

为 130mg/kg, 如以连续施用 30 年计, 污泥在北方石灰性土壤中铜的最高容许量不得超过 811mg/kg.

四、结 论

1. 在华北石灰性土壤中, 投加铜对小麦和水稻的生长和发育均有影响, 主要表现在对苗期株高和分蘖的抑制作用. 同时根部变短、变粗, 根毛变少. 水稻对铜比小麦敏感. 水稻减产 10% 时铜的投加浓度为 100mg/kg.

2. 作物器官对铜吸收和积累的顺序为: 根>茎>叶>籽粒. 但在不断提高土壤中铜的投加浓度时, 籽粒中的铜含量不超过 20mg/kg 的极限.

3. 外源铜的投加, 改变了石灰性土壤中铜的形态, 使原来以残留态为主变为碳酸盐结合态为主.

4. 本试验确定石灰性土壤中铜的临界含量为 130mg/kg. 1984 年我国颁布的农用

污泥施肥中铜的控制标准, 在石灰性土壤中为 500mg/kg^[10], 这一标准过严, 我们建议这一标准至少可以放宽到 800mg/kg.

参 考 文 献

- [1] Page A.L. et al., *Land Application of Sludge*, pp.5—29 Lewis Pub., 1987.
- [2] Steritt R.M. et al., *Total Environ.*, **16**, 55—90, (1980).
- [3] George A. G., *JWPCF*, **49**, (12), 238 (1977).
- [4] 王宏康, 中国环境科学, **3**(5), 56(1983).
- [5] Logan T. J. et al., (Page A. L. ed.), *Utilization of Municipal Water & Sludge on Land*, pp. 245, Univ. of California, Riverside, 1983.
- [6] Kakuzo Kitagishi, et al., *Heavy Metal Pollution in Soils of Japan*, pp. 269, Japan Sci. Soc. Press; 1981.
- [7] Sposito G. et al., *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **46**, 260—264, (1982).
- [8] Wood J. M. et al., *Environ. Sci. & Technol.*, **17**, (12) 583A, 1983.
- [9] Alina K. P. et al., *Trace Elements in Soils & Plants*, pp. 11, CRC Press, 1984.
- [10] 国家环保局, 农用污泥中污染物控制标准, 中华人民共和国国家标准 GB4284—84, 1984.

(收稿日期: 1989 年 11 月 10 日)

腐殖酸对大白鼠骨组织影响的研究

杨春林 李 虎 王子健 彭 安 曾述之

(中国科学院生态环境中心)

(北京海淀医院)

摘要 长时间给大白鼠注射黄腐酸(FA), 发现骨头的颜色及自由基信号与注射的剂量成正相关. 荧光光谱、紫外光谱及凝胶色谱对高剂量组(HD)和对照组(CK)的骨组织提取物的研究表明黄腐酸可沉积于大白鼠骨组织中.

天然水中大分子有机物主要是腐殖酸的黄腐酸组分(FA), 它被认为是大骨节病的致病因子之一, 已测定出病区饮水中自由基的浓度高于非病区^[1]. 利用³H同位素标记的黄腐酸进行动物实验, 发现在动物的骨组织中有同位素³H的积累, 但是对FA在骨组织中积累的形式还不清楚. 腐殖酸是一个结构复杂组成不确定的大分子化合物的混和

物, 有一个很特征的长寿命半醌自由基. 它反映了腐殖酸的含酚式和醌式结构的聚芳环结构, 并且在体内可以引发自由基的产生^[2].

本文利用 ESR 谱仪研究了注射不同剂量的 FA 于大白鼠的骨组织, 并用荧光光谱、紫外光谱及凝胶色谱对高剂量组(HD)和对照组(CK)骨组织提取物进行了研究, 发现黄腐酸可以沉积于骨组织, 最后对这一沉

积的病理意义进行了讨论。

一、实 验

1. 大白鼠的饲养情况

北京风化煤黄腐酸钠^[3]于蒸馏水中溶解,用稀 NaOH 溶液调 pH 至 7.4,加适量 NaCl 使接近等渗,高压灭菌后供注射用。大白鼠(昆明种)体重为 150—180g,共八组,每组 10—11 只。雌雄各半,饲养观察一周,雌雄大白鼠各取一组做对照。每日腹腔注射生理盐水 0.4ml,雌雄大白鼠各分三个实验组,分别用小剂量黄腐酸钠 5mg/kg,中剂量黄腐酸钠 50mg/kg 作肌肉注射,大剂量黄腐酸钠 150mg/kg 腹腔注射,连续 130 日。实验结束后将各组动物断头处死。取骨组织保存于福尔马林中。

2. ESR 谱的测定

将骨组织从福尔马林中取出,拭干,装入一无信号的聚乙烯塑料管内,用 ESR-300 型 (Bruker 公司)谱仪分别对高、中、低剂量及对照组大白鼠骨头进行测定。

测定条件为: 功率 (PW): 10mW; 扫宽 (SW): 50G; 时间常数 (Tc): 40.96Msec; 中心磁场强度 (CF): 3474G (FA 组为 3480G), 增益 (RG): 2×10^5 (FA 组为 6.3×10^4)。

3. 骨组织中腐殖酸的提取

将肌肉剥净的骨头在红外灯下烤干,研成粉末,加 2ml 3mol/l HCl 溶解,离心。沉淀部分用 0.1mol/l NaOH 溶解,再离心,取上清液。将两次的清液混和,以 0.1 mol/l NaOH 调节,使溶液中 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 沉淀,黄色的物质也随之共沉淀,离心。沉淀再用 1 mol/l HCl 调节至 pH 等于 4.5,加 0.3ml 0.1mol/l EDTA,得提取液。

4. 提取液及 FA 的紫外、荧光光谱测定
将高剂量组 (HD),对照组 (CK) 的提取液和由注射大白鼠用固体腐殖酸配成的溶液在波长 190—400nm 范围内,用 UV-

3000 分光光度计测定其紫外吸收。用 RF-520 测其荧光发射谱和激发谱。

5. 凝胶过滤色谱 GPC

利用 Waters 公司的 Model-210 高效液相色谱仪及日本岛津公司的 RF-535 型荧光检测器测定 HD, CK 和 FA 的 GPC 谱。

二、结果和讨论

对大鼠进行长时间腹腔注射腐殖酸,它们骨头的颜色随剂量的增大而变深,其变化如图 1 所示。



图 1 腐殖酸对大鼠骨代谢影响

C.K. 腹腔注射 0.4ml 0.9% NaCl 溶液/kg 大鼠/日
L.D. 腹腔注射 0.4ml 5mg/l 腐殖酸*/kg 大鼠/日
M.D. 腹腔注射 0.4ml 50mg/l 腐殖酸/kg 大鼠/日
H.D. 腹腔注射 0.4ml 150mg/l 腐殖酸/kg 大鼠/日

* 腐殖酸溶于 0.9%NaCl 溶液。

从图中可看出,骨头的颜色随着注射剂量的增大而加深,即由白色变为黄棕色。FA 是黄棕色,因此我们设想,FA 可能在骨头中沉积。为了证实这一设想,我们做了如下几个实验:

1. 各骨组织的 ESR 谱及实验用 FA 的

ESR 谱的比较

结果见图 2。

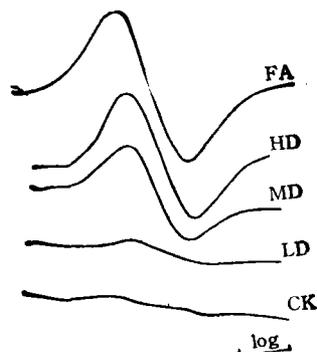


图 2 各组骨组织和 FA 的 ESR 谱

FA: 实验用固体腐殖酸 HD: 高剂量组, MD: 中剂量组; LD: 低剂量组; CK: 对照组。

从图中能看出,在同一测定条件下骨组织中 ESR 信号随着注射剂量的增大而增强。g 因子值(2.0042)和实验中固体 FA 的 g 值(2.0039)相近,都是半醌自由基的信号。这种差别可能是 FA 在代谢过程中其内部半醌自由基周围的分子基团的结构变化所致。这些变化可能包括解毒过程中的羟化作用和腐殖酸大分子某些部分的解离。FA 的半醌自由基是稳定的,它是腐殖酸聚芳核结构的一个特征表现,也体现了这一聚芳核结构中醌式、酚式结构的存在。半醌自由基在较小分子内的寿命比较短,常温下难以检出。本实验从骨组织剥离到 ESR 谱测定经过了近一年的时间,它的 ESR 信号仍能被检出,可以初步确定腐殖酸在骨组织中的沉积形式仍是大分子。

2. 紫外光谱和荧光光谱

紫外光谱和荧光光谱因在一定程度上反映了 FA 的分子结构而广泛地用于 FA 的表征。为了进一步证实骨组织中腐殖酸的存在,我们对各组的骨组织提取液及实验用的 FA 的荧光光谱和紫外光谱进行了研究。结果见图 3、图 4。

图 3(a)是 FA 和 HD 提取液的激发

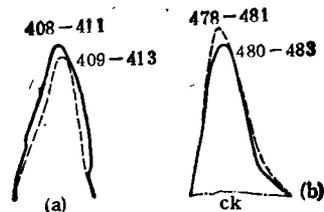


图 3 荧光光谱比较

——高剂量组提取液, - - - - 对照组提取液
——腐殖酸溶液

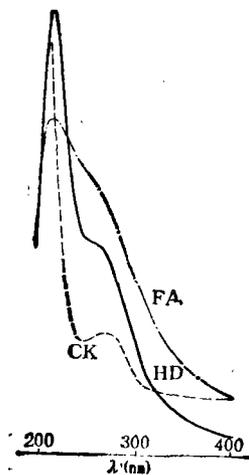


图 4 紫外光谱比较

——高剂量组, - - - - 对照组, ·····骨组织提取物与腐殖酸溶液

谱,图 3(b)是相应的发射谱。可以观察到 HD 组的提取物与 FA 溶液中含有一结构相同的物质,而 CK 组没有。另据报道,激发波长在 410nm 左右,发射波长在 470nm 左右的荧光光谱图是 FA 的特征。从图 4 的紫外光谱图可知,对照组的紫外光谱是典型的蛋白吸收,而 HD 的紫外图可以看成是其它两图的迭加。

为了排除因胶原蛋白的交联或蛋白质在紫外光的照射下而发生紫外荧光的可能性(因蛋白中含有酪氨酸和色氨酸的缘故),我们用凝胶色谱法研究了它们的荧光吸收。

3. 凝胶色谱的研究

在 λ_{EX} 280nm, λ_{EM} 313nm 的条件下,

(此波长分别是蛋白的激发波长和发射波长)通过荧光检测器做了对照组和 HD 组提取物的荧光吸收,并和 $\lambda_{EX}410nm$, $\lambda_{EM}470nm$ 的荧光谱做了比较,如图 5。

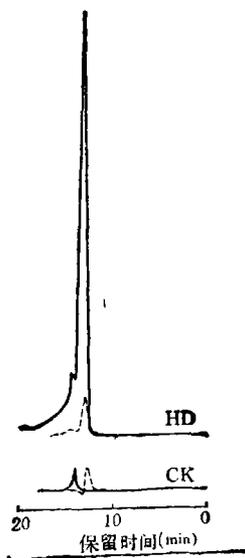


图 5 HD 组、CK 组骨组织提取物的凝胶色谱图
 —— $\lambda_{EX}410nm$, $\lambda_{EM}470nm$
 $\lambda_{EX}280nm$, $\lambda_{EM}313nm$

从图中可以看出,在所有测定条件相同的情况下,当 $\lambda_{EX}280nm$, $\lambda_{EM}313nm$,它们荧光谱的形状是一致的,峰的强度也基本相同;而当改变激发波长和发射波长时($\lambda_{EX}410nm$, $\lambda_{EM}470nm$),其谱的形状及强度相差甚远.另外从保留时间来看,HD 组高峰旁的小峰对应于 CK 组的吸收峰,这就排除了因胶原蛋白的交联或蛋白质的紫外吸收导致 HD 组和 CK 组差异的可能性.另外还可以看出,此处 HD 组的荧光峰可能是 FA 与 CK 组荧光峰的迭加.为了更好地说明之,我们用同样的方法在 $\lambda_{EX}410nm$, $\lambda_{EM}470nm$ 的条件下分别做了 FA 组,HD 组及 CK 组的荧光吸收,见图 6。

根据保留时间的不同,可以认为图 6 中 HD 组的峰是 FA 与 CK 组的迭加.峰 1

与 FA 的荧光峰对应,峰 2 与 CK 组峰对应(此峰可能是骨组织中蛋白的荧光峰.)从而证明了 HD 组含有腐殖酸(FA)这一事实。

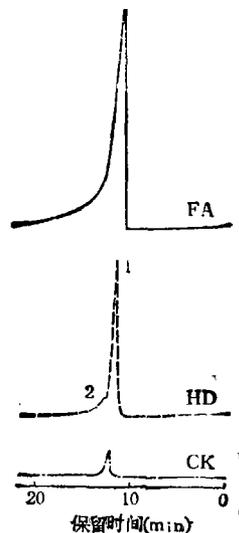
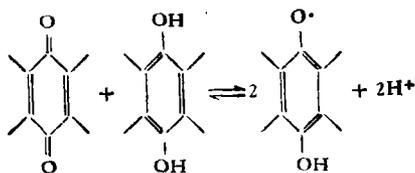
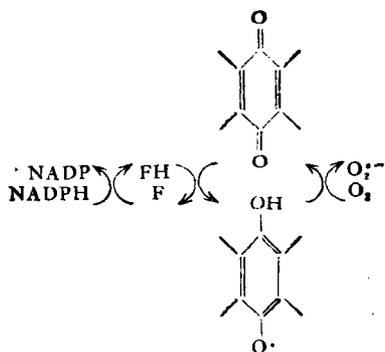


图 6 λ_{EX} 为 410nm 和 λ_{EM} 为 470nm 条件下的凝胶色谱图
HD 组,-----CK 组,——FA

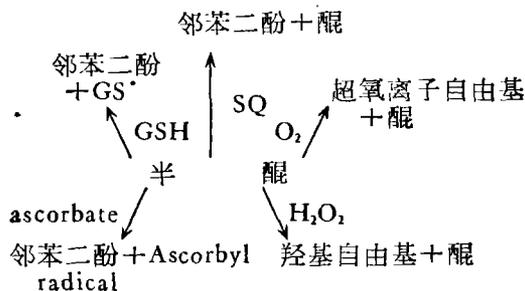
从以上的实验数据可以断定,用腐殖酸长时间注射大白鼠可以使之沉积于大鼠的骨组织中.这一结果对饮水中有机物致大骨节病的病因学说有重要意义.已有文献报道,醌式化合物是腐殖酸中毒性最强的化合物^[4],而我们所测到的自由基是由腐殖酸中的醌式、酚式化合物在分子中或分子之间建立以下平衡而形成的^[5]



形成的半醌自由基偶联于 NADPH 和 O_2 的反应可以形成活性氧^[6],活性氧可以损伤软骨细胞和基质中的胶原大分子^[7]



半醌自由基在生物体内产生活性氧的途径^[8]为



因此富集于骨组织的 FA 大分子因其含有活性基团而对大骨节病具有病理学意义。

腐殖酸在体液 (pH = 7.2—7.4) 内,其

阴离子基团主要是羟基和处于羟基同环的羟基及多羟苯环的羟基,因此有可能与 Ca^{2+} 络合而随之一起在骨组织参与了矿化过程而发生积累。已有文献报道,腐殖酸和 Ca^{2+} 的络合能力与羟基含量成正比^[9]。可以认为腐殖酸中的羟基、羧基的空间构型对于它与 Ca^{2+} 的络合作用起一定的影响。关于这一积累的机制还有待于进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 彭安、杨春林等,环境化学,7(5)1(1988).
- [2] Kalyanaraman, B., Felix, C. C. and Sealy R. C., *Environ. Health Perspectives* 64, 185(1985).
- [3] 曾述之等,江西腐殖酸,(4),49(1982).
- [4] 白乃彬,环境化学,(6)5(1987).
- [5] Choudhry, G. G., *Toxicological and Environmental Chemistry* 4: 261—295 (1981)
- [6] Boveris, A., Cadenas, E. and Chance, B. *Fed. Proc.* 40(2), 195 (1981).
- [7] Peng An, Yang Chunlin, xxv International Conference on Coordination Chemistry, pp. 658 Nanjing (1988).
- [8] Curan, S. F. et al., *FEBS Lett.* 176: 155—160 (1984).
- [9] Shirya, R., Kumada, K., *Soil Sci. and Plant Nutr.* 22(3): 345—349 (1976).

(收稿日期: 1989年8月21日)

铜矿废石风化及形成酸性废水特征

戴昭华 王志海

(中国科学院生态环境研究中心)

摘要 矿山酸性废水中元素的含量与季节和淋洗量有关。元素间相关性和硫与铁的摩尔比表明酸性废水在形成和迁移过程中有次生化合物形成,并对酸水的化学平衡起到一定的控制作用。硫的形态分析结果表明四价硫是可能的中间产物。

废石中硫化物风化产生酸性废水是一个复杂的过程,受到氧,微生物,气象及水文地质条件等多种因素的控制。为了治理酸性矿山废水对矿山周围生态环境所产生的危害,有必要了解硫化物在自然条件下风化产生酸性矿山废水的过程和特征。根据某矿山酸

性废水主要是来源于黄铁矿型废石风化的特点,着重研究了该矿山废石中黄铁矿在自然条件下风化产生的酸性废水特征。

许多学者认为黄铁矿氧化反应如下^[1,2,3]

$$\text{FeS}_2 + 7/2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+} + 2\text{SO}_4^{2-} + 2\text{H}^+ \quad (1)$$

Reclamation Treatment of the Scraps of Chrome Leather — Animal Test of the Feed Protein Powder. Jiang Tingda, Zhang Chunping (Research Center for Eco-Environmental Sciences, Academia Sinica, Beijing): *Chin. J. Environ. Sci.*, **11(3)**, 1990, pp.2—6

The proteins extracted from scraps of chrome leather were mixed with bran and used as feed protein powder. The feeding test for mice showed that the animals grew faster by using the feed additive protein powder, compared with fishpowder after six weeks. No abnormal variations were observed in organs of the mice. The feeding test with the feed additive protein powder for chickens and middling hens showed that growth of the animals was accelerated in comparison with the group fed with fishpowder after 27 and 17 days respectively. The rate of layeggs in the initial stage was 40% higher than that of feeding fishpowder group. No abnormal variations were observed in organs, and chrome had not been detected out in muscle, liver and egg at ppm level.

Study on Copper Pollution from Fertilizing the Soil with Sludge. Wang Hongkang, Yan Shoucang (Beijing Agricultural University): *Chin. J. Environ. Sci.*, **11(3)**, 1990, pp.6—11

The pot and plot experiments have been conducted for studying the effect of copper pollution on wheat and rice in calcareous soil fertilized with sludge containing copper. The results demonstrated that high concentrations of copper in soil affected on the growth of the crops and their yields. Rice was more susceptible to it than wheat, and reduced the yield about 10% when the soil had been treated with copper by 100 ppm. The order of absorption and accumulation of copper within the organs was as follows: root >> stem > leaf > grain. The copper content in grains of wheat and rice both were not higher than 20 ppm. In the soil fertilized with the sludge, the variation of available copper, its cation speciation and soil capacity were also studied in the paper. It is suggested that 130 ppm of copper as a critical value, and 800 ppm as a maximum permissible limit in sludge as it is fertilized to calcareous soil.

Structural Influence of Fulvic Acid in Rat Bone Formation. Yang Chunlin et al. (Research Center for Eco-Environmental Sciences, Academia Sinica, Beijing): *Chin. J. Environ. Sci.*, **11(3)**, 1990, pp.11—15

The influence of fulvic acid from Beijing weathered coal on the structure of rat bone has been studied. Emphasis was put on the fluorescent spectrum, ultra-violet spectrum and gel chromatographic properties of water extract of the rat bone injected with fulvic acid. The results showed that the evidence incorporating of fulvic

acid into rat bone and the pathogenic significance of this incorporation in causing Chinese Kaschin-beck disease was evaluated.

Weathering of Copper Mine Waste Rock and Characteristics of Acid Wastewater. Dai Zhaohua, Wang Zhihai (Research Center for Eco-Environmental Sciences, Academia Sinica, Beijing): *Chin. J. Environ. Sci.*, **11(3)**, 1990, pp.15—19

In this paper the characteristics of acid mine water generated from weathering of copper mine waste rock have been described according to the survey in situ. The acidity and concentration of some elements in the acid water were higher. Except that the content of some elements released from the rock weathering affected by seasons, it was affected by rainfall, even if in a season. According to the relationship between elements and the molar ratio between sulfur and iron in the acid water, it was considered that some secondary minerals were formed during generation and transportation of the acid water and controlled the chemical equilibria and acidity of the acid water. Tetravalent sulfur might be an important intermediate product during the process of acid generation from pyrite weathering on the basis of sulfur speciation analysed, and it was rapidly oxidized to hexavalent sulfur during transportation of acid water.

Tolerance and Purification Capacity of Some Species of Trees against Sulfur Dioxide Li Yichuan, Liu Houtian (Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing); Ma Liangqing, Du Shicai (Chongqing Bureau of Forestry, Sichuan Province): *Chin. J. Environ. Sci.*, **11(3)**, 1990, pp.20—23

In order to determine the threshold doses of acute and chronic injury by SO₂, the saplings fumigated with SO₂ in the open top chamber were conducted. According to the principle that purification capacity of SO₂ by trees is in a function of sulfur intensity accumulated in leaves and its transfer rate out of leaves, the purification capacity of a tree can be estimated in varied sulfur contents in the leaves before and after fumigation. The experimental results show that the trees *Cunninghamia lanceolata*, *Camptotheca acuminata*, *Cinnamomum pilyphyllum* possess strong tolerance and higher purification capacity against SO₂, but the capacity of *Robinia pseudacacia* etc are lower. Chongqing is a city with heavier SO₂ pollution, so the said trees can be selected for greening around the urban districts.

The Function of the Root Microecosystem in the Process of Dyeing Wastewater Treatment by the Hyacinth. Sun Tianhua, Liu Zhenghong, Lin Shaoning (China Textile University