

重金属形态与生物毒性及生物有效性关系的研究进展

刘 清 王子健 汤鸿霄

(中国科学院生态环境研究中心环境水化学国家重点实验室, 北京 100085)

摘要 简要介绍了近年来环境化学中与生物毒性有关的重金属化学形态分析研究, 同时归纳了环境因素对形态分布及生物毒性影响的研究进展。如何建立起形态和毒性两者间的联系, 即由物理化学测试给出生物毒性和生物有效性信息, 是形态分析的发展方向; 在形态与生物毒性关系的基础上建立起新的水质标准, 是目前研究的重点。

关键词 重金属, 形态分析, 毒性和生物有效性, 水质标准。

从 70 年代开始, 环境科学家认识到重金属的生物毒性不仅与其总量有关, 更大程度上由其形态分布决定, 不同的形态产生不同的环境效应, 因此研究的重点集中到确定重金属的活性形态及其影响, 并试图据此建立更合理的水质标准。当前发展的形态分析技术力求与生物效应取得一致, 使化学形态的测定能提供生物毒性和生物有效性信息。这一介于分析化学和毒理学学科界面的研究正受到越来越多的环境化学家和生物学家的关注, 其中化学家侧重以化学分析为手段模拟生物测试结果, 而毒理学家以生物测试为手段, 通过分析影响因素模拟环境过程。本文就近年来该领域的研究进展作一综述。

1 以重金属形态分析为主的研究工作进展

重金属的形态包括化合态、价态、结构态和结合态等。由于目前缺乏快速可靠的分析手段来确定所有形态的浓度, 所以在实际应用中, 形态分析大多根据其不同行为特征为进行。形态分析的主要目的是确定具有生物毒性的重金属含量。当所测定的部分, 如溶出伏安法中电极上富积的部分、离子交换技术中离子交换剂吸附的部分, 或者其它方法测定的部分与重金属生物有效性或毒性一致时, 形态分析的目标就可实现。下面就一些目前采用较多的方法分别讨论。

1.1 阳极溶出伏安法(ASV)

ASV 将总的金属形态按其电极行为特征分为电极有效态(Labile-metal)和惰性态(Inert-metal)。电极有效

态包括游离离子和一些简单无机络合物, 是可能的毒性态; 惰性态一般是一些结合紧密的有机络合物, 较少具有毒性特征。因为 ASV 中电极动力学过程与重金属穿过细胞膜进入细胞的过程类似, 所以 ASV 能够较好地反映出重金属的毒性, 微分脉冲阳极溶出伏安法(DPASV)因其高灵敏性而得到广泛的应用。该方法的缺点是水体中存在的腐植酸(HA、FA)和其它有机物影响电极富积和溶出过程, 从而导致极谱峰分裂(出现肩峰或亚峰), 给定量带来误差^[1]。近年来 Morrison 等人^[2]采用两步酸化法(Double Acidification Technique)来消除络合剂对 ASV 溶出过程的影响, 取得了一定的进展。用此方法测定 Cu、Pb、Cd 的结果与用藻类测量的毒性一致。Scaraon 等人^[3]认为有机物质在电极表面的吸附与富积电位有关, 从电毛细管曲线可知, 当电位低于 -1.4 V 时吸附量将大大减少。由此他们在富积过程结束时增加一负电位静置步骤, 让吸附在电极表面的有机物质脱附, 然后溶出。该方法对消除有机物干扰也取得了明显的效果。

1.2 阴极溶出伏安法(CSV)

Van Den Berg^[4]研究指出: CSV 比 ASV 具有更高的灵敏度, 并且较少污染样品。Van Den Berg 和 Rebello^[5]用 CSV 研究了巴西 Cuanabara 海湾高污染区中铜的形态。发现在大多数样品中, 铜以有机络合态形式存在(99.5%—99.9%), Van Den Berg 等人^[6]还用

收稿日期: 1995-05-23

CSV 研究了 Scheldt 河口中铜和锌的形态分布, 认为铁的存在极大地降低了铜和锌的电极有效态, 从而影响了它们的环境行为。

1.3 化学修饰电极

化学修饰电极是将电极表面固定可以改变其特性的物质。Miwa 等人^[7]用 Nafion(全氟磺酸聚合物)修饰电极作为指示电极, 在腐植酸存在的情况下直接测定河水中的铜, 灵敏度可达 10^{-8} , 与先用阴离子交换剂除去腐植酸, 再由微分脉冲阳极溶出伏安法(DPASV)测试的结果有可比性。Agraz 等人^[8]将 Amberlite IRC-718 型树脂(含亚氨基二乙酸)修饰到碳糊电极上, 利用水中有有机物与亚氨基二乙酸基团的交换反应来进行有机络合态铜的形态分析, 并由此对天然水中的络合剂进行了分类。化学修饰电极可以认为是一类选择性电极, 有关测定结果与生物毒性的关系研究未见报道。

1.4 离子选择电极法(ISE)

游离离子被认为是主要毒性形态, 由于 ISE 只对游离金属离子有响应, 因而引起广泛的兴趣。Mingelgrin 等人^[9]用 ISE 研究了污水中铜的络合程度, 发现铜几乎全部以络合态存在。Park 等人^[10]用 ISE 测定了天然水体中铜和镉络合物的表观稳定常数, 然后由 MINEQL 模型计算了它们的形态分布。Parthasarathy 等人^[11]在研究 Cu^{2+} 离子在液膜中的迁移时用 ISE 测定了铜离子浓度的变化, 发现穿过膜的铜(Ⅱ)由游离铜离子浓度决定, 结果与超滤法一致。该方法的缺点是 ISE 的线性响应范围都在高浓度区(一般在 10^{-6} mol/L 以上), 而绝大部分环境样品中离子态的金属浓度远低于其响应范围。

1.5 化学分离-含量测定法

将化学分离与分析测试技术联用, 也可得到形态含量的信息。Monison 等人^[12]在研究土壤污泥提取液中铜的形态分布时, 先用高效凝胶色谱将各组分按分子大小进行分离, 然后由原子吸收光谱法(AAS)测定每一组分中铜的含量, 结果发现 60%—80% 的铜因与土壤中的腐植酸结合而不会被植物吸收利用。Comber 等人^[13]将紫外照射、Chelex-100 离子交换、AAS 三者联用, 通过铜与 3 个标准试剂(甘氨酸、NTA、EDTA)的反应物的测定, 表明这一技术可以很好地用于形态分析工作。

一般认为以离子形式存在的金属元素是可被生物利用的形态, 因此, 用离子交换树脂可以分离出金属的生物有效态(bioavailable fraction), 其中亚氨基二乙酸树脂(Chelex-100)的应用较为广泛。样品中游离态或弱络合态的金属被吸附滞留, 而胶体颗粒吸附态的金属部分地被滞留, 惰性的络合态金属则不被 Chelex-100 柱

保留。近年来发现水解铝的交换树脂与一些金属的稳定常数与金属对细胞膜的亲和力接近($\log K=9.87$), 因而有可能成为更理想的替代树脂^[14]。

渗析、超滤和凝胶色谱技术将形态按分子大小分类, 尽管一般认为与大分子结合的金属(如 Cu-HA)几乎没毒性。但还没有明确的分子大小与生物毒性关系的实验证据。

紫外照射可以使有机物分解, 从而释放出与之结合的金属离子, 因此, 紫外照射作为一种简单的前处理技术在重金属形态分析中被广泛采用。具体步骤为: 先在样品中加入几滴 30% 的 H_2O_2 , 然后在 500-1000 W 的紫外灯下照射 4—8 h, 再用电化学方法测定照射前后的含量。紫外照射前处理将全部金属划分为非络合和络合态, 前者代表了生物可给性的主要部分。

化学前处理方法中样品的离子平衡状态都不同程度被破坏, 因此利用实验结果对生物有效性进行估算, 需要有直接的生物实验数据佐证。此外, 上述方法易使样品沾污, 从而夸大了部分形态的含量。

1.6 形态分布规律的数学计算方法

金属形态研究的另一途径, 则是通过建立在有关热力学数据基础之上的平衡方程来计算。根据络合物化学原理, 如果浓度和各组分之间的反应已知, 平衡条件一定, 则元素的任一形态都可以计算出, 如 Apte 等人^[15]计算了英国 Humber 河口样品中铜的形态, 发现由于大量有机物的存在, 几乎所有的铜都以络合形态存在, 而游离铜离子的浓度大大降低。目前数学计算模型已经有不同版本的计算机软件, 如 REDEQL、MICROQL、MINEQL、WATEQ MINTEQ 等系列。但由于天然水体成分的复杂性和所采用平衡常数的不确定性, 计算的结果与实际情况尚有相当的距离。数学计算模型应用于描述污染物在环境中迁移转化规律的工作较多, 但应用于描述形态分布与生物有效性和毒性关系方面的工作尚未见报道。

2 以生物毒性试验为主的研究工作进展

重金属的毒性受非生境因素(如 pH、温度、硬度、碱度、游离离子浓度以及和无机、有机试剂的络合作用等)和生境因素(如大小、重量、生长期、耐受性、竞争和演替能力等)决定^[16]。环境因素的变化引起毒性大小的变化, 如硬度和碱度是改变重金属对水生生物毒性的的重要因素, Ca^{2+} 和金属离子在细胞膜上的竞争吸附可以降低对金属的吸收等。根据实用性原则, 在保护水生生物的水质标准中, 一些金属的安全浓度已表示为水质硬度的函数^[17], 因此需要理论研究进一步阐明有关标准

的基础。

2.1 酸度对重金属毒性的影响

酸度对形态和毒性的影响较为复杂,它可通过 3 种不同的机制来影响金属的形态分布^[18]:首先酸度可改变金属的水解平衡,从而改变游离金属离子的浓度;其次 H^+ 与金属离子对有机或无机试剂的竞争,改变络合平衡;此外,酸度还是影响吸附过程(金属氢氧化物的共沉淀、生物表面吸附等)的主要因素。生物试验观测到重金属的生物毒性有时会随 pH 值的降低而降低,可能是由于 H^+ 和金属离子在吸附位上的竞争引起^[19];有时会随 pH 的降低而增加,可能是由于形态和生物有效性的改变^[20]。Mackie 认为 2 种效应很大程度上由受试生物物种决定^[21],这就指明了以化学形态分析为主研究生物有效性或毒性的一个误区:形态与生物有效性或毒性的关系是物种相关的。

2.2 无机物对重金属毒性的影响

一般认为,水的硬度影响金属的毒性是通过形成不溶性碳酸盐或为碳酸钙吸收引起。但溶液中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等离子浓度的增加能降低重金属的毒性,因此被认为具有保护功能。Pellegrini 等人^[22]用褐藻第一次系统地研究了 Ca^{2+} 对 Cd、Cu、Zn 的解毒作用。他们设计了一系列实验,发现在所有实验中, Ca^{2+} 都有明显的保护作用,但解毒机理尚不清楚。Bjerselius 等人^[23]在研究大西洋鲑鱼对铜的急性毒性试验时,发现当 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 浓度增加时,铜的毒性大大降低。Jayaraj 等人^[24]研究了 3 种常见元素 Ca、Mg、Fe 在藻类试验中对 Cu、Cd、Ni 毒性的改良作用,发现在浓度达到 100 mg/L 之前, Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 浓度的增加都可以降低重金属的毒性,但当浓度继续增加时,会出现相反的情形。尽管有人提出钙、镁等常见离子对毒性作用的影响与金属离子在作用部位的竞争反应有关,但这一观点还有待于进一步探讨。

2.3 有机物对重金属毒性的影响

大部分工作认同有机络合试剂可以大大降低重金属的毒性,因为金属与有机试剂的结合降低了游离形态的浓度。最近 Oikari 等人^[25]研究了天然水中的腐殖酸(HA)对有机毒物和重金属毒性的影响,发现 HA 可增加 Cd 和 Cr 的毒性。Stackhouse 和 Benson^[26]发现当 0.5 mg/L HA 加入水中时,大型溞可以富集更多的镉,而当 HA 浓度更高(5—50 mg/L)时,金属的富集将减少。这说明腐殖酸对金属毒性的影响是多方面的,其机理尚有待探讨。此外,重金属络合物的生物毒性也有报道,如铜与藻类的分泌物^[27]、铜与柠檬酸和乙二胺络合物^[28]均有毒性。Tubbing 等人^[29]证实,无论 EDTA 浓

度多大,铜的少量加入即可影响细菌和水藻结构和功能的变化,这些都说明 EDTA 络合态铜同样对细菌和藻类有毒性作用。

2.4 其他需综合考虑的因素

Spechar 和 Fiantdt^[30]发现根据美国环保局的水质标准配制的金属混合液对鱼类和无脊椎动物都有毒性。Van Leeument 等人^[31]也发现荷兰的水质标准(8 种金属)不足以保护水生生物,因为其混合液对生物有不利的影响。因此对环境样品进行生物毒性测试时必须考虑元素间的协同作用,加和作用和拮抗作用。Rachlin 等人^[32]通过观察蓝藻的生长速率来研究二价金属离子的共同作用。结果显示, Cd+Cu、Cu+Co 具有协同作用; Cd+Co、Cd+Cu+Co 有拮抗作用,但能量分散 X 射线光谱分析未发现它们之间有相互作用。Parrot 等人^[33]研究了 Cu 和 Zn 对海洋发光菌发光强度的影响,毒性具有加和特征;但在研究 Cu 和 Zn 对刚孵化的黑头软口鲈作用时,却发现两者具有拮抗作用。

一些物质即使浓度很低,也会因生物积累作用产生毒性。Kraak 等人^[34]研究了豹须贝的毒性反应,它可以保持体内的低铜状态,但铜在体内的浓度却逐渐增加。Borgmann 等人^[35]也发现, Zn、Pb、Hg 在端足甲壳体内,随暴露时间的增加而增加, Cu 的浓度却保持恒定。因此,不同金属的急性毒性和慢性毒性的关系不同,不能根据短期试验的结果来预期金属的长期毒性。

不同的藻类对毒物的耐受性不同,同一类的藻受重金属污染的比未受污染的具有更大的耐受性。这种耐受性一般认为具有很高的专一性,但有时也可获得对其它离子的抵抗力,即共同耐受性(co-tolerance)。Bariaud 等人^[36]研究指出:这种共同耐受性在自然界可能有较大的普遍性。

生物在不同的生长期对毒物的敏感不一样,物种之间的相互作用,如竞争和寄生可能形成附加压力,导致对毒物有更高的响应^[37]。Clements 等人^[38]发现在群体中试验比单个生物试验更敏感。

3 结论及展望

在美国清洁水法(CWA)中明确提出:禁止排放毒性剂量的有毒污染物。实施方案主要以控制有限种类污染物(包括优先监测污染物)的排放浓度,其中对与重金属污染有关的水质标准制定经历了不同的阶段。首先采用总量控制,随后考虑到碱度和硬度的修正,后来又建议用金属的溶解态作为水质标准^[39],因为金属的溶解量比金属的总量更接近天然水体中生物可利用的部分。形态与毒性关系的研究是在此基础上更深层次的考虑。

通过调节各参数,形态分析在一定程度上可以给出重金属的生物毒性信息。环境因素可以改变重金属的形态分布从而影响毒性大小,生物毒性测试在此意义上可以和化学形态分析统一。但目前大多生物试验都是在单一金属和单种生物环境下进行,金属混合物的毒性以及生物群落对毒性效应的影响还有待开展。通过形态与生物毒性关系的研究为在形态的基础上建立新的水质标准提供依据,这正是国际环境界研究的热点。

参 考 文 献

- Cleven R F M J et al. . *Environ Technol. Lett.* , 1988, **9** (8): 869
- Morrison G M et al. . *Electroanalysis* , 1990, **2**: 9
- Scarano G et al. . *Anal. Chim. Acta*, 1993, **227**: 137
- Van Den Berg C M G. *Anal. Proc.* (London), 1984, **21** (10): 359
- Van Den Berg C M G et al. . *Sci. Total Environ.* , 1986, **58** (1-2): 37
- Van Den Berg C M G et al. . *Estuarine, Coastal Shelf Sci.* , 1987, **24**(6): 785
- Miwa T et al. . *Bunseki Kagaku*. 1990, **39**(8): 433
- Agraz R et al. . *Anal. Chim. Acta*, 1993, **283**(1): 650
- Mingelgrim U et al. . *Water, Air, Soil Pollu.* , 1986, **28**(3-4): 351
- Park C K et al. . *Taehan Hwahakhoe Chim.* 1985, **29**(6): 637
- Parthasarathy N et al. . *Anal. Chim. Acta*, 1993, **284**(3): 649
- Monison A et al. . *Analyst* (London), 1990, **115** (11): 1429
- Comber M et al. . *J Autom. Chem.* , 1992, **14**(1): 5
- Zhang M et al. . *Anal. Chim. Acta*, 1987, **197**: 137
- Apte S C et al. . *Anal. Chim. Acta*, 1990, **235**(2): 287
- Gerhardt A. *Introductory Paper*, Lund Uviversity, 1990: 58, 33
- U. S. Environmental Protection Agency, *Quality Criteria for Water* 1986, EPA 44015-86-001
- Campbell P G C et al. . *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* . 1985, **42**: 2034
- Meador J P. *Aquatic Toxicol.* . 1991, **19**: 13
- Gerhardt A. *Water Air and Soil Pollution*, 1993, **66**: 289
- Mackie G L. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* , 1986, **18**: 215
- Pellegrini M et al. . *J. Appl. Phycol.* . 1993, **5**(3): 351
- Bjerselius R et al. . *Aquat. Toxicol.* , 1993, **25**(1-2): 125
- Jayaraj Y M et al. . *Environ. Ecol.* , 1992, **10**(2): 667
- Oikari A et al. . *Sci. Total Environ.* , 1992, 117-118: 367
- Stackhouse R A et al. . *Ecotox. Environ. Saf.* , 1989, **17**: 105
- Van der Berg C M G et al. . *J. Fish. Res. Bd. Can.* , 1979, **36**: 901
- Guy R D et al. . *Wat. Res.* , 1980, **14**: 891
- Tubbing D M J et al. . *Envir. Toxicol. Wat. Qual.* , 1993, **8**: 191
- Spechar R L et al. . *Envir. Toxic. Chem.* , 1986, **5**: 917
- Van Leeuwen C J et al. . *Water quality criteria for heavy metals; a daphnids view*, 1987, **20**: 200
- Rachlin J W et al. . *Arch. Environ. Contami. Toxicol.* , 1993, **24**(1): 16
- Parrot J L et al. . *Can. J. Fish Aquat. Sci.* , 1993, **50**(10): 2245
- Kraak M H S et al. . *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* , 1992, **23**(3): 363
- Borgmann U et al. . *Hydrobiologia*, 1993, **259**(2): 79
- Bariaud A et al. . *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* , 1984, **32**: 587
- Kraak M H S et al. . *Setac-Europe Founding Conference*. April 1991. Sheffield
- Clements W H et al. . *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* , 1988, **45**: 2017
- Prothro M G. *Memorandum; Office of Water Policy and Technical Guidance on Interpretation and Implementation of Aquatic Life Metals Criteria*, 1993, U. S. Environmental Protection Agency, Washington, D. C.

(上接第96页)

Agricultural Activities and Emissions of Greenhouse Gases in China Region. Song Wenzhi et al. (Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085), Zeng Jianghai et al. (Institute of Agricultural Modernization, Chinese Academy of Sciences, Shijiazhuang 050021); *Chin. J. Environ. Sci.* , **17**(1), 1996, pp. 85-88

The emissions processes of greenhouse gases such as CO₂, CH₄ and N₂O from agricultural soils have been studied in this paper. The source strengths of the gases emission from agricultural activities are calculated as 260 Tg of CO₂, 17.5 Tg of CH₄, and 0.096 Tg of N, which account for about 8%, 50%, and 10% of their total emissions in China. An effect of increasing the concentration of these greenhouse gases in atmosphere on agricultural production are also discussed. Some of control strategies on the gases emission from soils, are suggested. **Key words:** greenhouse gases, agricultural source emission, impacts.

Research Progress in Heavy Metal Speciation and Toxicity and Bioavailability of Heavy Metals. Qing Liu et al. (State Key Laboratory of Environmental Aquatic Chemistry, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Beijing 100085); *Chin. J. Environ. Sci.* , **17**(1), 1996, pp. 89-92

Knowledge of the relationship between metal speciation and biological effects is essential to understand heavy metal impacts on the environment. In this paper progress in this research field and different approaches to meet this requirement in recent years were reviewed. The effects of environmental factors with relation to speciation and toxicity/bioavailability of heavy metals were also discussed. The current efforts are directed towards the development of chemical speciation schemes which can be related directly to measures of toxicity/bioavailability. Water quality criteria could be improved based on those information. **Key words:** review, heavy metals, speciation analysis, toxicity and bioavailability, water quality criteria.