

# 形态分析、生物可给性与生态毒理研究<sup>\*</sup>

单孝全 王子健 张淑贞 马 梅

(生态环境研究中心 北京 100085)

**摘要** 阐明了分级萃取过程中存在萃取剂的非选择性及痕量金属元素在萃取过程中的再吸附与再分配问题。实验证明了不同土壤类型与不同元素形态决定不同的生物可给性。采用植物根际分泌的低分子量有机酸作萃取剂,可较好地预测金属形态与生物可给性的关系。基于腐殖酸的结构柔性、多官能团性与聚电解质性,发展了多配位体表面络合模型,并用于研究界面反应。建立了新的青海湖菌 Q67 生物毒性测试方法,可应用于淡水体系。根据硒在环境(水、土壤、植物、动物)中的不同形态,较好地解释了中国低硒带大骨节病人缺硒的原因。

**关键词** 形态分析,生物可给性,生态毒理

金属元素与非金属元素在环境中可以不同的物理形态与化学形态存在,不同的物理化学形态,决定其在环境中的积累与毒性亦各异。所以,形态分析、生物可给性与生态毒理研究是环境科学研究的三个不同的分支领域。在方法学上既有相对独立的一面,又有互相紧密联系的一面。本项目既注意若干方法学的发展与创新,又注意某些环境问题有关机理的探讨。

形态分析是指样品中不同的物理形态与化学形态的测定与表征<sup>[1]</sup>。土壤与沉积物是经过长期的地质风化过程形成的,不同的地球化学相同时共存,主体组成与痕量金属在各个地球化学相中已达到平衡。分级萃取技术是力求将各个地球化学相分离,并测定其主体组成与痕量金属的浓度。国际环境化学界围绕着分级萃取过程中萃取剂的非选择性以及痕量金属的再吸附与再分配问题,一直存在争议<sup>[2-4]</sup>。其原因是以往的研究工作无法提出令

人信服的实验数据证明这些问题的存在。而不能提供科学依据的根源在于实验设计均不能代表真实土壤与沉积物的物理化学性质。

为了能在接近真实土壤的条件下开展实验研究,我们应用物理化学性质与土壤主要组成相近的天然单矿物蒙脱石、伊利石、赤铁矿、软锰矿、方解石和从土壤中提取的腐殖酸,并按土壤中这些成分的比例合成模拟土壤。由于合成模拟土壤的物理化学性质与真实土壤相近,从而较有说服力地证明了分级萃取过程中存在萃取剂的非选择性及痕量金属元素在萃取过程中的再吸附与再分配问题<sup>[5-7]</sup>。

为进一步阐明再吸附与再分配的机理,我们以铜与铅在醋酸/醋酸钠萃取过程中的再吸附与再分配为例进行研究。测定了铜与铅在不同合成模拟土壤中的吸附等温线与条件平衡常数。实验结果显示,合成土壤组成成分中软锰矿与腐殖酸有最大

\* 收稿日期: 2001 年 10 月 30 日

的条件平衡常数。从而证明, 软锰矿与腐殖酸是决定铜与铅吸附的主要因素, 而且这是一种协同作用。此外, 再吸附与再分配也与土壤溶液中存在的其它竞争基团与金属本身的性质有关<sup>[7]</sup>。

美国《分析化学》审稿人赞赏这种实验设计, 认为“从未见过别的研究者用该办法来探讨这些问题”。Tack E. G. 与 Verloo M. G.<sup>[8]</sup>在评述形态分析进展时指出:“分级萃取的应用仍有许多争议。萃取剂的非选择性与萃取过程中痕量元素在相间的再分配是分级萃取技术的主要问题。严重的再分配(Pb, Cu)与非选择性(Zn)已在模拟沉积物实验中观察到。”Howard J. 与 Shu J.<sup>[9]</sup>认为“萃取后再吸附问题已被清楚地证明。”至此, 国际环境化学界在此问题上达成共识, 不再争论。

生物可给性一般是指环境中元素在生物体内的吸收积累程度或毒性程度, 至今没有严格统一的定义。就土壤中金属元素被植物吸收利用而言, 通常的方法是将土壤中金属元素的形态与植物中该金属含量之间作相关分析, 根据相关程度的好坏判断生物可给性的程度<sup>[10, 11]</sup>。

迄今为止, 没有一个被公认的、可以普遍适用的形态与生物可给性之间关系的方法学<sup>[12]</sup>。针对这种现状, 我们研究了土壤类型对生物可给性的关系<sup>[13]</sup>, 并建议使用植物根系分泌的低分子量有机酸作萃取剂, 可更好地预测生物可给性<sup>[14]</sup>, 为建立普遍适用的预测生物可给性方法学提供某种思路。

目前描述金属与生物作用的模型有多种, 从多种角度解释了环境因素对形态分布及生物毒性的影响。本研究发展了用极谱方法来研究重金属离子在颗粒物表面络合作用的质子滴定技术, 研究了铜在腐殖酸表面的络合机理。指出镉和铜、铅截然不同, 在腐殖酸表面占据一个络合位置, 形成 1:1 表面络合物<sup>[15-17]</sup>。在充分考虑重金属离子在腐殖酸大分子有机物结构柔性、多官能团性质和聚电解质性质的基础上, 建立了新的表面络合模型来描述界面反应, 并应用于不同类型环境界面化学的研究工作<sup>[18]</sup>。Randel K. 与 Hartman E. H. 等人<sup>[19]</sup>充分肯定了上述工作, 指出“王给出了世界上两个不同地方铅被腐殖酸吸附的数据。王应用酸滴定技术研

究铜和铅与腐殖酸的反应, 估计了游离金属离子, 将腐殖酸作为类颗粒物解释有关数据。”Bo Shi 等人<sup>[20]</sup>采用该项研究提出了铜与腐殖酸作用模型。

水环境中金属元素的存在形态会影响其环境行为。过去一般认为水体沉积物中的铅相当稳定。但是本研究根据水体沉积物中铅沉积速率, 提出进入天然水体中的铅中, 有相当一部分并不能被沉积物固定。这一观点被一些后来的研究工作所证实<sup>[21]</sup>。类似的结果可以推广到河流和湖泊沉积物中的汞。总之, 金属的移动性在相当程度上取决于其在沉积物中的存在形态, 然而鉴定这些形态是一个难点。本研究发展了一种热分解方法, 利用固相介质中不同含硫化合物的热分解温度不同来确定存在形态, 并应用这一方法证明在从好氧到厌氧转化过程中, 沉积物中汞转化为硫化物形式, 稳定性提高, 生物毒性减少。这一方法后来被国外学者进一步发展, 并用于测定土壤中汞的存在形态<sup>[22, 23]</sup>。

形态与生态毒理关系的研究不仅需要区分生物有效性金属, 还需要证明不同形态对生物体的毒性程度。因此, 必须发展能够将形态分析与毒性测试结合在一起的方法。例如, 国际上普遍采用的发光菌毒性测试技术使用的海洋发光菌(*V. fischeri*), 缺点是测试中需要加入大量氯化钠。因此, 不可避免地改变了原始试样的性质及其中污染物的形态。本研究新提出的青海弧菌(*Vibrio qinghaiensis* Nov. - Q67) 毒性测试方法可以在和天然淡水水质组成一致的溶液中进行毒性测试<sup>[24]</sup>, 完全避免了大量氯离子对污染物形态的影响。

形态分析是在痕量分析基础上对环境分析化学的一个挑战。例如, 天然水体中的溶解硒含量在  $\mu\text{g/L}$  量级, 而其中对生物影响最大的四价硒含量在  $\text{ng/L}$  量级, 形态分析需要将其分辨出来。我们通过大量实验, 提出了正相液体色谱/荧光检测法测定 ppt 量级硒的方法。该方法发表两年后有韩国学者提出类似报告, 目前仍然是国际上最灵敏的硒分析方法。结合先进的安全和洁净分析技术, 发展了能够分别测定水样中的  $\text{Se(IV)}$ 、 $\text{Se(VI)}$  和  $\text{Se(-II)}$  的方法体系。由于能够有效避免消化过程引入的沾污、用样量少, 基本不需要预富集, 因而节省了实验

时间并减少了引入误差的机会。论文发表在美国《分析化学》<sup>[25]</sup>上。用所提出的方法对不同来源天然水样进行化学形态分析,发现导致中国低硒带大骨节病区饮水中的硒主要以不利于生物吸收腐殖酸结合形态存在<sup>[26]</sup>。这一发现被国外学者在本领域发展的综述中特别指出<sup>[27]</sup>。这一方法还可与生物化学中经常采用的分离分析方法联合使用。例如,与蛋白质分离技术联合使用,首次详细报道了黄豆中的硒主要以蛋白结合形式<sup>[28]</sup>,中国典型地区人体血液中含硒蛋白分布的异同<sup>[29]</sup>,证明了硒可以掺入植物过氧化物同工酶<sup>[30]</sup>,并发现了人血中存在一个 43.4—51.7KD 的新含硒蛋白条带,并成功地将其与国际上普遍承认的硒蛋白 P 混合条带中分离,有关工作已经引起国际同行的重视<sup>[31,32]</sup>。该项工作 2001 年获中国科学院自然科学奖一等奖。

### 参考文献

- 1 Kot A, Namiesnik J. Trends Anal. Chem., 2000, 19: 69–79.
- 2 Kheboian C, Bauver. Anal. Chem., 1987, 59: 1 417 – 1 423.
- 3 Tessier A, Campbell P G C. Anal. Chem., 1988, 60: 1 475 – 1 476.
- 4 Bauer C F, Kheboian C. Anal. Chem., 1988, 60: 1 477.
- 5 Shan X Q, Chen B. Anal. Chem., 1993, 65: 802– 807.
- 6 Tu Q, Shan X Q, Qian J et al. Anal. Chem., 1994, 66: 3 562– 3 568.
- 7 Tu Q, Shan X Q, Ni Z M. Sci. Total Environ., 1994, 151: 159– 165.
- 8 Tack F M G, Verloo M G. Intern. J. Environ. Anal. Chem., 1995, 59: 225– 238.
- 9 Howard J, Shu J. Environ. Pollut., 1996, 91: 89– 96.
- 10 Li F L, Shan X Q, Zhang T H et al. Environ. Pollut., 1998, 102: 269– 277.
- 11 Jin Q, Wang Z J, Shan X Q et al. Environ. Pollut., 1996, 91: 309– 315.
- 12 Sauve S, Norvell W A, McBride M et al. Environ. Sci. Technol., 2000, 34: 291– 296.
- 13 Jin Q, Shan X Q, Wang Z J et al. Sci. Total Environ., 1996, 187: 131– 141.
- 14 Zhang S Z, Shan X Q, Li F L. Intern. J. Environ. Anal. Chem., 2000, 76: 283– 294.
- 15 Hoins U, Charlet L, Sticher H. Water, Air, Soil Pollution, 1993, 68: 241– 255.
- 16 Strawn D G, Sparks D L. J. Colloid. Inter. Sci., 1999, 216, 257– 269.
- 17 Spark M, Wells J D, Johson B B. Aust. J. Soil Res., 1997, 35: 89– 101.
- 18 Stumm W, Sulzberger B. Geochem. Cosmchem. Acta., 1992, 56: 3 233– 3 257.
- 19 Randel K, Hartmann E H. European J. Soil Sci., 1995, 46: 303– 315.
- 20 Shi B, Allen H, Grassi M T et al. Water Res., 1998, 32: 3 756– 3 764.
- 21 Johnson C E, Siccama T G, Driscoll C T et al. Ecol. Appl., 1995, 5: 813– 822.
- 22 Biester H, Scholz C. Environm. Sci. Tech., 1997, 31: 233 – 239.
- 23 Biester H, Nehrke G. Fresenius J. Anal. Chem., 1997, 358: 446– 452.
- 24 Ma M, Tong Z H, Wang Z J. Bullutin Environ. Contam. Toxicol., 1999, 62: 247– 253.
- 25 Wang Z J, Gao Y X, Belzile N. Anal. Chem., 2001, 73: 4 711– 4 716.
- 26 Peng A, Wang W H, Wang C X et al. Environ. Health Perspect., 1999, 107(4): 293– 296.
- 27 Conde J E, Alaejos M S. Chem. Rev., 1997, 97: 1 979– 2 003.
- 28 Wang Z J, Xie S M, Peng A. J. Agri. Food Chem., 1996, 44: 2 754– 2 759.
- 29 Gao Y X, Wang Z J. Fresenius' Journal of Analytical Chemistry., 2000, 367: 60– 68.
- 30 Peng A, Xu Y, Wang Z J. Biol. Trace Elem. Res., 1999, 70: 117– 125.
- 31 Sutton K L, Sutton R M C, Stalcup A M et al. Analyst, 2000, 125: 231– 234.
- 32 Sutton K L, Ponce de Leon C A, Ackley K L et al. Analyst, 2000, 125: 281– 286.

## Study on Speciation Analysis, Bioavailability and Ecotoxicology

Shan Xiaoquan Wang Zijiang Zhang Shuzhen Ma Mei

(Research Center of Eco-Environmental Sciences, CAS, 100085 Beijing)

Nonselectivity of extractants used, readsorption and redistribution of trace metals among geochemical phases during extraction processes have been elucidated. Bioavailability of various elements is dependent on the type of soils and their elemental speciations. The correlation between elemental speciation and plant availability can be predicated by using low-molecular-weight-organic acids exuded by plant roots as an extractant. A simple multi-ligands surface complexation model was developed in the studies for metal-humic acid interactions, which has been taken into account for the structure flexibility, multi-functional groups and polyelectrolytes characteristics of natural derived humic acids. *Vibrio qinghaiensis* Nov. - Q67, which is a new type of luminobacteria and emits luminescence under fresh water conditions, was exploited as a tool in a new bioassay, which permits the studies of relationship between the speciation and toxicity. Selenium deficiency and the etiology of selenium response diseases were explained on the basis of selenium speciation in food chain processes and in human plasma.

**单孝全** 男, 中国科学院生态环境研究中心研究员, 博士生导师。1964年毕业于中国科技大学化学系。曾在英国帝国理工学院、斯特拉斯克莱德大学和德国珀京-埃尔默公司从事原子光谱学研究三年。1992—1999年任生态环境中心主任。研究领域包括原子光谱学、形态分析、生物可给性与超积累植物。在SCI发表论文70余篇。曾获1987年国家自然科学奖三等奖(第1位), 2001年中国科学院自然科学奖一等奖(第1位)。

— \*

— \*

— \*

(接76页)

在技术发展和完善的基础上, 项目将集成当前成熟适用的软件开发工具、安全技术、网络技术、数据库技术、人工智能技术、数据挖掘技术等, 同时充分考虑用户的实际状况和不同地域的特点, 做到技术先进性与适应性的统一。

该项目针对以税收业务为核心的多层次开放式信息系统构架、业务流程的柔性化管理与动态重组、税务海量信息的管理共享和交换、全局性的信息安全处理、超大型信息系统实施的方法论研究等

方面开展研究, 力争在5年内进一步发展和完善CTAIS软件, 提供一个先进完善的税收征管信息系统, 充分发挥其在国家电子商务发展进程中的战略作用。

该项目的顺利实施将大大提高税务信息的透明度, 有效防止腐败, 为税务体制改革提供强有力的技术保障手段, 进而为国家其它行业的信息化建设提供良好的示范作用。