

综 述

# 螯合剂 EDTA 的性质及其在水生生物 培养与育苗中的作用\*

## PROPERTIES AND ACTIONS OF CHELATOR EDTA IN HYDROBIONT CULTURE

袁 有 宪

(黄海水产研究所, 青岛 266071)

Yuan Youxian

(Yellow Sea Fisheries Research Institute, Qingdao 266071)

关键词 乙二胺四乙酸, 水生生物, 水产养殖

KEYWORDS EDTA, hydrobios, aquaculture

随着工农业生产的发展, 水域污染日趋严重, 给水产增殖业中的关键环节——育苗, 带来了困难, 使水质成为当前水产养殖(aquaculture)业的重要问题。

无机金属离子的污染是造成育苗成败的关键因素之一。1974 年, Wood<sup>[63]</sup> 从对水生生物有害的观点出发, 将环境污染元素划分为三类(表 1)。

表 1 按毒性程度对元素的区分<sup>[63]</sup>

Table 1 Classification of elements by toxicity<sup>[63]</sup>

无 类 别				有毒但难溶或稀有			剧毒且比较常见			
Na	C	F	K	Tl	Ga	Hf	Be	As	Au	Co
P	Li	Mg	Fe	La	Zr	Os	Se	Hg	Ni	Te
Rb	Ca	S	Sr	W	Rh	Nb	Tl	Cu	Pd	Pb
H	Cl	Al	O	Ir	Ta	Ru	Zn	Ag	Sb	Sn
Br	Si	N		Re	Ba		Cd	Bi	Pt	

EDTA(乙二胺四乙酸二钠盐)作为一种金属离子的螯合剂(又称络合剂), 已广泛用于水生生物培养与育苗中。尽管 EDTA 在一定程度上有利于水生生物的存活与生长, 但如果使用不当将会引起生物的致毒, 污染水质, 甚至会成为育苗的成败因素。从 EDTA 首次引入海洋藻类的培养液中<sup>[26]</sup>至今已达四十年, 但似尚未见系统地评价其性能与作用。

本文在前人工作的基础上, 就 EDTA 的性质及其在水生生物的培养与育苗中的作用作了系统的论述。旨在研究育苗水体中金属离子污染更合理的防治方法, 并为当前育苗科研和生产中正确使用 EDTA

\* 国家自然科学基金资助项目。

收稿年月: 1990 年 9 月; 1991 年 2 月修改。

提供科学依据。

## EDTA 在水生生物培养与育苗中的作用

一般认为, EDTA 作为一种螯合剂, 在水生生物的培养与育苗过程中有两个主要作用。第一, 可保持某些营养元素的溶解度, 特别是对铁, 以易于生物的吸收; 第二, 可降低某些金属离子的毒性, 因多数有毒金属元素, 以游离离子存在时毒性最大。

### (一) 营养元素溶解度的保持

EDTA 引入藻类培养液是在五十年代初<sup>[26, 61, 62]</sup>, 最初的目的在于增加铜、锰、钙、镉、锌等元素的营养需要。1973 年, Manahan 等<sup>[38]</sup>定量研究了淡水藻 *Chlorella vulgaris* 和 *Oocystis marssonii* 缺铜的生长。实验表明, 加入高浓度的铜或减少 EDTA 的浓度均使细胞产量增加。

在藻类培养水环境中, 铁的含量被确定为限制藻类生长的重要因素<sup>[9, 19, 25, 40, 46]</sup>。Schelske 等<sup>[47]</sup>、Lewin 等<sup>[32]</sup>报道过螯合态铁对藻类生长的促进作用。文献<sup>[5, 43]</sup>解释了螯合剂的存在使铁更易于被藻类吸收。铁离子与另一种营养成分磷酸根离子可形成难溶的磷酸盐沉淀, EDTA 的加入不仅保持了铁的可溶性浓度, 又保持了磷酸盐的可溶性。作为另一种细胞外的现象, EDTA 可促进藻类的生长。1986 年, Storch<sup>[66]</sup>详细研究了螯合态和非螯合态铁对伊利湖(Lake Erie)近岸水中浮游植物光合作用的影响, 发现浓度为 3.6—53.7 $\mu\text{mol/L}$  非螯合态铁通过改变细胞外可溶性营养成分的浓度, 可抑制湖中浮游植物的光合。这种抑制作用可通过 EDTA 的加入螯合游离态铁而得到改善, 又可改变铁的可吸收浓度。通过大量实验和总结前人的工作, 证明“贫营养液中加入 EDTA 通过保持细胞外可溶性铁的存在, 促进了藻类的生长; 在富营养液中, 可溶性磷既不被 EDTA 螯合物所改变, 也不被未螯合的铁(0.9—53.7 $\mu\text{mol/L}$ )的沉淀作用所改变。换言之, 富营养液中, EDTA 螯合态铁对细胞增加的促进作用, 好像是由于铁对细胞内代谢过程的直接影响”。从表 2 可见 Fe-EDTA 保持可溶性磷的作用。

表 2 用 Fe-EDTA 或未螯合铁处理 5 天后, 伊利湖水、EPA 和 Bold 培养液中可溶性磷的浓度<sup>[66]</sup>

Table 2 Concentration of dissolved orthophosphate phosphorus in membrane-filtered Lake Erie water, EPA medium and Bold's basal medium five days after enrichment with EDTA-chelated iron

Fe 或 Fe-EDTA 浓度, $\mu\text{mol/L}$	伊 利 湖		EPA 培养液		Bold 培养液	
	Fe-EDTA	Fe	Fe-EDTA	Fe	Fe-EDTA	Fe
0	0.68	0.68	6.84	7.20	$1.72 \times 10^3$	$1.76 \times 10^3$
0.9	0.68	0.55	6.81	6.94	1.82	1.76
1.8	0.71	0.61	7.30	6.84	1.80	1.76
3.6	0.71	0.45	7.23	6.89	1.77	1.77
17.9	0.61	0.16	7.23	2.32	1.84	1.75
35.8	0.48	0.10	7.10	4.46	1.76	1.69
52.7	0.42	0.06	6.65	0.29	1.75	1.70

1963 年, Tranter 和 Newell<sup>[49]</sup>证实, 铁的水溶性形态, 尽管具有化学反应活性, 但并不一定会被生物吸收。1971 年, Lewin 等<sup>[32]</sup>对六种海洋浮游植物研究表明, 海水中存在的铁不能被多数浮游植物所摄取。在用新鲜海水配制的培养液中加入 EDTA, 可明显改善铁的吸收, 但将海水贮存几天后则不然, 因贮存过的或高压热消毒过的海水中的铁已经转化成颗粒状。1981 年, Motomura 等<sup>[42]</sup>研究了螯合态

铁对狭叶海带 *Laminaria angustata* 孢子形成的影响。发现在所用条件下,硝酸盐、磷酸盐、锰和钴对孢子的形成无影响,碘略有影响,硼有抑制作用,而铁强烈地减少卵原细胞的形成。在 2.0mg/L Fe-EDTA 中两周后,雌性配子体的细胞变成孢子。表 3 为在 0—2.0 mg/L  $\text{FeSO}_4 \cdot (\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  的 EDTA 螯合物范围内,两周后卵原细胞形成比例,而 2.0 mg/L 的硫酸亚铁和氯化铁培养液中,仅为 27.7% 和 8.9%。

表 3 EDTA 螯合态铁对 *L. angustata* 雌性配子体卵原细胞形成的影响<sup>[42]</sup>

Table 3 Effect of EDTA chelated iron on oogonium formation of *L. angustata* female gametophytes

浓 度 Fe-EDTA, mg/L	总实验配子体数	成 熟 配 子 体	
		个 体	百分数, %
0	846	3	0.4
0.2	743	13	1.7
0.6	910	25	2.7
1.0	703	477	67.9
2.0	783	774	98.9

EDTA 保持营养素溶解度对水生动物的影响似未见报道,但其效果是容易想象的。

## (二) 有害元素毒性的降低

众所周知,铜、镉、锌、铅等重金属元素对水生生物有不同程度的毒性,且其毒性与其在水中的形态有关<sup>[43]</sup>。金属元素对水生生物的致毒作用的研究,约源于六十年代末七十年代初。

1. 藻类的培养与育苗 Spencer<sup>[51]</sup>、Mandelli<sup>[52]</sup>、Steemann Nielsen 等<sup>[53-54]</sup>、Martin 等<sup>[55]</sup>和 Erickson<sup>[56]</sup>较早研究了铜等对浮游植物的抑制作用。水中铜离子的浓度在 1 $\mu\text{g/L}$  水平,对不同种类的海洋和淡水浮游植物致毒<sup>[18,55]</sup>。Steeman Nielsen 等<sup>[54]</sup>、Anderson 等<sup>[51]</sup>、Johnston<sup>[27]</sup>提出螯合剂对海洋藻类的作用之一至少可除去铜离子的毒性。1957年,Spencer<sup>[50]</sup>发现当无螯合剂存在时,铜的浓度超过 2 $\mu\text{mol/L}$  时对单胞藻 *Phaedactylum Tricornutum* 有毒;但当 EDTA 存在时,铜高达 5 $\text{mmol/L}$  无毒。1976年,Sunda 等<sup>[57]</sup>对河口单胞藻 *Thalassiosira pseudonana* 在 EDTA 高度螯合的海水培养液中的养殖实验说明,生长速度的抑制和细胞中铜的浓度与铜的活度有关,而与铜的总浓度无关。抑制生长的活度为  $3 \times 10^{-11}\text{mol/L}$ ,致死活度为  $5 \times 10^{-9}\text{mol/L}$ ;用河口绿藻类 *Nannochloris atomus* 分别为  $4 \times 10^{-11}\text{mol/L}$  和  $2.9 \times 10^{-9}\text{mol/L}$ 。1978年,Anderson 等<sup>[43]</sup>研究了甲藻 *Gonyaulax lamarensis* 对铜的敏感性。发现铜的离子活度为  $10^{-9.7}\text{mol/L}$  时 100% 的甲藻细胞失去活动能力;  $10^{-10.4}\text{mol/L}$  时,50% 的甲藻细胞失去活动能力。但当有过量的 EDTA 或三(羟基甲氨)甲烷(Tris)存在时,即可大大降低对铜的敏感性。从表 4 还可看出,铜和 EDTA 平衡时间对细胞的活动性能亦有较大影响。说明 EDTA 的加入需有足够的平衡时间才能降低铜离子的浓度。1981年,Segot 等<sup>[48]</sup>研究了砷、铁、锰对富营养海水中柏桉藻 *Asparagopsis armata* 养殖的影响,认为 EDTA 的浓度在 37—185 $\text{mg/L}$  时是良好的螯合剂,可消除过量锰(0.3 $\text{mg/L}$ )和铁(2.8 $\text{mg/L}$ )的毒性。

2. 虾类的育苗 虾类有苗和高密度养殖过程中,EDTA 的作用主要有两个,一是对生物饵料藻类的培养;二是降低金属离子对幼体的毒性。

六十年代,Cook 等<sup>[14,17]</sup>首先观察到幼虾高密度养殖中,加入 EDTA 有利于饵料生物的繁殖,明显提高幼体成活率。从此,EDTA 广泛应用于对虾高密度养殖<sup>[7,41,49]</sup>。Cook<sup>[18]</sup>也曾将墨西哥湾成熟的交配过的亲虾带回实验室后,在含有 EDTA 的海水中产卵孵化,以提高孵化率。Brown 等<sup>[10]</sup>和 Cham-

表 4 铜螯合物的平衡时间对 *G. tamarensis* 活动性能的影响<sup>[4]</sup>Table 4 Effect of increased equilibration time of copper chelator on motility of *G. tamarensis*

项 目	EDTA 培养液				Tris 培养液			
	立即接种		24h 后接种		立即接种		24h 后接种	
pCu <sup>2+</sup>	10.7	11.5	10.7	11.5	10.1	11.0	10.1	11.0
活动细胞(%) - 2h	5	62	59	74	22	57	24	53
- 24h	91	94	59	74	20	61	18	63

berlain 等<sup>[44]</sup>亦在海水中使用 EDTA 进行海捕亲虾受精卵的孵化。但均未解释 EDTA 提高孵化率和幼体成活的作用。

1981 年, Lawrence 等<sup>[39]</sup>通过 EDTA 改变铜和锰二价离子对 *P. stylirostris* 无节幼体的毒性实验研究, 阐明了 EDTA 在对虾育苗与养殖中的主要作用是螯合有毒金属离子, 减少游离金属离子的浓度, 从而降低其毒性, 见表 5(综合文献[30]表 1,2)及表 6。

表 5 EDTA(10mg/L)存在时铜离子对无节幼体成活和变态影响

Table 5 The effect of copper concentration on the percentage of survival and metamorphosis of *P. stylirostris* in the absence and presence of 10mg EDTA/L seawater

Cu <sup>2+</sup> (μmol/L)	无节幼体暴露 24h 的成活率(%)		无节幼体到蚤状幼体的变态率(%)	
	无 EDTA	有 EDTA	无 EDTA	有 EDTA
0	99 ± 1	96 ± 1	95 ± 2	89 ± 3
0.2	97 ± 2	95 ± 2	75 ± 3	90 ± 2
0.5	92 ± 3	95 ± 2	12 ± 3	94 ± 3
1.0	91 ± 3	87 ± 4	18 ± 9	80 ± 5
20.0	0 ± 0	94 ± 1	0	88 ± 3
100.0	0 ± 0	0 ± 0	0	0

表 6 EDTA 存在(10mg/L)锰离子对无节幼体到蚤状幼体的变态的影响<sup>[30]</sup>Table 6 The effect of manganese concentration on the percentage of *P. stylirostris* nauplii that metamorphose to protozoa in the absence and presence of 10 mg EDTA/L seawater

Mn <sup>2+</sup> (μmol/L)	无节幼体到蚤状幼体的变态率(%)	
	无 EDTA	有 EDTA
0	95 ± 2	89 ± 3
2	58 ± 7	86 ± 3
10	52 ± 7	94 ± 3
200	72 ± 4	84 ± 5
1,000	66 ± 6	94 ± 3
20,000	0	0

为进一步证实 EDTA 系降低有毒金属离子浓度而提高幼体成活率和变态率的假说, 该小组<sup>[43]</sup>研究了 EDTA 存在时, 镉、钙和酚对 *P. stylirostris* 幼体的毒性影响, 以及高浓度 EDTA 的毒性。在 EDTA

不存在时,镉、酚、钙对无节幼体的致死浓度分别为0.020、7和400mmol/L;无节幼体到蚤状幼体的变态终止的浓度分别为0.001、0.9和200mmol/L。有EDTA存在时,镉和钙的毒性降低,20 $\mu$ mol/L镉不影响无节幼体的成活和变态;50和100mmol/L钙不影响变态。但EDTA的加入,没能改变酚的毒性,变态率反而降低。这说明未螯合金属离子的EDTA本身不会提高无节幼体的成活和变态。EDTA对无节幼体的致死量为1.34mmol/L;在0.67mmol/L时,可降低无节幼体到蚤状幼体的变态率达40%以上。低于0.3mmol/L对成活和变态均为安全浓度。

3. 其他水生生物的培养与育苗 Lewis等<sup>[88,84]</sup>对EDTA降低铜离子对桡足类 *Euchaeta japonia* 的毒性进行了研究。EDTA、粘土矿物、海洋沉积物、硅藻和腐殖酸等均能降低铜离子对桡足类的毒性。1985年,Utting等<sup>[90]</sup>研究了双壳类育苗海水水质的改良。用太平洋牡蛎 *Crassostrea gigas* 受精卵缘膜幼体的发育,比较了自然海水和用EDTA、硅酸盐、Fuller土、三氧化二铝等处理过的海水对发育的影响。EDTA明显提高了缘膜幼体的产率。用1mg/L EDTA和20mg/L硅酸钠或三氧化二铝或50mg/L三聚硅酸镁或150mg/L Fuller土亦可促进发育。确认了这些物质主要作用是降低了有害元素镉、锌、铅等离子的浓度,见表7(摘自文献[60],表6)。1988年,林笔水等<sup>[2]</sup>在缢蛏 *Sinonovacula constricta* 幼苗培育中,使用了EDTA消除来自自来水管道的锌离子的影响,定量研究了EDTA对缢蛏浮游虫成活率和变态率的影响。无EDTA存在时,成活率和变态率分别为27.0%和0;当有2.0mg/L EDTA时,则分别为84.3%和45.0%。

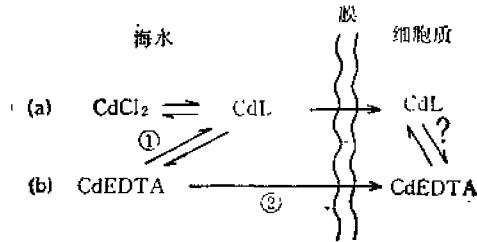
表7 处理过的海水与未处理海水中重金属离子浓度

Table 7 The concentrations of metal ions in untreated sea water and sea water pre treated with EDTA, sodium metasilicate and alumina

日期	处理剂(mg/L)	金属离子浓度( $\mu$ g/L)				
		Cd	Zn	Pb	Cu	Ni
1978.3.13	未处理	—	11.20	0.93	0.80	<0.030
	EDTA(1)+硅酸钠(20)	—	3.50	0.18	1.96	0.185
	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (20)	—	15.90	0.05	2.27	<0.030
1978.7.24	未处理	0.290	5.86	0.59	1.00	3.198
	EDTA(1)	0.133	0.10	0.38	1.14	0.138
	硅酸钠(20)	0.297	4.93	0.26	1.10	0.207
	EDTA(1)+硅酸钠(20)	0.244	0.67	0.04	0.99	0.138
	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.776	9.87	0.91	1.19	0.552

## EDTA的生化作用机理

为搞清水生生物对金属的离子态或螯合态的吸收与累积的机理,1977年,George等<sup>[24]</sup>通过贻贝 *Mytilus edulis*(L.)对镉的吸收与累积实验证明,螯合态金属更容易被生物吸收,且吸收速度和最终累积浓度都高于离子态。提出了“金属离子不能穿过细胞膜,必须通过细胞膜上的配位体或其他形式的载体穿过”的假说,其机理示于图1。当Cd<sup>2+</sup>加入后,必须先与配位基团结合,才能穿过细胞膜(a);当Cd<sup>2+</sup>形成Cd-EDTA后,在Cd-EDTA穿过细胞膜之前,迅速与配位基团L平衡①,或直接以Cd-EDTA形式穿过被吸收②。在细胞内可能与载体L进行交换。这说明了螯合剂的加入,只是降低了金属离子的毒性,并不能完全消除。Krauss等<sup>[28]</sup>在 *Scenedesmus obliquus* 实验中发现标记的<sup>14</sup>C-EDTA可穿入藻细胞。1984年,Dufkova<sup>[20]</sup>对EDTA在藻类培养实验结果中,也支持了这一假说。并指出,金属离子首先与细胞表面的配位基团形成螯合物,在高浓度金属离子的情况下,超过了细胞表面的络合容

图 1 镉被 *M. edulis* 吸收的机理<sup>[24]</sup>Fig. 1 Mechanisms for cadmium uptake in *Mytilus edulis*<sup>[24]</sup>

型, 以 Me-EDTA 形式存在细胞表面, 或穿入细胞内。

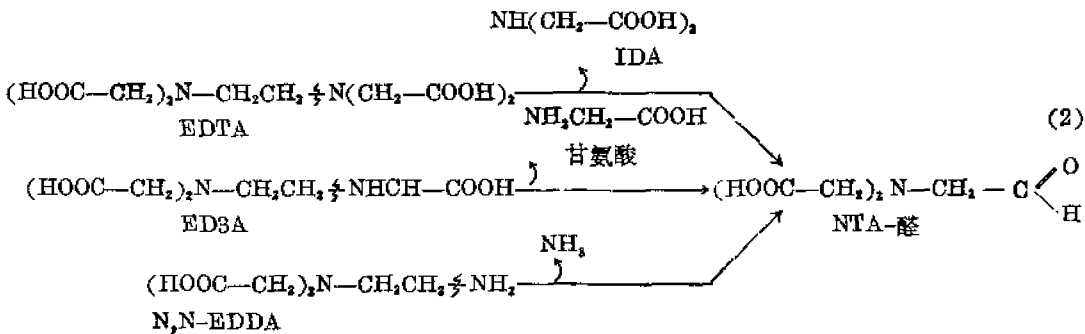
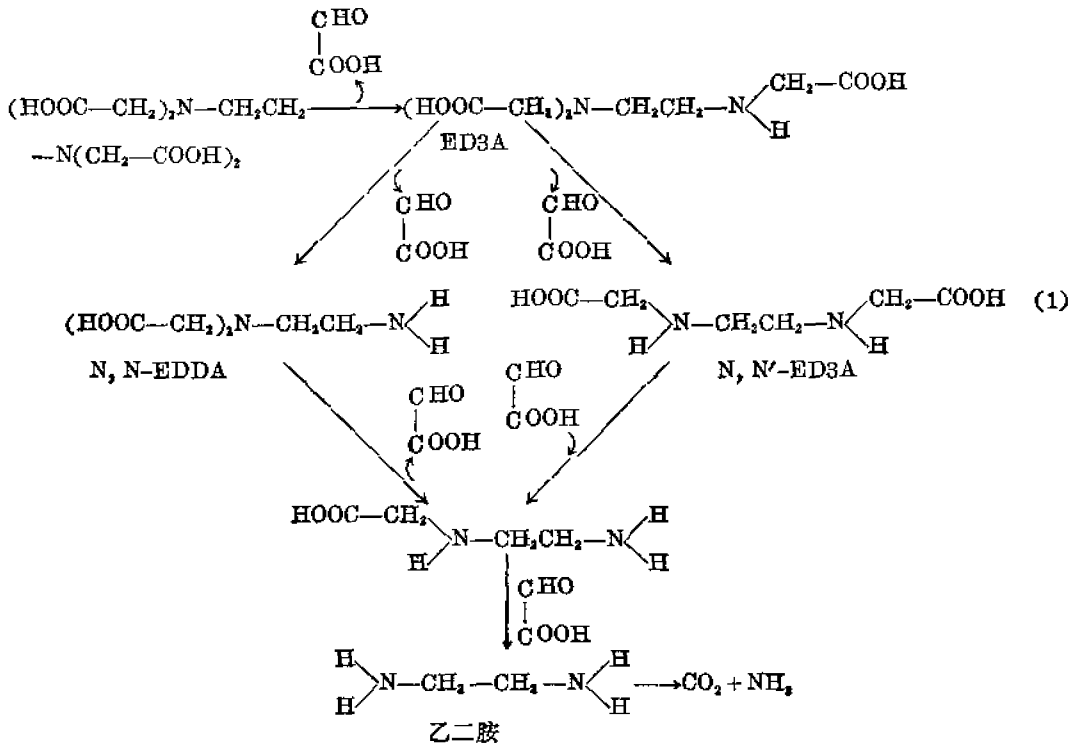
1982年, Anderson等<sup>[5]</sup>研究了水溶性铁的化学反应对海岸单胞藻 *Thalassiosira weissflogii* 对铁吸收的影响, 发现在无光照的情况下, 铁的吸收速度是  $\text{Fe}^{3+}$  活度的函数; 在光照情况下, 由于  $\text{Fe}(\text{III})$  的 EDTA 和 CDTA (反-1,2-二氨基-环己烷四乙酸) 光分解后产生  $\text{Fe}(\text{II})$ , EDTA 和 CDTA 对铁的吸收速度增强了 2 和 6 倍。

## EDTA 的稳定性

### (一) EDTA 的生物降解

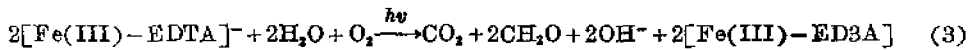
关于 EDTA 的生物稳定性问题, 曾有过不同的学术观点。较早文献<sup>[2,11,22]</sup>指出, EDTA 具有抗生物降解的性质。而在 1974 年, Tiedje 等<sup>[58]</sup>研究发现, EDTA 可被一些不同种类的农业土壤中存在的微生物慢慢降解。在降解过程中, 微生物群主要对 EDTA 分子的乙烷和乙酸基部分作用。这种降解受微生物抑制剂的强烈抑制。

1975 年, Belly 等<sup>[9]</sup>对 EDTA 的生物降解进行了系统的研究。用含 EDTA 等废水流入的咸湖水中存在的微生物群, 对不同形式的 EDTA 盐 ( $\text{Na}_2$ -或  $\text{NH}_4\text{Fe-EDTA}$ ) 作为研究。首先, 用放射性呼吸测量技术测定了用  $^{14}\text{C}$  标记的  $\text{NH}_4\text{Fe-EDTA}$  的乙酸基或乙烷基, 并用总有机碳 (TOC) 和气-液色谱 (GLC) 方法给予证实。用 GLC 和质谱分析鉴定了 EDTA 降解过程可能存在的中间产物。发现在 5 天培养期后, 有 89% 的 EDTA 降解。最初标记的  $\text{NH}_4\text{Fe}(^{14}\text{C})\text{EDTA}$  放射性的 27% 可以  $^{14}\text{CO}_2$  形式回收; 标记的乙烷基, 31% 回收。因此说明, EDTA 的乙烷基骨架和两端乙酸基链被降解。EDTA 降解的 pH 为 5—9, 最适宜 pH 为 7—8; 最适宜的温度为  $22^\circ\text{C}$ 。在常温 ( $22^\circ\text{C}$ ) 下, 约 10 天后, 将全部降解为  $\text{CO}_2$  和  $\text{NH}_3$ 。并提出了降解的历程为:



### (二) EDTA 的耗氧光分解

最初,人们总认为 EDTA 既是一种热力学稳定物质,又是一种光稳定物质。随分析技术的发展,大量实验事实揭示了 EDTA 的光不稳定性。较早的研究<sup>[12, 49, 45]</sup>认为,在 250—400nm 光照下, EDTA 的光分解产物为 CO<sub>2</sub>、甲醛和 ED3A。



1975年, Lockhart 等<sup>[35]</sup>证明了在 4000ft-Candles 带有紫外透光片的 5500W 氙灯光源照射下,大多数分解产物为 N, N'-EDDA、N, N-EDDA、IMDA、EDMA、甘氨酸。在 pH4.5 时,光照 24h 后已检测不到 EDTA 的存在;在 pH3.5 时,光照 32h 后, EDTA 几乎完全分解。pH 为 4.5—8.5,光照 96h 后,分解成最终产物达 90% 以上。用气相色谱-质谱联用技术研究提出 EDTA 的光分解历程如图 2 所示。1979年, Lee 和 Pirt<sup>[31]</sup>报道过阳光引起 EDTA 的分解,并引起对藻类的致毒。

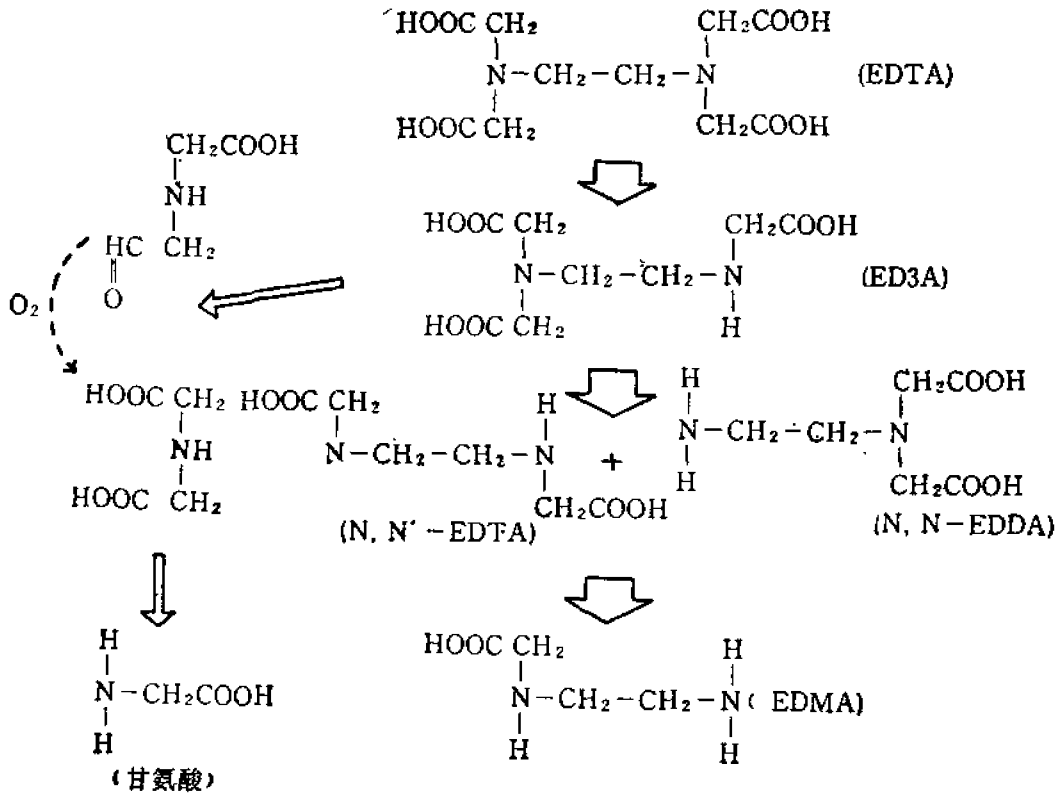


图2 Fe(III)-EDTA 的耗氧光分解历程

Fig. 2 Proposed aerobic Fe(III)-EDTA photodegradation scheme

## EDTA 与天然水中痕量金属离子的浓度

### (一) 天然水中金属离子的浓度

天然水中金属离子的浓度甚微,未受污染时一般在超痕量水平,因此,对分析方法要求高。一般方法难于准确测定,所以,不同时代测得的数据不相一致。除近岸海水、河流及湖泊受人类造成的污染影响外,主要因素是方法本身的局限和分析操作人员熟练程度以及取样(包括样品容器、试剂、空气污染等)所致的污染。测定天然水中超痕量金属离子,目前多采用阳极溶出溶安法(ASV)和电位溶出法(PSA),这些方法不仅灵敏度可满足需要,且基本不受外加试剂污染的影响。

表8(摘自文献[23]表28)列出了不同作者测定的海水和淡水中某些金属离子的含量。我国在



表8 海水和淡水中某些金属离子的背景值 ( $\mu\text{g/L}$ )

Table 8 Background of some trace metals in seawater and freshwater

金属离子	海水	作者(年代)	淡水	作者(年代)
Cd	0.01(s) 0.07(d)	Boyle等(1976)	0.07	Boyle等(1976)
Cr	0.08(s) 0.15(d)	Cranston等(1978)	0.5	Trefry等(1976)
Cu	0.1—0.04(s) 0.04(d)	Bruland Boyle等(1977)	1.8	Gibbs(1977),Boyle (1978)
Pb	0.005—0.015(s) 0.001(d)	Schaule等(1978)	0.2	Trefry等(1976)
Zn	0.01(s) 0.62(d)	Bruland等(1978)	10	Wedepohl(1972)
Hg	0.011	Garder(1975)	0.01	

注: (s)表面海水, (d)深海水。

1980—1985年间曾对海岸带作了全面调查,表9为我国海岸带海域海水中重金属年平均含量变化范围。从这些数据看,未污染天然水中金属离子的浓度不至于对水生生物产生不利影响,但根据不同底质、不同环境,水域中金属离子的浓度可能偏高。

表9 全国海岸带海域海水中重金属年平均含量变化范围 ( $\mu\text{g/L}$ )<sup>[11]</sup>Table 9 Annual mean value of heavy metals in the coastal seawater of China<sup>[11]</sup>

海区	监测年代	Hg	Cd	Pb	Zn	Cu
渤海	1980—1985	0.9—2.0	0.1—1.0	1.0—2.0	6.0—29.0	2.0—40.0
黄海	1980—1985	0.3—0.5	0.1—0.5	2.0	11.0—31.0	2.0—3.0
东海	1980—1985	0.1—0.9	0.1—0.3	1.0—8.0	3.0—58.0	1.0—11.0
南海	1980—1985	0.1—4.3	0.1—2.0	5.0—14.0	17.0	3.0—5.0

## (二) EDTA 对海水中金属离子浓度的影响

Spencer等<sup>[51]</sup>曾详细研究了EDTA在海水中的化学行为,从理论上分析了海水中金属离子与EDTA的四价阴离子的关系,证明了EDTA降低金属离子浓度的作用。Utting等<sup>[50]</sup>对EDTA存在时,测定了金属离子的浓度(表7)。显然,EDTA降低了锌、铅、镉离子的浓度,但铜离子的浓度反而有所增加。原因可能主要为使用萃取——原子吸收法测定,灵敏度太低,精确度太差,或铜的螯合物分解所致。

## 结 语

EDTA作为一种金属离子整合剂在水生生物的培养与育苗中得到了广泛应用,但EDTA所参与的和其自身发生的物理化学、生物化学反应并没有引起广大水生生物和水产领域研究和技術人员的注意。综合这些物理化学和生物化学过程的研究结果,旨在引起人们的高度重视。

1. 业已证实,EDTA本身对微藻 *Scenedesmus quadricauda*<sup>[20]</sup>、对虾 *P. stylirostris*<sup>[20]</sup>(表5)并无促进生长的作用,当有害离子存在时,反而不利。因此,首先要用准确的分析方法测定所在水域的水中有害金属离子的浓度——切忌盲目使用。即使使用,也应研究其对所培养生物种类产生副作用的浓度,避免造成对生物的致毒。

2. EDTA 分解的中间产物有 ED3A、EDDA、EDMA、IMDA、甘氨酸和甲醛等, 最终产物有  $\text{CO}_2$  和  $\text{NH}_3$ , 中间产物已失去或部分地失去对金属离子的螯合能力; 最终产物将完全失去螯合能力。原来被螯合的金属离子会转变成无机盐沉淀, 造成水质不良。甲醛、IMDA 和  $\text{NH}_3$  对水生生物有强烈毒性, 且 IMDA 和  $\text{NH}_3$  等仲胺可与亚硝酸盐生成强烈致癌作用的亚硝胺<sup>[12, 26]</sup>。因而, 使用 EDTA 后, 应避免光, 至少应避免紫外区光线的照射, 以防止耗氧光分解; 为避免微生物造成的降解, 所用水应经过消毒。

3. EDTA 的光分解和生物降解与存放时间成正比。含有 EDTA 的水久放后, 必定会使水质变坏因此, 使用时必须及时更换新水, 以免引起不良影响, 切忌长久使用。

4. EDTA 并不能完全除去有害元素, 只是改变了其存在形态, 降低毒性, 但可能会增加生物对某些金属元素的吸收和累积速度<sup>[24]</sup>。因此, EDTA 的使用并不是一种理想的去除金属离子毒性的方法。

### 参 考 文 献

- [1] 全国海岸带办公室《环境质量调查报告》编写组, 1989. 中国海岸带和滩涂资源综合调查专业报告集, 环境质量调查报告, 53. 海洋出版社(京)。
- [2] 林笔水等, 1988. 人工控制培养缢蛏幼苗研究. 水产学报, 12: 223—231.
- [3] Alexanders M., 1973. Nonbiodegradable and other recalcitrant molecules. *Biotechnol. Bioeng.*, 15: 611—647
- [4] Anderson, D. M. and F. M. M. Morel, 1978. Copper sensitivity of *Gonyaulax tamarensis*. *Limnol. Oceanogr.*, 23: 283—295.
- [5] —, 1982. The influence of aqueous iron chemistry on the uptake of iron by the coastal diatom *Thalassiosira weissflogii*. *Ibid.*, 27: 789—813.
- [6] Barber, B. T. and J. H. Ryther, 1969. Organic chelators: Factors affecting primary production in the cromwell current upwelling. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 3: 191—199.
- [7] Beard, T. W. and J. F. Wickins, 1980. Breeding of *Penaeus monodon* Fabricius in laboratory recirculation systems. *Aquaculture*, 20: 79—89.
- [8] Belly, R. T. et al., 1975. Degradation of ethylenediaminetetraacetic acid by microbial population from an aerated lagoon. *Appl. Microbio.*, 29: 787—794.
- [9] Brand, L. E. et al., 1983. Limitation of marine phytoplankton reproductive rate by zinc, manganese and iron. *Limnol. Oceanogr.*, 28: 1182—1198.
- [10] Brown, A. Jr. et al., 1980. Maturation and spawning of *Penaeus stylirostris* under controlled laboratory conditions. *Proc. World Maricul. Soc.*, 11: 488—499.
- [11] Bunch, R. L. and M. B. Ettinger, 1967. Biodegradability of potential organic substitutes for phosphate, P. 393—396. *Purdue Univ. Eng. Bull., Ext. Ser.* no. 129 Part I. Purdue University, Lafayette, Ind.
- [12] Carey, J. H. and C. H. Langford, 1973. Photodecomposition of Fe(III) aminopolycarboxylate. *Can. J. Chem.*, 51: 3665—3670.
- [13] Castille, F. L. Jr. and A. L. Lawrence, 1981. The effects of EDTA (ethylenedinitrotetraacetic acid) on the survival and development of shrimp nauplii (*Penaeus stylirostris* Stimpson) and the interactions of EDTA with the toxicity of cadmium, calcium, and phenol. *J. World Maricul. Soc.*, 12: 292—304.
- [14] Chinnayya, B., 1971. Effect of heavy metals on oxygen consumption by the shrimp *Curidian rajadhari* (Bouvier). *Indian J. Exp. Biol.*, 9: 277—278.
- [15] Chamberlain, G. W. and A. L. Lawrence, 1981. Maturation, reproduction, and growth of *Penaeus vannamei* and *P. stylirostris*. *J. World Maricul. Soc.*, 12: 209—224.
- [16] Cook, H. L., 1969. A method for rearing penaeid shrimp larvae for experimental studies. *FAO Fisheries Report*, 3: 709—715.
- [17] Cook, G. I. and M. A. Murphy, 1966. Rearing penaeid shrimp from eggs to postlarvae. *Proceeding 19th Annual Conference Southeastern Association of Can. and Fish Commissioners*, 19: 288—288.

- [18] Davey, E. W. et al., 1973. A biological measurement of copper complexation capacity of sea water. *Limnol. Oceanogr.*, **18**: 999-997.
- [19] Davies, A. G., 1970. Iron, chelation, and the growth of marine phytoplankton I. Growth kinetics and chlorophyll production in culture of the euhaline flagellate *Dunaliella tertiolecta* under iron-limiting conditions. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, **50**: 65-86.
- [20] Dufkova, V., 1984. EDTA in algal culture media. *Arch. Hydrobiol. Suppl.*, **67**: 479-492.
- [21] Erickson, S. J., 1973. Toxicity of copper to a marine diatom in unenriched inshore seawater. *J. Phycol.*, **8**: 318-323.
- [22] Forsberg, C., 1971. Occurrence in nature of organic substances having the ability to form complexes (chelating agents). *Vatten*, **1**: 27-31.
- [23] Forstner, U. and G. T. W. Wittmann, 1979. *Metal Pollution in the Aquatic Environment*, P. 87. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York.
- [24] George, S. G. and T. L. Coombs, 1977. The effects of chelating agents on the uptake and accumulation of cadmium by *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*, **39**: 261-268.
- [25] Guillard, R. R. L. and J. H. Ryther, 1962. Studies on marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella* Hustedt and *Delonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.*, **8**: 229-239.
- [26] Hutner, S. H. et al., 1950. Some approaches to the study of the role of metals in the metabolism of microorganisms. *Proc. Amer. Philos. Soc.*, **94**: 152-170.
- [27] Johnston, R., 1964. Seawater, the natural medium of phytoplankton. 2. Trace metals and chelation and general discussion. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, **44**: 87-109.
- [28] Krauss, R. W. and A. W. Specht, 1955. Nutritional requirements and yields of algae in mass culture-Transactions of the conference on the use of solar energy. *Arizona University Press*, **4**: 12-14.
- [29] Lambert, J. B. et al., 1963. Preparation and photodecomposition of the complex acid, hydrogen aqueoethylenediaminetetraacetate(III). *Inorg. Chem.*, **2**: 127-129.
- [30] Lawrence, A. L. et al., 1981. Decreased toxicity of copper and manganese ions to shrimp nauplii (*Penaeus stylirostris* Stimpson) in the presence of EDTA. *J. World Maricult. Soc.*, **12**: 271-280.
- [31] Lee, Y. K. and S. J. Pirt, 1979. Instability and toxic effects of ethylenediaminetetraacetic acid-containing culture media when exposed to sunlight. *FEMS Microbiol. Lett.*, **6**: 379-381.
- [32] Lewin, J. and C. H. Chen, 1971. Available iron: a limiting factor for marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **21**: 684-696.
- [33] Lewis, A. G. et al., 1972. Some particulate and soluble agents affecting the relationship between metal toxicity and organism survival in the calanoid copepod *Euchaeta japonica*. *Mar. Biol.* **17**: 215-221.
- [34] —, 1973. The reduction of copper toxicity in a marine copepod by sediment extract. *Limnol. Oceanogr.*, **18**: 324-326.
- [35] Lockhart, H. B., Jr. and R. V. Blakeley, 1975. Aerobic photodegradation of Fe(III)-ethylenedinitrilo tetraacetate (ferric EDTA). *Environ. Sci. Technol.*, **9**: 1035-1038.
- [36] Manahan, S. E. and M. J. Smith, 1973. Copper micronutrient requirement for algae. *Ibid.*, **7**: 829-833.
- [37] Mandelli E. F., 1969. The inhibitory effects of copper on Marine phytoplankton. *Contrib. Mar. Sci.*, **14**: 47-57.
- [38] —, 1971. A study of the effect of desalination plant effluents on marine benthic organisms. *U.S. Office of Saline Water Research Development*. Progress Report 803.
- [39] Martin D. F. and W. K. Olander, 1971. Effects of copper, titanium, and zirconium on the growth rates of the red tide organism *Gymnodium breve*. *Environ. Lett.*, **2**: 135-142.
- [40] Menzel, D. W. and J. H. Ryther, 1960. Nutrients limiting the production of phytoplankton in the Sargasso Sea with special reference to iron. *Deep-Sea Res.*, **7**: 276-281.
- [41] Mock, C. R. and M. A. Murphy, 1970. Techniques for raising penaeid shrimp from egg to post-larvae. *Proc. World Maricult. Soc.*, **1**: 143-156.

- [42] Motomura, T. and Y. Sakai, 1981. Effect of chelated iron in culture media on oogenesis in *Laminiaria angustata*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **47**: 1535—1540.
- [43] Murphy, T. P. et al., 1976. Blue-green algae: their excretion of iron-selective chelators enables them to dominate other algae. *Science(Wash. D. C.)*, **192**: 900—902.
- [44] Myers, J. et al., 1951. On the mass culture of algae. *Plant Physiol.*, **26**: 539—548.
- [45] Natarajan, P. and J. Endicott, 1978. Photorex behavior of transition metal-ethylenediaminetetraacetate complexes: a comparison of some group VIII metals. *J. Phys. Chem.*, **77**: 2045—2054.
- [46] Provasoli, L. et al., 1957. The development of artificial media for marine algae. *Arch. Mikrobiol.*, **25**: 392—428.
- [47] Schelske, C. L., 1962. Iron, organic matter and other factors limiting primary productivity in a marl lake. *Science(Wash. D. C.)*, **136**: 45—46.
- [48] Segot, M. and L. Codomier, 1981. Culture media with enriched sea water: Optimal and inhibitory concentration of some chemical compounds added to seawater for the culture of *Asparagopsis armata* (Rhodophycase, Bonnemaisoniales). *Botanica. Mar.*, **24**: 63—67.
- [49] Simon, C. M., 1978. The culture of the diatom *Chaetoceros gracilis* and its use as a food for penaeid protozoal larvae. *Aquaculture*, **14**: 105—113.
- [50] Spencer, C. P., 1957. Utilization of trace elements by marine unicellular algae. *J. Gen. Microbiol.*, **16**: 282—285.
- [51] —, 1958. The chemistry of ethylenediamine tetraacetic acid in seawater. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **37**: 127—144.
- [52] Steemann Nielsen, E. and L. Kamp-Nielsen, 1970. Influence of deleterious concentrations of copper on the growth of *Chlorella pyrenoidosa*. *Physiol. Plant.*, **23**: 828—840.
- [53] Steemann Nielsen, E. et al., 1969. Influence of deleterious concentration of copper on the photosynthesis of *Chlorella pyrenoidosa*. *Ibid.*, **22**: 1121—1133.
- [54] Steemann Nielsen, E. and S. Wiium-Anderson, 1970. Copper ions as poison in the sea and in freshwater. *Mar. Biol.*, **6**: 93—97.
- [55] —, 1971. The influence of copper on photosynthesis and growth in diatoms. *Physiol. Plant.*, **24**: 480—484.
- [56] Storch, T. A. and V. L. Dunham, 1986. Iron-mediated changes in the growth of Lake Erie phytoplankton and axenic algal cultures. *J. Phycol.*, **22**: 109—117.
- [57] Sunda, W. G. and R. E. Guillard, 1976. Relationship between cupric ion activity and toxicity of copper to phytoplankton. *J. Mar. Res.*, **34**: 511—529.
- [58] Tiedje, J. M. et al., *Abstr. Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol.*, P. 5, 1974.
- [59] Tranter, D. J. and B. S. Newell, 1963. Enrichment experiments in the Indian Ocean. *Deep-Sea Res.*, **10**: 1—9.
- [60] Utting, S. D. and M. M. Helm, 1985. Improvement of sea water quality by physical and chemical pre-treatment in a bivalve hatchery. *Aquaculture*, **44**: 133—144.
- [61] Walker, J. B., 1953. Inorganic micronutrient requirements of chlorella. I. Requirements for calcium (or strontium), copper, and molybdenum. *Arch. Biochem. Biophys.*, **46**: 1—11.
- [62] —, 1954. Inorganic micronutrient requirements of chlorella. II. Quantitative requirements for iron, manganese, and zinc. *Ibid.*, **53**: 1—8.
- [63] Wood, J. M., 1974. Biological cycles for toxic elements in the environment. *Science*, **183**: 1049—1052.