

生物富集

- 在研究有机污染物对水生生态系统的危害时，人们发现，某些化学品虽然按通常的急性和慢性毒性测定标准处于对生物无害的安全水平，却能够通过生物富集作用使其在水生生物体内达到很高的浓度，并对以此为食的生物产生危害。典型的例子是有机氯农药在鱼体中的富集，导致以鱼为食的鸟类的减少。了解化学品在周围环境中与水生生物体内的富集之间的相互关系，能够帮助我们更合理地制定有害污染物的环境管理标准，较早地对潜在的污染问题提出警告，对于维护环境安全和人民身体健康具有重要意义。

生物富集的概念

有机化合物在水生生物和水体之间的平衡分配过程称为生物富集 (bioconcentration), 又称生物浓缩, 它是生物积累的重要形式。生物富集常用富集因子或浓缩系数来表示。在稳态平衡时, 化学物质在生物体内浓度和在水环境中浓度的比例常数即为生物富集因子, 用 BCF 表示。BCF 也可以认为是生物对化合物的吸收速率与化合物在生物体内净化速率之比:

$$\text{BCF} = \frac{\text{平衡时化学物质在生物体内浓度(湿重)}}{\text{化学物质在水体中浓度}} \quad (8-1)$$

BCF是估算水生生物富集化学物质能力的一个量度，是描述化学物质在生物体内累积趋势的重要指标。如根据IRPTC的资料，生活在PCB含量为1 $\mu\text{g/L}$ ，水中的鱼类，28 d后的富集系数为水体中含量的37 000倍，再放回不含PCB的清洁水中84 d以后的净化率为61%，生物体中能积累有机化合物的组织，包括类脂物、蛋白质、糖酶和一些特殊的聚合物如木质素和角质。

不同物种上述成分的含量有很大差异，对于动物而言，蛋白质通常是主要成分，其次是碳水化合物，还有各种脂类成分。树木中基本上没有蛋白质，而具有维管束的陆生植物主要是由木质素(约1/3)和碳水化合物组成，尤其是纤维素和半纤维素。当生物体暴露于相同的环境中，有机污染物在生物体的不同有机介质中的分配程度是不同的，由此导致单位质量或单位体积中化合物质量的显著差异。水生生物在水体中对化学物质的吸收和积累作用，往往是通过水和脂肪之间的分配来完成的。

生物富集机理与模型

- 人们曾普遍认为，有机化合物在水生生物体内的富集，主要是通过生物食物链方式进行营养迁移，或通过生物放大作用进行的，而且它们在生物体内不同组织中的浓度分布无规律可言。这就给人们评价有机化合物在水生生物中的分布带来了极大的困难。1971年，Hamelink等人通过实验发现，疏水性化合物被鱼体组织吸收，主要是通过水和血液中脂肪层两相之间的平衡交换方式进行的。后来，许多学者的研究也证实了这一结论的正确性，他们明确指出，有机化合物的生物累积主要是通过分配作用进入水生有机体内的脂肪中。这是一个崭新的观念，在有机化合物的迁移转化研究中，具有很高的应用价值。
- 根据这一论点，人们开始了有机物的生物累积量和生物体内脂类含量之间响应关系的研究。结果表明，它们有极好的相关性，这一观点和有机物分配到土壤有机相中去的观念十分类似，并由此建立了有机物生物富集的疏水模型。

疏水模型

疏水模型是研究生物富集的经典模型,该模型认为生物富集是化学物质在暴露水中和水生生物的一类脂物两相的分配过程,没有生理障碍阻止化学物质的积累,假设富集速率主要由化学物质浓度梯度和在水及类脂物两相的分配决定。疏水模型从数学上讲是一室模型,由进入水生生物体的富集速率常数(k_u)和释放速率常数(k_e)来描述,生物富集可以认为是富集和释放速率竞争的结果,即:



疏水模型的动力学简化

化合物在水生生物体内浓度的变化可以用一级动力学方程表示：

$$\frac{dc_{\text{org}}}{dt} = k_u c_w - k_e c_{\text{org}} \quad (8-2)$$

式中： c_w 和 c_{org} 分别代表化合物在水相和水生生物体内的浓度。

当暴露浓度恒定时，上式积分为：

$$c_{\text{org}} = \frac{k_u}{k_e} c_w (1 - e^{-k_e t}) \quad (8-3)$$

当生物富集过程达到平衡状态时，水生生物体内化合物的浓度 c_{org} 不再随时间改变，即：

$$dc_{\text{org}}/dt = 0 \quad (8-4)$$

上式简化为：

$$\frac{c_{\text{org}}}{c_w} = \frac{k_u}{k_e} = \text{BCF} \quad (8-5)$$

疏水模型的假定

- 疏水模型的基本假设为:生物体是一个良好的混合反应器, 化合物向鱼体的富集和释放遵循一级动力学, BCF和暴露浓度无关;富集速率仅由扩散限制, 在水生生物类脂物和水两相的平衡仅仅由化学物质的疏水性和类脂物含量控制;忽略代谢作用。支持疏水模型最有力的证据是众多发表的 $1gK_{ow}$ 和 $1gBCF$ 的相关性, 这意味着辛醇-水系统和鱼的类脂物-水系统相近。
- 疏水模型认为生物体的代谢对水-生物体类脂物的分配平衡常数没有影响。疏水模型是一个极端简化的生物富集模型, 与在实际环境中发生的过程可能有很大差异。虽然疏水模型有种种不足, 这种简化的数学计算方法有助于我们定性地理解在野外监测过程中观察到的现象。

鱼体富集动力学模型

- Gobas等1986年提出了化合物在水相和鱼的类脂物层由扩散控制的摄取和释放动力学:

$$k_u = \frac{1}{\frac{\delta_w}{D_w} + \frac{\delta_m}{K_m D_m}} \cdot \frac{A}{F} \quad (8-6)$$

$$k_e = \frac{1}{\frac{\delta_w}{D_w} + \frac{\delta_m}{K_m D_m}} \cdot \frac{1}{(1-\alpha) + \alpha K_m} \cdot \frac{A}{F} \quad (8-7)$$

式中: δ_w 和 δ_m ——分别代表化合物在水层和类脂物层扩散的距离, m;

D_w 和 D_m ——分别代表相应层的扩散系数, $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$;

K_m ——化合物的类脂物/水分配系数;

A ——鱼鳃的表面积, m^2 ;

F ——鱼的质量, kg;

α ——鱼的类脂物含量, $\text{kg}(\text{类脂物}) \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

生物膜的透过机理

- 生物膜是生物体的重要保护屏障，化学物质进入生物体被生物富集，首先要透过生物膜。了解化学物质透过生物膜的机理是认识生物富集的基础。
- 生物膜是由脂质双分子层和蛋白质镶嵌掺杂形成的动态复合体系，不同的化合物透过生物膜的机理不同。
- 化学物质透过生物膜的机理有多种类型，概括起来可分成3类: **被动输送**〔如单一扩散、流动输送、膜电荷受控扩散、脂质层受控扩散、媒介送、交换扩散等); **主动输送**(如能动载体输送); **细胞吞吐**(如胞饮作用、胞噬作用等)。
- 大部分有机污染物质是生物生命过程中不需要的物质，其透过生物膜的机理以被动输送为主，因此，这里主要讨论被动输送。

生物组织中化合物的富集机理

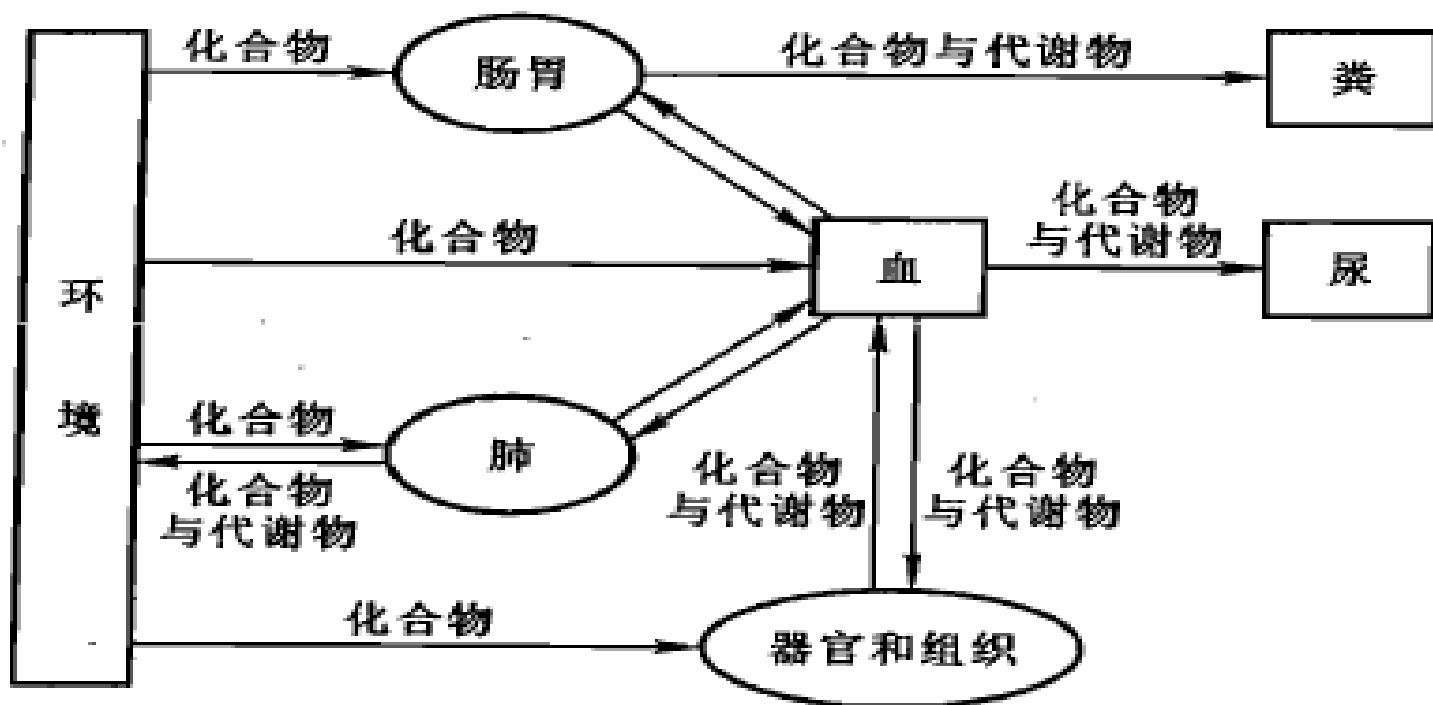


图 8-5 环境中化合物的富集途径
(引自胡西城、何增耀, 1989)

- 化合物可以通过生物呼吸、饮食和皮肤吸收等途径从环境进入生物体(图8—5)，进入生物体的化合物又通过血液循环分散至生物体的各个部位，被生物的各种器官和组织吸收富集，如图8—6，显然生物的各种器官和组织对某化合物的富集程度，取决于该化合物在血液中的浓度、生物组织与血液对该化合物亲合性的差异，以及生物组织对该化合物的代谢特征等。

生物体内器官化合物的富集途径

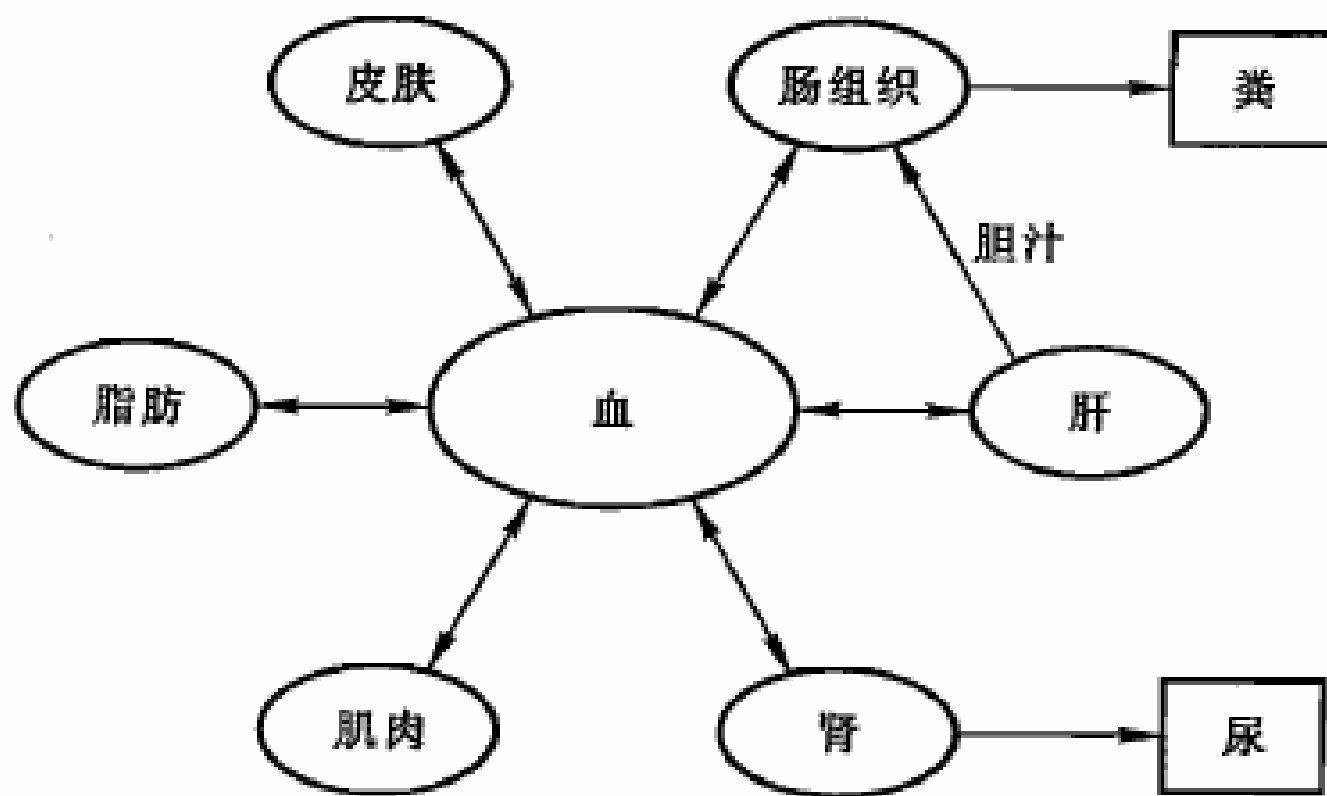


图 8-6 生物体内化合物的富集途径

(引自胡西城、何增耀, 1989)

表 8-1 6-CB 在组织和血液中的浓度比

组织	6-CB	6-CB 代谢物
脂肪	400	2
肝	12	4
肌肉	4	0.3
皮肤	30	2

注：本表引自胡西城、何增耀，1989。

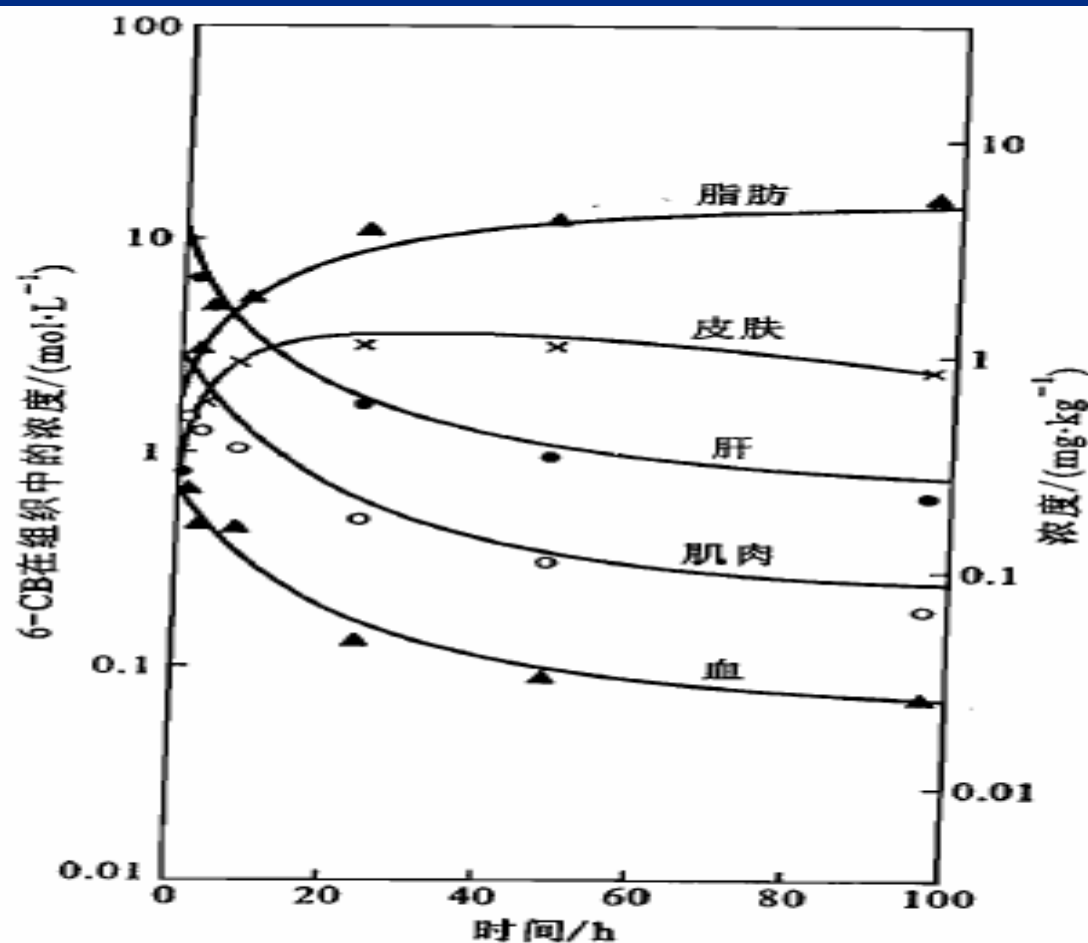


图 8-8 6-CB 在老鼠组织中的浓度随时间的变化曲线
(引自胡西城、何增耀，1989)

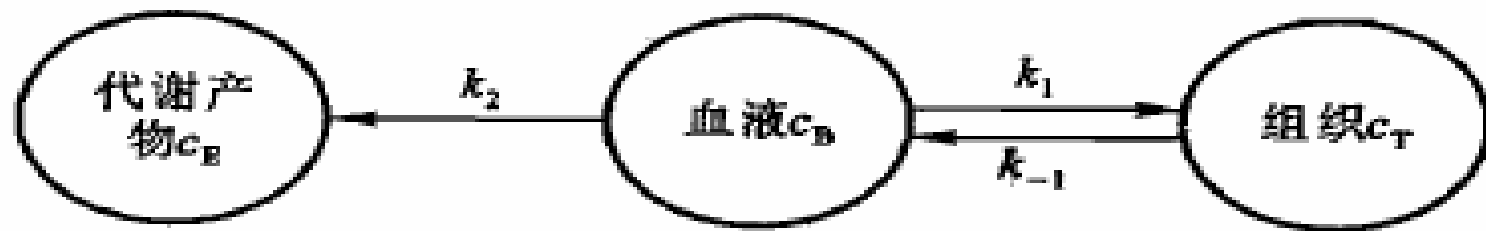


图 8-9 生物组织中化合物的代谢模型
(引自胡西城、何增耀, 1989)

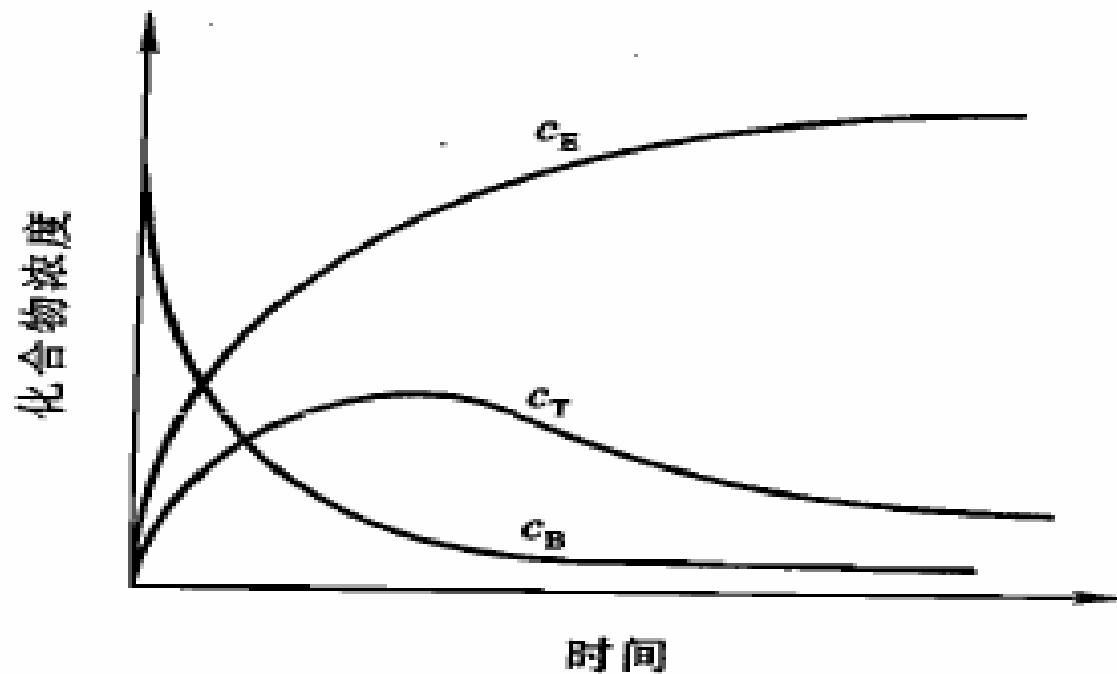


图 8-10 c_B 、 c_T 和 c_E 随时间的变化曲线
(引自胡西城、何增耀, 1989)

影响生物富集的因素

- 影响生物富集的因素很多，生物种的特性、污染物的性质、污染物的浓度和作用时间以及环境特点是主要的、决定性的因素。

生物富集与生物类脂物含量

许多资料表明,生物富集的基本机制是有机化合物在类脂物-水体系统中的分配过程,进入生物体的有机化合物主要积累在类脂物组织中,生物体中有机化合物的浓度与类脂物的含量有显著的正相关。例如, Hanch 等人证实,多氯联苯(PCBs)在鱼体内脏中的浓度差别很大,一般以肝脏中 PCBs 浓度最大,其次为鳃,整个鱼体,心脏,脑,肌肉,这种变化差异是由于这些脏器中脂肪含量不同而引起的。在生物体内,在类脂物含量高的组织中,可能测得较高的有机化合物的浓度。因此在研究生物富集时,测定化合物在生物体内的浓度时必须同时测定该组织中的类脂物含量,并对 BCF 用生物体内的类脂物含量进行标化。只有使用标化的 BCF 才能真实反映在水生生物体内的富集趋势,并使采用不同生物、不同方法测定的 BCF 具有可比性。经过类脂物标化后的生物富集因子用 BCFs 表示:

$$BCFs = \frac{BCF}{\text{类脂物含量}} \quad (8-41)$$

生理因素

早期一些对哺乳动物药物动力学的研究，已意识到了生理学参数在决定化学物质积累的重要性，例如，疏水性有机物穿过鱼鳞的富集过程和挥发性有机物在哺乳动物体内的富集过程类似，换气体积可能是高脂溶性化学物质富集的限制步骤，已经证实许多疏水性有机物的富集过程和生理因素有关，因此用疏水性模型预测BCF时应考虑生理因素的影响。

空间障碍

由于有机化合物在生物体内的富集涉及一系列穿过生物组织和生物膜的过程，化合物的空间参数如分子大小和形状能促进或阻碍化学物质的积累。例如，多氯联苯和联苯的BCF直接和分子大小有关，而不是疏水性;实验表明，疏水性分子越大，穿过人造膜的阻力越大;长链的聚二甲基硅烷齐聚物富集受到了阻碍;用疏水性预测大分子染料积累量偏低;分子大小参数如溶剂化表面积可用来预测不同类型有机物的生物富集能力。

$$\lg BCF = a \lg K_{ow} + b (\lg K_{ow})^2 + c$$

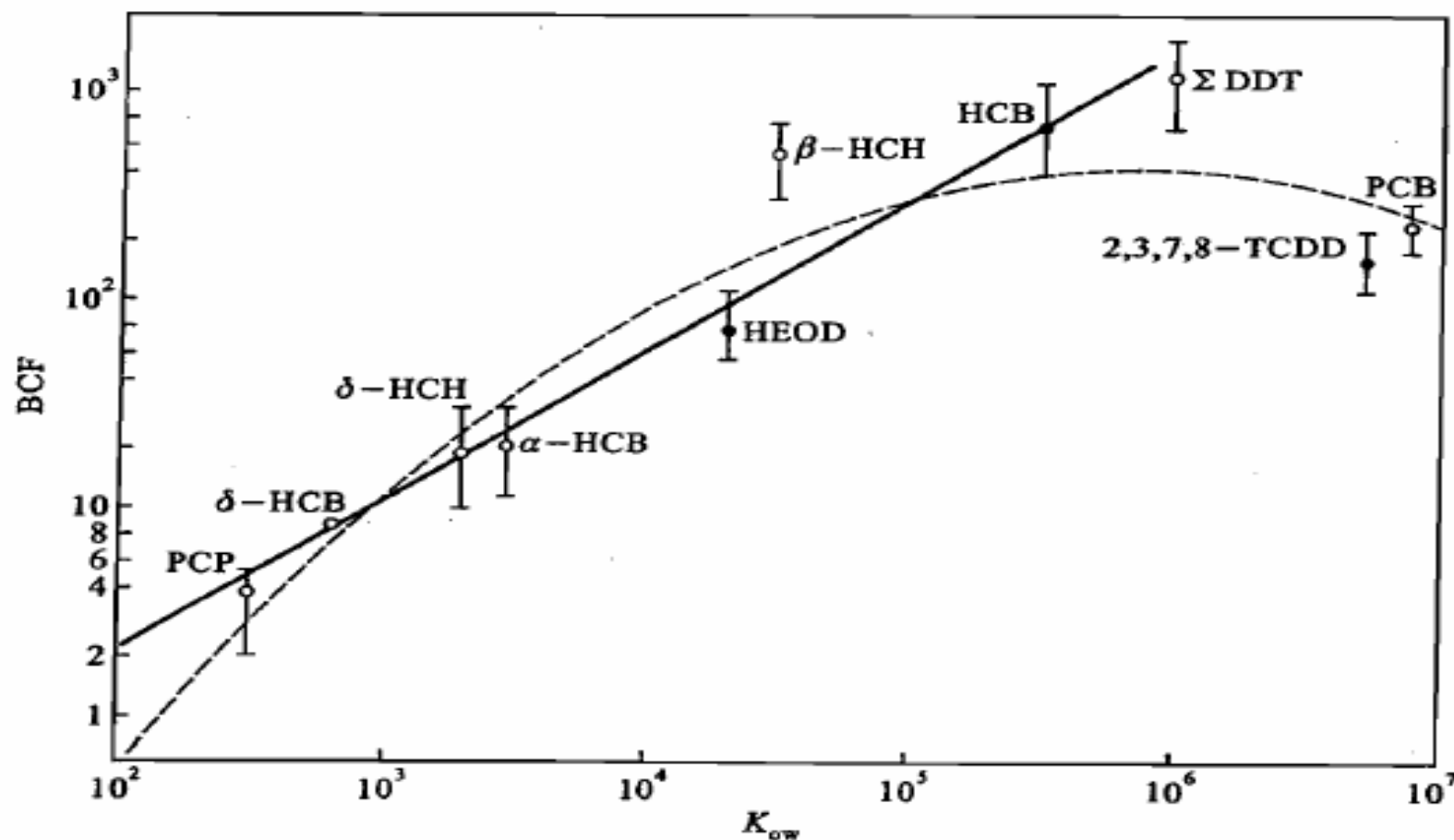


图 8-11 $\lg BCF$ 与 $\lg K_{ow}$ 回归曲线

(引自 Geyer 等, 1987)

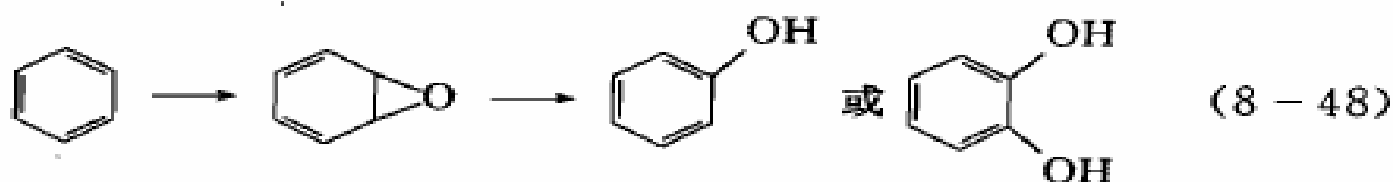
Geyer 等对 DDT、666、六氯苯和多氯联苯等化合物 BCF 使用方程 (8-42) 拟合, 结果为:

$$\lg \text{BCF} = 2.54 \lg K_{ow} - 0.22 (\lg K_{ow})^2 - 4.56 \quad (8-43)$$

这种实验现象是疏水性有机物空间结构对 BCF 影响的结果, 随着分子的增大, 扩散速率减小, 在给定的时间内不能达到富集平衡, 因此使测定的鱼体中浓度偏低, BCF 减小。

生物转化

有机污染物进入生物体后可能因生物转化而使其消失速率增加,并使其在水生生物体内的平衡浓度降低,从而降低水生生物对污染物的积累。研究表明,抑制代谢过程可以增加各种有机物的生物富集,证明代谢在限制化学物质积累过程中起着重要作用,虽然各种水生生物含有的代谢酶的活性和含量可能不同,研究显示,各种有机污染物在鱼和其他水生生物体内的代谢是一种普遍现象。有机污染物在水生生物体内可以发生氧化、还原、水解等一系列代谢转化。例如,脂肪族化合物在单氧酶的作用下可以被羟基化;烯烃和芳烃可以发生双键的环氧化并最终转化为羟基化合物:



代谢限制了积累

- 代谢作用能很强地限制积累，许多疏水性有机物生物转化可能是影响生物富集的主要决定因素(如醋类、多环芳烃等)，例如，动力学测定吡啶酯类的BCF是5，而根据疏水性估算的BCF是678。由于疏水模型的基本假设忽略了代谢的作用，就使疏水模型预测的迅速代谢疏水性醋类和持久性卤代联苯具有相同的积累量。

PCBs的代谢

PCBs中可置换的氯的数目或位置不同，其代谢、解毒、富集的情况差别就很大。许多研究者对氯置换数不同的各种单一PCBs成分进行深入研究，得出以下几条规律：

- (1) 四氯以下的低氯代PCBs，几乎都能代谢为单酚，部分可进而形成二酚，所以易分解，不易富集；
- (2) 五氯或六氯代PCBs同样可以氧化为单酚，但速度相当慢，较易富集；
- (3) 七氯以上的高氯代PCBs则几乎不被代谢，能高度富集；
- (4) 氯数目相同的PCBs，相邻位置未被置换或邻位为氯置换的，比没有这两种情况的易被代谢而不易被富集。

物种对富集的影响

- 分配理论认为BCF和物种没有关系，用 K ，预测BCF产生误差的原因正是由于水生生物中类脂物的含量不同及化学成分差异造成的，用类脂物含量进行标化后的BCF在物种之间的差异明显缩小。
- 生物富集平衡时间也与生物种类的体积大小有关。Murphy在实验室利用母蚊鱼(mosquito fish)进行富集试验，发现在同样条件下，大鱼富集DDT的速度比小鱼慢。
- Rainert研究了水生生物对狄氏剂的吸收，发现在生物体内达到最大残留浓度所需的时间与生物体积有直接关系。例如狄氏剂在藻类中2天即可达到富集平衡，在水蚤体内需3天，而在鱼类体内需长达20天以上。

环境条件的影响

像水生生物中脂肪酸的组成和类脂物的含量一样，由于生物转化和血液受环境条件变化的影响，所以环境条件对毒性和积累的影响在很大程度上是不可预见的，总之，像物理化学特性一样，有必要建立和生理、生化有关部分的模型，去预测温度和其他环境条件对化学物质积累的影响。

水中离子的组成(如盐度)可能对生物富集的影响较小，因为在海水鱼中BCF和 K_{ow} 的相关性和淡水鱼中的相关性相类似，但几个氯代有机物在淡水鱼中的BCF比在海水鱼中大4—10倍。虽然离子和非离子形式的弱电解质均可被吸着，但非离子形式的富集一般较快，因此，水中的pH将通过影响非离子化学物质的浓度而明显影响弱电解质的富集，在影响弱电解质如氯酚类的富集。

生物可利用性

水中的有机物只有处于溶解态的部分能被水生生物积累，影响疏水性化学物质生物可利用性的因素包括水中的暴露浓度和在颗粒物上的结合及水中溶解有机质(DOM)的含量。

一般来说，疏水化学物质必须是溶解状态(每个分子具有水合层)，才能有效通过吸着表皮。因此，暴露在过饱和的水中，将会使BCF的测定值偏低，一些强疏水性化学物质由于在水中的溶解度极低，可能不被积累，在足够低的浓度水平下，暴露浓度对BCF不会产生影响，这是因为在低毒性水平时，溶解度大小是控制迁移的主要过程，富集和释放速率是一级动力学，生物富集将遵循叠加原理。

水中的**颗粒物和溶解有机质(DOM)**通常对有机物有较高的亲合性，从而降低化学物质的生物可利用性，这些物质通过与游离态有机物结合降低其生物可利用性，从而降低水生生物对疏水性有机物的积累。

Black和McCarthy发现结合到DOM上的疏水性有机物由于DOM不能穿过鳃表皮细胞而不能被富集。对许多疏水性有机物，从颗粒物上的解吸可能决定着生物富集速率，在穿过鳞的富集过程中，化学物质的生物转化，降低了母体化学物质到达生物体内的量，也可减少生物的可利用性。

污染物的性质

污染物的性质主要包括污染物的价态、形态、结构形式、相对分子质量、溶解度或溶解性质、物理稳定性、化学稳定性、生物稳定性、在溶液中的扩散能力和在生物体内的迁移能力等。

生物富集的条件

化学稳定性和高脂溶性是生物富集的重要条件。例如氯化碳氢化合物(以总 DDT 为代表)具有很高的理化和生物稳定性,其理化性质能在环境中和在生物体内的迁移过程中长时间保持稳定。特别是 DDT,属脂溶性物质,在水中溶解度很低,仅 $0.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,但能大量溶解在脂类化合物中,其浓度可达 $1.0 \times 10^5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,比在水中的溶解度大 500 万倍。因此,这类污染物与生物接触时,能迅速地被吸收,并贮存在脂肪中,很难被分解,也不易排出体外。有机氯农药由于难以被化学降解和生物降解,极易通过食物链而大量累积,目前已被禁用。

不同种类的污染物

- 酚类污染物具有较高的水溶性，且易于为生物所降解，因此，大多数酚类污染物都不能在生物体内富集，主要残留在水中。然而苯酚分子氯化程度增高时，在水中的溶解度下降，脂溶性增强，就易被生物累积，例如五氯苯酚。
- 除草剂具有较高的水溶解度和低蒸气压，易从溶液中挥发而不易发生生物富集。

生物富集的平衡时间

有机化合物在水与水生生物体内的分配主要取决于其水溶解度大小，溶解度是影响任何一种生物体的BCF大小的主要因子。虽然生物富集过程与有机化合物在辛醇/水之间的分配相似，然而，有机化合物在类脂物—水体系中，不能像在溶剂—水体系中那样迅速地达到平衡。溶质在类脂物中的缓慢扩散，加之代谢作用，往往会推迟平衡，或者不能达到平衡。

BCF的估算方法

$$\lg BCF = 0.76 \lg K_{ow} - 0.23 \quad (8-52)$$

用该方法估算 BCF 的过程如下：

- (1) 要有一个测定的或估算的 K_{ow} 值。
- (2) 把该值代入方程式(8-52), 求出 $\lg BCF$ 。
- (3) 其反对数是化合物在水生生物中富集因子的近似值。

例 8-1 假设辛醇/水分配系数(K_{ow})为 380 000, 试估算鱼体中 4, 4'-二氯联苯的生物富集因子。

解：根据方程式(8-52)以及所给的 K_{ow} 值, 得到：

$$\lg BCF = 0.76 \lg 380\,000 - 0.23$$

$$\lg BCF = 4.01$$

$$BCF = 10\,000$$

据报道, 这一化合物的测定值比估算值要低一个数量级。

由水溶解度估算BCF

有机化合物的生物富集程度主要取决于它在水中的溶解度。这非常类似于 K_{ow} 和水溶解度之间的关系。如果化学品在水中的溶解度在 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内,则下列方程式可用来估算 BCF。

$$\lg \text{BCF} = 2.791 - 0.564 \lg S_w \quad (8-53)$$

这一方程式是由 Kenaga 和 Goring 在实验室通过对各种鱼种和 36 种有机物进行一系列研究推得的,它标志着水溶解度和生物富集之间的本质联系。

从方程式(8-53)估算生物富集因子,其过程正像从方程式(8-52)推导的一样,所需的物理化学参数是溶解度 S_w ,它应以 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 表示。

例 8-2 假定水溶解度 $21 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,试估算鱼体中二苯醚的生物富集因子。

解: 由方程式(8-53)和所给的 S_w 值,得到:

$$\lg \text{BCF} = 2.79 - 0.56 \lg 21$$

$$\lg \text{BCF} = 2.04$$

$$\text{BCF} = 110$$

这一结果与实验测定值相当接近。

由土壤吸附分配系数估算BCF

土壤吸附分配系数(K_{oc})和生物富集因子之间的关系是经验性的,事实上,土壤对一定有机物的亲和力,可能同化合物与生态系统中某些部分的亲和力有关,方程式(8-54)是由 Kenaga 和 Going 从有关的少量土壤吸附分配系数测定值推导出的。然而, K_{oc} 与 BCF 测定值相关性相当好。如果土壤吸附分配系数可用,由此推导的线性方程式可用来与由 K_{ow} 推导的估算值进行比较。

$$\lg BCF = 1.12 \lg K_{oc} - 1.58 \quad (8-54)$$

估算值与测定值差异的来源

测定与 BCF 有关的物理化学参数的误差,是一个重要因素。用不同的方法测定 K_{ow} 、 S_w 、 K_{oc} ,虽然一些方法是可靠的,但这些参数的测定,受其测定技术和方法的精确度限制,因而影响实验的结果。

在实验室条件下,BCF 本身的测定误差也是一个原因,有多种因素影响生物富集的测定结果。

(1) 在富集和释放实验的平衡条件下测定 BCF 是非常重要的。然而许多相对分子质量较大的化合物($\lg BCF > 6$)通过生物膜相当慢,甚至 20~30 d 也不能达到平衡,这样可能使 BCF 测定值偏低。

(2) 对一些有机物,尤其是对那些高水溶性化合物,平衡可在几天或更短的时间内达到,而溶解度高的化合物容易分解或排泄。这两种情况,都会人为地造成短时间内 BCF 测定值偏高。

(3) 测定温度、溶解氧以及试验生物的大小,也影响到建立平衡的时间,因此,也影响测定生物富集因子的试验时间。

(4) 在实验中,鱼体中类脂物含量也可以明显影响残留情况,即使对一给定的鱼种,类脂物含量可以受生长状态及某些代谢部位的影响,而且,从分析数据来看,对一些特殊部位残留量的测定,也容易产生不同的结果。

BCF的快速测定方法

- 生物富集系数的测定主要有两种方法:一种是保持水相中浓度不变,测定达到平衡时水相和生物体的富集浓度,二者之比求出BCF;
- 另一种方法是测定生物富集过程的富集速率常数(k_1)和释放速率常数(k_2),用 $BCF = k_1 / k_2$ 求出生物富集因子。
- 现在测定BCF主要采用第一种方法。第二方法虽然较第一种方法简便快速,但影响因素较多。该方法是1984年由Banerlee等人提出的,用来测定非挥发性有机物BCF,后来又推广到挥发和非挥发性有机物BCF的测定,此方法以二室模型为根据,忽略代谢的作用,认为富集和释放为一级动力学