蛋白水解肽-Fe^{2+}配合物对紫贻贝体内 Cd 脱除的影响

张宾，王晓玲，史周荣，邓尚贵，丁秋英
（浙江海洋学院 浙江省海产品健康危害因素关键技术研究重点实验室，浙江舟山 316022）

摘要：为探讨紫贻贝体内重金属 Cd 残留的脱除方法，采用海水中添加制备的蛋白水解肽-Fe^{2+}配合物（TPH-Fe^{2+}）进行暂养，检测贻贝不同组织器官中 Cd 含量变化情况。结果显示，贻贝不同器官中 Cd 富集量，依次为内脏团>鳃>后闭壳肌>外套膜>前闭壳肌，且在 0~10 d 自然净化过程中，无显著性下降趋势（P>0.05）。添加 10 mg/L TPH-Fe^{2+}净化处理，对贻贝内脏团及鳃中 Cd 含量无显著性影响；添加 15~25 mg/L TPH-Fe^{2+}净化处理贻贝 4 d 后，内脏团、鳃、前后闭壳肌及外套膜中 Cd 含量均有不同程度下降（P<0.05）；20 mg/L TPH-Fe^{2+}净化 10 d 后，贻贝不同器官中 Cd 脱除率表现为鳃>内脏团>外套膜>前后闭壳肌，最高脱除率分别为 41.00%、37.43%、29.81%和 29.01%，与 25 mg/L TPH-Fe^{2+}净化处理组无显著性差异（P>0.05）。研究表明，蛋白水解肽-Fe^{2+}配合物有效脱除贻贝体内 Cd 残留，可作为一种双壳贝类养殖饲料添加剂加以应用。

关键词：紫贻贝；水解肽；Fe^{2+}；配合物；镉；脱除
文章篇号：1673-9078(2015)10-91-96 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.10.016

Removal Effect of Cadmium from Mussel (*Mytilus edulis*) Using a Protein Hydrolyate-Fe^{2+} Complex

ZHANG Bin, WANG Xiao-ling, SHI Zhou-rong, DENG Shang-gui, DING Qiu-ying
(Key Laboratory of Health Risk Factors for Seafood of Zhejiang Province, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China)

Abstract: In order to determine an efficient method for the removal of residual cadmium (Cd) from mussel (*Mytilus edulis*) tissues, mussels were temporarily raised in seawater containing *Trichiurus haumela* protein hydrolysate-Fe^{2+} complex (TPH-Fe^{2+}), and the changes in the Cd content of different tissues and organs were measured. The results indicated that the amounts of accumulated Cd in different mussel organs were in the following order: visceral mass > gill > posterior adductor muscle > mantle > anterior adductor muscle; no obvious change of the Cd content in mussel (*Mytilus edulis*) tissues was observed (P > 0.05) during the 10-day natural depuration period. After the ten-day treatment with 10 mg/L of TPH-Fe^{2+}, there were no significant changes in the Cd concentrations in the visceral mass and gill of mussel. After a four-day treatment with 15~25 mg/L of TPH-Fe^{2+}, the Cd content in the visceral mass, gill, posterior adductor muscle, mantle, and anterior adductor muscle decreased to various degrees (P < 0.05). After a ten-day treatment with 20 mg/L of TPH-Fe^{2+}, The highest removal rates were 41.00%, 37.43%, 29.81%, and 29.01% for gill, visceral mass, mantle, posterior/anterior adductor muscle, respectively. Similar results were observed after a ten-day treatment with 25 mg/L of TPH-Fe^{2+} (P > 0.05). The results indicated that TPH-Fe^{2+} can effectively remove residual Cd in mussels and can be used as an aquaculture feed additive for bivalve mollusks.

Keywords: *Mytilus edulis*; protein hydrolysate; Fe^{2+}; complex; cadmium; removal

紫贻贝（*Mytilus edulis*），俗称淡菜、海虹，具有味道鲜美、营养丰富特点，因而深受国内外消费者欢迎。我国作为贻贝产品主要生产和贸易大国，总产量连续多年名列世界第一。贻贝类属滤食性生物、移动性差，而养殖基地大多在污染较重海域，因此其在滤食饵料同时，也大量富集了海水中重金属、化学污染物等。研究表明，从单次污染指数、污染物负荷比来看，镉（Cd）对双壳贝类影响最大[1]。海水中 Cd 平均含量为 0.11 μg/L，鱼类可富集 10^3~10^5 倍、贝类可富集 10^5~10^6 倍；非污染区贝类 Cd 含量约为 0.05 mg/kg，而污染区贝类含量可高达 420 mg/kg[2]（国家限量为≤1.0 mg/kg）。2011~2012 年间，海南省近岸海域采集 95 份贝类样品中，均大量检出 Cu、Cd、Cr、Hg 及 Pb 等 5 种重金属[3]。2013 年，浙江近岸海域厚壳贻贝、菲律宾蛤仔和栉孔扇等 9 种贝类，在 29 份样品中也检出高含量 Cd、Hg 及 Pb 等[4]。

对于双壳贝类体内重金属，可通过净水暂养或净

收稿日期：2015-02-03
基金项目：国家青年自然科学基金项目（31201452）；浙江省自然科学基金项目（LY15C200017）；舟山市科技计划项目（2013C41015）
作者简介：张宾，男，博士，副教授，研究方向为水产品加工及贮藏
通讯作者：邓尚贵，男，博士，教授，研究方向为水产品加工及贮藏

化方式得以部分脱除。Chan 等[5]研究发现，经 8 个月暂养净化后，牡蛎体内 Cd 含量降低约 60%。Clara Rebouças do Amaral 等[6]将受 Zn、Cd 污染的近江牡蛎在洁净水域净化 3 个月后，发现牡蛎中 Zn 含量降低 3 倍，而 Cd 含量有所降低但并不显著。许梓荣等[7]采用纳米蒙脱石、氯化钠和壳聚糖作为饲料添加剂，通过物理吸附可减轻 Cd 对贝、鱼类毒害作用。孙继鹏等[2]制备了水溶性壳寡糖-金属配合物，可置换贝体内 MT-Cd 中的 Cd 离子，对栉孔扇贝 Cd 具有一定脱除作用，其原理是靠壳寡糖上羟基、氨基基等争夺与机体内结合的 Cd 离子（主要与金属硫蛋白及类金属硫蛋白等结合），形成不溶性复合物而排出体外。本研究以 Cd 作为代表性有害重金属，以暂养紫贻贝为研究对象，重点探讨制备的蛋白水解肽-Fe^{2+}配合物对贻贝内脏团、鳃、前闭壳肌、后闭壳肌及外套膜中 Cd 残留的脱除作用，为开发对甲壳类动物重金属脱除饲料添加剂提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

试验原料：紫贻贝，平均壳长、高、宽和体重依次为 10.2±0.5 cm、7.8±0.4 cm、4.5±0.4 cm 和 57.2±2.9 g，购于舟山市东河水产品市场。挑选体格健壮、无破损、活力旺盛、大小一致贻贝，进行暂养、Cd 暴露及脱除试验。带鱼加工副产物（含鱼头、内脏、鱼骨及碎肉等，本底 Cd 含量<0.04 μg/g），由浙江兴业集团有限公司提供，用于制备水解肽-Fe^{2+}配合物。Cd 暴露试剂为 $CdCl_2$ 2.5H_2O（AR），购于天津市凯信化学工业有限公司。

试验仪器：DigiBlock ED36 电热消解仪，上海 LabTech 公司；AA-7000 原子吸收分光光度计，日本岛津公司；Direct-Q3U 超纯水制备机，法国 Millipore 公司；实验室纳/超滤膜分离设备，上海朗极膜分离设备工程有限公司；CF16RX 冷冻离心机，日本日立公司；FreeZone 4.5 真空冷冻干燥机，美国 Labconco 公司。

1.2 水解肽-Fe^{2+}配合物（TPH-Fe^{2+}）制备

采用张宾等[8-9]报道方法，稍加改进。带鱼加工副产物约 20 g，置于 200 mL 去离子水中，调节混合体系 pH 值 6.5 ± 0.1，40 ℃保温 10 min；以 20000 U/g 比例加入木瓜蛋白酶，45 ℃水浴、搅拌酶解 8 h；每隔 2 h 调节体系 pH 值 6.5±0.1；酶解结束后，85 ℃水浴 10 min，钝化木瓜蛋白酶；快速冷却至 4 ℃，5000 r/min 离心 20 min，获得中间清液为蛋白水解肽。将水解肽溶液以 1.0 mol/L NaOH 调节 pH 值至 7.0，按体积的 2.0%加入 1 mol/L $FeCl_2$ 溶液（同时加入少量 Vc），30 ℃水浴振荡 30 min，10000 r/min 离心 20 min，获得上清液。采用实验室纳滤膜分离设备，截留获得分子量<1500 Da 水解肽-Fe^{2+}配合物，经冷冻干燥后，即为蛋白水解肽-Fe^{2+}配合物（记为 TPH-Fe^{2+}，Fe^{2+}螯合率为 84.35%）。

1.3 紫贻贝暂养及 Cd 暴露

紫贻贝暂养：养殖容器为直径 150 cm 聚乙烯桶。养殖海水维持 pH 7.8~8.0，盐度 29~31‰，温度 17~18 ℃。将贻贝于养殖桶内，每桶 150 L 海水，连续充氧，每 24 h 更换 9/10 新鲜海水 1 次，定时观察并及时剔除死亡个体。暂养 7 d 后，选取着丝正常、反应灵敏、代谢正常个体，进行 Cd 暴露及脱除试验。

Cd 暴露：采用静态水交换法，将暂养后贻贝于含 0.32 mg/L $CdCl_2$ 海水养殖桶内，每 24 h 更换 9/10 含 Cd 海水 1 次，并清洁吸污；Cd 暴露试验为期 5 天；期间定时观察并剔除死亡个体；为避免残饵对贻贝体内 Cd 含量影响，整个试验期间不投喂。

1.4 TPH-Fe^{2+}对紫贻贝体内 Cd 的脱除

未经 Cd 暴露贻贝暂养于洁净海水中，记为空白组 A；经 Cd 暴露贻贝，暂养于洁净海水中，记为空白组 B（阴性对照组）。Cd 脱除试验分为以下四组：Cd 暴露贻贝暂养于含 10 mg/L TPH-Fe^{2+}海水中，记为 TPH-Fe^{2+}脱除组（1）；Cd 暴露贻贝暂养于含 15 mg/L TPH-Fe^{2+}海水中，记为 TPH-Fe^{2+}脱除组（2）；Cd 暴露贻贝暂养于含 20 mg/L TPH-Fe^{2+}海水中，记为 TPH-Fe^{2+}脱除组(3)；Cd 暴露后贻贝暂养于含 25 mg/L TPH-Fe^{2+}海水中，记为 TPH-Fe^{2+}脱除组（4）。(前期试验发现，海水中添加制备的 TPH 对紫贻贝各组织中 Cd，无显著性脱除作用，因此本试验中未设计 TPH 饲喂组）。每个养殖桶 60 只贻贝，每组设置 3 个平行桶；整个 Cd 脱除试验为期 10 d，第 0、2、4、6、8、10 d 取样 1 次，每桶取样 6 只贻贝（即每组、每次共取样 18 只）；将贻贝进行手工解剖，分离内脏团、鳃、外套膜、前闭壳肌和后闭壳肌，分别进行电热消化、原子吸收法测定 Cd 含量。

1.5 Cd 含量测定

将样品匀浆后称取 0.8~1.2 g，加入 12 mL HNO_3 和 3 mL $HClO_4$，混匀后消解。电热消解程序：升温至 100 ℃，保持 30 min；至 130 ℃，保持 60 min；再升

温至 150 ℃，至消解完成；最后升温至 180 ℃，赶酸至样品容量约 2 mL。冷却至室温，超纯水定容 50 mL，原子吸收分光光度计法测定 Cd 含量（mg/kg，湿重）。

1.6 数据统计与分析

以上试验及测定，至少 3 个平行样品。数据分析与统计采用 SPSS 13.0 分析软件，结果为平均值±标准偏差。

2 结果与讨论

2.1 TPH-Fe^{2+}对紫贻贝内脏团中 Cd 含量的影响

海水中 TPH-Fe^{2+}对紫贻贝内脏团中 Cd 含量影响，如表 1 所示。未经 Cd 暴露（空白组 A）、Cd 暴露贻贝(空白组 B)内脏团中 Cd 含量依次为 4.315~4.489 μg/g、85.620~89.368 μg/g，在 0~10 d 净化脱除（洁净海水）过程中，均未出现显著性下降趋势（P>0.05），表明仅通过净水暂养方式，贻贝内脏团中富集 Cd 无法通过自然代谢而有效脱出。该结果与 Clara Reboução do Amaral 等[6]研究结果一致，即 Cd 在贻贝内脏团中表现出强烈生物富集效应，而生物代谢半衰期较长。10 mg/L TPH-Fe^{2+}对贻贝内脏团中 Cd，无显著性净化脱除效果（P>0.05）；15 mg/L TPH-Fe^{2+}净化处理贻贝 10 d，内脏团中 Cd 含量由 89.258 μg/g 下降至 66.285 μg/g，Cd 脱除率为 25.74%；20 mg/L 和 25 mg/L TPH-Fe^{2+}处理，内脏团中 Cd 含量降低至 55.015 μg/g 和 54.027 μg/g，脱除率分别为 36.90%和 37.43%，脱除效果显著（P<0.05）。此外，TPH-Fe^{2+}处理贻贝 10 d 后，20 mg/L 和 25 mg/L TPH-Fe^{2+}净化脱除效果，显著优于 10 mg/L 和 15 mg/L 处理组（P<0.05）。

研究表明，Cd 在甲壳类动物不同组织富集程度不同，一般在内脏团中富集程度最高，是由于 Cd 主要与内脏团中金属硫蛋白类（Metallothioneins，MTs）、类金属硫蛋白、含氨杂环水分子化合物、离子或低分子络合离子等物质结合[7]，形成 Cd-MTs 配合物而起到机体对 Cd 的解毒作用[10]。因此，Cd 在甲壳动物体内的代谢排出速率，与解毒蛋白（MTs）诱导生成量及活性恢复速率、动物体内是否有与 MTs 具有更加强结合能力的配体（如金属离子）存在及数量等因素有关[11]。本试验中，采用低分子量水解肽（载体）与 Fe^{2+}形成的配合物净化处理贻贝，起到脱除内脏团中 Cd 作用：一方面，小分子水解肽可被贻贝直接吸收进入体内循环，进而可争夺内脏团 Cd-MTs 配合物中的 Cd 离子，起到协助恢复 MTs 活性、加速解毒效率的作用。

表 1 TPH-Fe^{2+}对紫贻贝内脏团中 Cd 含量的影响

Table 1 Effect of TPH-Fe^{2+} on Cd concentrations in the visceral mass of *M. edulis*.

试验处理组	添加浓度/(mg/L)	脱除试验期间贻贝内脏团中 Cd 含量/(μg/g)					
		0 d	2 d	4 d	6 d	8 d	10 d
空白组 A	-	4.325±0.252^{A}	4.431±0.300^{A}	4.365±0.213^{A}	4.489±0.380^{A}	4.365±0.277^{A}	4.315±0.338^{A}
空白组 B	-	85.620±5.125^{Aa}	89.368±6.028^{Ab}	86.394±4.822^{Ab}	87.394±5.084^{Ac}	86.697±6.089^{Ac}	88.074±5.221^{Ac}
TPH-Fe^{2+}	10	88.312±6.125^{Aa}	86.564±6.560^{Ab}	87.658±7.001^{Ab}	85.444±7.160^{Ac}	88.831±6.890^{Ac}	86.560±5.661^{Ac}
	15	89.258±5.258^{Ca}	88.258±5.241^{Cb}	86.085±5.127^{Cb}	72.350±4.577^{Bb}	67.124±3.198^{Ab}	66.285±3.369^{Ab}
	20	87.181±5.589^{Da}	87.325±4.111^{Db}	73.250±5.028^{Ca}	62.387±3.011^{Ba}	61.121±2.269^{Bab}	55.015±2.878^{Aa}
	25	86.349±4.668^{Da}	78.280±5.011^{Ca}	75.044±4.002^{Ca}	61.120±3.577^{Ba}	56.255±3.512^{Aa}	54.027±4.011^{Aa}

注：同行中不同大写字母，表示显著性差异 P<0.05；同列中不同小写字母，表示显著性差异 P<0.05。

2.2 TPH-Fe^{2+}对紫贻贝鳃中 Cd 含量的影响

海水中 TPH-Fe^{2+}对紫贻贝鳃中 Cd 含量影响，如表 2 所示。在 0~10 d 净化脱除过程中，Cd 暴露贻贝（空白组 B）鳃中 Cd 含量范围为 44.109~46.031 μg/g，且未出现显著性下降趋势（P>0.05）。经过 10 d 净化后，15 mg/L、20 mg/L 和 25 mg/L TPH-Fe^{2+}将贻贝鳃中 Cd 含量降低至 32.074 μg/g、28.124 μg/g 和 26.482 μg/g，脱除率依次为 30.29%、37.90%和 41.00%。同时，高剂量（25 mg/L）TPH-Fe^{2+}处理对贻贝鳃中 Cd 脱除效率，显著优于低剂量（10 mg/L 和 15 mg/L）处理组（P<0.05），该结果与内脏团中 Cd 脱除结果相似。此外，本试验中贻贝鳃中 Cd 含量显著低于内脏团中（P<0.05）。

鳃做为外界金属离子进入甲壳类动物体内主要通道之一，其也是金属离子（如 Cd）在生物体内暂存的富集器官，即富集在鳃组织中较高浓度 Cd 离子，可通过代谢作用转移到机体的消化腺、肝脏、脾脏及其它器官[12]。此外，甲壳类动物鳃组织中的 Cd 含量往往随着养殖季节、水体环境及温度等的不同而产生

现代食品科技

较大的波动，这也可能是本试验中贻贝鳃组织中 Cd 含量显著低于内脏团中的原因之一，该结果与 Chandurvelan 等[13]报道结果相一致。研究表明，甲壳类动物在 Cd 离子暴露下，可激发机体内如鳃中多种免疫性酶的大量表达，如 CAT、GSH-Px 和 SOD 等以减弱 Cd 的毒性作用；同时，生物体内保护性免疫酶活性也可被过量的 Cd 所抑制或钝化[14]。本试验制备的 TPH-Fe^{2+}经体外检测发现，具有较强清除自由基能力，即具有较强的体外抗氧化活性（结果略）。在贻贝体内试验中，TPH-Fe^{2+}可能是借助 TPH 的转运吸收机制，携带 Fe^{2+}到达贻贝鳃及其它组织中，通过寡肽提高机体营养物质利用同时，再结合 Fe^{2+}离子作用，增强了机体保护性酶如 Fe-SOD 活力等[9]，协同起到提高 Cd 脱除效果的作用。

表 2 TPH-Fe^{2+}对紫贻贝鳃中 Cd 含量的影响

Table 2 Effect of TPH-Fe^{2+} on Cd concentrations in the gill of *M. edulis*.

试验处理组	添加浓度/(mg/L)	脱除试验期间贻贝鳃中 Cd 含量/(μg/g)					
		0 d	2 d	4 d	6 d	8 d	10 d
空白组 A	-	2.320±0.214^{A}	2.445±0.189^{A}	2.308±0.204^{A}	2.385±0.171^{A}	2.412±0.233^{A}	2.369±0.159^{A}
空白组 B	-	45.039±3.112^{Aa}	44.109±4.011^{Aa}	46.258±2.750^{Ab}	45.028±3.121^{Ac}	44.850±2.458^{Ad}	46.031±3.120^{Ac}
TPH-Fe^{2+}	10	44.222±2.744^{Aa}	43.289±3.111^{Aa}	45.002±2.876^{Ab}	43.589±3.120^{Ac}	44.251±2.889^{Ad}	45.028±2.444^{Ac}
	15	46.011±3.223^{Ca}	45.250±2.580^{Ca}	44.850±1.891^{Cb}	39.010±1.770^{Bb}	38.201±1.690^{Bc}	32.074±2.028^{Ab}
	20	45.289±2.658^{Da}	44.451±3.147^{Da}	35.325±2.885^{Ca}	34.258±2.012^{Ca}	31.025±1.189^{Bb}	28.124±1.578^{Aab}
	25	44.885±2.189^{Ca}	43.658±3.130^{Ca}	33.258±3.110^{Ba}	32.589±2.500^{Ba}	27.047±2.111^{Aa}	26.482±1.258^{Aa}

注：同行中不同大写字母，表示显著性差异 $P<0.05$；同列中不同小写字母，表示显著性差异 $P<0.05$。

2.3 TPH-Fe^{2+}对紫贻贝前、后闭壳肌中 Cd 含量的影响

海水中 TPH-Fe^{2+}对紫贻贝前、后闭壳肌中 Cd 含量影响，如表 3 所示。Cd 暴露贻贝前、后闭壳肌中 Cd 含量依次为 10.102~10.589 μg/g、18.654~19.120 μg/g，显著低于内脏团和鳃中（$P<0.05$）。在整个净化脱除过程中，未出现显著性下降趋势（$P>0.05$），该试验结果与文献报道结果一致[15]。在 0~10 d 净化试验期内，10~25 mg/L TPH-Fe^{2+}处理，贻贝前、后闭壳肌中 Cd 脱除率范围为 20.21%~29.01%，相比于内脏团和鳃中脱除率较低，可见贻贝肌肉中结合的 Cd 较为稳定。25 mg/L TPH-Fe^{2+}净化处理 10 d，前、后闭壳肌中 Cd 含量降低至 7.247 μg/g、13.282 μg/g，显著优于 10~15 mg/L TPH-Fe^{2+}处理组（$P<0.05$）。

重金属 Cd 对甲壳类动物各组织器官毒性较强，其可引发机体肌肉中活性氧自由基的大量积聚（氧化损伤）以及破坏体内必需金属离子（如 Ca^{2+}、Fe^{2+}）平衡等[16]。生物体所必需的金属离子（如 Fe、Zn、Ca 及 Mn 等），可在寡肽或氨基酸配位体的保护下，有效抵御与其他离子生成难溶的无机盐，缓解金属元素间的拮抗竞争作用，从而可减少营养物质损失，并增强其吸收利用效率[17]。此外，小分子水解肽与金属元素形成的配合物，还具有如抗菌、激素、酶的抑制、免疫、生理调节等功能[18]。De la Hoz 等[19]研究证实，Fe^{2+}螯合肽可有效增强 Fe^{2+}在生物体内的吸收及生物利用度。本试验中应用的水解肽分子量较小（<1500 Da），其与 Fe^{2+}结合形成配合物后，通过水解肽在生物体内的转运、吸收通道，被贻贝所吸收并达到相关靶向部位。在达到靶向部位后，经机体的代谢利用释放所携带的 Fe^{2+}离子，从而可有效提高 Fe^{2+}离子在贻贝机体的生物利用度，辅助促进 Cd 的释放脱除。

2.4 TPH-Fe^{2+}对紫贻贝外套膜中 Cd 含量的影响

海水中 TPH-Fe^{2+}对紫贻贝外套膜中 Cd 含量影响，如表 4 所示。Cd 暴露贻贝外套膜中 Cd 含量较高，范围为 12.225~12.850 μg/g。采用 10~25 mg/L TPH-Fe^{2+}净化处理 10 d 后，外套膜中 Cd 含量分别降低至 9.711、9.244、8.886 和 8.803 μg/g，Cd 脱除率为 22.01%、25.04%、28.89%和 29.81%。综上结果可知，TPH-Fe^{2+}对贻贝不同器官中 Cd 的脱除作用，由强到弱依次为：鳃>内脏团>外套膜>前后闭壳肌。

双壳贝类的鳃和外套膜为直接与外界海水接触的组织器官，二者对环境中的重金属（如 Cd）富集量往往相对较高，且鳃组织中富集量一般高于外套膜中。由表 2、4 可知，贻贝外套膜中 Cd 含量约为鳃组织中 1/3，该结果恰与 Company 等研究结果一致。Huang 等[20]制备了壳寡糖-Ca^{2+}（Zn^{2+}、Mg^{2+}）配合物，并将其应用于牡蛎体内 Cd 的脱除。结果表明，壳寡糖-金属配合物饲喂，显著降低了牡蛎体内 Cd 残留，脱除率为 28.20%~34.68%。此外，李会英等[21]以壳寡糖-

稀土配合物饲喂大菱鲆，结果发现该配合物对大菱鲆富集 Cd 具有一定抑制作用，且有效缓解了 Cd 污染对大菱鲆毒性作用。本研究中，采用水解肽-Fe^{2+}净化处理贻贝，对外套膜中 Cd 含量具有显著脱除效果，其作用可能与寡糖-金属配合物作用机制相似。此外，将 Fe^{2+}离子结合于水解肽载体中，可减弱 Fe^{2+}离子与环境、生物体中其他物质的结合，从而可有效提高其在贻贝体内的生物利用率[17]。

表 3 TPH-Fe2+对紫贻贝前、后闭壳肌中 Cd 含量的影响

Table 3 Effect of TPH-Fe^{2+} on Cd concentrations in the anterior and posterior adductor muscles of *M. edulis*.

试验处理组	添加浓度/(mg/L)	脱除试验期间贻贝前闭壳肌中 Cd 含量/(μg/g)					
		0 d	2 d	4 d	6 d	8 d	10 d
空白组 A	-	0.425±0.035^{A}	0.456±0.040^{A}	0.419±0.029^{A}	0.480±0.051^{A}	0.411±0.038^{A}	0.435±0.038^{A}
空白组 B	-	10.256±1.201^{Aa}	10.102±1.352^{Aa}	10.489±1.500^{Ac}	10.444±1.610^{Ad}	10.589±1.521^{Ad}	10.333±1.432^{Ac}
TPH-Fe^{2+}	10	10.852±1.320^{Ba}	10.258±1.562^{Ba}	10.551±1.442^{Bc}	10.450±1.325^{Bd}	8.510±1.021^{Ab}	8.432±0.982^{Ab}
	15	10.584±1.658^{Ca}	10.665±1.700^{Ca}	10.125±1.490^{Cc}	9.300±1.089^{Bc}	9.128±1.117^{Bc}	8.128±1.125^{Ab}
	20	10.774±1.540^{Da}	10.580±1.450^{Da}	9.444±1.141^{Cb}	8.354±1.111^{Bb}	7.771±1.250^{Aa}	7.620±0.980^{Aa}
	25	10.120±1.369^{Ca}	9.998±1.404^{Ca}	8.674±1.251^{Ba}	7.623±1.247^{Aa}	7.580±1.102^{Aa}	7.247±0.789^{Aa}
试验处理组	添加浓度/(mg/L)	脱除试验期间贻贝后闭壳肌中 Cd 含量/(μg/g)					
		0 d	2 d	4 d	6 d	8 d	10 d
空白组 A	-	1.328±0.121^{A}	1.409±0.098^{A}	1.344±0.106^{A}	1.385±0.121^{A}	1.400±0.098^{A}	1.378±0.108^{A}
空白组 B	-	18.654±1.250^{Aa}	19.002±1.327^{Aa}	18.893±1.402^{Ab}	19.120±1.378^{Ab}	18.887±1.381^{Ac}	18.660±1.397^{Ac}
TPH-Fe^{2+}	10	18.570±1.269^{Aa}	18.547±1.333^{Aa}	18.607±1.289^{Ab}	18.444±1.552^{Ab}	18.600±1.254^{Ac}	18.444±1.488^{Ac}
	15	18.904±1.324^{Ba}	18.666±1.444^{Ba}	18.716±1.148^{Bb}	18.556±1.058^{Bb}	16.404±1.254^{Ab}	15.084±1.232^{Ab}
	20	19.007±1.289^{Ca}	18.454±1.224^{Ca}	16.358±1.401^{Ba}	15.821±1.421^{Ba}	13.845±1.245^{Aa}	13.490±1.024^{Aa}
	25	18.708±1.300^{Da}	18.111±1.254^{Da}	16.817±1.345^{Ca}	15.222±1.207^{Ba}	13.405±1.002^{Aa}	13.280±0.849^{Aa}

注：同行中不同大写字母，表示显著性差异 $P<0.05$；同列中不同小写字母，表示显著性差异 $P<0.05$。

表 4 TPH-Fe^{2+}对紫贻贝外套膜中 Cd 含量的影响

Table 4 Effect of TPH-Fe^{2+} on Cd concentrations in the mantle of *M. edulis*.

试验处理组	添加浓度/(mg/L)	脱除试验期间贻贝外套膜中 Cd 含量 (μg/g)					
		0 d	2 d	4 d	6 d	8 d	10 d
空白组 A	-	0.528±0.040^{A}	0.555±0.048^{A}	0.508±0.302^{A}	0.548±0.288^{A}	0.544±0.199^{A}	0.520±0.260^{A}
空白组 B	-	12.225±0.994^{Aa}	12.850±1.589^{Aa}	12.751±1.109^{Ab}	12.610±1.442^{Ac}	12.405±1.118^{Ad}	12.580±1.222^{Ac}
TPH-Fe^{2+}	10	12.451±1.325^{Ca}	12.545±1.089^{Ca}	12.222±1.210^{Cb}	12.589±1.234^{Cc}	11.225±1.369^{Bc}	9.711±0.791^{Ab}
	15	12.332±1.258^{Ca}	12.188±1.412^{Ca}	12.640±1.400^{Cb}	12.025±1.000^{Cc}	10.205±1.225^{Bb}	9.244±0.859^{Ab}
	20	12.502±1.300^{Da}	12.320±1.111^{Da}	12.089±1.248^{Db}	11.001±0.999^{Cb}	9.892±1.001^{Bb}	8.886±1.101^{Aa}
	25	12.400±1.400^{Da}	12.025±0.998^{Da}	11.210±1.211^{Ca}	10.859±1.309^{Ba}	8.907±0.894^{Aa}	8.703±0.908^{Aa}

注：同行中不同大写字母，表示显著性差异 $P<0.05$；同列中不同小写字母，表示显著性差异 $P<0.05$。

3 结论

以紫贻贝为实验动物，在暂养海水中添加不同浓度蛋白水解肽-金属配合物（TPH-Fe^{2+}），探讨了 TPH-Fe^{2+}对贻贝不同组织器官中 Cd 残留的脱除效果。结果表明，15、20 和 25 mg/L TPH-Fe^{2+}净化处理，对贻贝内脏团、鳃、前后闭壳肌及外套膜中 Cd 具有一定脱除作用，尤其以 20 和 25 mg/L TPH-Fe^{2+}组脱除效率最佳。TPH-Fe^{2+}对贻贝体内 Cd 的脱除作用，其原因可能是利用了小分子水解肽（载体）在贻贝体内特殊的转运、吸收机制，将 TPH-Fe^{2+}运送至特定靶向器官，通过小分子水解肽螯合 Cd、金属离子间的拮抗作用及增强机体免疫能力（保护性酶活）等方面，加速了 Cd 在贻贝不同组织器官中的排出效率。

参考文献

[1] Allen P. Chronic accumulation of cadmium in the edible tissues of *Oreochromis aureus* (Steindachner): Modification by mercury and lead [J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1995, 29(1): 8-14

[2] 孙继鹏.壳寡糖金属配合物对扇贝体内重金属镉的影响[D].青岛:中国海洋大学,2009

SUN Ji-peng. The effect of chitosan oligosaccharide complexes with metal elements on cadmium in viscera of Chlamys ferrari [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009

[3] 杜克梅.海南省近岸海域主要经济贝类重金属污染调查与评价[D].广州:暨南大学,2013
DU Ke-mei. Investigation and assessment on heavy metals in industrial shellfish collected from the coast areas of Hainan [D]. Guangzhou: JiNan University, 2013

[4] 母清林,王晓华,佘运勇,等.浙江近岸海域贝类中重金属和贝毒污染状况研究[J].海洋科学,2013,37(1):87-91
MU Lin-qing, WANG Xiao-hua, SHE Yun-yong, et al. Contamination status of heavy metals and shellfish poisoning in the shellfish samples of Zhejiang coastal areas [J]. Marine Sciences, 2013, 37(1): 87-91

[5] Chan K W, Cheung R Y H, Leung S F, et al. Depuration of metals from soft tissues of oysters (*Crassostrea gigas*) transplanted from a contaminated site to clean sites [J]. Environmental Pollution, 1999, 105(3): 299-310

[6] Clara Rebouças do Amaral M, de Freitas Rebelo M, Paulo Machado Torres J, et al. Bioaccumulation and depuration of Zn and Cd in mangrove oysters (Crassostrea rhizophorae, Guilding, 1828) transplanted to and from a contaminated tropical coastal lagoon [J]. Marine Environmental Research, 2005, 59(4): 277-285

[7] 许梓荣.降低畜禽、水产品重金属残留的纳米饲料添加剂制备方法[P].中国:2002111101.4,2002.03
XU Xin-rong. The preparation method of a nanometer additive agent used for removing of heavy metals in live animal organism [P]. China:2002111101.4,2002.03

[8] 张宾,邓尚贵,林慧敏.一种水产品中重金属脱除剂的制备方法及应用[P].中国:ZL201110197874.7,2014.04.
ZHANG Bin, DENG Shang-gui, LIN Hui-min. The preparation and application of an agent used for removing of heavy metals in live marine organism [P]. China: ZL201110197874.7, 2014.04.

[9] 王晓玲,张宾,马路凯,等.蛋白水解肽-Fe2+配合物对克氏原螯虾生长及非特异性免疫的影响[J].现代食品科技,2014,30(11):71-78
WANG Xiao-ling, ZHANG Bin, MA Lu-kai, et al. Effect of protein hydrolysate-Fe2+ complex on the growth performances and non-specific immune parameters of Procambarus clarkia [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(11): 71-78

[10] Roméo M, Frasila C, Gnassia-Barelli M, et al. Bio-monitoring of trace metals in the Black Sea (Romania) using mussels *Mytilus galloprovincialis* [J]. Water Research, 2005, 39(4): 596-604

[11] Ng T T, Rainbow P S, Amiard-Triquet C, et al. Metallothionein turnover, cytosolic distribution and the uptake of Cd by the green mussel *Perna viridis* [J]. Aquatic Toxicology, 2007, 84(2): 153-161

[12] Perceval O, Couillard Y, Pinel-Alloul B, et al. Linking changes in subcellular cadmium distribution to growth and mortality rates in transplanted freshwater bivalves (*Pyganodon grandis*) [J]. Aquatic Toxicology, 2006, 79(1): 87-98

[13] Chandurvelan R, Marsden I D, Gaw S, et al. Impairment of greenlipped mussel (*Perna canaliculus*) physiology by waterborne cadmium: Relationship to tissue bioaccumulation and effect of exposure duration [J]. Aquatic Toxicology, 2012, 124: 114-124

[14] Leung P T, Wang Y, Mak S S, et al. Differential proteomic responses in hepatopancreas and adductor muscles of the green-lipped mussel Perna viridis to stresses induced by cadmium and hydrogen peroxide [J]. Aquatic Toxicology, 2011, 105(1): 49-61

[15] Geffard A, Amiard J C, Amiard-Triquet C. Kinetics of metal elimination in oysters from a contaminated estuary [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Toxicology & Pharmacology, 2002, 131(3): 281-293

[16] Biagioli M, Pifferi S, Ragghianti M, et al. Endoplasmic reticulum stress and alteration in calcium homeostasis are involved in cadmium-induced apoptosis [J]. Cell Calcium, 2008, 43(2): 184-195

[17] Apines-Amar M J S, Satoh S, Caipang C M A, et al. Amino acid-chelate: a better source of Zn, Mn and Cu for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. Aquaculture, 2004, 240(1): 345-358

[18] Guo L, Harnedy P A, Li B, et al. Food protein-derived chelating peptides: Biofunctional ingredients for dietary mineral bioavailability enhancement [J]. Trends in Food Science and Technology, 2014, 37(2): 92-105

[19] De la Hoz L, Nunes da Silva V S, Morgano M A, et al. Small peptides from enzymatic whey hydrolyzates increase dialyzable iron [J]. International Dairy Journal, 2014, 38: 145-147

[20] Huang G, Sun J, Wang D, et al. Chitosan oligosaccharide-Ca complex accelerates the depuration of cadmium from Chlamys ferrari [J]. Journal of Ocean University of China, 2012, 11(2): 219-226

[21] 李会英,徐玮,汪东风,等.壳寡糖稀土配合物对于大菱鲆体内富集镉的影响[J].中国海洋大学学报,2010, 40(11):57-61
LI Hui-ying, XU Wei, WANG Dong-feng, et al. The effect of chitosan oligosaccharide complex with rare earth on cadmium accumulation in Scophthalmus maximus [J]. Periodical of Ocean University of China, 2010, 40(11):57-61

现代食品科技