

土壤中锌的形态转化、影响因素及有效性研究进展

林 蕾, 陈世宝 *

(农业部作物营养与施肥重点开放实验室/中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 北京 100081)

摘 要:土壤锌污染日益严重, 锌产生的生物毒性越来越受到人们的关注, 而锌在土壤中的生物毒性与其赋存形态密切相关。综述了近年来国内外土壤中锌生物毒性与锌形态研究的最新进展, 其中包括土壤中锌的主要结合形态及其影响因素、锌的形态变化与其生物有效性的关系、锌的形态分析技术最新发展趋势及土壤中锌毒性预测模型等。对土壤中锌的原位形态及未知形态的表征技术以及建立具有普适性的有效性测定方法将是未来研究的热点问题之一。

关键词:土壤污染; 锌; 形态分析; 生物有效性; 生态毒理

中图分类号: X53 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2012)02-0221-09

Transformation and Influence Factors of Speciation of Zinc in Soils and Its Effect on Zinc Bioavailability: A Review

LIN Lei, CHEN Shi-bao *

(Ministry of Agriculture Key Laboratory of Crop Nutrition and Fertilization, Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Increasing pollution of zinc in soils and the toxicity caused by zinc has been arousing people's great concerns recently, however, the bioavailability of zinc is mainly dependent on its speciation in soil. This paper reviewed the research advancements on the speciation analysis, bioavailability and ecotoxicology of zinc in soils recently. The speciation distributions of zinc and its influence factors in soil, the effect of speciation on the bioavailability of zinc to organism and the development on the determination of zinc speciation in soils were also summarized in this paper. The prospect of related fields, e.g. the *in-situ* determination of the various speciation of zinc in soils, characteristics of the unknown forms of Zn and the protocol of determination of bioavailability of Zn will be the research focus of related fields.

Keywords: soil pollution; zinc; speciation analysis; bioavailability; ecotoxicology

锌(Zn)是植物生长发育所必需的微量元素, 但土壤中锌过量时又会导致土壤退化、作物产量和品质的降低^[1]。近年来, 随着铅锌矿的开采冶炼、畜禽粪便及化肥农药等农业源重金属污染范围的扩大, 我国农田土壤锌的污染在以不同尺度向区域性发展, 并对农产品品质产生严重影响^[2-3]。在土壤和水体中, 重金属形态组成是决定其生物毒性、物理迁移以及化学行为的关键因素, 重金属的生物毒性和可利用性不仅与它们的总

量有关, 更与它们的赋存形态密切相关。本文就近年来国内外针对土壤中锌的形态变化与影响因素、土壤中锌的形态变化与生物毒性间的相关关系及最新的形态分析技术等研究作了综述, 并对土壤中锌毒性的预测模型等相关研究作了展望, 以期对污染土壤中锌的阈值制订及锌污染土壤的防治提供参考依据。

1 土壤中锌的毒性

1.1 Zn 的植物毒性

作为微量元素之一, 锌在植物体内酶活化、蛋白质合成、以及糖类、脂质和核酸代谢等过程中都起着重要作用, 但是过量的锌会产生毒害作用。锌主要以二价阳离子(Zn^{2+})被植物吸收, 少量的 $Zn(OH)_2$ 形态及与某些有机物螯合态锌也可被植物吸收^[1,4]。由于土

收稿日期: 2011-07-15

基金项目: 国家自然科学基金(21077131); 农业部农业公益性行业专项(200903015, 201103007)

作者简介: 林 蕾(1988—), 在读研究生, 研究方向为土壤重金属污染与修复。

* 通讯作者: 陈世宝 E-mail: sbchen@mail.caas.net.cn

壤中有效锌大多为胶体吸附而成代换态,溶液中的自由锌离子数量很少,土壤中锌主要靠扩散作用供应给植物根系。植物对锌的吸收、转化与土壤溶液中介质供锌浓度之间呈较好的线性关系。土壤中过量的 Zn 会对植物产生毒害作用,主要表现在以下方面^[1,5-6]: (1)对植物根伸长的抑制;(2)抑制植物根系对土壤营养元素的吸收;由于 Zn 对其他养分离子的拮抗作用,导致植物对养分大量营养元素,如对 Ca、P、K、Fe 等养分离子的吸收受抑制;(3)引起植物超微结构的改变,包括影响细胞膜的通透性、植物光合作用、呼吸作用及植物的代谢物质,从而导致植物体内自由基的产生并引起脂膜的过氧化等方面。

研究表明,Zn 的毒害首先是植物的根部,然后蔓延到地上部,叶片褪绿而黄化,光合、蒸腾降低,植株矮化,分蘖和生物量都减少^[5-6]。杨志敏等^[7]在研究锌对小麦毒害研究发现,当培养液中锌的浓度超过 20 mg·L⁻¹ 时,小麦的根伸长会受到抑制。土壤中过量的 Zn 会导致植物体内保护酶系统活性的紊乱,表现在自由基大量的累积对膜系统产生的膜脂过氧化作用,导致细胞代谢紊乱,同时对细胞超微结构产生致死性损伤,甚至导致植物死亡^[5-7]。另外,土壤中过量的 Zn 会导致植物缺绿,其机理被认为是植物吸收过量的 Zn 干扰了 Fe 的代谢从而抑制叶绿素的产生,如过量的 Zn 可能与铁对叶绿素生物合成位点上竞争,Zn 的大量累积会影响植物体内 Fe³⁺/Fe²⁺的比率及铁在植物体内细胞或亚细胞的分布或可利用性,从而影响叶绿素的合成等^[6-8]。

1.2 Zn 的微生物毒性

低浓度的重金属能刺激微生物的生长,但土壤中过量的锌会对土壤微生物产生毒害效应^[9]。锌对土壤微生物的毒害作用主要包括影响土壤微生物的区系、改变微生物群落、降低生物量、影响微生物的生物活性及抑制微生物的生长代谢等^[4,9]。在重金属(包括锌)对污染土壤中微生物毒性测定中,往往采用多个终点评价(endpoint)来进行微生物群落的毒性效应测定,主要包括:污染诱导群落抗性(Pollution-induced community tolerance, PICT)、基础诱导呼吸(Substrate-induced respiration, SIR)、土壤生物量、土壤酶活性、基础诱导硝化(Substrate-induced nitrification, SIN)和固氮指标等。目前,基础诱导硝化测定方法由于对重金属毒性较为敏感的指标而被广泛应用^[10]。研究表明,不同浓度 Zn 污染的土壤硝化势差异显著,硝化速率受到抑制主要是因为硝化限速步骤氨氧化过程中的

氨单加氧酶(AMO)的活性受到了影响^[10-12]。杨志新等^[13]研究发现,土壤中有效锌含量影响土壤酶活性和土壤生物量,随着有效锌含量的增加,土壤酶的活性和土壤生物量均有降低趋势。重金属与酶分子的活性部位相结合,形成较稳定的络合物,产生了与底物的竞争性抑制作用;也可能由于锌通过抑制土壤微生物的生长和繁殖,减少体内酶的合成和分泌,导致土壤酶活性下降。高浓度 Zn²⁺对土壤微生物碳、呼吸强度有明显的抑制作用并随浓度升高而增强,添加 300 mg·kg⁻¹ Zn²⁺时,土壤微生物碳、呼吸强度、群落结构、碳源消耗等均发生了显著变化,它可以作为土壤受 Zn²⁺污染的临界值^[14]。

污染诱导群落抗性(Pollution-Induced Community Tolerance, PICT)在国际上常常做为对重金属污染土壤生态风险评价的方法^[15]。污染诱导群落抗性是指在污染物存在条件下,土壤微生物群落可产生对该污染物的抗性并逐渐适应这种环境的一种现象。土壤微生物群落为了在这种污染环境中继续生存,通过遗传、生理生化特征的改变或以抗性类群微生物代替敏感性类群,从而使整个群落具有抗性。Díaz-Raviña 等^[16]采用胸苷方法测定 PICT 的研究发现,当土壤中重金属 Zn 含量低于 130.7 mg·kg⁻¹ 时土壤细菌群落抗性没有变化,而高于 130.7 mg·kg⁻¹ 时抗性随 Zn 浓度对数的增加呈指数增加,这可能是由于土壤中敏感性细菌类群的消失,同时抗性菌大量繁殖引起的。Davis 等^[16]采用 Biolog 方法研究 Zn 污染土壤的 PICT 变化时发现,长期 Zn 污染土壤中的细菌对 Zn 的抗性增加,但并未导致代谢多样性的下降;土壤中不同菌落对锌污染的敏感程度不同,对污染的耐性也不同。大量的研究表明,土壤中不同菌落对锌污染的敏感性一般表现为:真菌>细菌>放线菌,不同程度的锌污染会导致微生物种群结构的变化^[17]。

2 土壤中 Zn 的形态

2.1 土壤中 Zn 的形态分布

形态问题是土壤重金属污染研究中的一个十分重要的组成部分,与控制重金属迁移、转化及其生物有效性的关系十分密切。大量关于重金属生物毒性研究证明,环境中某个重金属的生物可给性或生物毒性与该元素在环境中存在的物理、化学形态密切相关。重金属元素进入土壤系统后,通过与土壤中的胶体等(如矿物质、有机物及微生物等)发生吸附-解吸、溶解-沉淀、氧化-还原、络合等各种反应,伴随有能量的

变化,从而引起重金属赋存形态的改变及其迁移、传输的变化^[18]。针对土壤中重金属的形态,目前还没有统一的定义,但就“形态”的含义,根据国际应用化学协会(IUPAC)的定义,总体可归纳为两种类型:(1)化学形态(chemical species),指某一元素在环境中以某种离子或分子存在的实际形式;(2)存在形态(forms of occurrence),指某一元素在环境中以某种特征(物理的、化学的或地学的)存在的实际形式^[19]。在目前大多数关于土壤重金属形态的报道文献中,并没有对以上两种形态的含义进行严格意义上的划分,而笼统归纳为重金属形态(fraction)。就重金属锌而言,通过各种途径进入土壤中的 Zn,按其存在形态可分为有机态 Zn 和无机形态 Zn,其中,无机态锌又包括代换态、矿物结合态及土壤溶液中的自由锌离子等。不同结合形态的锌在不同土壤含量有很大差异,且不同形态的锌之间可以相互转化。对大多数酸性土壤而言,交换态锌含量较高,无定形铁结合态较低;而中性土壤中有有机结合态锌及无定形铁结合态锌含量较高;而石灰性土壤则以碳酸盐结合态、无定形铁结合态及松结有机态含量较高^[18,20]。土壤各种形态锌的含量分布受多种因素影响。

2.2 影响土壤中 Zn 形态分布的主要因素

外源可溶态 Zn 进入土壤后,迅速在溶液和固相中进行再分配,以自由离子态(Zn^{2+})、有机络(螯)合态、可溶性胶体吸附态及晶格固定等形态存在于不同土壤组分中。概括而言,土壤中 Zn 按照存在形态可分为:交换态(EX)、碳酸盐结合态(CAB)、氧化铁锰结合态(OMn)、有机结合态(OM)、硅铝酸盐结合态(MIN)5 种形态。多数研究资料表明,进入土壤中的锌大约 90%以上为硅铝酸盐矿物态和氧化铁结合态形式存在,而自由离子态和交换态含量之和不足 10%^[18,20],这与锌的地球化学性质及土壤理化性质有关。影响土壤中 Zn 形态分布的因素很多,归纳起来可分为:(1)Zn 的来源,如进入土壤中的 Zn 的来源、数量及种类等;(2)土壤理化性质如 pH 值、Eh、土壤质地、阳离子交换量及根际效应;(3)土壤中胶体种类、数量及老化时间等因素^[20-21]。

2.2.1 土壤 pH 的影响

一般情况下,酸性土壤中锌的有效性高,在中性和碱性土壤,锌可呈锌络离子,也可沉淀为氢氧化物等,溶解度降低,有效性差。随着土壤 pH 的升高,锌在土壤固相上的吸附量和吸收能力增强,从而降低锌的活性^[20-21]。进入土壤中的锌主要以残留态为主,很少

量以可溶态存在于土壤溶液中,后者数量虽少,产生的生物毒害却很强^[18]。研究结果表明^[22],施用石灰后土壤中可交换态的 DTPA-Zn 比对照降低了 23.1%,而施用腐殖质和 EDTA 处理后,DTPA-Zn 的含量明显上升,可见提高土壤的 pH 值有利于 Zn 的固定,而增加土壤中的有机质则会活化土壤中被固定的难溶态 Zn。土壤溶液中锌的形态分布与土壤溶液的 pH 值有很大关系。Robert 等^[23]通过 WHAM 模型计算表明,当土壤 pH 值低于 7.7 时,可溶性锌离子主要以 Zn^{2+} 为主, $ZnHCO_3^+$ 在无机结合形态的锌中占不到 2%,当溶液 pH 值为 7.7~9.1 时,可溶性锌离子则以 $ZnOH^+$ 为主,而当土壤溶液 pH>9.1 时,土壤溶液中的可溶性锌离子又被 $Zn(OH)_2$ 所代替。土壤溶液中 Zn 浓度还与溶液中有有机配位体浓度呈正相关,而与其竞争阳离子(Ca^{2+})呈负相关。因此,目前在对金属离子可交换态的提取过程中,所利用的中性盐($0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ CaCl}_2$ 或 MgCl_2)浸提液会明显地降低土壤可溶性有机物的量,从而改变了土壤溶液中金属离子的形态分布,如 Wang 等^[24]在水培大麦试验中,测定的溶液中 Zn 的主要形态有自由锌离子(Zn^{2+})、碳酸锌($ZnCO_3$)、碳酸氢锌($ZnHCO_3^+$)和羟基锌($ZnOH^+$);在所有不同 pH 条件下, Zn^{2+} 形态含量($Zn_T\%$)均为最高,在 43%~77% 之间。以上 4 种形态分布规律为: $Zn^{2+}>ZnHCO_3^+>ZnOH^+>ZnCO_3$ 。而 $ZnHCO_3^+$ 、 $ZnOH^+$ 和 $ZnCO_3$ 的含量均随 pH 增加而增加, Zn^{2+} 的含量随 pH 增加而降低。

2.2.2 根际效应

在根际土壤中,植物根系通过改变根际 pH 的改变和分泌有机酸可以促进根际土中硅酸盐、碳酸盐、硫化物、氧化物态锌的溶解,由此可引起以不同形态存在的 Zn 的释放,并与各种根系有机分泌物发生络合/螯合作用,进而改变根际土中 Zn 的存在形式^[5,8]。Chairidchai 等^[25]发现,根系常见的有机酸如柠檬酸、草酸与 Zn 形成有机络合物,当土壤 pH 值小于等电点时,络合物可被大量吸附于土壤颗粒中,在该条件下形成的络合物越多,土壤对 Zn 的吸附量越大,锌的有效性降低。当土壤 pH 值大于等电点时,形成的有机金属络合物都保留在土壤溶液中,导致土壤对 Zn 的吸附能力减弱,形成的络合物越多,Zn 的吸附量越小,对植物的有效性增加。除了根际的酸化作用改变影响 Zn 的有效性外,Zn 在某些植物的根表可以形成一薄层铁膜,其成分与不同植物根表有直接影响,如在 *Dryza sativa* L.生成的是 $\gamma\text{-FeOOH}$ 和 $\alpha\text{-FeOOH}$,而在 *Phragmites australis* 上则是 FeCO_3 为主。有研究表

明,在多数植物根表,Zn会以分散的水锌矿的结合态存在而降低了向植物体内的迁移转化^[26-27]。

2.2.3 老化作用

土壤中锌的老化过程对锌的形态变化也有显著影响。外源可溶态 Zn 进入土壤后,迅速在溶液和固相中进行再分配。通常情况下,Zn 主要以无机金属离子态(Zn^{2+})、有机络(螯)合态、可溶性胶体吸附态及晶格固定等形态存在,随着时间的推移,水溶态、交换态和 EDTA 提取态的 Zn 逐渐向铁锰结合态 Zn 和残留态 Zn 等形态转化,其有效性逐渐降低^[18,20]。锌的老化速率与土壤性质等因素有显著影响,不同土壤性质,如 pH 值、Eh、土壤质地、有机质含量等对 Zn 在土壤固-液相的分配系数产生影响,从而影响锌的形态转化和老化过程。Chadi 等^[18]研究了从 66 种不同性质污染土壤溶液中 Zn 的形态分布发现,Zn 在土壤溶液中的形态分布与有机质含量有显著影响,其中溶解态 Zn 与可溶性有机物结合的占 60%~98%,自由离子 Zn^{2+} 占不稳定 Zn 的 40%~60%,自由离子 Zn^{2+} 的含量与锌在上述不同土壤的固-液相分配系数(K_d : 17~13, 100 $\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$)呈负相关,而锌的老化速率与 K_d 值间呈正相关关系。

2.3 土壤中锌的形态组成对生物毒性的影响

土壤中锌的生物毒性不仅与其总量有关,更大程度上取决于其形态分布。各种形态的锌进入土壤后,通过溶解、沉淀、凝聚、络合吸附等各种反应,形成不同的形态,其迁移转化特性、生物有效性(毒性)及环境效应也不同。研究证明,土壤中锌的生物有效性与其在土壤孔隙水中存在的物理形态及化学形态有密切关系^[28]。一般而言,重金属的酸提取态(可交换态和碳酸盐结合态)和可还原态(铁锰氧化物结合态)为有效态,其生物有效性高;可氧化态(有机物及硫化物结合态)和残渣态为稳定态,生物有效性低^[29]。不同形态的锌有不同的环境地球化学行为,在土壤中表现出不同的生物有效性。在土壤中,不同形态的锌的生物有效性的顺序为:水溶、交换态 Zn > EDTA 浸提态 Zn > 碳酸盐结合态 Zn > 有机结合态 Zn , 氧化铁锰态 Zn > 残留态 Zn ^[20,29]。土壤 pH 通过影响形态分布从而影响 Zn 的生物毒性,如 Van Beelen 等^[30]在水培溶液中证实了增加 pH 能够显著减少 Zn 对微生物毒害指标 EC_{50} 。Heijerick 等^[31]研究发现 Zn 对水蚤的毒性随 pH 增加而增加。Wilde 等^[32]研究了 pH 5.5~8.0 下 Cu 和 Zn 对淡水藻(*Chlorella* sp.)的毒性,通过分析测量细胞外 Cu、Zn 浓度发现 EC_{50} (抑制 50%藻类生长时

的 Cu、Zn 浓度)随 pH 增加而增加。对土壤中 Zn 的毒害研究同样发现了类似规律,Smolders 等^[33]采用土壤硝化势、植物残体分解和葡萄糖诱导的呼吸速率等 3 种方法研究了欧洲 19 种 Zn 污染土壤的微生物毒性,结果发现微生物毒性的半抑制浓度 EC_{50} 随溶液 pH 值增加而增加,也就是随着 pH 的增加,溶液锌的毒性显著降低,二者间具有显著的线性关系。

在土壤溶液中,相对其他金属离子形态,自由锌离子更易被植物吸收而产生植物毒性^[24]。另外,有研究表明,除自由金属离子外,一些有机和无机的金属络合态也可能具有毒性^[34-35]。土壤中金属离子与可溶性有机碳化合物(DOC)的络(螯)合过程导致金属离子的生物有效性降低,因此在测定溶液中金属离子形态时建立了以自由离子活度为基础模型——自由离子活度模型(Free Ion Activity Model, FIAM)^[36]。毫无疑问,自由离子是金属生物有效性/毒性的重要离子形态,但是该模型仅仅基于自由离子活度,而忽视其他形态的离子对生物毒性的贡献,也没有考虑溶液中其他离子(如 Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , K^+ , Na^+ , H^+ , SO_4^{2-} , Cl^- , HCO_3^- 等)对生物受体位点上离子的竞争^[34,37]。而在 Zn 的生物毒性的研究中,已有研究证明 H^+ 、 Mg^{2+} 和 K^+ 可以减少 Zn 的毒害作用^[38];此外,研究发现,饱和 CaCO_3 和 0.5% 的 CaCl_2 具有缓减 Zn 对发芽期小麦的毒害作用^[7]。Wang 等^[24]研究了不同 pH 下, Zn 对大麦根伸长的剂量效应关系,结果表明溶液中自由 Zn^{2+} 和大麦根伸长的剂量-效应关系比 Zn 全量的相关性要好, Zn 对大麦根伸长的急性毒性与自由 Zn^{2+} 活度及 ZnHCO_3^+ 活度呈极显著相关。

3 土壤中 Zn 的形态分析方法

目前对土壤中重金属生物毒性的测定中,对土壤中重金属的结合形态分析越来越受到重视。当前发展的重金属形态分析技术力求与其生物效应取得一致,使形态测定能够提供准确重金属的生物毒性信息。传统的土壤重金属的形态分析多采用不同的化学试剂和实验条件将不同形态的重金属选择性地提取到特定的溶液中,通过测定溶液中的含量确定土壤中重金属的不同形态。目前常用的化学提取法主要有一步提取法和连续提取法,根据提取原理及操作的不同可分为下述几种方法。

3.1 化学连续提取法(Sequential extraction)

目前常用的化学连续提取程序,通过选择特定的提取剂和实验条件,依次采用不同的提取步骤,选择

性地将某种形态的重金属或与重金属所结合的某种固相成分提取到溶液中。根据文献报道连续提取法有多种方法^[20],如 Tessier 等^[39]提出的五步连续提取法及欧共体标准物质局提出的连续提取法即 BCR 法^[19],但至今依然没有统一的操作准则。概括而言,连续提取程序分为 3 至 9 步不等,通常的提取原理如下^[20]:用水或电解质溶液提取可溶态、交换态;弱酸提取碳酸盐结合态;弱还原剂提取氢氧化锰和无定形氢氧化铁结合态;弱氧化剂提取有机结合态;强酸提取残渣态。

化学连续提取程序将各级提取步骤得到的结果与重金属所结合的某一特定化学组分或重金属的赋存方式相关联,并根据此固相形态推测重金属在环境中迁移转化特性或在环境条件变化时的响应。该方法操作简单,解释方便,但实际上存在许多不确定性,如:提取剂很难做到对目标组分的完全溶解;提取剂对目标组分具有选择性;提取操作过程中可能存在二次吸附、沉淀等反应。其次,添加的化学药剂可能会破坏样品原有的重金属化学结构和溶液化学平衡等。因此,该方法是一种非原位的分析手段,只能提供操作意义上的重金属形态和结合强度,而不能区分多重环境因素和形态控制间的分子、化学机制,无法明晰重金属的真实化学形态,亦使不同的研究结果之间难以进行比较。

3.2 物理化学分级法(Fractionation)

不同形态的重金属化合物,在溶液中呈现不同的物理化学性质,利用其物理化学性质的差异,选择合适的载体流将重金属化合物分离后进行检测。这种方法可以有效分离金属阳离子、阴离子和有机金属化合物。目前应用的物理化学分级方法包括^[40-46]:过滤和超滤法、阴/阳离子交换树脂法/体积排除色谱/Donnan 膜技术及扩散梯度膜(DGT)、同位素稀释技术等物理化学分级方法。其中除游离态重金属离子可以采用 Donnan 膜技术等方法辨析外,上述分级手段与连续化学提取法相似,只能根据离子结合强弱和分布提供操作意义上的重金属分布和形态信息,而不能给出重金属的分子化学形态;另外,该分级分离法对材料的选择也会极大地影响研究结果。

3.3 电化学技术(Electrochemistry techniques)

电化学技术主要有两种:一是离子选择电极法,针对某一特定离子,通过测试电极电位,获得自由态离子浓度信息;二是溶出伏安法,根据指示电极电位与通过电解池的电流之间的关系计算金属浓度。前者

受限于离子选择性电极的可获得性,且易受溶液环境条件的影响;而后者所鉴别的重金属“形态”实际上是一组在动力学、迁移性和稳定性方法有相似行为的重金属物质^[42]。目前,电化学技术通常可将重金属分为 4 类不同组分:自由态离子、电活性的(易迁移的和不稳定的)、无电活性(惰性或不易迁移的)的以及重金属总量。

3.4 模型计算(Modeling)

模型计算法是基于统计学方法,分析土壤或水体中锌与其他元素的统计学关系,以推测重金属锌可能的结合形态。这个方法应用于单一基质中单个锌元素的吸附质/结合物时,是比较成功的,但在多种基质和吸附质以及多种重金属化合物存在时,仅依据统计关系来鉴别重金属形态,几乎是不可行的^[46-48]。目前,利用化学平衡模型如 MINEQL (Chemical Equilibrium Modeling System),CHESS (Chemical Equilibrium of Species and Surfaces)和 WHAM(Winder-mere Humic Acid Model)并结合不同数学方程(Michaelis-Menten、Langmuir),建立生物配体模型,计算出反映金属对生物毒性强弱的指标如金属和配体的络合常数(K_s),用于预测重金属对生物的 EC_{50} 、 LC_{50} 值。模型假设这些反应处于平衡状态,简单的平衡方程表示如下^[46,49]:



M:溶液中自由金属离子;L:有机、无机配体; K_M :金属和配体反应的平衡常数。

当存在其他阳离子的竞争作用时:



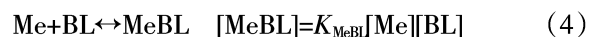
Me:参与竞争的阳离子, K_{Me} :配体和阳离子反应的平衡常数。

金属和生物配体的相互作用过程如下:



BL:生物配体; K_f 、 K_d 、 K_{int} :金属和生物配体的形成、离解和同化速率常数; K_s :金属和配体反应的平衡常数。

当考虑阳离子竞争作用时:



Me:竞争阳离子; K_{MeBL} :参与竞争阳离子与生物配体反应的平衡常数。

K_s 、 EC_{50} 或 LC_{50} 和金属在生物配体的累积量通常通过金属膜通量、金属累积、金属毒性试验结合 Michaelis-Menten、Langmuir 等温吸附方程、多元非线性

性回归方法来求。

在生物毒性终点和生物测定方法中假设毒性程度(EC_{50}/LC_{50})与结合金属的活性位点和金属总结合位点的比例(f_{MBL})具有直接的关系,当考虑阳离子竞争作用时,它们之间的关系表示为:

$$f_{MBL} = \frac{\{MBL\}}{\{BL_{TOT}\}} = \frac{K_s[M]}{1 + K_s[M] + \sum K_d[Ci]} \quad (5)$$

f_{MBL} : 金属和生物配体的结合部分; $\{MBL\}$: 金属和配体络合物浓度; $\{BL_{TOT}\}$: 络合容量($\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$)。

当对 50%生物产生影响的时候,方程可以写为:

$$EC_{50}(M) = \frac{f_{MBL}^{50}}{(1 - f_{MBL}^{50})K_s} (1 + \sum K_d[Ci]) f_{MBL}^{50} \quad (6)$$

$EC_{50}(M)$: 在一定时间范围内对 50%生物产生影响时自由金属离子的浓度($\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$); f_{MBL}^{50} : 对 50%生物产生影响时金属和配体的络合物浓度占络合容量的比例。

金属累积试验结合 Langmuir 吸附方程也可以求得金属和配体的络合常数,在这个方法中和配体结合的总金属浓度通常通过生物累积或滴定的方法来求,考虑阳离子竞争的影响,方程表达式如下:

$$\{MBL_{TOT}\} = \{MBL_{TOT}\}_{\max} \frac{K_s[M]}{1 + K_s[M] + \sum K_d[Ci]} \quad (7)$$

$\{MBL_{TOT}\}$: 和配体结合的金属总浓度 ($\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$); $\{MBL_{TOT}\}_{\max}$: 配体能够结合的金属的最大浓度($\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$)。

随着当代计算技术的应用,使得依托溶液化学平衡计算模型(如 MINTEQA2、Visual MINTEQ、NICA-Donnan、CD-MUSIC-EDL 等)模拟和计算复杂溶液体系中锌离子组成和分子形态成为可能,近年来得到了研究者的高度关注。随着模型的发展和部分模型参数数据库的建立,研究者开始用实验研究结果结合模型计算,模拟分析真实自然系统中(主要为水体、土壤和底泥)锌-有机物/无机矿物质等之间的结合机制,并得到了较好的模拟效果^[46,48]。针对不同的锌-吸附质体系,根据其交互作用机理,研究者分别发展了不同的计算模型。目前,NICA-Donnan 模型被认为是表征金属-有机物体系最先进的结合模型,该模型可阐明质子和多种金属结合、结合点位非均质性、各种化学计量学、阳离子交换和静电效应等的影响^[40]。Model V/VI 与 NICA-Donnan 模型相似,也用于金属-有机物结合的模拟,所采用的参数可选择相同的数据库,惟一不同的是它们所考虑的反应计量学的方式、

处理的质子与金属离子亲合力分布的相关性和亲合力分布参数化方式的差异^[23]。CD-MUSIC-EDL 模型主要从无机矿物质界面的角度考虑表面吸附电位的异质性和多样性,同时考虑了吸附中心原子在双电层中电荷的空间分布,及对相邻电层氧原子电荷中和的贡献,是研究重金属(锌)-无机矿物质交互作用的常用模型。

3.5 分子尺度仪器检测技术 (Molecular scale techniques)

迅速发展的现代仪器分析方法(如 X 射线衍射仪、电子探针显微分析仪、能谱仪等)是研究污染物分子化学组成的有效手段。但是,由于环境样品的复杂性,重金属又以痕量的多种化合物形式存在,通常很难用这些仪器鉴别和确定环境混合样品中重金属分子层面的结构信息。近年来,随着同步辐射技术的快速发展,使得痕量形态重金属的研究成为可能^[19]。XAFS 是一种非破坏性的分子尺度的仪器检测技术,经分析后仍可保持样品中原有的物理和化学形态,所以得到的信息准确可靠。XFAS 包括扩展 X 射线吸收精细结构(EXAFS)和 X 射线吸收近边结构(XANES)。EXAFS 能反映吸收 X 射线原子的邻近原子间距、种类和数目等信息,而 XANES 能识别元素的化学价态和配位状态。不同的元素有不同的吸收边能量,所以元素间干扰较小。目前,XAFS 逐渐开始应用于环境中重金属(包括锌)不同分子形态的检测^[8,50]。

4 土壤中 Zn 生物有效性预测模型

在土壤体系中,金属离子及其有机配体络合物产生生物毒性的原因主要包括:一个是植物直接吸收金属离子、小分子有机酸和金属的络合物;另外,还认为植物对溶液中自由金属离子的吸收是一个受限制的扩散过程,这个吸收过程主要发生在根表附近未受扰动的地方或者非原质体,而有机配体与金属的络合物在这个地方发生解离,从而弥补因植物吸收而消耗的自由金属离子^[45]。生物配体模型的数学描述是:将生物受体位点作为生物配体(BL),生物配体总位点称为络合容量($TBL/\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$),络合容量包括:同各阳离子($\text{Zn}^{2+}, \text{H}^+, \text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}, \text{Na}^+$)结合的生物配体(MBL)和尚未结合的自由配体(BL)^[51],则关于 Zn 的生物配体的平衡方程可表示为:

$$TBL = [\text{ZnBL}] + \sum [\text{MBL}] + [\text{BL}] \quad (8)$$

$[\text{ZnBL}]$ 表示自由 Zn^{2+} -BL 络合物浓度 ($\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$);

[MBL]表示参与竞争阳离子-BL络合物的浓度($\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$); [BL]表示没有被络合的配体浓度($\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)。

阳离子 M^{n+} (包括 Zn^{2+} 和其他参与竞争的阳离子) 和配体 BL 进行表面络合反应, 当溶液处于平衡时:

$$K_{\text{XBL}}[M^{n+}][\text{BL}]=[\text{XBL}] \quad (9)$$

K_{XBL} 表示阳离子与生物配体络合平衡常数 ($\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}$); M^{n+} 表示参与竞争的阳离子活度 ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$); BL 为配体的浓度。

根据 BLM 假设, H^+ 、 Ca^{2+} 等阳离子和 BL 结合对生物是无毒的, 则总配体中和自由 Zn^{2+} 络合的部分 (f_{ZnBL}) 可以表示为:

$$f_{\text{ZnBL}} = \frac{[\text{ZnBL}]}{[\text{TBL}]} = \frac{K_{\text{ZnBL}}[\text{Zn}^{2+}]}{1 + K_{\text{ZnBL}}[\text{Zn}^{2+}] + \sum K_{\text{MBL}}[M^{n+}]} \quad (10)$$

当生物抑制率达到 50% 的时候, 方程 (10) 可以改写为 (Pagenkopf, 1983):

$$\text{EC}_{50}(\text{Zn}^{2+}) = \frac{f_{50}}{(1-f_{50})K_{\text{ZnBL}}} (1 + \sum K_{\text{MBL}}[M^{n+}]) \quad (11)$$

从方程 (11) 可以看出, 当 BLM 理论假设成立, 固定溶液其他阳离子的活度, 变化一种阳离子的活度, 则这种离子的活度和 $\text{EC}_{50}(\text{Zn}^{2+})$ 呈线性关系, 利用这个关系可以检验阳离子是否参与与自由 Zn^{2+} 竞争生物配体的作用。

BLM 的参数利用 log-logistic 剂量效应方程拟合估算 (β 为斜率常数):

$$\text{RE} = \frac{100}{1 + \left(\frac{f}{f_{50}}\right)^{\beta}} \quad (12)$$

将方程 (10) 带入方程 (12):

$$\text{RE} = \frac{100}{1 + \left[\frac{K_{\text{ZnBL}}[\text{Zn}^{2+}]}{f_{50}(1 + K_{\text{ZnBL}}[\text{Zn}^{2+}] + \sum K_{\text{MBL}}[M^{n+}])} \right]^{\beta}} \quad (13)$$

使所有的实测 RE 和预测 RE 根平方差 (RMSE) 最小, 则可求得 t-BLM 参数 (β 、 K_{ZnBL}):

$$\text{RMSE} = \sum_{i=1}^n \left[\text{RE} - \frac{100}{1 + \left[\frac{K_{\text{ZnBL}}[\text{Zn}^{2+}]}{f_{50}(1 + K_{\text{ZnBL}}[\text{Zn}^{2+}] + \sum K_{\text{MBL}}[M^{n+}])} \right]^{\beta}} \right]^2$$

基于上述原理, 并结合生物配体模型 (Biotic Ligand Model, BLM) 的最新发展, 在形态分析与生物毒性关系的基础上, 建立能预测重金属对土壤生物有效性的陆地生物配体模型 (terrestrial biotic ligand model, t-BLM) 正成为新的研究热点^[46,48]。目前有关水

体生物配体模型的工作已经取得了长足的发展, 大部分工作集中在 Cu 和 Ag 的研究, 部分工作是有关 Cd、Pb、Ni 和 Zn 的研究, 美国环保局已经将水体生物配体模型用于水质基准制定^[47]。最近, 生物配体模型呈现出向土壤环境中拓展的趋势, 然而, 由于土壤中锌的生物毒害影响因素远比水体复杂, 使得陆地生物配体模型的研究也复杂很多。虽然针对 Cu 和 Ni 对土壤生物有效性预测的陆地生物配体模型研究已有报道^[48], 但还没有针对土壤中 Zn 毒性预测的 t-BLM 研究报道。

5 研究展望

目前, 虽然针对重金属的形态分析和生物有效性的方法学研究取得了很大的进步, 但仍有一些问题没有解决。在今后的相关研究中, 针对土壤中重金属 (锌) 的原位 (*in-situ*) 形态分析技术和未知形态的表征技术仍将是主要研究方向之一; 此外, 目前的同步辐射实验分析技术 (EXAFS) 对重金属的环境界面的形态分析技术及推动分子环境科学的发展起到了重要作用, 但对该分析技术的依赖又会束缚界面形态分析的发展。因此, 对土壤中锌的原位形态及未知形态的表征技术, 建立普适性的有效性测定方法及建立普遍适用的土壤中锌生物毒害的预测模型研究将是未来研究的热点问题之一。

参考文献:

- [1] 陈怀满. 土壤中化学物质的行为与环境质量[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
CHEN Huai-man. The behavior of chemicals in soils and environmental quality[M]. Beijing: Science Press, 2002.
- [2] 朱永官, 陈保冬, 林爱军, 等. 珠江三角洲地区土壤重金属污染控制与修复研究的若干思考[J]. 环境科学学报, 2005, 25(12): 1575-1579.
ZHU Yong-guan, CHEN Bao-dong, LIN Ai-jun, et al. Heavy metal contamination in pearl river delta—status and research priorities[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2005, 25(12): 1575-1579.
- [3] 周启星, 魏树和, 刁春燕. 污染土壤生态修复基本原理及研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(2): 419-424.
ZHOU Qi-xing, WEI Shu-he, DIAO Chun-yan. Basic principles and researching progresses in ecological remediation of contaminated soils [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(2): 419-424.
- [4] Bruce F M. Zinc contamination decreases the bacterial diversity of agricultural soil[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, 43(1): 13-19.
- [5] Foy C D, Chaney R L, White M C. The physiology of metal toxicity in plants[J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1978, 29: 511-566.
- [6] 段昌群, 王焕校, 曲仲湘. 重金属对蚕豆 (*vicia faba*) 根尖的核酸含量

- 及核酸酶活性影响的研究[J]. 环境科学, 1992, 13(5):31-36.
- DUAN Chang-qun, WANG Huan-xiao, QU Zhong-xiang. Studies on the effects of heavy metals on the contents of nucleic acids and activities of nucleases in the root tips of *vicia faba*[J]. *Environmental Science*, 1992, 13(5):31-36.
- [7] 杨志敏. 锌污染对小麦萌发期生长和某些生理生化特性的影响[J]. 农业环境保护, 1994, 13(8):121-123.
- YANG Zhi-min. Effect of Zn-pollution on germination and the physiology and biochemistry of wheat[J]. *Agro-environmental Protection*, 1994, 13(8):121-123.
- [8] Anne S, Geraldine S, Alain M, et al. Zinc distribution and speciation in roots of various genotypes of tobacco exposed to Zn[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2008, 63:80-90.
- [9] Kell L J, Tate R L. Effect of heavy metal contamination and remediation on soil microbial communities[J]. *Journal of Environmental Quality*, 1998, 27(3):609-617.
- [10] Smolders E, Brans K, Coppens F, et al. Potential nitrification rate as a tool for screening toxicity in metal contaminated soils [J]. *Environ Toxicol Chem*, 2001, 20(11):2469-2474.
- [11] Smolders E, McGrath S P, Lombi E, et al. Comparison of toxicity of zinc for soil microbial processes between laboratories contaminated and polluted field soils[J]. *Environ Toxicol Chem*, 2003, 22:2592-2598.
- [12] Stuczynski T, Mccarty G, Siebiec E C. Response of soil microbiological activities to cadmium, lead, and zinc salt amendments[J]. *J Environ Qual*, 2003, 32(4):1346-1355.
- [13] 杨志新, 冯圣东, 刘树庆. 镉、锌、铅单元素及其复合污染与土壤过氧化氢酶活性关系的研究 [J]. 中国生态农业学报, 2005, 13(4):138-141.
- YANG Zhi-xin, FENG Sheng-dong, LIU Shu-qing. Effect of single element and compound pollution of Cd, Zn, Pb on soil catalase activity [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2005, 13(4):138-141.
- [14] Díaz-Raviña M, Båth E. Development of metal tolerance in soil bacterial communities exposed to experimentally increased metal levels [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1996, 62:2970-2977.
- [15] ISO 14238: Determination of nitrogen mineralization and nitrification in soils and the influence of chemicals on these processes[S]. 1997.
- [16] Davis M R H, Zhao F J, McGrath S P. Pollution-induced community tolerance of soil microbes in response to a zinc gradient[J]. *Environ Toxicol Chem*, 2004, 23(11):2665-2672.
- [17] Suhadolc M, Schroll R. Effects of modified Pb, Zn, and Cd availability on the microbial communities and on the degradation of isoproturon in a heavy metal contaminated soil [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36:1943-1954.
- [18] Chadi H S. Speciation of zinc in contaminated soils[J]. *Environmental Pollution*, 2008, 155:208-216.
- [19] 戴树桂. 环境化学进展[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005:181-183.
- DAI Shu-gui. Advances in environmental chemistry[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005:181-183.
- [20] Ma Y B, Uren N C. The fate and transformation of zinc added to soils[J]. *Australian Journal of Soil Research*, 1997, 53:727-738.
- [21] 谢正苗. 土壤中锌的化学平衡[J]. 环境科学进展, 1996, 4(5):13-30.
- XIE Zheng-miao. Chemical equilibrium of zinc in soils[J]. *Advances in Environmental Science*, 1996, 4(5):13-30.
- [22] Lombnaes P, Chang A C, Singh B R. Organic ligand, competing cation and pH effects on dissolution of zinc in soils[J]. *Pedosphere*, 2008, 18(1):92-101.
- [23] Robert C S, Rooni M, Paul R P, et al. Application of the biotic ligand model to predicting zinc toxicity to rainbow trout, fathead minnow and daphnia magna, comparative biochemistry and physiology part C [J]. *Toxicology & Pharmacology*, 2002, 133(12):271-285.
- [24] Wang X D, Li B, Ma Y B, et al. Development of a biotic ligand model for acute zinc toxicity to barely root elongation[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2010, 73(6):1272-1278.
- [25] Chairidchai P, Ritchie G S P. The Effect of citrate and pH on zinc uptake by wheat[J]. *Agronomy Journal*, 1993(2):322-328.
- [26] Hansel C M, Fendorf S. Characterization of Fe plaque and associated metals on the roots of mine-waste impacted aquatic plants [J]. *Environmental Science and Technology*, 2001, 35:3863-3868.
- [27] 姚海兴, 叶志鸿. 湿地植物根表铁膜研究进展[J]. 生态学杂志, 2009, 28(11):2374-2380.
- YAO Hai-xing, YE Zhi-hong. Iron plaques on wetland plant root surface: A review [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2009, 28(11):2374-2380.
- [28] Singh A K, Benerjee D K. Grain size and geochemical partitioning of heavy metals in sediments of the Damodar River-A tributary of the lower Ganga, India[J]. *Environ Geol*, 1999, 39(1):91-98.
- [29] Maiz I, Esnaola M V, Millin E. Evaluation of heavy metal availability in contaminated soils by a short sequential extraction procedure [J]. *Science of the Total Environment*, 1997, 206(23):107-115.
- [30] Van Beelen P, Fleuren-Kemila A K. Influence of pH on the toxic effects of zinc, cadmium and pentachlorophenol on pure cultures of soil microorganisms[J]. *Environ Toxicol Chem*, 2007, 16:146-153.
- [31] Heijerick D G, Janssen C R, De Coen W M. The combined effects of hardness, pH and dissolved organic carbon on the chronic toxicity of Zn to d magna; Development of a surface response model[J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2003, 44:210-217.
- [32] Wilde K L, Stauber J L, Markich S J, et al. The effect of pH on the uptake and toxicity of copper and zinc in a tropical Freshwater Alga (*Chlorella* sp.) [J]. *Arch Environ Contamin Toxicol*, 2006, 51:174-185.
- [33] Smolders E, Buekers J, Oliver I, et al. Soil properties affecting toxicity of zinc to soil microbial properties in laboratory-spiked and field-contaminated soils[J]. *Environ Toxicol Chem*, 2004, 23(11):2633-2640.
- [34] Campbell P G C. Interactions between trace metals and aquatic organisms: A critique of free ion activity model[M]//Tessier A, Tunner DR, eds, Metal Speciation and bioavailability in aquatic systems. John Wiley, New York, NY, USA, 1995: 45-97.
- [35] Han F, Shan X Q, Zhang S Z, et al. Enhanced cadmium accumulation in maize roots-the impact of organic acids[J]. *Plant and Soil*, 2006, 289:355-368.

- [36] Niyogi S, Wood C M. Biotic ligand model, a flexible tool for developing site-specific water quality guidelines for metals[J]. *Environ Sci Technol*, 2004, 38:6177-6192.
- [37] Markich S J, Brown P L, Jeffree R A, et al. The Effects of pH and dissolved organic carbon on the toxicity of cadmium and copper to a freshwater bivalve: Further support for the extended free ion activity model[J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2003, 45:479-491.
- [38] Jansen S, Blust R, Van Leeuwen H P. Metal speciation dynamics and bioavailability: Zn (II) and Cd (II) uptake by mussel (*Mytilus edulis*) and carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Environ Sci Technol*, 2002, 36:2164-2170.
- [39] Tessier A, Campbell P G C, Blosson M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals[J]. *Analyst Chem*, 1979, 51(7):844-850.
- [40] Van Laer L, Smolders E, Degryse F, et al. Speciation of nickel in surface waters measured with the Donnan membrane technique[J]. *Anal Chim Acta*, 2006(578):195-202.
- [41] Nolan A L, Ma Y B, Lombi E, et al. Speciation and isotopic exchange-ability of Ni in soil solution[J]. *J Environ Qual*, 2009, 38:485-492.
- [42] Sébastien M, Niksa O, Renata B, et al. Speciation of copper and zinc in natural freshwater: Comparison of voltammetric measurements, diffusive gradients in thin films (DGT) and chemical equilibrium models[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2004(510):91-100.
- [43] Nolan A L, Zhang H, McLaughlin M J. Prediction of zinc, cadmium, lead, and copper availability to wheat in contaminated soils using chemical speciation, diffusive gradients in thin films, extraction, and isotopic dilution techniques[J]. *J Environ Qual*, 2005, 34:496-507.
- [44] Wang P, Zhou D M, Luo X S. Effects of Zn-complexes on zinc uptake by wheat (*Triticum aestivum*) roots: A comprehensive consideration of physical, chemical and biological processes on bio-uptake[J]. *Plant Soil*, 2009, 316:177-192.
- [45] Degryse F, Smolders E, Parker D R. Metal complexes increase uptake of Zn and Cu by plants: Implications for uptake and deficiency studies in chelator-buffered solutions[J]. *Plant Soil*, 2006, 289:171-185.
- [46] 王学东, 马义兵, 华 璐, 等. 环境中金属生物有效性的预测模型-生物配体模型研究进展[J]. 生态毒理学报, 2006(1):193-202.
WANG Xue-dong, MA Yi-bing, HUA Luo, et al. Advances in biotic-ligand model to predict the bioavailability of metals in environments[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2006(1):193-202.
- [47] USEPA. Update of ambient water quality criteria for copper[R]. Report No. EPA-822-R-03-02. 2003.
- [48] Li B, Zhang X, Wang X D, et al. Refining a biotic ligand model for nickel toxicity to barley root elongation in solution culture[J]. *Ecotox Environ Saf*, 2009, 72:1760-1766.
- [49] Paquin PR, Gorsuch JW, Apte S, et al. The biotic ligand model: A historical overview[J]. *Comp Biochem Physiol C*, 2002, 133:3-35.
- [50] Dammea A V, Degryse F, Smolders E, et al. Zinc speciation in mining and smelter contaminated overbank sediments by EXAFS spectroscopy [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2010, 74:3707-3720.
- [51] Heijerick D G, Schampelaere K A C De, Janssen C R. Biotic ligand model development predicting Zn toxicity to the alga *Pseudokirchneriella subcapitata*: Possibilities and limitations [J]. *Comp Biochem Physiol C*, 2002, 133:207-218.