生态风险系数*E i*的范围2.0~3.7，均属于轻微生态风险程度。杜俊涛等[129]监测发现北黄海表层沉积物中重金属Pb的潜在生态风险系数*E i*范围为2.33~8.85，平均值为5.03。孙钦帮等[131]认为大连小窑湾海域表层沉积物重金属污染程度和潜在的生态风险指数的高低趋势基本在空间分布上保持一致，Pb潜在生态风险系数*E i*的平均值为3.53，此结果与我们的研究相近。

*r*

*r*

*r*

### 4.3.3 金石滩、大李家和皮口滩涂养殖区菲律宾蛤仔体内Pb含量及评价

大连黄海北部3个典型滩涂养殖区菲律宾蛤仔体内Pb含量的周年变化如表15所示。大连金石滩滩涂养殖区菲律宾蛤仔体内Pb含量周年变化范围为(0.052~0.296)×10 -6，平均值为(0.169±0.072)×10 -6；大李家滩涂养殖区菲律宾蛤仔体内Pb含量周年变化范围为(0.105~0.364)×10 -6，平均值为(0.199±0.083)×10 -6；皮口滩涂养殖区菲律宾蛤仔体内Pb含量周年变化范围为(0.155~0.227)×10 -6，平均值为(0.198±0.027)×10 -6。由表14可知，大连黄海北部3个典型滩涂养殖区菲律宾蛤仔体内Pb含量的周年变化未见明显规律性。

表15 大连典型滩涂养殖区菲律宾蛤仔体内中Pb的含量(鲜重)

Tab. 15 Lead concentrations in*R. philippinarum* in Dalian typical coastculture areas

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  |  | W/×10 -6 |  |
| 采样时间 | 金石滩 | 大李家 | 皮口 |
| 2010-08 (夏季) | 0.142 | 0.129 | 0.224 |
| 2010-11 (秋季) | 0.184 | 0.364 | 0.155 |
| 2011-02 (冬季) | 0.296 | 0.198 | 0.227 |
| 2011-05 (春季) | 0.052 | 0.105 | 0.187 |
|  |  |  |  |

参照《农产品安全质量无公害水产品安全要求》(GB 18406.4-2001)的评价标准，贝类体内Pb的标准限量应小于0.5×10 -6，本次所监测的黄海北部大连近岸3个典型滩涂养殖区菲律宾蛤仔体内Pb的含量周年内均小于无公害水产品的限量标准。刘现明等[132]在1990年对辽宁沿岸海域贝类体内重金属含量进行调查发现，庄河沿岸海域菲律宾蛤仔体内Pb含量为0.13×10 -6，皮口海域为0.10×10 -6，大孤ft海域为0.16×10 -6。薛克等[133的研究认为大连小平岛采集的菲律宾蛤仔体内Pb 含量为0.050×10 -6，大连湾采集的菲律宾蛤仔体内

Pb含量为0.040×10 -6，庄河海洋岛采集的菲律宾蛤仔体内Pb含量为0.028×10 -6。贺广凯[134]

通过调查认为黄渤海沿岸经济贝类体中菲律宾蛤仔体内Pb 含量变化范围为

（0.05~0.62）×10 -6，平均值为0.24×10 -6。近期，庞艳华等[135]对大连近岸海域双壳贝类重金属污染调查发现，庄河海域菲律宾蛤仔体内Pb含量为0.149×10 -6，旅顺海域菲律宾蛤仔体内

Pb含量为0.301×10 -6.

对生物体内非遗传毒性物质和非致癌物的风险评估，通常方法是根据联合国粮农组织

（FAO）和世界卫生组织(WHO)规定的每天允许摄入量(*ADI*)与人体每天实际摄入水平(*EDI*)进行比较，FAO/WHO规定Pb的*ADI*为0.0036 mg/kg body weight/day。人体每天实际摄入水平*EDI*计算公式为[151]：

*EDI**CB**DC*

*BW*

其中：*CB*为贝类体内金属元素的平均含量(mg·kg -1 wet weight)；*DC*为每天人均贝类摄食量，按照FAO（2008）公布的中国人均每天贝类摄食量是29 g[136]；*BW*为目标人群平均体重，中国人均体重为58.1 kg[134]。以本次所监测的大连近岸3个典型滩涂养殖区菲律宾蛤仔体内Pb 的周年平均含量计算的*EDI* 为0.000942 mg/kg body weight/day，远小于

FAO/WHO规定的每天允许摄入量，表明本监测区域内菲律宾蛤仔体内Pb的含量不会对食用者身体健康产生风险。

### 4.3.4 金石滩、大李家和皮口滩涂养殖区菲律宾蛤仔体内Pb的溯源

环境中Pb含量的增加很大程度上是人类活动所造成的，环境中Pb污染主要来自于含

Pb汽油的使用、燃煤飞灰和工业排放，这3种污染源的206Pb/207Pb同位素比值的大致范围分别是1.06～1.08，l.14～1.22和1.14～1.18[137]。不同来源Pb同位素的组成差异与Pb迁移过程中物理化学条件的变化没有关联，且受后期地球化学作用影响很小。所以，根据测定出研究对象和各种可能源区的Pb同位素组成，可利用Pb同位素比值追溯Pb污染途径和污染方式。表16为2010年11月大连典型滩涂养殖区海水、表层沉积物和菲律宾蛤仔体内206Pb/207Pb同位素比值，菲律宾蛤仔体内206Pb/207Pb同位素比值的均值（1.1875）与表层沉积物的206Pb/207Pb均值相近（1.1656），但与海水的206Pb/207Pb均值（1.1130）相差较大，说明滩涂养殖的菲律宾蛤仔体内的Pb主要来源于表层沉积物。此外，菲律宾蛤仔体内206Pb/207Pb同位素比值与燃煤飞灰和工业排放源的比值相近，但对表层海水中Pb含量评价中，我们认为大气输入不是影响大连近岸滩涂养殖区海水中Pb含量周年变化的主导因素，因此工业排放应是滩涂重金属Pb的主要来源，也表明需要建立贝类滩涂养殖产地的环境管理体系。

表16 大连典型滩涂养殖区海水、表层沉积物和菲律宾蛤仔体内206Pb/207Pb同位素比值

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 采样地点 | 海水 | | 表层沉积物 | | 菲律宾蛤仔 | |
| 范围 | 均值 | 范围 | 均值 | 范围 | 均值 |
| 金石滩 | 1.0843~1.1364 | 1.1098±0.0211 | 1.1711~1.1764 | 1.1775±0.0022 | 1.1819~1.1865 | 1.1842±0.0017 |
| 大李家 | 1.1127~1.1592 | 1.1135±0.0166 | 1.1540~1.1617 | 1.1561±0.0045 | 1.1807~1.1872 | 1.1840±0.0038 |
| 皮口 | 1.1438~1.1845 | 1.1156±0.0187 | 1.1609~1.1683 | 1.1632±0.0044 | 1.1899~1.1986 | 1.1943±0.0064 |
|  |  |  |  |  |  |  |

Tab. 16 Isotopic ratio of206Pb/207Pb in seawater, surface sediment and *R. philippinarum* in Dalian typical coastculture areas

# 第五章 结论与建议

## 5.1 结论

（1）随着Pb浓度增加，小球藻的吸光值和密度均逐渐减小，不同浓度的Pb均对小球藻的生长有胁迫作用；且结果显示小球藻可以在短时间内吸附Pb，在不同Pb浓度下生长的小球藻在第1 d即可吸附水体Pb浓度的一半，Pb胁迫下的海水小球藻在2-8 d逐渐达到吸附平衡，在12-16 d逐渐达到稳定，且吸附率较高，均可达到82%-95%；培养小球藻的Pb同位素比值范围范围均在海水的环境背景范围内，证实了小球藻体内铅是通过吸附海水中的溶解态Pb得到的。

（2）菲律宾蛤仔常以滤食和直接吸收水中溶解态金属离子两个方式吸收重金属，研究结果说明206Pb海水-菲律宾蛤仔吸附过程可以吸附一定浓度的Pb，但富集浓度仅达到水体的

20%，小球藻-菲律宾蛤仔食物链富集过程才是菲律宾蛤仔体内Pb污染来源的主要途径。菲律宾蛤仔达到富集平衡的过程中，Pb富集总量的68%-71%左右，肌肉组织中仅达到体内Pb含量29%-32%，蛤仔体内的消化系统是Pb富集的主要位置。

（3）通过对大连黄海北部3个典型滩涂养殖区（金石滩、大李家和皮口）海水、表层沉积物和菲律宾蛤仔样品中Pb含量进行了周年监测，结果表明本次监测区域内未出现重金属

Pb污染；同时按照FAO/WHO推荐的贝类体内重金属元素风险评估方法，研究发现监测区域内菲律宾蛤仔体内铅的含量不会对人体健康产生危害；并对3个典型滩涂养殖区菲律宾蛤仔体内Pb的进行溯源研究，发现滩涂养殖区表层沉积物中的Pb对菲律宾蛤仔的影响较大，且工业排放应是滩涂重金属Pb的主要来源。

## 5.2 建议

本文只研究了海水-小球藻-菲律宾蛤仔的食物链富集过程，菲律宾蛤仔体内Pb的富集含量和溯源研究，同时考察了菲律宾蛤仔对Pb达到富集平衡时，体内Pb的分布情况。在以后的研究中可把沉积物加入模拟实验中，研究海洋中沉积物对Pb的吸附动力学研究。

参考文献

[1]杨红梅，路远发. 铅同位素示踪技术在重金属污染研究中的应用[J]. 华南地质与矿产, 2004，(4)：71-77.

[2]路远发， 杨红梅， 周国华， 等. 杭州市土壤铅污染的铅同位素示踪研究[J]. 第四纪研究, 2005, 25,

(3):355-362.

[3] Cao M S, Zhang D H. A survey of blood lead concentration in children. Chinese Nursing Research [J]. 2003, 17(3A): 266-270.

[4] Wang J D, Liu J S, Yu J B, et al. Temporal and special distribution of lead in air in Shenyang city[J]. Urban Environment and Urban Ecoogy, 2003, 16( Supp l.): 1-3 .

[5] Zou C C, Zou C J, Zhao Z Y, et al. A survey of blood lead concentration in 636 children at the age of 0 to 15 in Hangzhou[J]. Chinese Journal of Epidemiology, 2003, 24(11): 998-1002.

[6] Fu J L, Zhang M K, Li R. Study on chemical forms and solubility of lead in urban soils in Hangzhou city, China[J]. Journal of Zhejiang University, 2004, 30(3): 305-310.

[7] Chen H S, Pei H D, Zhang X Y. Pb, Sr isotope tracing for lead pollution in the soil of Hangzhou city[J]. Geology of Zhejiang, 1999, 15(1): 43-48.

[8] 杨忠芳， 朱立， 陈岳龙. 现代环境地球化学[M]. 北京： 北京地质出版社, 1999。

[9] 王斌. 蓝色的呼唤-海洋环境亟待保护[J]. 绿色中国, 2005, 13: 50-54.

[10] 洪华生， 陈宗团. 海岸带综合管理中面临的科学问题[J]. 海洋开发与管理, 1998, 1: 28-31.

[11] 张小平. 广东省近岸海域环境污染现状及防治[J]. 环境技术, 2002, 5: 46-48.

[12]国家海洋局. 2008年中国海洋环境质量公报， 北京：2009。

[13] Langston W J. Toxic effects of metals and the incidence of metal pollution in marine ecosystems[J]. Heavy metals in the marine environment, 1990,:101-122.

[14] 贺鸿志， 李华寿， 向文洲. 影响赤潮的化学因素研究进展[J]. 海洋科学, 2008, 32(11): 69-73.

[15] 陈静生. 环境地球化学[M]. 北京：海洋出版社, 1990。

[16] 庚晋， 周洁. 重金属污染触目惊心[J]. 金属世界, 2002, 2, 14-15.

[17] 孙云明， 刘会峦. 海洋中的主要化学污染物及其危害[J]. 化学教育, 2001, 22(7)： 1-4.

[18] Wang W X, Fisher, N S. Delineating metal accumulation path ways for marine invertebrates[J]. Science of The Total Environment, 1999, 23(8): 459-472 .

[19] 陈履安. 重金属的生物地球化学循环[J]. 贵州地质, 1998, 15(1): 71-78.

[20]吴瑜端. 海洋环境化学[M]. 北京：科学出版社, 1982。

[21]李永棋， 丁美丽. 海洋污染生物学[M]. 海洋出版社, 1991。

[22]杨永强. 珠江口及近海沉积物中重金属元素的分布、赋存形态及其潜在生态风险评价[D]. 广州：中国科学院广州地球化学研究所, 2007。

[23] Jose M, Jose U, Ignacio G. Heavy metal distribution in marine sediments from the southwest coast of Spain[J]. Chemosphere, 2004, 55: 431-442.

[24]李玉， 俞志明， 宋秀贤. 运用主成分分析(PCA)评价海洋沉积物中重金属污染光源[J]. 环境科学，

2006, 27(1): 137-141.

[25] Spokes L, Jickells T, Jarvis K. Atmospheric inputs of trace metals to the northeast Atlantic Ocean: the importance of southeasterly flow[J]. Marine Chemistry, 2001, 76(4): 319-330.

[26] Zhang J, Huang W W. Transport of particulate heavy metals towards the China Sea: a preliminary study and comparison[J]. Marine chemistry, 1992, 40: 161-178.

[27] Birch G F, Evenden D, Teutsch M E. Dominance of point source in heavy metal distributions in sediments of a major Sydney estuary (Australia)[J]. Environmental Geology, 1996, 28(4): 160-174.

[28] Celo V, Babi D, Baraj B, et al. An assessment of Heavy metal pollution in the sediment along the Albanian Coast[J]. Water, Air and Soil Pollution, 1999, 111: 235-250.

[29]刘琼玉，洪华生， 洪丽玉. 厦门西海域表层沉积物重金属的分布特征及来源探讨[J]. 海洋通报, 1995，

14(6): 46-52.

[30] Abdel-Hamid M I. Water quality of the River Nile in EgyPt. Water fertility and toxicity evaluated by analgal growth potential test[J]. Archivfer drobiologie Supplement, 1992, 90(3): 311-337.

[31]吕瑞华， 夏滨， 李宝华， 等. 渤海水域初级生产力10年间的变化[J]. 黄渤海海洋, 1999, 7(3): 80-86.

[32]汪远丽. 重金属在小球藻-菲律宾蛤仔食物链上的累积与传递研究[D]. 青岛： 中国海洋大学, 2011。

[33] Chojnacka K, Chojnackj A, Gorecka H. Biosorption of Cr3+, Cd2+and Cu2+ ions by blue-reen algae Spirulina sp: kinetics, equilibrium and the mechanism of the process[J]. Chemosphere, 2005, 59 (1): 75-84.

[34]浩云涛， 李建宏， 潘欣， 等. 椭圆小球藻(*Chlorella ellipsoidea*)对4种重金属的耐受性及富集[J]. 湖

泊科学, 2001, 13(2): 158-162.

[35]张亚楠. 绿色巴夫藻的重金属胁迫效应及吸附能力的研究[J]. 暨南大学学报, 2003, 7(2)：35。

[36]李英敏，杨海波，吕福荣. 叉鞭金藻对微量锌、锡的吸附效应研究[J]. 环境污染与防治, 2004, 26(5)：396-399.

[37] Rainbow P S. 海洋生物对重金属的积累及意义[J]. 海洋环境科学, 1992, 11(1): 44-52.

[38]吴玉霖，崔可铎，赵鸿儒，等. 渤海无脊椎动物体内痕量金属含量的研究[J]. 海洋与湖沼, 1986, 17(6)：539-547.

[39] Frenzilli G, Bocchetti R, Pagliarecci M, et a1. Time-course evaluation of ROS-mediated toxicity in mussels, Mytilus galloprovincialis, during a field translocation experiment[J]. marine environmental research, 2004, 58: 609- 613.

[40] Goldberg E D. International Mussel Watch Project: initial implementation phase, final report[C]. NOAA Technical Memorandum NOS ORCA 95. Silver Spring, MD: US Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration. Office of Ocean Resources Conservation and Assessment, National Ocean Service. 1995, 7-13.

[41] Kimbrough K L, Lauenstein G G, Christensen J D, et a1. An assessment of two decades of contaminant monitoring in the Nation's Coastal Zone[C]. NOAA Technical Memorandum NOS-NCCOS 74. Silver Spring, MD: NOAA. National Centers for Coastal Ocean Science, 2008, 105.

[42] Lima D, Santos M M, Ferreira A M, et a1. The use of the shanny Lipophrys pholis for pollution monitoring: A new sentinel species for the northwestern European marine ecosystems[J]. Environment International, 2008, 34: 94-101.

[43] Christopher J S, Gail M D. Biomonitoring of Environmental Status and Trends(BEST) Program: Selected Methods for Monitoring Chemical Contaminants and their Effects in Aquatic Ecosystems[R]. U. S. Department of the Interior, U. S. Geological Survey, Biological Resources Division, 2000.

[44] Lionetto M G, Giordano R, Caricato R, et a1. Biomonitoring of heavy metal contamination along the Salerno coast(Italy) by metallothionein evaluation in Mytilus galloprovincialis and Mullus barbatus[J]. Aquatic Conservation: Marine Freshwater Ecosystems, 2001, 11: 305-310.

[45] Catsiki V A, Florou H. Study on the behavior of the heavy metals Cu, Cr, Ni, Zn, Fe, Mn and137Cs in an estuarine ecosystem using Mytilus galloprovincialis as a bioindicator species: the case of Thermaikos gulf, Greece[J]. Environmental Radiact, 2006, 86: 31-44.

[46]庄启谦， 崔可铎. 胶州湾沧口潮间带生态学研究[J]. 海洋科学集刊, 1984, 22: 79-94.

[47]蔡立哲，洪华生，黄玉ft. 香港维多利亚港大型底栖生物群落的时空变[J]. 海洋学报, 1997, 19(2)：65-70.

[48]刘明星， 李国基， 顾宏堪. 渤海鱼类、甲壳动物、软体动物的痕量金属含量[J]. 环境科学学报, 1983，

3(2): 149-155.

[49]崔可铎，吴玉霖，赵鸿儒，等. 镉､铜､铅､镍､铬在毛蚶体内积累、分布和排出实验研究[J]. 海洋科学集刊, 1987, 28: 97-107.

[50] Amiard-Triquet C, Berthet B, Metayer C, et al. ontribution to the ecotoxic olo gical study of cadium, copper and zinc in the mussel Mytilus edulis[J]. Experimental Study Marine Biology, 1986, 92: 7-13.

[51] Chan H M. Accumulation and lolerance to cadmium, copper, lead and zinc by the green mussel perna viridis[J]. Marine Ecology Progress Series, 1988, 48: 295-303.

[52]刘琼玉， 洪华生， 蔡立哲. 重金属锌、铅对菲律宾蛤仔的急性毒性试验[J]. 台湾海峡, 1997, 16（1）：

50-54.

[53]叶思源，原晓军，丁喜桂，等. 胶州湾水生系统中Pb, Zn的分布特征及其在生物体中的浓缩[J]. 海洋与湖沼, 2009, 40(4)：400-406.

[54]蔡立哲， 洪华生， 洪丽玉. 菲律宾蛤仔对锌、铅的积累特征[J]. 环境科学学报, 1999, 19(3): 319-322.

[55] Tan W H, Lim L H. The tolerance to and uptake of lead in the green mussel, perna viridis (L.) [J]. Aquaculture, 1984, 42: 317-332.

[56]张毅， 唐晓冬， 杨春和. 渤海湾砷的生物富集及其在底泥中的积累[J]. 海洋环境科学, 1990, 9（4）：

24-29.

[57] Qi Z Y, Ma X T. A study of the family dentaliidae (molusca) found in China. Chinese Journal of Oceanology and Limnology[J]. 1989, 7(2): 112-122.

[58]殷邦忠， 滕瑜， 王家林， 等. 菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)低温保活方法的研究[J]. 中国水

产科学, 1996, 3(1): 88-94.

[59] Banerjee S. A simple method for determining bioconcentration parameters of hydrophobic compounds[J]. Environment Science and Technology, 1984, 18(2): 79-81.

[60] Eisler. Trace metal concentrations in marine organism[M]. New York: Pergrn on Press, 1981.

[61] Langston W J. Biological factors involved in metal concentrations observed in aquatic organisms[J]. Chichester, England. 1995, 407-478.

[62] Wang W X, Fisher N S. Assimilation of trace elements by the mussel mytilus: effects of diatom chemical composition[J]. Marine Biology, 1996, 125: 715-724.

[63] Reinfelder J R., Fisher N S. Retention of elements absorbed by juvenile fish (Menidia menidia, Menidia beryllina) from zooplankton prey[J]. Limnology Oceanography, 1994, 39: 1783-1789.

[64] Phillips D W. Quantitative aquatic biological indicators: their use to monitor trace metal and organochlorine pollution[M]. London: Applied Science Publishers, 1980.

[65] Bjerregaard P, Depledge M H. Cadmium accumulation in Littorina littorea, Mytilus edulis and Carcinus maenas: the influence of salinity and cadmium ion concentrations[J]. Marine Biology, 1994(119): 385-395.

[66] Zarnuda C D, Wright D A, Smucker R A. The importance of dissolved organic compounds in the accumulation of copper by the American oyster, Crassostrea vrginica[J]. marine environmental research, 1985, (16): 1-12.

[67] Bass L E. Influence of temperature and salinity on oxygen consumption of tissues in the American oyster (Crassostrea virginica)[J]. Comparative and Biochemical Physiology, 1977, (58): 125-130.

[68] Alongi D M, Boyle S G, Tierendi F. Composition and behavior of trace metals in postoxic sediments of the Gulf of Papua, Papua New Guinea[J]. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 1996 (42): 197-211.

[69] Owens R E, Balls P W. Dissolved trace metals in the Tay Estuary[J]. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 1997, (44): 421-434.

[70] Zanders I P, Rojas W E. Salinity effects on cadmium accumulation in various tissues of the tropical fiddler crab Uca rapax[J]. Environmental Pollution, 1996, 94(3): 293-299.

[71] Simkiss K. Ecotoxicants at the eell-membrane barrier. In: Newman M C, Jagoe C H, eds[J]. Ecotoxieology, A Hierarchical Treatment, Boca Raton: Lewis Publishers, 1996: 59-83.

[72] Luoma S N, Johns C, Fisher N S. Determination of selenitum bioavailability to abenthic bivalve from partieulate and solute pathways[J]. Environmental Science and Technology, 1992, 26: 485-491.

[73] Wang W X, Fisher N S, Luoma S N. Kinetic detenninations of trace element bioaccumulation in the mussel Mytilus[J]. Marine Ecology Progress Series, 1996, 140: 91-113.

[74] Wang W X, Griseom S B, Fisher N S. Bioavailability of Cr(Ⅲ) and Cr(Ⅵ) to marine mussels from solute

And particulate pathways[J]. Environmental Science and Technology. 1997, 31: 603-611.

[75]魏益民，郭波莉，潘家荣. 同位素指纹分析技术在食品产地溯源中的应用进展[J]. 农业工程学报, 2007, 23(3)：284-289.

[76]杨同华， 刘福旭. 稳定同位素[M]. 北京： 北京原子能出版社, 1988。

[77]王福钧. 农学中同位素示踪技术[M]. 北京： 北京农业出版社, 1989。

[78]肖敏. 沉积物重金属污染源的铅同位素示踪研究[J]. 现代商贸工业, 2011, 23: 322-323.

[79] Kornexl B E. Thomas Werner Andreas Rossmann, Hanns-Ludwig Schmidt. Measurement of stable isotope abundances in milk and milk ingredients a possible tool for origin assignment and quality control[J]. Zeitschrift für Leben smitte l untersuchung und-Forschung A, 1997, 205: 19-24.

[80]张国平， 刘丛强， 杨元根， 吴攀. 碳酸盐岩地区铅锌矿ft水系中铅、锌、铜的迁移及其硫同位素示踪

[J]. 矿物学报, 2002, 22(3): 249-254.

[81]胡忻，曹密. 南京市内河道沉积物中重金属元素形态及Pb稳定同位素组成[J]. 环境科学研究, 2009, 22(4)：398-403.

[82]刘恩峰， 沈吉， 朱育新. 重金属元素BCR 提取法及在太湖沉积物研究中的应用[J]. 环境科学研究，

2005, 18(2): 57-60.

[83]曾凡萍，肖化云，周文斌. 乐安江河水和沉积物中Cu, Pb, Zn的时空变化特征及来源分析[J]. 环境科学研究, 2007, 20(6)：14-20.

[84] LI R Y, YANG H, ZHOU Z G, et al. Fractionation of heavy metals in Sediments from Dianchi Lake, China[J]. Pedosphere, 2007, 17(2): 265-272.

[85] Houk R S, Fassel V A, Flesch G D, et al. Talor[J]. Analytical Chemistry, 1980, 52(14): 2283-2289.

[86] Barnes R M, 2000 Winter Conterenceon Plasma Sepctrochemisty-atimetorefresh[J]. Analytical Chemistry, 2000, 368(1): 1-3.

[87] Wang, J. Microwave digestion with HNO3/H2O2 mixture at high temperatures for determination of trace elements in coal by ICP-OES and ICP-MS[J]. Analytical Chemistry Acta 2004(514), 115-124.

[88]西安电炉研究所和第一机械工业部技术情报所主编.感应加热技术应用及其设备设计经验[M]. 北

京： 北京机械工业出版社, 1975。

[89] Furuta N. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy[J]. Sinence, 1986, 41B: 1115-1118.

[90] Boumans P W J. Theory of Spectrochemi Cal Excitation[M]. Now York: Hilger Watts, London plenum press, 1966.

[91]孙瑾， 陈春英， 李玉锋， 等. 超声波辅助溶剂萃取-电感耦合等离子体质谱法测定生物样品中的总汞

和甲基汞[J]. 光谱学与光谱分析, 2007,1(27): 173-176.

[92]施意华， 杨仲平， 熊传信， 等. 蒸馏分离-电感耦合等离子体质谱法测定地球化学样品中痕量钌和锇

[J]. 岩矿测试, 2010, 4(29): 350-354.

[93]刘红妮， 孙震威. ICP-MS测量自来水中的金属元素[J]. 光谱实验室, 2012, 1(29): 125-127.

[94]张建平，庄峙厦，陈成祥，等. 大鼠体内铅镉分布的稳定同位素示踪ICP-MS研究[J]. 分析测试学报, 2008, 8(27)：835-838.

[95] Becker J. State-of-the-art and progress in precise and accurate isotope ratio measurements by ICP-MS and LA-ICP-MS[J]. Analytical Atomic Spectrometry, 2002, 17(9): 1172-1185.

[96] Xie Q L, Kerrich R J. Isotope ratio measurement by hexapole ICP-MS: mass bias effect, precision and accuracy[J]. Analytical Atomic Spectrometry, 2002, 17(1): 69-74.

[97] Townsend A T, Snape I J. The use of Pb isotope ratios determined by magnetic sector ICP-MS for tracing Pb pollution in marine sediments near Casey Station, East Antarctica[J] Analytical Atomic Spectrometry, 2002, 17(8): 922-928.

[98]高志友， 尹观， 倪师军， 等. 成都市城市环境铅同位素地球化学特征[J]. 材料物理与化学, 2004，

4(23): 268-272.

[99]高志友，尹观. 铅同位素在示踪城市环境污染源研究中的应用[J]. 广东微量元素科学, 2005, 7(12)：17-21.

[100]唐艳凌， 章光新. 基于稳定性同位素示踪的流域颗粒有机物质来源辨析[J]. 中国环境科学, 2010，

30(9): 1257-1267.

[101]于瑞莲，胡恭任，袁星，等. 大气降尘中重金属污染源解析研究进展[J]. 地球与环境, 2009, 1(37)：73-79.

[102]胡忻， 曹密. 南京市内河道沉积物中重金属元素形态及Pb稳定同位素组成[J]. 环境科学研究, 2009，

4(22): 398-403.

[103]王碗， 刘咸德. 北京冬季颗粒物中铅德同位素丰度比的测定和来源研究[J]. 质谱学报. 2002, 23（1）：

21-29.

[104]魏益民， 李勇， 郭波丽. 植源性食品污染源-溯源技术研究[M]. 北京：科学出版社, 2010。

[105]孙丰梅，杨曙明，王慧文. 稳定同位素溯源技术在肉类产品中的应用研究进展[J]. 食品与发酵工程, 2007, 9(33)：136-141.

[106] Amarasiriwardena D, Durrant S F, Barnes R M, et al. Stable isotope variation as a tool to trace the authenticity of beef[J]. Microchimical Journal. 1997, 56: 352-372.

[107]江天久， 牛涛. 重金属Cu2+, Pb2+和Zn2+胁迫对近江牡蛎SOD活性影响研究[J]. 生态环境, 2006,

15(2): 289-294.

[108] Abdel-Hamid M I. Water quality of the River Nile in EgyPt. Water fertility and toxicity evaluated by analgal growth potential test[J]. Archivfer drobiologie Supplement, 1992, 90(3): 311-337.

[109] Harvey H W. Manganese and growth of PhytoPlankton. J. Mar[J]. Biol. Assoe. U. K, 1947,26:562-579.

[110] Davies, A. G. Pollution studies with marine plankton[J]. Heavy metals Publish: Academic Pressn Inc. London(UK). 1978, 15: 381-508.

[111] Lu C M, Chau C W, Zhang J H. Acute toxieity of exeess mercury on the Photosynthetic performance[J]. Chemosphere, 2000, 41: 191-196.

[112] OsePh W R, Tomas E J. The toxicological response of the alga Anabaena flos-aquae to cadmium[J]. Archives of environmental toxicology, 1984, 3: 143-15.

[113]周名江， 颜天. 中国海洋生态毒理学的研究进展[J]. 环境科学研究, 1997, 10(3)：1-6.

[114]王王文. 海洋生态毒理学的研究进展[J]. 国外医学卫生分册, 2002, 29(1): 15-19.

[115]潘进芬， 林荣根. 海洋微藻吸附重金属的机理研究[J]. 海洋科学, 2000, 24(2): 31-34.

[116] Yun Y S, Volesky B. Modeling of lithium interfereence in cadmium biosorption. Environmental Science and Technology[J]. 2003, 37(16): 3601-3608.

[117]周银环， 刘东超. 4种微量元素对绿色巴夫藻生长、叶绿素a及大小的影响[J]. 湛江海洋大学学报，

2003, 23(1): 22-28.

[118] Halpern B S, Walbridge S, Selkoe K A, et al. A global map of human impact on marine ecosystems[J]. Science, 2008, 319(5865): 948–952.

[119]国家海洋局, 2010年中国海洋环境质量公报[R], 2011.

[120]尚婷，朱赖民，高志友，等. 南海表层沉积物Pb的环境质量状况及其来源的Pb同位素示踪[J]. 地质评论, 2008, 54(1)：71-81.

[121] Spencer K, Shafer D J, Gauldie R W, et al. Stable lead isotope ratios from distinct anthropogenic sources in fish otoliths: a potential nursery ground stock marker[J]. Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, 2000, 127(3): 273–284.

[122] 王文雄， 潘进芬. 重金属在食物链中的传递[J]. 生态学报, 2004, 24(3): 599-603.

[123] Gulson B L, Tiller K G, Mizon K J, et al. Use of lead isotopes in soils to identify the source of lead contamination near Adelaide, South Australia[J]. Environmental Science and Technology, 1981, 15: 691-696.

[124]陈好寿， 斐辉东， 张霄宇. 杭州市区土壤Pb, 锶同位素示踪研究[J]. 浙江地质, 1999, 15(1): 43-48.

[125] Li X D, Shen Z G, Wai O W H, et al. Chemical forms of Pb, Zn and Cu in the sediment profiles of the Pearl River Estuary[J]. Marine Pollution Bulletin, 2001, 42(3): 215-223.

[126]昌岭， 张经， 于志刚. 黄海海域大气气溶胶特征及重金属的大气输入量研究[J]. 海洋环境科学，

1998, 17(4): 1-6.

[127]田琳，陈洪涛，杜俊涛，等. 北黄海表层海水溶解态重金属的分布特征及其影响因素[J]. 中国海洋大学学报, 2009, 39(4)：617-622.

[128]李淑媛，苗丰民，刘国贤. 北黄海沉积物中重金属分布及环境背景值[J]. 黄渤海海洋, 1994, 12(3)：20-24.

[129]杜俊涛， 陈洪涛， 田琳. 北黄海表层沉积物中重金属含量及其污染评价[J]. 中国海洋大学学报，

2010, 40(增刊): 167-172.

[130]郭福星，吕颂辉，滕德强，等. 黄海表层沉积物中重金属的分布特征与生态风险评价[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(15)：9212-9216.

[131]孙钦帮，王阳，李德鹏，等. 大连小窑湾海域表层沉积物重金属潜在生态风险评价[J]. 海洋环境科学, 2012, 31(3)：333-336.

[132]刘现明，吴世培. 辽宁沿岸海域重金属和石油污染的生物指示种初步研究[J]. 黄渤海海洋, 1995, 13(3)：40-46.

[133]薛克， 韩家波， 庄人沁. 辽宁沿海贝类体内重金属含量分析[J]. 水产科学, 1994, 13(2): 16-19.

[134]贺广凯. 黄渤海沿岸经济贝类体中重金属残留量水平[J]. 中国环境科学, 1996, 16(2)：96-100.

[135]庞艳华，隋凯，王秋艳，等. 大连近岸海域双壳贝类重金属污染调查与评价[J]. 海洋环境科学, 2012, 31(3)：410-413.

[136] 刘丹. 大连金石滩海区石油污染对潮间带环境质量的影响与评价[D]. 大连: 大连海洋大学, 2012.

[137]于瑞莲，胡恭任，袁星，等. 同位素示踪技术在沉积物重金属污染溯源中的应用[J]. 地球与环境, 2008, 36(3)：245-250.

# 攻读学位期间发表的论文目录

1. 王华，**石振家**，刘萱，杨凤，赵力强，王立军.大连典型滩涂养殖区菲律宾蛤仔体内Pb

含量及溯源，海洋环境科学，***2014***, 33(1)：78-82；

2. 刘萱，王华，于春艳，**石振家**，葛林科，刘慧.两种微藻胞外分泌物与NO2-、NO3-对2, 4-D

光解的影响，环境科学学报，***2014***，34(4)：944-949.

# 独创性说明

作者郑重声明：本硕士论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包括其他人已经发表或撰写的研究成果，也不包含为获得大连海洋大学或其他单位的学位或证书所使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的贡献均已在论文中做了明确的说明并表示了谢意。

作者签名：

年月日

# 学位论文版权使用授权书

本学位论文作者和指导教师完全了解大连海洋大学有关保留、使用学位论文的规定：即学校有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的纸质版和电子版，允许论文被查阅和借阅。本人同意大连海洋大学可以将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索、交流。

学位论文作者签名：导师签名：

签字日期：签字日期：

致 谢

感谢国家海洋环境监测中心海洋化学室提供的实验环境和设备条件，感谢辽宁省教育厅计划项目(L2011117)；辽宁省科学事业公益研究基金项目

（2012005002）；国家海洋公益性行业科研专项（200905020）的资助，使本研究得以顺利进行并取得了一些结果。

感谢导师王华副教授，在这几年中对我学习和生活中给予了莫大的帮助和无微不至的关怀，在此致以最崇高的敬意和最诚挚的感谢。

本论文是在导师王华副教授的严格要求和悉心指导下完成的。从论文选题，到实验设计、结果凝练和文章润色等方面，每一处都凝结着导师的心血。导师严谨的治学态度、活跃的学术思想以及追求完美的科研精神使我受益匪浅，为我今后的学习、工作和生活树立了榜样。

感谢国家海洋环境监测中心的王立军老师、李文君师姐、贺广凯老师、张哲师兄的指导和帮助。在论文实验过程中，他们给予了我很多技术上的支持和帮助，在此表示深深的谢意。

衷心感谢校实验室的各位师弟师妹和中心实验室的同学们，在此向刘萱、姚婷、李凯等，表示由衷的感谢，祝愿你们前程似锦，也祝愿中心实验室这个和谐互助、团结友爱的大家庭有着更加灿烂辉煌的明天。

特别感谢我的父母，是他们时时刻刻的理解、支持与鼓励，使我全身心投入到学习和研究之中，他们是我前进的动力。

深深的感谢所有在学习、工作和生活中给予我帮助的老师和同学朋友们。感谢大连海洋大学的培养和教育。

附录1：

1号海水小球藻Pb=0μg/L (10\*40)

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 接种  天数 | 稀释  倍数 | 第 1  视野 | 第 2  视野 | 第 3  视野 | 第 4  视野 | 第 5  视野 | 第 6  视野 | 第 7  视野 | 第 8  视野 | 第 9  视野 | 第 10  视野 | 合  计 |
| 1 | 5 | 10 | 8 | 12 | 9 | 11 | 10 | 13 | 7 | 10 | 8 | 98 |
| 2 | 5 | 12 | 11 | 10 | 13 | 9 | 11 | 12 | 10 | 13 | 9 | 110 |
| 4 | 5 | 10 | 11 | 12 | 13 | 11 | 11 | 10 | 12 | 11 | 14 | 115 |
| 6 | 15 | 12 | 12 | 14 | 13 | 14 | 14 | 15 | 13 | 15 | 15 | 137 |
| 8 | 15 | 15 | 14 | 17 | 15 | 14 | 17 | 15 | 15 | 16 | 11 | 149 |
| 10 | 25 | 10 | 12 | 12 | 10 | 11 | 12 | 9 | 10 | 12 | 12 | 110 |
| 12 | 25 | 12 | 11 | 10 | 12 | 13 | 13 | 9 | 13 | 12 | 11 | 116 |
| 14 | 30 | 11 | 13 | 14 | 11 | 14 | 14 | 13 | 12 | 13 | 12 | 127 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

2号海水小球藻Pb=0μg/L (10\*40)

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 接种  天数 | 稀释  倍数 | 第 1  视野 | 第 2  视野 | 第 3  视野 | 第 4  视野 | 第 5  视野 | 第 6  视野 | 第 7  视野 | 第 8  视野 | 第 9  视野 | 第 10  视野 | 合  计 |
| 1 | 5 | 8 | 8 | 8 | 7 | 9 | 6 | 10 | 9 | 7 | 7 | 79 |
| 2 | 5 | 12 | 9 | 11 | 13 | 10 | 10 | 12 | 11 | 10 | 10 | 108 |
| 4 | 5 | 10 | 14 | 13 | 11 | 12 | 9 | 15 | 12 | 13 | 11 | 120 |
| 6 | 15 | 11 | 12 | 13 | 10 | 11 | 12 | 10 | 12 | 12 | 10 | 113 |
| 8 | 15 | 11 | 13 | 14 | 10 | 14 | 14 | 12 | 13 | 13 | 12 | 126 |
| 10 | 25 | 11 | 9 | 8 | 12 | 12 | 11 | 10 | 12 | 11 | 10 | 106 |
| 12 | 25 | 11 | 13 | 12 | 10 | 11 | 12 | 10 | 12 | 12 | 11 | 114 |
| 14 | 30 | 9 | 14 | 10 | 13 | 15 | 12 | 11 | 11 | 13 | 12 | 120 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

3号海水小球藻Pb=40μg/L (10\*40)

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 接种  天数 | 稀释  倍数 | 第 1  视野 | 第 2  视野 | 第 3  视野 | 第 4  视野 | 第 5  视野 | 第 6  视野 | 第 7  视野 | 第 8  视野 | 第 9  视野 | 第 10  视野 | 合  计 |
| 1 | 5 | 9 | 10 | 8 | 8 | 6 | 7 | 7 | 6 | 8 | 6 | 75 |
| 2 | 5 | 10 | 8 | 9 | 9 | 9 | 8 | 7 | 10 | 11 | 8 | 89 |
| 4 | 5 | 10 | 9 | 8 | 12 | 13 | 11 | 10 | 12 | 11 | 10 | 106 |
| 6 | 15 | 11 | 13 | 14 | 10 | 15 | 14 | 13 | 12 | 13 | 12 | 127 |
| 8 | 15 | 12 | 11 | 11 | 12 | 13 | 13 | 11 | 13 | 12 | 11 | 119 |
| 10 | 25 | 11 | 8 | 10 | 10 | 8 | 9 | 9 | 8 | 8 | 7 | 88 |
| 12 | 25 | 10 | 9 | 9 | 12 | 13 | 11 | 10 | 12 | 11 | 10 | 107 |
| 14 | 30 | 10 | 11 | 12 | 10 | 13 | 12 | 11 | 12 | 11 | 12 | 114 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

4号海水小球藻Pb=40μg/L (10\*40)

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 接种  天数 | 稀释  倍数 | 第 1  视野 | 第 2  视野 | 第 3  视野 | 第 4  视野 | 第 5  视野 | 第 6  视野 | 第 7  视野 | 第 8  视野 | 第 9  视野 | 第 10  视野 | 合  计 |
| 1 | 5 | 9 | 8 | 8 | 7 | 6 | 8 | 8 | 7 | 7 | 8 | 76 |
| 2 | 5 | 9 | 11 | 10 | 8 | 12 | 11 | 9 | 10 | 10 | 11 | 101 |
| 4 | 5 | 12 | 10 | 11 | 12 | 13 | 13 | 9 | 13 | 12 | 11 | 116 |
| 6 | 15 | 9 | 11 | 10 | 8 | 12 | 11 | 10 | 10 | 10 | 11 | 102 |
| 8 | 15 | 11 | 13 | 12 | 10 | 11 | 12 | 10 | 12 | 12 | 11 | 114 |
| 10 | 25 | 10 | 8 | 9 | 9 | 11 | 8 | 8 | 10 | 11 | 8 | 92 |
| 12 | 25 | 12 | 11 | 11 | 13 | 9 | 11 | 12 | 10 | 13 | 9 | 111 |
| 14 | 30 | 13 | 11 | 12 | 10 | 11 | 12 | 10 | 12 | 12 | 11 | 114 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

5号海水小球藻Pb=100μg/L (10\*40)

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 接种  天数 | 稀释  倍数 | 第 1  视野 | 第 2  视野 | 第 3  视野 | 第 4  视野 | 第 5  视野 | 第 6  视野 | 第 7  视野 | 第 8  视野 | 第 9  视野 | 第 10  视野 | 合  计 |
| 1 | 5 | 7 | 7 | 6 | 8 | 5 | 7 | 8 | 9 | 6 | 5 | 68 |
| 2 | 5 | 9 | 10 | 8 | 8 | 6 | 7 | 7 | 6 | 8 | 6 | 75 |
| 4 | 5 | 7 | 9 | 8 | 8 | 9 | 10 | 8 | 10 | 7 | 11 | 87 |
| 6 | 15 | 10 | 9 | 8 | 12 | 12 | 11 | 10 | 12 | 11 | 9 | 104 |
| 8 | 15 | 9 | 10 | 10 | 8 | 12 | 11 | 10 | 10 | 10 | 11 | 101 |
| 10 | 25 | 8 | 9 | 10 | 8 | 7 | 6 | 7 | 9 | 11 | 10 | 85 |
| 12 | 25 | 10 | 8 | 9 | 9 | 11 | 8 | 8 | 10 | 11 | 9 | 93 |
| 14 | 30 | 10 | 8 | 12 | 9 | 11 | 10 | 13 | 7 | 10 | 8 | 98 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

6号海水小球藻Pb=100μg/L (10\*40)

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 接种  天数 | 稀释  倍数 | 第 1  视野 | 第 2  视野 | 第 3  视野 | 第 4  视野 | 第 5  视野 | 第 6  视野 | 第 7  视野 | 第 8  视野 | 第 9  视野 | 第 10  视野 | 合  计 |
| 1 | 5 | 7 | 8 | 6 | 7 | 8 | 7 | 8 | 7 | 8 | 7 | 73 |
| 2 | 5 | 6 | 7 | 8 | 10 | 9 | 6 | 7 | 8 | 8 | 6 | 75 |
| 4 | 5 | 10 | 9 | 8 | 12 | 13 | 11 | 10 | 12 | 11 | 8 | 104 |
| 6 | 15 | 8 | 12 | 9 | 11 | 10 | 12 | 11 | 12 | 8 | 10 | 103 |
| 8 | 15 | 9 | 10 | 10 | 8 | 12 | 11 | 10 | 10 | 10 | 11 | 101 |
| 10 | 25 | 10 | 8 | 9 | 9 | 11 | 8 | 7 | 10 | 11 | 8 | 91 |
| 12 | 25 | 10 | 8 | 12 | 9 | 11 | 10 | 13 | 7 | 10 | 8 | 98 |
| 14 | 30 | 9 | 10 | 10 | 8 | 12 | 11 | 11 | 10 | 11 | 10 | 102 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

7号海水小球藻Pb=140μg/L (10\*40)

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 接种  天数 | 稀释  倍数 | 第 1  视野 | 第 2  视野 | 第 3  视野 | 第 4  视野 | 第 5  视野 | 第 6  视野 | 第 7  视野 | 第 8  视野 | 第 9  视野 | 第 10  视野 | 合  计 |
| 1 | 5 | 7 | 7 | 6 | 8 | 7 | 8 | 6 | 6 | 8 | 7 | 70 |
| 2 | 5 | 6 | 8 | 7 | 8 | 5 | 8 | 7 | 7 | 7 | 8 | 71 |
| 4 | 5 | 7 | 7 | 8 | 8 | 7 | 5 | 8 | 7 | 8 | 7 | 72 |
| 6 | 15 | 9 | 10 | 8 | 8 | 9 | 11 | 10 | 8 | 11 | 10 | 94 |
| 8 | 15 | 9 | 10 | 8 | 8 | 10 | 11 | 10 | 8 | 11 | 10 | 95 |
| 10 | 25 | 8 | 8 | 10 | 8 | 7 | 5 | 7 | 9 | 11 | 10 | 83 |
| 12 | 25 | 7 | 9 | 8 | 8 | 9 | 10 | 8 | 10 | 7 | 11 | 87 |
| 14 | 30 | 11 | 9 | 8 | 8 | 9 | 9 | 8 | 9 | 10 | 9 | 90 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

8号海水小球藻Pb=140μg/L (10\*40)

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 接种  天数 | 稀释  倍数 | 第 1  视野 | 第 2  视野 | 第 3  视野 | 第 4  视野 | 第 5  视野 | 第 6  视野 | 第 7  视野 | 第 8  视野 | 第 9  视野 | 第 10  视野 | 合  计 |
| 1 | 5 | 5 | 9 | 7 | 7 | 5 | 8 | 6 | 6 | 8 | 7 | 68 |
| 2 | 5 | 7 | 7 | 6 | 8 | 7 | 8 | 6 | 6 | 8 | 7 | 70 |
| 4 | 5 | 7 | 8 | 7 | 6 | 8 | 8 | 7 | 6 | 6 | 8 | 71 |
| 6 | 15 | 10 | 8 | 9 | 9 | 11 | 8 | 8 | 10 | 11 | 8 | 92 |
| 8 | 15 | 7 | 9 | 8 | 8 | 9 | 10 | 8 | 10 | 7 | 11 | 87 |
| 10 | 25 | 9 | 8 | 8 | 7 | 8 | 6 | 10 | 9 | 7 | 7 | 79 |
| 12 | 25 | 10 | 8 | 9 | 9 | 9 | 8 | 7 | 10 | 11 | 8 | 89 |
| 14 | 30 | 11 | 9 | 8 | 8 | 9 | 9 | 8 | 9 | 10 | 9 | 90 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

9号海水小球藻Pb=200μg/L (10\*40)

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 接种  天数 | 稀释  倍数 | 第 1  视野 | 第 2  视野 | 第 3  视野 | 第 4  视野 | 第 5  视野 | 第 6  视野 | 第 7  视野 | 第 8  视野 | 第 9  视野 | 第 10  视野 | 合  计 |
| 1 | 5 | 6 | 8 | 7 | 8 | 5 | 8 | 7 | 7 | 7 | 8 | 71 |
| 2 | 5 | 6 | 9 | 8 | 6 | 7 | 8 | 6 | 7 | 8 | 8 | 73 |
| 4 | 5 | 7 | 9 | 8 | 9 | 8 | 9 | 8 | 9 | 7 | 8 | 82 |
| 6 | 15 | 9 | 8 | 8 | 7 | 6 | 8 | 8 | 8 | 7 | 7 | 76 |
| 8 | 15 | 9 | 7 | 8 | 8 | 6 | 10 | 11 | 5 | 7 | 9 | 80 |
| 10 | 25 | 8 | 5 | 6 | 6 | 7 | 5 | 6 | 5 | 6 | 5 | 59 |
| 12 | 25 | 7 | 8 | 6 | 7 | 7 | 8 | 6 | 6 | 7 | 8 | 70 |
| 14 | 30 | 7 | 7 | 8 | 8 | 7 | 5 | 8 | 7 | 8 | 7 | 72 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

10号海水小球藻Pb=200μg/L (10\*40)

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 接种  天数 | 稀释  倍数 | 第 1  视野 | 第 2  视野 | 第 3  视野 | 第 4  视野 | 第 5  视野 | 第 6  视野 | 第 7  视野 | 第 8  视野 | 第 9  视野 | 第 10  视野 | 合  计 |
| 1 | 5 | 7 | 7 | 7 | 8 | 8 | 5 | 8 | 7 | 8 | 7 | 72 |
| 2 | 5 | 6 | 8 | 8 | 8 | 7 | 7 | 8 | 7 | 8 | 7 | 74 |
| 4 | 5 | 6 | 8 | 7 | 8 | 5 | 8 | 7 | 7 | 7 | 8 | 71 |
| 6 | 15 | 6 | 6 | 6 | 5 | 6 | 6 | 7 | 5 | 5 | 5 | 57 |
| 8 | 15 | 6 | 7 | 8 | 5 | 5 | 6 | 6 | 6 | 8 | 8 | 65 |
| 10 | 25 | 7 | 6 | 6 | 5 | 6 | 6 | 7 | 5 | 5 | 4 | 57 |
| 12 | 25 | 7 | 6 | 6 | 5 | 8 | 6 | 7 | 5 | 6 | 6 | 62 |
| 14 | 30 | 7 | 8 | 6 | 7 | 7 | 8 | 6 | 6 | 7 | 8 | 70 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

附录2：

**微藻培养与计数的实验具体步骤及算法：**

**1.药品与器材**

**1.1药品：**

（1）康威生长激素：A 液：FeCl3•6H2O(1.3g)；MnCl2•4H2O (0.36g) ；H3BO3(33.6g)；

EDTA (40.5g); NaH2PO4•2H2O (20g); NaNO3 (100g)；

B 液：1~10ml 纯水至 1000ml ; ZnCl2(2.1g) ; CoCl2•6H2O(2.1g) ；

CuSO4•5H2O(2.0g); (NH4) 6MQ7O24.4H2O (2.1g)。

（2）氢氧化钠溶液(250g/L)：称取25g氢氧化钠溶于100ml纯水中；

（3）硫酸溶液(1+3)：在搅拌下将1体积的浓硫酸倒入3体积的水中；

（4）硫代硫酸钠标准溶液(0.010246mol/L)：取自大连海洋大学水化学实验室；

（5）淀粉溶液(5g/L)：称取0.5g可溶性淀粉，先用少量纯水调成糊状，加入50ml

的煮沸的纯水，煮沸至透明，冷却后加入0.5ml冰醋酸，稀释至100ml；

（6）高锰酸钾贮备溶液：称取3.2g高锰酸钾，溶于1.2L水中，加热煮沸，使体积减少到1L，在暗处放置过夜。若有沉淀出现，可静置令其沉降后，取其上清液贮于棕色瓶中备用；

（7）高锰酸钾标准溶液(0.01mol/L): 吸取0.1 mol/L高锰酸钾溶液100mL于1000mL

容量瓶中，用纯水稀释至标线，摇匀。

（8）碘化钾固体

**1.2器材：**

5L大的三角瓶，小烧杯，25mL碱式滴定管，250mL锥形瓶，电炉，移液管，吸量管，计数板(0.1mL)，显微镜，分光光度计，100mL的带盖塑料瓶，离心机。

**2.实验步骤**

**2.1消毒**

（1）5L三角瓶消毒：在三角瓶中加入2L的纯水，在电炉上加热，至沸腾继续加热持续20-30min，使蒸汽完全上升至瓶上部，使瓶完全消毒；

（2）海水消毒：每个三角烧瓶中加入2L的海水，加热至沸腾，持续沸腾3-5min，

即可封口，冷却后次日上午接种。

**2.2接种**

（1）6个三角烧瓶中分别加入已经消毒的海水2L，并按1: 1000的量加入康威营养

盐2mL，摇匀，并标志1- 10号。

（2）按1:10的量接种：

在1-10瓶中分别放入200mL的小球藻；

（3）摇匀，并注上接种日期

**2.3计数**

（1）稀释：根据藻类的密度情况，进行不同倍数的稀释，使每个视野在8-15个为宜。

（2）计数：在培养液中一滴碘溶液，将藻类全部杀死，用滴管吸取0.1mL，滴入计数板中。在计数板上任取10个视野（在计数板的不同位置），数出其个数并计数。

（3）藻类密度计算公式：

藻类密度（个/ml）=（400×总数）/（0.152×0.1×视野个数）×稀释倍数；总数=10个视野数出的总个数；

视野个数=10（每种藻类每个视野的个数详见附录一）注：以上微藻的密度计数结果适用于10×40倍物镜。