

骨炭修复重金属污染土壤和降低基因毒性的研究

林爱军^{1,2}, 张旭红², 苏玉红², 胡莹², 曹青², 朱永官^{2*}

(1. 北京化工大学环境科学与工程系, 北京 100029; 2. 中国科学院生态环境研究中心土壤环境研究室, 北京 100085)

摘要:采用分级提取的方法研究了施加骨炭对污染土壤重金属的固定效果, 结果表明, 土壤施加 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 骨炭后水溶态、交换态、碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态 Pb 的浓度都显著下降; 而加入骨炭后土壤有机结合态 Pb 的浓度显著上升, 表明骨炭可以吸附、固定土壤中的 Pb, 改变 Pb 的化学形态, 降低 Pb 的生物可利用性. 加入骨炭后土壤中水溶态和交换态 Cd 的浓度都显著下降, 残渣态 Cd 的浓度明显上升. 骨炭处理对土壤中 Cu 化学形态的影响和 Pb 相似, 表明骨炭可以吸附固定土壤中的 Cu. 骨炭处理对 Zn 也有一定的固定效果, 降低了土壤中水溶态的 Zn. 采用植物彗星实验研究了施加骨炭对土壤基因毒性的影响, 表明加入骨炭后减轻了污染土壤对洋葱根尖细胞的 DNA 的损伤, 降低了土壤污染对植物的基因毒性. 生物评价和化学评价的结果均表明骨炭是重金属污染土壤的有效修复剂, 能有效降低污染土壤中重金属的生物有效性和对植物的毒性.

关键词: 骨炭; 化学固定; 土壤重金属污染; DNA 损伤

中图分类号: X53 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2007)02-0232-06

Chemical Fixation of Metals in Soil Using Bone Char and Assessment of the Soil Genotoxicity

LIN Ai-jun^{1,2}, ZHANG Xu-hong², SU Yu-hong², HU Ying², CAO Qing², ZHU Yong-guan²

(1. Department of Environmental Science and Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China; 2. Department of Soil Environmental Sciences, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

Abstract: We evaluate the effects of soil *in situ* remediation by application of bone char as a soil amendment based on chemical and biological assessment. The application of bone char decreased the Pb in the water soluble (WS), exchangeable (EX), carbonate-bound (CAR) and Fe-Mn oxides-Bound (Fe-Mn) fraction but increased the Pb in organic-bound (ORG) fraction indicating the decreased bioavailability of Pb. The application of bone char decreased the Cd, Cu and Zn in water soluble, exchangeable, carbonate-bound fraction by increasing substantial amounts of heavy metals in the ORG fraction or Residual (RES) fraction. The soil genotoxicity was evaluated using plant comet assay of root tip cells of *Allium cepa* L. and the results indicated that bone char application reduced genotoxicity of heavy metals, decreasing the DNA damages in plants which was consistent with the changes of the chemical forms of Pb, Cd, Cu and Zn indicating the changes of the chemical forms of heavy metals may be one of the reasons for decreased soil genotoxicity.

Key words: bone char; chemical fixation; soil contamination by heavy metals; DNA damages

土壤是人类生存与发展的重要自然资源和整个陆地生态系统赖以存在的基础, 又是重要的环境要素之一^[1], “健康”的土壤对于农业可持续发展和人类的生存非常重要. 但是, 随着我国经济的高速发展, 土壤污染的问题日益严重, 严重的土壤污染特别是重金属污染已经成为目前包含城市土壤在内的许多土壤的一个共同特性^[2], 据估计我国已经有 10 万 km^2 土壤被污染^[3], 而且我国土壤污染重金属中 As、Cd、Cr、Hg 和 Pb 等高毒性重金属污染严重, 尤其是矿山开采和金属冶炼排放的大量废水, 更是加重了农田重金属污染的程度. 从目前的情况来看, 我国土壤污染特别是一些发达地区的土壤污染呈现出局部改善、整体恶化的趋势, 对我国耕地资源可持续利用和粮食生产安全提出了严峻的挑战^[4]. 重金属在土壤中具有移动性差、滞留时间长、不能被微生物降解等特点, 给我国农业生产带来严重影响, 我国每年因

重金属污染土壤引起的粮食减产达上千万 t ^[5]. 土壤重金属污染还直接影响到农产品产量和质量, 并通过食物链最终进入人体威胁人体健康. 更应该引起注意的是, 许多重金属除了产生生理上的可见毒性或伤害以外, 还引起生物体机能慢性和长期的改变影响生物体健康, 如 Cd、Co 和 Cr 等重金属元素已经被证明对人类或哺乳动物有致癌作用^[6].

生物修复特别是利用超积累植物进行植物修复是目前重金属污染土壤治理技术的研究热点之一^[7], 但此项技术仍然有一些不足之处^[8], 特别是大部分超积累重金属的植物一般植株矮小、生长缓慢、生物量低, 因而修复效率低、所需时间长, 所以必须

收稿日期: 2006-03-05; 修订日期: 2006-05-17

基金项目: 国家自然科学基金委员会杰出青年基金项目(50225002); 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2002CB410808)

作者简介: 林爱军(1976~), 男, 博士, 主要研究方向为环境污染基因毒理学. E-mail: linaj@mail.buct.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: ygzhu@rcees.ac.cn

寻求一些快速的方法修复或控制土壤重金属污染. 通过添加土壤添加剂固定土壤中的重金属是一种简单的重金属污染的原位修复方法,且需要时间短、效率高,更符合目前对重金属污染土壤修复的迫切需要. 本实验以冶炼厂排放废水污染的农田土壤为对象,研究骨炭对污染土壤重金属的固定作用,并研究这种固定作用对污染土壤基因毒性的影响,以期为土壤重金属的污染控制和毒理学评价提供简单有效的手段.

1 材料与方法

1.1 土壤及处理

本实验需要的土壤全部采集自中国浙江省富阳市郊区受冶炼厂排放废水污染的土壤,为多年种植水稻的农田土壤,土样采集带回实验室风干后过 2 mm 筛备用. 王水-高氯酸消煮后测定土壤 Pb 含量为 $662.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 土壤 Cd 含量为 $18.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 土壤 Cu 含量为 $3\,920.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 土壤 Zn 含量为 $1\,784.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. 本实验采用的骨炭是由英国 Brimac Charcoals Limited 公司生产的 Brimac 216 市售骨炭 (hydroxyapatite 72%, CaCO_3 7.2%, acid insoluble ash 2.1%), 使用前机械粉碎并过 80 目筛.

实验设置对照和不同骨炭处理,分别是对照处理(CK)、添加 $5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 骨炭处理、添加 $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 骨炭处理,总计 3 个处理,每个处理重复 3 次. 按照实验所设计的比例将骨炭和土壤充分混合,过筛后装入花盆. 实验采用容积 1 L 的塑料盆作为培养容器,每盆装 1.0 kg 土壤,装盆后浇去离子水,使土壤含水量达到 20% (干重). 土壤装盆后先老化 4 周,老化期间保持干湿交替,老化结束后种植水稻,培养 8 周后收获. 收获水稻后测定不同处理下水稻的生长和对重金属的吸收,收获水稻后的土壤风干后再次过 2 mm 筛备用.

1.2 土壤重金属的分级提取

收获水稻后的土壤风干并过 2 mm 筛,取出部分土样进行化学分析. 为了研究骨炭对重金属的固定作用,采用了分级提取的方法研究土壤重金属形态的变化. 采用的分级提取方法最早是由 Tessier 等人建立的,后来被不断加以改进并广泛应用于多种类型的土壤,研究土壤重金属形态的变化^[9, 10]. 取 1.000 g 风干土加入 40 mL 聚乙烯离心管中,按照下述方法进行分级提取: ①水溶态 (WS): 向离心管中加入双蒸水 15 mL,振荡提取 2 h. ②交换态 (EX): 上一步提取后剩余的残渣再加入 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ MgCl}_2$ 8

mL, 振荡提取 1 h. ③碳酸盐结合态 (CAR): 提取交换态剩余的残渣再加入 8 mL $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CH}_3\text{COONa}$ (以 CH_3COOH 调节 pH 到 5), 振荡提取 5 h. ④铁锰氧化物结合态 (Fe-Mn): 上步提取残渣加入 20 mL $0.04 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ (以 25% CH_3COOH 溶解), 于 96°C 下提取 6 h, 期间不时搅动. ⑤有机结合态 (ORG): 提取铁锰氧化物结合态后的残渣先加入 3 mL $0.02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HNO}_3$ 和 5 mL 30% H_2O_2 (以 HNO_3 调节 pH 到 2), 加热到 85°C 并持续 2 h, 期间不时搅动, 然后再加入 3 mL $0.02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HNO}_3$, 再于 85°C 加热 3 h, 期间不时搅动. 加热结束后取出离心管, 待冷却后加入 5 mL $3.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CH}_3\text{COONH}_4$ (溶解于 20% HNO_3), 将其稀释到 20 mL 后于振荡器上振荡 30 min. ⑥残渣态 (RES): 提取有机结合态后的残渣风干后, 称取 0.5 g 左右放消煮管, 加 5 mL 王水浸泡过夜, 于 120°C 消煮 1 h 后升温到 160°C 消煮 6 h, 冷却后加入 5 mL 高氯酸继续消煮一定时间.

每一步提取完成以后, 在 $15\,400 \text{ r/min}$ 下离心 30 min 分离土壤和提取液, 提取液以 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜过滤后测定重金属含量, 剩余土壤加入 8 mL 双蒸水后振荡数 min, 再于 $15\,400 \text{ r/min}$ 下离心 30 min 后弃去上清液, 剩余土样进行下一步提取. 提取结束后, 以电感耦合等离子体发射光谱仪 (ICP-OES) 测定土壤提取液重金属含量.

1.3 土壤污染基因毒性的彗星实验研究

收获水稻后的土壤风干并过 2 mm 筛, 加入双蒸水调节土壤含水量为 20%, 然后按照下述方法测定污染土壤对洋葱根尖细胞 DNA 的损伤.

洋葱 (*Allium cepa* L.) 种子购自中国农业科学研究院, 种子表面消毒后以去离子水浸泡 24 h, 期间换水 2 次, 然后置于湿润滤纸上 25°C 下催芽, 待幼根长至 1~2 cm 时将洋葱的根尖直接插入上述土样进行处理, 每盆土壤处理洋葱种子 5 颗. 处理后的洋葱种子以自来水充分洗去表面附着的泥土, 并用双蒸水冲洗后进行植物彗星实验. 在操作中为了避免光线产生额外的 DNA 损伤而影响实验结果, 整个实验均在红光灯下操作^[11].

1.3.1 分离细胞核^[11, 12]

处理结束后取出洋葱种子以双蒸水充分冲洗后, 用滤纸吸干, 轻轻切下 5~10 mm 的根尖, 放于已预冷的培养皿内, 向培养皿加入一定体积的磷酸盐缓冲液 (PBS) 后, 用刀片在该缓冲液中轻轻将根尖前端切下 0.5 mm 并弃去, 再于 PBS 中将其余根轻轻

切成薄片,并缓缓转动培养皿,使游离出的细胞核进入缓冲液,过 30 μm 滤网后获得洋葱根尖细胞核悬浮液.

1.3.2 凝胶制备

按照文献[12]所述方法,制备“三明治”结构的凝胶,第1层为正常熔点的琼脂糖(NMA),第2层是低熔点琼脂糖(LMA)和细胞核悬浮液的混合层,第3层是低熔点琼脂糖.玻片准备好后于冰上凝固 10 min 并移去盖玻片.

1.3.3 细胞裂解

4 ℃下将载玻片水平浸入裂解液(2.5 mol•L⁻¹ NaCl, 0.1 mol•L⁻¹ EDTA, 10 mol•L⁻¹ Tris-HCl, 1% Na-lauroylsarcosine, pH 10)中裂解 1 h.

1.3.4 电泳

裂解后以 0.5 倍 TBE 冲洗载玻片 2 次,每次 5 min,然后将载玻片放电泳槽中,在碱性电泳缓冲液(0.3 mol•L⁻¹ NaOH, 1 mol•L⁻¹ EDTA)中放置 20 min,然后在此溶液中电泳 15 min,电压 1 V•cm⁻¹ 电流 300 mA.电泳结束后取出载玻片以滤纸吸干电泳缓冲液,放入培养皿后加入 0.4 mol•L⁻¹ Tris-HCl (pH7.5)缓冲液,将载玻片中和 15 min,再将 Tris-HCl 吸去,并用滤纸吸干,再以无水乙醇将载玻片脱水 1 h,吸取乙醇后取出玻片暗处晾干.

1.3.5 观察和分析

每载玻片加 13 mg•L⁻¹ 的溴化乙锭溶液 50 μL 染色 10 min,然后用 Zeiss 荧光显微镜在绿激发下观察,并拍照.污染物质引起的 DNA 片段因为体积小而在电场中迁移的速度大于细胞核,形成 1 个彗星状的拖尾,拖尾的长度和以及拖尾部分 DNA 的含量和细胞核损伤的程度呈正相关^[13, 14],所以细胞核

DNA 损伤的程度可以用彗星拖尾长度(Ltail)、彗星尾部 DNA 的相对含量(tail DNA)、尾动量(TM)、Olive 尾动量(OTM)等参数表示.在实验中获得彗星图像后,用 CASP 软件分析测量 DNA 迁移的各种参数^[13],评价 DNA 的损伤程度.

2 结果与分析

2.1 骨炭对污染土壤重金属化学形态的影响

添加不同比例的骨炭后,土壤中不同化学形态重金属的浓度变化如表 1 所示.从表 1 可以看出,加入骨炭改变了土壤中水溶态和交换态 Pb 的浓度,特别是加入 10 g•kg⁻¹ 骨炭后土壤中水溶态和交换态 Pb 的浓度都显著下降($p < 0.05$),因为水溶态和交换态是植物易于利用的重金属形态,其浓度下降表明加入骨炭后土壤 Pb 的生物可利用性降低,对植物以及其它生物的风险也将降低.骨炭处理不仅降低了土壤中水溶态和交换态 Pb 的比例,还降低了碳酸盐结合态 Pb 和铁锰氧化物结合态 Pb 的比例.和前面几种形态 Pb 的浓度变化不同的是加入骨炭后土壤有机结合态 Pb 的浓度显著上升($p < 0.05$),而且上升的程度随骨炭的施加量增加而增加.在以往研究报道中也曾有利用骨炭为添加剂进行土壤 Pb 污染化学固定的研究,其研究结果和本文相似,都表明骨炭能有效降低土壤中 Pb 的生物可利用性,减轻其对生态环境的风险^[15],但是与本研究不同的是他们认为施加骨炭后土壤中的 Pb 以残渣态为主,占 80% 以上,这可能是因为他们采用的土壤和本实验采用的土壤不同,而且两者 pH 不同,另一个原因就是本实验处理时间比较其它报道短^[16],而骨炭对 Pb 的吸附固定是 1 个相对缓慢的过程,其形态也是

表 1 添加不同剂量骨炭后土壤不同形态重金属的浓度¹⁾/mg•kg⁻¹

Table 1 Speciation of heavy metals in soils after treated with different bone char application /mg•kg ⁻¹							
元素	骨炭添加量 /g•kg ⁻¹	水溶态(Ws)	交换态(EX)	碳酸盐结合态 (CAR)	铁锰氧化物结 合态(Fe-Mn)	有机结合态 (ORG)	残渣态(RES)
Pb	0	0.473 ± 0.004A	1.212 ± 0.042A	118.933 ± 2.046A	68.84 ± 0.568A	23.69 ± 0.337A	51.28 ± 2.022A
	5	0.232 ± 0.022 B	1.066 ± 0.095AB	111.493 ± 6.696A	58.029 ± 2.546B	48.53 ± 1.050B	62.42 ± 0.928A
	10	0.260 ± 0.022 B	0.982 ± 0.068BC	85.36 ± 0.863B	45.178 ± 0.558C	81.7 ± 17.222C	53.83 ± 5.448A
Cd	0	0.014 ± 0.001A	2.733 ± 0.033A	3.120 ± 0.046A	1.662 ± 0.001A	0.170 ± 0.003A	3.693 ± 0.152A
	5	0.011 ± 0.001B	2.723 ± 0.055A	3.063 ± 0.053A	1.563 ± 0.014B	0.189 ± 0.017A	4.121 ± 0.110A
	10	0.001 ± 0.001B	2.543 ± 0.053B	3.573 ± 0.414A	1.551 ± 0.021B	0.256 ± 0.066B	4.609 ± 0.099B
Cu	0	3.400 ± 0.050A	5.376 ± 0.652A	309.893 ± 1.672A	898.580 ± 6.721A	137.218 ± 4.661A	724.213 ± 61.583A
	5	3.000 ± 0.087A	5.307 ± 0.138A	286.293 ± 2.349A	849.233 ± 23.476A	201.506 ± 16.623B	586.015 ± 44.859A
	10	2.600 ± 0.304B	4.701 ± 0.313A	253.44 ± 12.516B	787.82 ± 31.565B	212.533 ± 43.137B	799.53 ± 55.328A
Zn	0	1.298 ± 0.141A	14.562 ± 1.522A	699.136 ± 43.257A	419.573 ± 0.697A	311.606 ± 4.547A	134.661 ± 0.378A
	5	0.780 ± 0.073B	13.030 ± 0.408A	628.102 ± 26.257B	361.94 ± 16.556B	376.220 ± 16.556B	158.424 ± 19.759B
	10	0.612 ± 0.060B	12.411 ± 0.498A	552.047 ± 12.471B	386.214 ± 67.024A	426.550 ± 67.024B	156.067 ± 0.402B

1) 同一元素形态下数字后的字母不同表示不同处理之间差异显著($p < 0.05$)

逐步向残渣态进行转化,所以在本实验中的 Pb 还处于有机结合态,未完全转化到残渣态.

从表 1 中可以看出,加入骨炭后土壤中水溶态和交换态 Cd 的浓度发生了变化,特别是加入 10 g•kg⁻¹骨炭使土壤中水溶态和交换态 Cd 的浓度和对照相比都显著下降($p < 0.05$),同样表明了土壤中 Cd 的生物可利用性和生态风险下降.骨炭处理对土壤中交换态、碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态 Cd 的影响不大,但是加入 10 g•kg⁻¹骨炭能显著增加土壤中机结合态和残渣态 Cd 的浓度($p < 0.05$),表明通过施加骨炭增加土壤中有机结合态和残渣态 Cd 来降低 Cd 的生物可利用性和风险.

加入骨炭后土壤不同形态 Cu 的变化趋势和 Pb 相似(表 1),当骨炭的添加量为 5 g•kg⁻¹时,对土壤中 Cu 的水溶态、交换态、碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态影响都不大;但是当骨炭的施加量增加到 10 g•kg⁻¹时,水溶态、碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态的 Cu 浓度显著下降($p < 0.05$),表明加入骨炭后土壤中易于被植物直接吸收利用 Cu 的比例降低.从表 1 还可以看出,加入骨炭后有机结合态的 Cu 浓度大大上升,说明骨炭主要是通过提高土壤中有机结合态 Cu 的比例来降低土壤 Cu 的生物可利用性和生态风险,这是因为骨炭除了含有大量的 P 以外还含有较高的有机物可以和土壤中的 Cu 结合,因为有

机结合态的重金属难以被生物直接利用,而且耐环境变化的能力强,所以骨炭是 Cu 污染土壤的良好修复材料.从表 1 可以看出,残渣态 Cu 的变化没有明显规律,这可能也是因为骨炭对 Cu 的吸附是 1 个相对缓慢的过程,在本实验中由于处理时间较短还未完全转化到残渣态.

从表 1 中可以看出,施加骨炭影响土壤中 Zn 化学形态的变化.施加 10 g•kg⁻¹骨炭处理降低了土壤中水溶态、碳酸盐结合态的 Zn($p < 0.05$),表明其生物可利用性下降和对植物等生物的风险也将会降低.施加骨炭对铁锰氧化物结合态 Zn 的影响不大,但是能显著提高有机结合态和残渣态 Zn 的比例.

2.2 施加骨炭对土壤基因毒性的影响

引起植物器官细胞 DNA 的损伤是环境污染对植物产生的重要伤害之一,不同土壤处理洋葱根尖经电泳后形成的彗星图如图 1 所示.从图 1 中可以看出,对照污染土壤处理后的洋葱根尖细胞核产生了严重的 DNA 损伤,细胞核的完整性受到严重的破坏并产生了大量的 DNA 片断,在电泳的过程中形成较长拖尾.加入骨炭后 DNA 拖尾变短、形状变细,说明 DNA 片断产生较少,在不同程度上减轻了洋葱根尖细胞核的 DNA 的损伤,这表明土壤加入骨炭后对植物基因毒性下降,这和土壤中水溶态和交换态重金属浓度下降的实验结果一致.

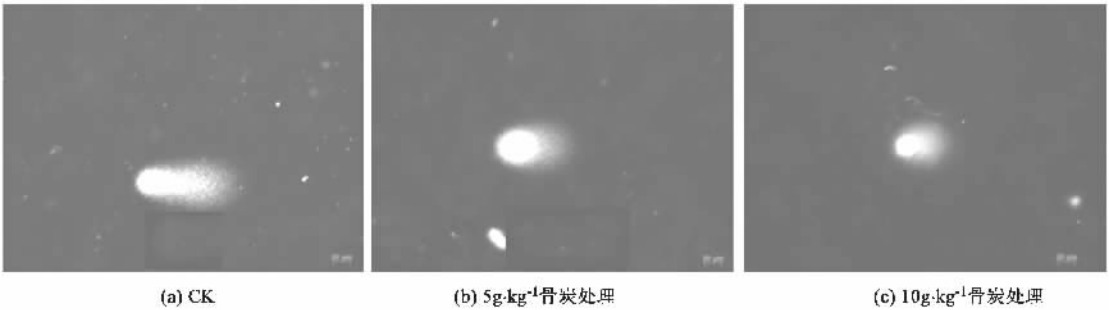


图 1 不同处理下洋葱根尖细胞核的彗星图像

Fig.1 Comet images of root tip cell nuclei of *Allium cepa* L. treated with the soils with different bone char application

以 CASP 软件统计各个处理下细胞 DNA 损伤的参数如表 2 所示,从表 2 中可以看出,施加骨炭处理特别是施加 10 g•kg⁻¹骨炭后 Ltail、TailDNA、TM、OTM 等参数显著下降($p < 0.05$),说明施加骨炭能够降低洋葱根尖细胞核 DNA 的损伤,减少 DNA 片断,增加细胞核的完整性.在 10 mg•kg⁻¹的骨炭添加量下,其细胞核的拖尾长度只有对照处理的 62%,此时 DNA 的损伤已经大大降低,表明骨炭是 1 种效

果明显的土壤修复剂,能有效降低污染土壤对植物 DNA 的损伤.植物彗星实验反映的重金属对植物 DNA 损伤的程度和利用化学方法评价的重金属的修复效果一致,说明可以通过调控土壤中重金属的形态来降低重金属污染土壤的生态毒理效应,还说明植物彗星实验不仅是 1 种研究重金属基因毒性的良好方法,也是利用植物评价环境污染基因毒性的有效手段之一.

表 2 不同处理下洋葱根尖细胞核 DNA 的损伤程度(平均值 ± 标准差)

Table 2 DNA damages in root tips of *Allium cepa* L. treated with the soils with different bone char application

骨炭添加量/g•kg ⁻¹	DNA 损伤参数			
	Ltail ¹⁾	TailDNA/%	TM	OTM
0	221.98 ± 29.02A	53.23 ± 1.14A	120.52 ± 14.48A	70.96 ± 7.95A
5	144.36 ± 14.58B	40.62 ± 1.31B	62.64 ± 7.91B	44.19 ± 3.55B
10	137.42 ± 20.33B	43.68 ± 5.91A	68.86 ± 16.78B	43.85 ± 7.64B

1) 以像素数表示的相对长度

3 讨论

在以往的研究中,磷肥、石灰以及堆肥等多种物质曾经被大量施用于污染土壤以减轻重金属的危害^[17],但是不同化学添加剂固定重金属的机制不同. Condor 等人认为采用生物废物添加到土壤中可以有效固定 Zn 等重金属并减轻其生态毒性^[18],也有研究证明石灰能有效降低植物对 Zn 的吸收^[19]. 石灰是农业生产过程中常用的 1 种调节土壤 pH 的化学物质,也是重金属污染土壤化学固定的常用物质之一,石灰固定土壤重金属主要通过提高土壤的 pH 起作用,使重金属生成氧化物或以碳酸盐的形态形成沉淀,降低重金属的生物可利用性,使植物吸收降低. 但是利用石灰固定土壤重金属持久性欠佳,一旦土壤的 pH 恢复到原有水平或发生土壤酸化,被固定的部分重金属又可再次释放,所以采用石灰固定土壤中的重金属需要多次重复施用. 磷酸盐也是人们很早就利用的土壤 Pb 污染修复材料,磷酸盐可以降低土壤 Pb 的生物可利用性,因为 Pb 能和磷形成磷酸 Pb 矿物,其溶解度很小、生物可利用性很低、对环境的影响小^[20, 21]. 不仅磷酸盐,很多其它含磷的物质都对 Pb 有很好的固定效果^[15, 21, 22],而且这些含磷的化学物质不仅对 Pb 有很好的修复固定效果,对 Zn 和 Cd 等重金属元素也有一定的固定效果^[22, 23]. 但是,利用含磷化学物质固定土壤中的 Pb 也会带来新的环境风险,土壤中的磷浓度过高,有可能增加土壤中砷的移动性和生物可利用性,引起植物砷吸收的增加^[22]. 而且植物在生长过程中会吸收利用一定的磷,有可能会引起土壤中 Pb 的生物可利用性的再次提高. 所以本研究采用骨炭作为土壤重金属污染的修复剂,骨炭不仅含磷丰富,可以和一些重金属形成矿物,还可以通过多种其它机制固定土壤中的重金属. 一方面在于骨炭本身是 1 种碱性物质可以提高土壤 pH,增加土壤重金属碳酸盐结合态的数量,另一方面骨炭的有机物含量比较高,可以增加土壤重金属有机结合态的数量. 从本文土壤重金

属分级的研究结果可以看出,加入 10 g•kg⁻¹ 骨炭后不仅水溶态和交换态 Pb 的浓度下降,碳酸盐结合态 Pb 和铁锰氧化物结合态 Pb 的浓度也显著下降,残渣态和有机结合态上升,说明骨炭还通过其它的作用固定土壤中的 Pb. 土壤中重金属有效性与其形态有密切关系,一般而言不同形态重金属的生物可利用性大小为:水溶态 > 可交换态 > 酸盐结合态 > 铁锰氧化物结合态 > 有机结合态 > 残渣态. 因为不同化学形态重金属的生物可利用性不同,所以可以通过调节重金属在土壤中的存在形态来控制或降低土壤重金属生物可利用性,进而降低重金属对植物和人体等生物受体的毒性,达到修复重金属污染的目的^[17, 24, 25]. 重金属在土壤中化学形态的变化是降低土壤生态风险的基础,施加骨炭后土壤水溶态和交换态重金属浓度明显降低,与植物彗星实验的结果一致,表明可以通过化学固定的手段降低土壤中重金属的生物可利用性,进而降低土壤污染的风险.

目前化学形态分级的方法和植物重金属吸收降低的程度被广泛应用于修复剂对土壤重金属固定效果的评价中^[16]. 虽然化学分析的方法能够直观的反应土壤中重金属的形态变化,但是目前关于重金属形态和生物可利用性之间还没有十分明确的关系,而且对于不同重金属,即使化学形态相同,其生物可利用性也不一定完全一样,所以目前只能通过化学形态的变化来推测其生态毒理效应. 植物吸收的降低能够在一定的程度上反映土壤中重金属的生态毒理效应的降低,但是很多的时候人们以人类为中心从食品安全的角度出发来看待植物对重金属吸收量的降低,认为降低了植物对重金属的吸收能够降低通过植物进入食物链的污染物质,进而降低对人类健康的风险. 植物生态系统是地球上大多数生命维持的基础,所以在进行生态毒理风险研究时,更多地必须以生态系统特别是植物生态系统为中心进行研究,应当以植物为中心,研究环境变化对在群落水平、种群水平、个体水平、器官水平、细胞水平和分子水平等各个层面上对植物生态系统产生影响,因此

本文选择了植物彗星实验以洋葱根尖为对象研究加入修复剂后土壤重金属对植物 DNA 的损伤. 研究结果表明, 加入骨炭后洋葱根尖细胞 DNA 的损伤和土壤中重金属的固定效果一致, 随着重金属由易于生物利用的形态向难以利用的形态逐渐转变, 洋葱根尖细胞 DNA 的损伤程度也逐渐下降, 说明该土壤中重金属污染是引起植物 DNA 损伤的主要原因, 可以通过控制土壤中重金属的形态降低该土壤的毒理效应. 本研究结果和前人的研究结果都说明植物评价和化学评价都可以用于重金属修复过程中修复效果的评价^[25~27], 化学评价侧重于从重金属的浓度和存在形态进行研究, 植物评价以植物为中心说明污染土壤化学修复过程对植物的毒性及其变化, 此二者相辅相成, 能提供一套较为完整的土壤污染以及修复效果的评价体系, 并在此基础上丰富土壤环境安全预警系统的研究.

4 结论

生物评价和化学评价的结果均表明骨炭是有效的重金属污染土壤的修复剂, 通过多种复杂的机制能有效降低土壤中重金属的生物有效性和植物毒性. 而且生物评价和化学评价都可用于环境污染以及污染修复效果的评价, 特别是植物彗星实验反映的污染修复过程中的基因毒性的变化和采用化学方法研究的重金属形态的变化结果基本一致, 说明其能够应用于污染修复过程中的基因毒性评价.

参考文献:

[1] 李志博, 骆永明, 宋静, 等. 土壤环境质量指导值与标准研究 II. 污染土壤的健康风险评估 [J]. 土壤学报, 2006, **43**: 142 ~ 151.

[2] 张甘霖, 朱永官, 傅伯杰. 城市土壤质量演变及其生态环境效应 [J]. 生态学报, 2003, **23**(3): 539 ~ 546.

[3] 孙波, 孙华, 张桃林. 红壤重金属复合污染修复的生态环境效应与评价指标 [J]. 环境科学, 2004, **25**(2): 104 ~ 110.

[4] 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.

[5] 张从. 污染土壤生物修复技术 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2000. 1 ~ 42.

[6] 仲维科, 樊耀波, 王敏健. 我国农作物的重金属污染及其防治对策 [J]. 农业环境保护, 2001, **20**: 270 ~ 272.

[7] 沈振国, 陈怀满. 土壤重金属污染生物修复的研究进展 [J]. 农村生态环境, 2000, **16**: 39 ~ 44.

[8] 殷捷, 周付渝. 超积累植物的研究进展 [J]. 重庆环境科学, 2003, **25**: 150 ~ 152.

[9] Tessier A, Campbell P G C, Bisson M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals [J]. Analytical Chemistry, 1979, **5**: 844 ~ 851.

[10] Ma Lena Q, Rao Gade N. Chemical fraction of cadmium, copper, nickel, and zinc in contaminated soils [J]. Journal of Environmental Quality, 1997, **26**: 259 ~ 264.

[11] Gichner T, Patková Z, Száková J, et al. Cadmium induces DNA damage in tobacco roots, but no DNA damage, somatic mutations or homologous recombination in tobacco leaves [J]. Mutation Research, 2004, **559**: 49 ~ 57.

[12] 林爱军, 张旭红, 朱永官. 镉对小麦叶片 DNA 损伤的彗星实验研究 [J]. 环境科学学报, 2005, **25**(3): 329 ~ 333.

[13] Konca K, Lankoff A, Banasik A, et al. A cross-platform public domain PC image-analysis program for the comet assay [J]. Mutation Research, 2003, **534**: 15 ~ 20.

[14] 林爱军, 耿春女, 朱永官, 等. 单细胞凝胶电泳技术及在土壤生态毒理学中的应用 [J]. 生态学杂志, 2005, **24**(8): 975 ~ 979.

[15] Zhu Y G, Chen S B, Yang J C. Effects of soil amendments on lead uptake by two vegetable crops from a lead-contaminated soil from Anhui, China [J]. Environment International, 2004, **30**: 351 ~ 356.

[16] Lombi E, Zhao F-J, Zhang G, et al. In situ fixation of metals in soils using bauxite residue: chemical assessment [J]. Environmental Pollution, 2002, **118**: 435 ~ 443.

[17] Martin T A, Ruby M V. Review of in situ remediation technologies for lead, zinc, and cadmium in soil [J]. Remediation Journal, 2004, **14**(3): 35 ~ 53.

[18] Condor J M, Lanno R P, Basta N T. Assessment of metal availability in smelter soil using earthworms and chemical extractions [J]. Journal of Environmental Quality, 2001, **30**: 1231 ~ 1237.

[19] Krebs R, Gupta K S, Furrer G, et al. Solubility and plant uptake of metals with and without liming of sludge-amended soils [J]. Journal of Environmental Quality, 1998, **27**: 18 ~ 23.

[20] Nriagu J O. Lead orthophosphates-IV. Formation and stability in the environment [J]. Geochimica Etcosmochimica Acta, 1974, **38**: 886 ~ 898.

[21] Hettiarachchi G M, Pierzynski G M. In situ stabilization of soil lead using phosphorus and manganese oxide: Influence of plant growth [J]. Journal of Environmental Quality, 2002, **31**: 564 ~ 572.

[22] Boisson J, Ruttens A, Mench M, et al. Evaluation of hydroxyapatite as a metal immobilizing soil additive for the remediation of polluted soils: Part I. Influence of hydroxyapatite on metal exchangeability in soil, plant growth and plant metal accumulation [J]. Environmental Pollution, 1999, **104**: 225 ~ 233.

[23] Hamon R E, McLaughlin M J, Cozens G. Mechanisms of attenuation of metal availability in in situ remediation treatments [J]. Environmental Science and Technology, 2002, **36**: 3991 ~ 3996.

[24] Lake D L, Kirk P, Lester J. Fractionation characterization and speciation of heavy metals in sewage sludge amended soil: a review [J]. Journal of Environmental Quality, 1984, **13**: 175 ~ 183.

[25] 黄国锋, 张振钊, 钟流举, 等. 重金属在猪粪堆肥过程中的化学变化 [J]. 中国环境科学, 2004, **24**: 94 ~ 99.

[26] Lombi E, Zhao F J, Wieshammer G, et al. In situ fixation of metals in soils using bauxite residue: biological effects [J]. Environmental Pollution, 2002, **118**: 445 ~ 452.

[27] Friesl W, Horak O, Wenzel W W. Immobilization of heavy metals in soils by the application of bauxite residues: pot experiments under field conditions [J]. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2004, **167**: 54 ~ 59.