

基于薄膜扩散梯度技术的复合污染土壤镉的生物有效性研究

姚羽¹, 孙琴^{1*}, 丁士明², 陈静¹, 刘慧³

(1.河海大学环境学院 浅水湖泊综合治理与资源开发教育部重点实验室, 南京 210098; 2.中国科学院南京地理与湖泊所, 南京 210008; 3.河海大学水利水电学院, 南京 210098)

摘要:以两种典型的陆生植物小麦和玉米为供试材料,采用盆栽实验生物富积方式,对比研究了薄膜扩散梯度(DGT)技术与5种传统的化学提取方法评价铅(Pb)复合存在下土壤镉(Cd)的生物有效性。结果表明,Cd污染土壤中Pb的存在促进两种植物对Cd的吸收,并随Pb浓度的增加其促进作用更趋明显;DGT技术测定的土壤有效态Cd含量随土壤Pb浓度的增加而显著增加,土壤溶液中Cd的浓度和4种单一提取剂(醋酸、氯化钙、醋酸钠和乙二胺四乙酸)提取的土壤有效态Cd含量均与DGT技术表现出类似的变化趋势,从动力学和静态平衡两种角度揭示了土壤Pb的存在增强Cd的生物有效性;Pearson回归分析显示,6种方法表征的土壤有效态Cd含量均与两种植物体内Cd的含量呈显著正相关,但DGT、土壤溶液和CaCl₂的相关系数明显高于其他3种化学提取方法。结果显示,DGT技术与传统方法(土壤溶液法和CaCl₂提取法)均可用于预测土壤Cd的生物有效性。

关键词:薄膜扩散梯度技术(DGT);化学提取方法;镉生物有效性;复合污染;小麦;玉米

中图分类号:X53 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2014)07-1279-09 doi:10.11654/jaes.2014.07.004

Diffusive Gradients in Thin Films(DGT) Technique for Evaluation of Cadmium Bioavailability in Heavy Metal Co-polluted Soils

YAO Yu¹, SUN Qin^{1*}, DING Shi-ming², CHEN Jing¹, LIU Hui³

(1.Key Laboratory of Integrated Regulation and Resource Development on Shallow Lakes, Ministry of Education, College of Environment, Hohai University, Nanjing 210098, China; 2.State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China. 3.College of Water Conservancy and Hydropower Engineering, Hohai University, Nanjing 210098, China)

Abstract: Diffusive gradients in thin films(DGT) technique has recently been recommended as a tool for predicating heavy metal availability in soils. However, there are still debates on its applicability. In this study, pot experiments were conducted to measure Cd bioavailability under combined pollution of Cd and Pb in soils. The Cd bioavailability was then evaluated by DGT and five chemical extraction methods including soil solution, HAc, EDTA, CaCl₂ and NaAc. Presence of Pb enhanced Cd uptake by shoots and roots of wheat and maize in Pb- and Cd-contaminated soils. Such enhancement of plant Cd uptake increased with increasing Pb concentrations. Correspondingly, bioavailable Cd concentrations measured with DGT(C_{DGT}), soil solution Cd(C_{SOL}), and HAc, EDTA, NaAc and CaCl₂-extractable Cd all showed similar trends as plant Cd uptake. Pearson correlation analysis showed that significant and positive correlations existed between soil bioavailable Cd estimated by each method and Cd concentrations in two plants, but the correlation coefficients of DGT, C_{SOL} and CaCl₂ were greater than those of HAc, EDTA and NaAc. These results suggest that DGT and traditional extraction methods(soil solution and CaCl₂) could be used to predict soil Cd bioavailability to plants.

Keywords: diffusive gradients in thin films(DGT); chemical extraction methods; cadmium bioavailability; combined pollution; wheat; maize

收稿日期:2013-11-09

基金项目:国家自然科学基金青年基金(41001334,51109060);河海大学引进人才创新基金(2006402911)

作者简介:姚羽(1988—),女,硕士,研究方向为环境污染物的生物有效性及其风险评价。E-mail:yu2011358@163.com

*通信作者:孙琴 E-mail:sunqinnj@hhu.edu.cn

镉(Cd)是生物毒性最强的重金属元素之一,其在美国毒物管理委员会(ATSDR)黑名单上名列第六位。随着工业三废的排放,我国土壤受重金属污染十分严重,尤以Cd污染最为突出^[1],Cd污染已经涉及到11个省市的25个地区,不仅如此,各大城市郊区土壤也均有不同程度的污染^[2]。土壤中的Cd易在植物、动物体内富集,如不能提前预防势必对人体健康构成重大威胁。大量研究表明,重金属总量不能对土壤重金属污染物的毒性效应和污染程度进行准确评估,重金属的赋存形态决定其生物有效性和迁移性^[3],因此探寻有效的分析方法和技术手段检测土壤重金属生物有效态含量一直是环境科学领域研究的热点。环境中Cd和Pb/Zn多相伴存在,单纯的Cd极为少见,建立土壤复合污染环境下Cd的生物有效性评价方法具有重要的理论和实际意义。

薄膜扩散梯度技术(Diffusive gradients in thin film, DGT)是近年来快速发展、深受研究者重视的一种新型非破坏性原位采集技术,并可量化测量土壤、沉积物、水体等多种环境介质中重金属的生物有效态浓度^[4]。基于动力学原理,DGT技术测定的有效态浓度不仅包括土壤溶液中的重金属,还包括测量期间从土壤固相动态释放的重金属含量,而植物根部对重金属的吸收导致根部附近土壤溶液中的重金属浓度下降,并促使土壤颗粒态重金属补充给土壤溶液,这个动态反应过程对于重金属的生物有效性评价是不可忽略的,DGT可很好地模拟植物根系对重金属的吸收过程^[4],故DGT技术自发明以来一直是环境科学领域的研究热点之一^[5]。研究表明,DGT技术与传统的化学方法相比,能更好地反映水稻、黑麦草等植物对重金属(Pb、Cu、Zn、Cd、Mn、Ni等)的吸收^[6-8]。然而也有不少学者得出相反结论,认为DGT测定的有效态Cd/Zn浓度与葛苣、黑麦草、羽扇豆等植物体内Cd/Zn的积累量并不存在较好的相关性,不能用于表征土壤Cd/Zn的生物有效性^[9-13]。另有学者提出,DGT技术表征重金属的生物有效性与重金属的浓度、复合污染程度以及植物的种类等因素有关^[6]。目前对土壤重金属复合污染下DGT的研究存在明显不足,而现实环境中重金属复合污染普遍存在并影响各自的生物有效性和植物的吸收积累^[14-15],DGT的测试结果能否从动力学角度反映出通常发现的重金属互作模式(如拮抗、协同等)还不十分清楚,以往重金属复合污染的生物有效性研究多采用固液两相间的静态平衡技术,忽略了重金属处于不断变化的环境中,而这种变化过程对

于重金属的生物有效性评价有着重要的影响^[1]。

本文针对DGT技术发展时间不长及关于准确性和可靠性的争议,选择Cd为目标污染物,以典型的陆生植物小麦和玉米为吸收生物,采用室内盆栽方式模拟污染土壤实际状况,将DGT技术与5种传统的化学提取方法进行对比,系统地研究了Cd污染土壤Pb复合存在下Cd的生物有效性以及和植物Cd吸收的关系,试图为土壤Cd污染的早期诊断和预测提供关键技术支撑。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 DGT 组件配置和组装

DGT装置由滤膜、扩散膜和固定膜以及安装固定3层膜的塑料外套组合而成,其中滤膜用于阻挡环境中的颗粒态物质进入DGT装置,扩散膜是保证溶液中的离子自由扩散进入固定膜,固定膜是用来吸收富集目标离子,根据实验目的选择不同的吸附材质,目前常用的重金属离子吸附剂是Chelex-100^[16]。DGT塑料外套和配置膜的交联剂Cross-linker购于英国DGT研究有限公司,与基质接触的窗口面积为3.14 cm²。滤膜为0.45 μm的硝酸纤维素滤膜,厚度为0.13 mm。扩散膜和固定膜按照Zhang等^[16]的方法自行配置。膜配好放于超纯水中膨胀24 h,在此期间换水3~4次,24 h后扩散膜在0.01 mol·L⁻¹ NaNO₃中保存备用,固定膜在超纯水中保存备用。实验中扩散膜的厚度为0.8 mm,固定膜的厚度为0.4 mm。分别按固定膜、扩散膜和滤膜的叠加次序进行DGT的组装。

1.1.2 供试土壤和植物

供试土壤采自南京江心洲的葡萄园,新鲜土样室温下风干,过3 mm尼龙筛用于盆栽实验,进一步细化用于测定土壤基本理化性状及重金属含量,分析方法参考《土壤农业化学分析方法》^[17]。土壤的主要理化性状:pH 6.5,有机质含量(OM)为2.5%,阳离子交换量(CEC)为26.9 cmol·kg⁻¹,总Cd为0.22 mg·kg⁻¹,总Zn为130.8 mg·kg⁻¹,总Pb为19.04 mg·kg⁻¹,总Cu为64.4 mg·kg⁻¹。供试植物为小麦百农矮抗58和玉米郑单958。

1.2 盆栽实验

分别称取4500 g风干土壤装入塑料大桶,进行单Cd(4 mg·kg⁻¹)以及该Cd水平下不同的Cd-Pb复合处理,复合处理中Pb的浓度设置为20、40、80、160、320、640 mg·kg⁻¹,另加一个对照共8个处理。分别

加入一定体积的 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 的母液以及等量的 $\text{N}(0.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ 土})$ 、 $\text{P}_2\text{O}_5(0.10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ 土})$ 和 $\text{K}_2\text{O}(0.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ 土})$ 基肥,充分混匀,放置平衡老化 6 周,平衡期间每隔 3~4 d 对土壤进行一次翻耕,使添加重金属和营养元素混合均匀,每天及时补充因蒸发而损失的水分。6 周后进行盆栽实验,将上述每个处理的污染土壤分装到塑料花盆中,每盆加入 0.75 kg 土样,播种小麦和玉米,每种植物每处理重复三次。选取籽粒相对饱满的植物种子,用 75% 酒精消毒 10 min,然后用蒸馏水清洗数次,再用蒸馏水浸种 1 d,玉米浸种时间延长 3 d。将浸种后的种子分别播种于塑料花盆中(小麦播种 15 粒,玉米播种 5 粒),出苗后分别匀至 10 株和 3 株。生长 35 d 后,将植物按地上部和根系进行收获,先用自来水充分冲洗掉根表吸附的杂质,再用 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Na-EDTA}$ 交换 15 min,去除根系表面吸附的重金属,最后用去离子水冲洗干净,装入事先编号的信封中。将样品放入 $105 \text{ }^\circ\text{C}$ 烘箱中杀青 20 min,而后改为 $70 \text{ }^\circ\text{C}$ 烘至恒重。烘干后的植物样品分别记录干重,用于测定重金属总量。收获植物后土壤自然风干,过 2 mm 筛用于测定土壤生物有效态 Cd。

1.3 分析测试方法

1.3.1 土壤生物有效态 Cd 的测定

采用 Luo 等^[18]的方法进行土壤 DGT-Cd 含量的测试,主要步骤如下:

(1)土壤的平衡。称取 80 g 土壤放入 100 mL 塑料瓶中,加入最大含水量 40% 的水搅拌均匀,在 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 下放置 48 h,然后再加水至最大含水量的 80% 充分搅拌均匀,待土壤表面出现均匀的亮光且搅拌不费力时(可以结合目测调节含水量)再在 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 下放置 24 h。

(2)DGT 的放置。取适量平衡后的土样填入塑料瓶盖中,并保持一定厚度,首先在 DGT 装置的窗口边缘抹上相应的土壤,然后将装置小心插入土壤,保持与土壤紧密接触但又不会挤压到凝胶膜。DGT 插好后用 10 mm 直径培养皿卡在塑料瓶盖上以保持土壤水分含量,准确记录室内温度。

(3)DGT 的回收和提取。24 h 后取出装置,先用去离子水冲洗表面直至清洁,拆开 DGT,取出固定膜放入 2 mL 离心管,加入 1 mL $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HNO}_3$,在振荡器上振荡提取 24 h,提取液低温保存,适当稀释用于 Cd 的分析测定。

(4)DGT-Cd 浓度 (C_{DGT}) 的计算。DGT 测定的土壤有效态 Cd 含量的计算需要确定固定膜富集 Cd 的量 (M), M 的计算如下^[16]:

$$M = C_E \cdot (V_{\text{HNO}_3} + V_{\text{GEL}}) / E_f$$

式中: C_E 为 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HNO}_3$ 提取液中 Cd 的浓度, $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; V_{HNO_3} 为提取剂的体积, mL; V_{GEL} 为固定膜凝胶的体积,通常为 0.15 mL; E_f 为固定膜中 Cd 的提取率,为 0.80。

DGT 测定的有效态 Cd 浓度 (C_{DGT}) 按下式计算^[16]:

$$C_{\text{DGT}} = (M \cdot \Delta g) / (D \cdot A \cdot t)$$

式中: M 为固定膜富集的 Cd 量, ng; A 是 DGT 装置暴露窗口的面积, cm^2 ; Δg 是扩散膜和滤膜的厚度, cm; t 是 DGT 装置的放置时间, s; D 是待测元素在扩散膜内的扩散系数, $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, 待测元素在不同温度下的扩散系数可在 DGT 研究有限公司直接获得。

土壤溶液 (C_{SOL}) 采用常规的离心法获取。将 DGT 实验结束后的粘浆土壤转移到 50 mL 离心管中, $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 20 min, 将上清液用 $0.45 \mu\text{m}$ 的纤维素滤膜过滤, 过滤液用于 Cd 的分析测定。

将 4 种单一提取剂用于测定土壤有效态 Cd 含量(化学提取法), 分别是 $0.11 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸(HAc)(BCR 多步提取的第一步)、 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙二胺四乙酸(EDTA)、 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化钙(CaCl_2)和 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸钠(NaAc), 提取步骤见表 1。所有的提取液在 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 20 min, 将上清液用 $0.45 \mu\text{m}$ 的纤维素滤膜过滤, 过滤液冷藏备用, 用于 Cd 的分析测定。

1.3.2 植物体内 Cd 的测定

小麦和玉米地上部和根系分别用植物粉碎机粉碎, 过 2 mm 筛备用。粉碎植物样品用 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ 湿灰化消解, 同时做试剂空白。消解液用于 Cd 的分析测定(用干重表示)。

表 1 4 种单一提取剂的操作程序

Table 1 Procedures for four single extraction methods adopted in this study

提取剂	提取操作程序	参考文献
HAc	称取 0.5 g 过 2 mm 筛的土壤于 50 mL 离心管中, 加入 20 mL $0.11 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HAc 室温下振荡 16 h。	Houba et al ^[19]
EDTA	称取 2.0 g 过 2 mm 筛的土壤于 50 mL 离心管中, 加入 20 mL $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaAc 室温下振荡 2 h。	Wear and Evans ^[20]
CaCl_2	称取 2.0 g 过 2 mm 筛的土壤于 50 mL 离心管中, 加入 20 mL $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 室温下振荡 2 h。	Novozamsky et al ^[21]
NaAc	称取 4.0 g 过 2 mm 筛的土壤于 50 mL 离心管中, 加入 20 mL $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaAc 室温下振荡 2 h。	Kaplan et al ^[22]

1.4 Cd 的分析和数据处理

实验中均采用石墨炉原子吸收分光光度仪(A3AFC-12,北京普析通用仪器有限责任公司)测定Cd含量,消解和测量过程中以茶叶成分分析标准物质(GBW10016,北京恒天启元化工技术研究院)和Cd标准品(GBW(E)-080119,中国计量科学研究院国家标准物质平台)进行测量质量控制,以保证测量的准确度。运用Excel 2007进行数据分析和图表绘制;植物体内Cd含量与土壤生物有效态Cd含量之间的相关关系采用SPSS10.0软件进行Pearson相关性分析。

2 结果与讨论

2.1 植物的生长状况

Cd 因其在土壤中的高度移动性和对作物的高度毒害性,被视为重金属中危害性较大的一种污染元素,而Pb也是对生物影响较大的有毒金属元素之一。大量研究显示,Cd和Pb复合污染对植物的生长表现出协同效应^[14-15],本文得出了类似的结论。由图1可见,土壤单Cd($4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)处理对小麦的地上部和根

系的生物量无明显影响,而明显抑制了玉米的生长,其地上部和根系的生物量与对照(CK)相比分别降低了20.75%和22.79%。土壤Cd污染下Pb的添加逐渐抑制了两种植物的生长,并随Pb浓度的增加作用更趋明显,其中玉米的生长受Cd和Pb复合污染毒害的影响更大。其原因可能与Cd污染土壤添加Pb后,植物Cd吸收(图2)和Pb含量增加(数据未显示)有关。

2.2 植物对Cd的吸收

图2显示土壤单Cd及其Cd-Pb复合处理下小麦和玉米两种植物体内Cd的吸收和分布情况。土壤单Cd处理后,植物对Cd的吸收远超过无污染的对照,且Cd在植物体内的分布具有明显的组织差异,表现为根系>地上部。类似现象也出现在其他多种植物中,如大蒜(*Allium sativum*)^[23]、细弱剪股颖(*Agrostis tenuis*)等^[24]。Cd污染土壤中添加Pb的条件下两种植物地上部和根系中Cd的含量随Pb浓度的增加而增加,并在高浓度Pb供应下表现出激增的现象,且根系的响应强于地上部。结果表明,Cd污染土壤中Pb的存在促进了小麦和玉米对Cd的吸收和积累,增强了土壤Cd的生物可利用性和生态毒性。本文的研究结果与早期的报道^[15,23-25]类似。

2.3 DGT测定的土壤有效态Cd和土壤溶液Cd含量

DGT技术一般采用亚氨基二乙酸(Chelex-100)作为吸附剂测量重金属的生物有效态,其比自然界中的大部分络合剂对金属的吸附性更强^[26]。Chelex-100固定膜吸收金属离子,导致装置表面土壤溶液金属浓度降低,进而促使固相金属的释放以维持土壤金属的液-固平衡。由于植物对重金属的吸收主要是受扩散过程的限制,采用DGT技术测定的有效态重金属含量可有效指示植物对重金属的吸收。金属是以流动相的形式被植物吸收利用的,植物是直接从小土壤溶液中摄取所需养分,因而土壤溶液中重金属常被用来作为土壤重金属生物有效性的评价指标^[27]。

土壤单Cd以及Cd-Pb复合污染下DGT所测的土壤有效态Cd(C_{DGT})和土壤溶液Cd含量(C_{SOL})的变化见图3。种植小麦和玉米的Cd污染土壤随Pb添加浓度的增加, C_{DGT} 和 C_{SOL} 均呈现明显的增加趋势,两者与土壤Pb的浓度呈现良好的线性关系, C_{DGT} 的 R^2 分别为0.9502和0.9107, C_{SOL} 的 R^2 分别为0.8932和0.8614。DGT的动力学和土壤溶液的静态平衡两种结果表明,Cd污染土壤中Pb的添加明显促进了土壤固相结合态Cd向液相中的释放,进而提高土壤溶

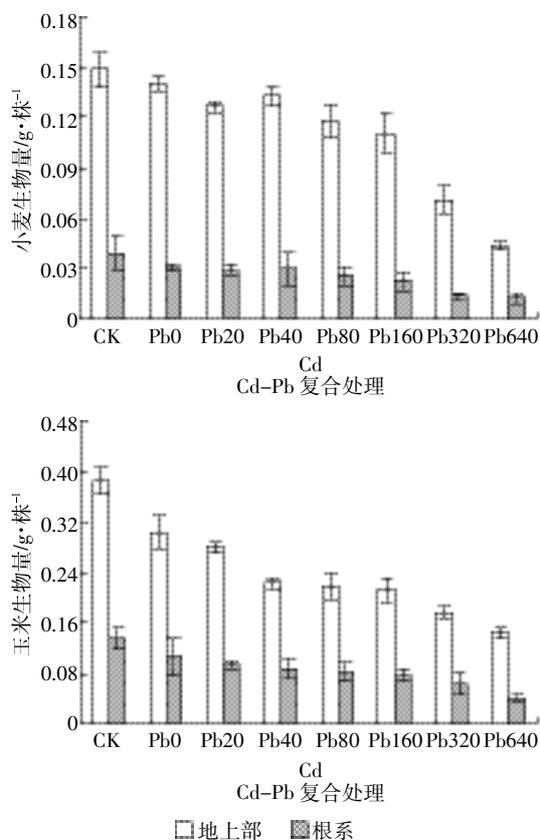


图1 单Cd以及Cd-Pb复合污染对小麦和玉米生物量的影响
Figure 1 Effects of soil Cd alone or combined with Pb on biomass of wheat and maize

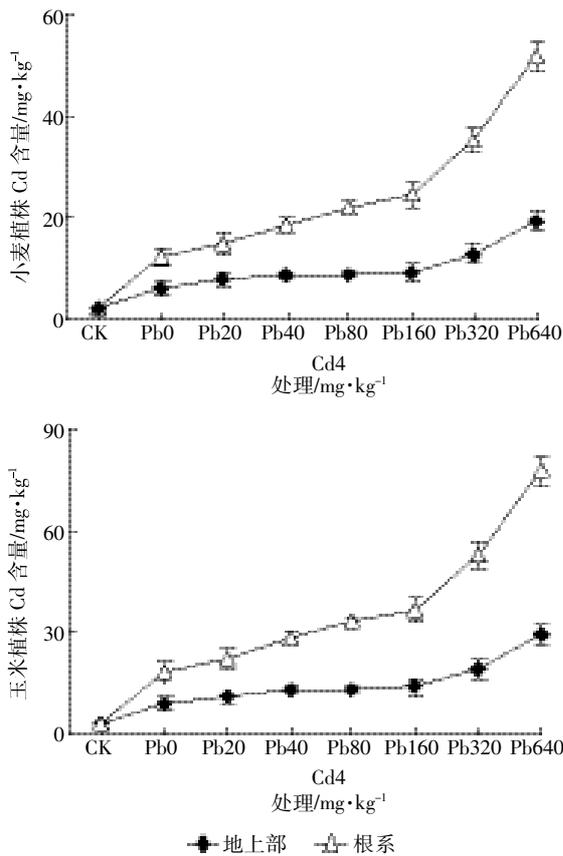


图2 Cd污染土壤添加Pb对小麦和玉米吸收Cd的影响
Figure 2 Effects of Pb additions on Cd concentrations in shoots and roots of wheat and maize in Cd-contaminated soils

液中Cd浓度,且Pb添加量越高这种作用越明显。本文首次从DGT的动力学角度揭示Cd污染土壤中Pb的存在将会增加Cd的生物有效性和生态风险。

Lin等^[28]发现土壤中加入的Pb影响Cd的形态,其可交换态含量增加。这是由于Pb在土壤矿物表面的吸附能力比Cd强,可夺取Cd在土壤中吸附的位点,促使Cd向交换态和水溶态等^[29]形态的转化,从而提高Cd的生物有效性,增加了植物对Cd的吸收。

2.4 单一提取剂测定的土壤有效态Cd

本文选择4种常见的单一提取剂(EDTA、HAc、CaCl₂和NaAc)表征土壤有效态Cd的含量,结果见图4。类似于C_{DGT}和C_{SOL},小麦和玉米种植的Cd污染土壤随Pb添加浓度的增加,各提取剂测定的有效态Cd含量呈现明显的增加趋势,并与土壤Pb的浓度呈现良好的线性关系,小麦土壤所得的R²分别为0.7596、0.8176、0.9176和0.8649,玉米土壤所得的R²分别为0.7751、0.8921、0.9425和0.8769。这进一步从化学提取剂的静态平衡(固液两相间)角度表明,Cd污染土壤Pb的添加促进土壤Cd的生物有效性。

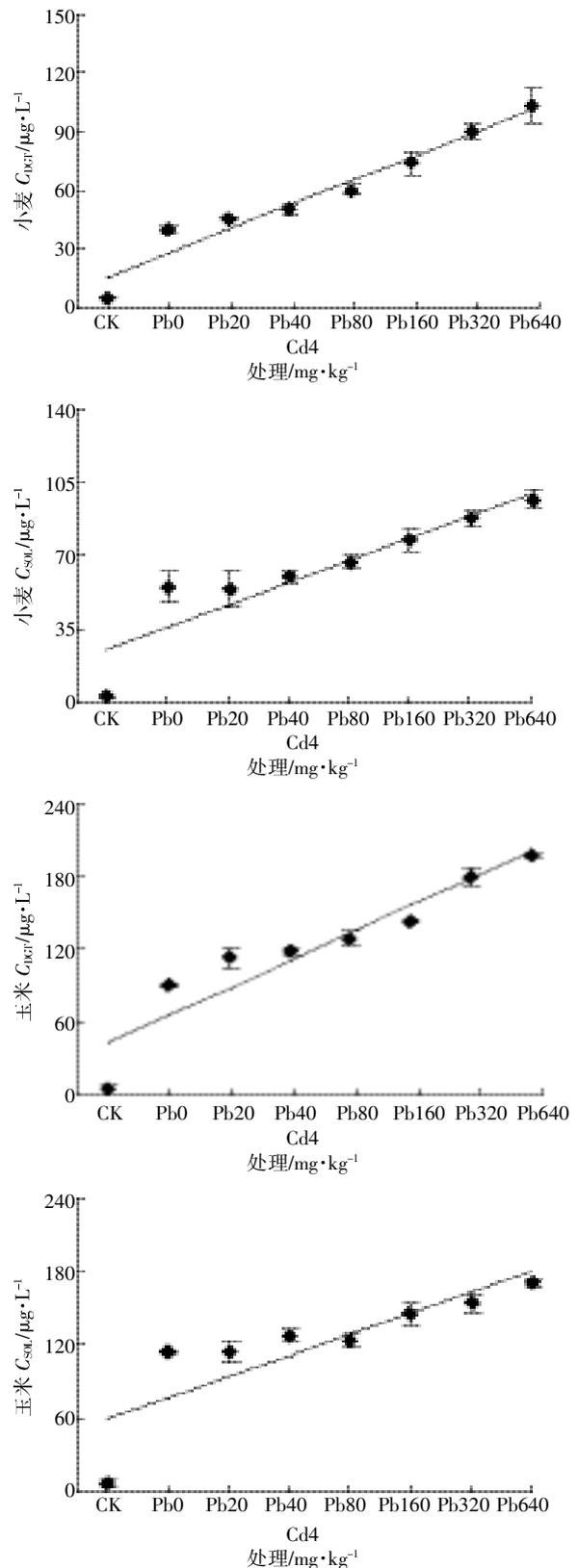


图3 种植小麦和玉米的土壤DGT测定的有效态Cd(C_{DGT})和土壤溶液中Cd含量(C_{SOL})
Figure 3 DGT-measured(C_{DGT}) and soil solution(C_{SOL}) Cd concentrations in soils grown with wheat and maize

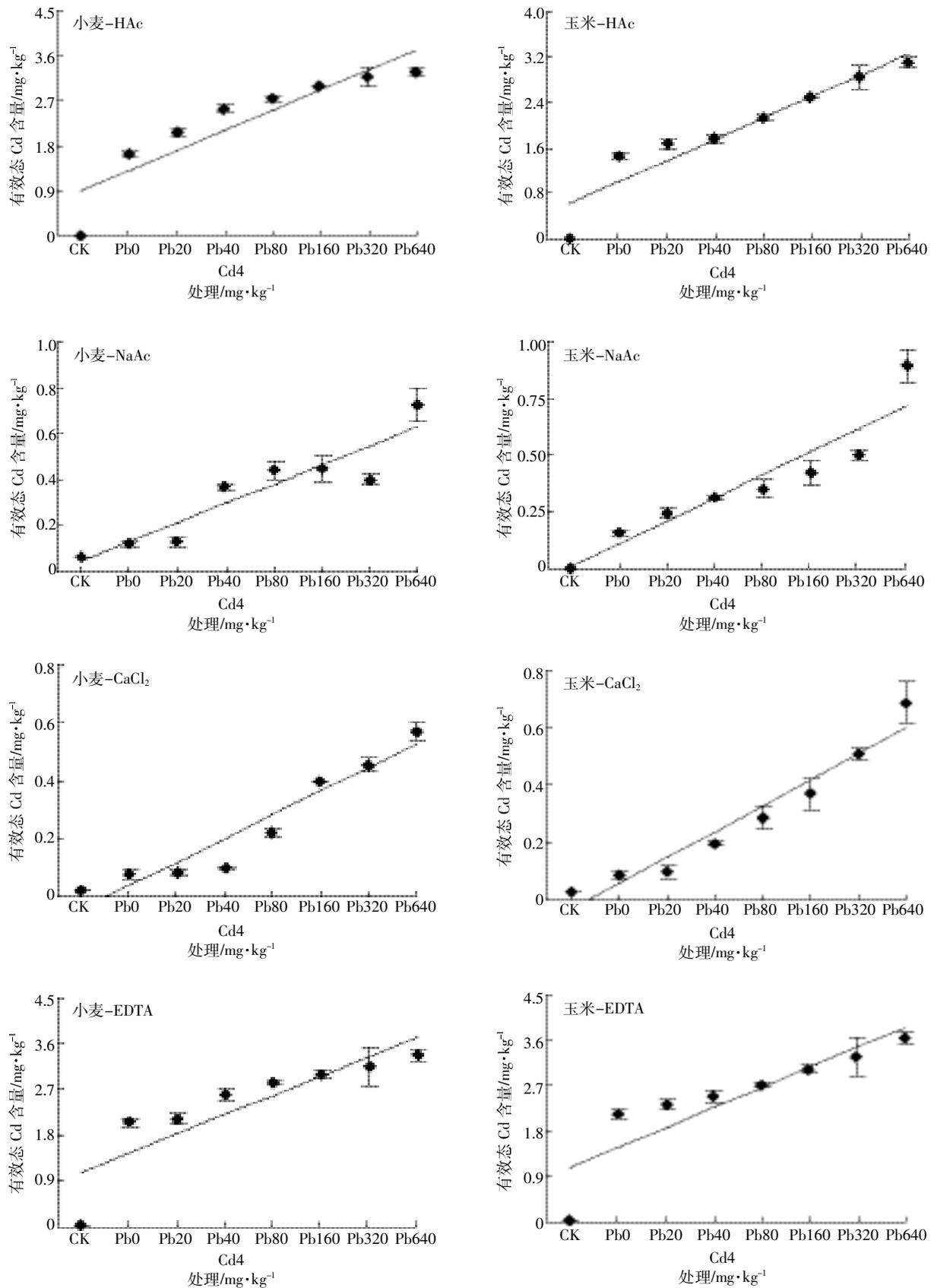


图4 种植小麦和玉米的土壤4种提取剂测定的有效态Cd含量

Figure 4 Concentrations of bioavailable Cd measured by four single extractants in soils grown with wheat and maize

4种提取剂提取的土壤有效态Cd含量存在明显的差异,其大小顺序为EDTA>HAc>NaAc>CaCl₂,与多数学者的研究结果类似^[30]。各提取剂提取土壤Cd含量的不同与各种提取剂的化学特性有关:EDTA是一种非专性的螯合提取剂,主要提取酸性土壤中多种水溶、交换、矿物结合和有机络合态金属;HAc是一种酸性提取剂,主要提取水溶、交换和碳酸盐结合态;CaCl₂和NaAc为中性盐提取剂,主要以阳离子交换形式提取可交换态金属。CaCl₂和NaAc的提取顺序与Novozamsky等^[21]的结果不同,可能是由于NaAc的盐分含量过大,导致提取出来的Cd数量多于CaCl₂。

2.5 植物Cd含量与土壤有效态Cd含量的相关关系

土壤中生物有效态的重金属是否与植物体内的重金属之间存在线性相关及其相关程度常被用来鉴定重金属生物有效性评价方法的优劣^[4-13]。本文分别将植物体内Cd含量与6种方法测定的土壤有效态Cd含量进行一元线性回归分析,结果见表2。从Pearson系数可知,6种方法所测的土壤有效态Cd与植物体内Cd均表现出了显著的正相关性($P<0.01$ 或 $P<0.05$),且DGT、土壤溶液和CaCl₂的相关系数明显大于其他3种方法($r>0.900$),表明DGT、土壤溶液和CaCl₂方法评价土壤Cd的生物有效性好于HAc,EDTA和NaAc。本实验中DGT反映的土壤中Cd的生物有效性与传统的化学法相比没有表现出明显的差异。类似地,Nolan等^[6]采集野外13种污染土壤,比较了不同分析方法(金属总浓度、DGT法、CaCl₂提取法、土壤溶液自由离子浓度和同位素法)所得的有效态Cd浓度与小麦幼苗体内Cd浓度的相关性,结果表明植物体内Cd浓度与DGT法和CaCl₂提取法提取的土壤有效态Cd浓度间有很好的相关性(DGT法 $R^2=0.90$;CaCl₂法 $R^2=0.90$)。任华静等^[31]将河蚬暴露在Cd污染沉积物中14d和28d后,DGT及BCR法获得的

沉积物有效态Cd含量与河蚬软体组织Cd富集均显著相关,张茜等^[32]研究表明,DGT法和化学提取法都可用于预测河蚬体内总砷富集量。

传统的化学提取法是目前普遍采用的土壤有效态重金属的提取方法,其中中性盐提取剂0.01 mol·L⁻¹ CaCl₂受到高度重视^[33]。0.01 mol·L⁻¹ CaCl₂与土壤溶液中的平均Ca²⁺离子浓度相当^[17],大量研究表明,CaCl₂提取的金属含量与植物体内金属含量存在很好的相关性^[31]。因此,CaCl₂作为一种有效的化学提取剂预测土壤中重金属的生物有效性在很多国家得以应用,如欧洲多国、美国、新西兰和澳大利亚等^[33]。然而基于静态的阳离子交换平衡原理,CaCl₂提取的是土壤固相的可交换态金属含量,尚有部分生物可利用的金属可能未被提取出来,因而会低估土壤金属的生物有效性。

土壤溶液中金属含量常被用来指示土壤重金属的生物有效性^[27]。但土壤溶液中常含有不能被植物利用的惰性形态^[18],有人提出测定土壤中总的溶解态金属含量能更准确地评价土壤中重金属的生物有效性^[34-35]。因此,仅测土壤溶液金属的总量可能会高估重金属的生物有效性。植物根系从土壤溶液中吸收重金属,导致土壤溶液中重金属浓度的降低,进而促使土壤固相颗粒态重金属释放补充到土壤溶液中以供植物吸收利用,这种动力学释放过程对于重金属生物有效性的评价有重要意义,而传统的化学测定技术往往忽略了这一过程。DGT技术是基于动力学原理,所测的重金属不仅包括土壤溶液中的总溶解态(游离态金属、不稳定的有机和无机络合物,不包括土壤颗粒和溶液中的胶体和惰性络合物),还包含土壤固相释放进入溶液中的活性金属。Tian等^[8]和宋宁宁等^[36]通过多因子分析显示,DGT法不受土壤基本理化性质(如pH、水溶性有机物含量、CEC、土壤质地等)的影响,而传统的化学提取方法易受土壤理化性质的影响。因此,与传统的化学提取方法和土壤溶液浓度相比,DGT技术无疑是预测重金属生物有效性和模拟植物吸收重金属的较好方法。

3 结论

土壤Cd和Pb的复合污染对植物的生长表现出协同抑制效应,且植物间存在差异,与小麦相比,玉米对其复合污染的反应更敏感;Cd污染土壤中Pb的存在促进植物对Cd的吸收和积累,且其作用程度与Pb的浓度有关;DGT法、土壤溶液法、HAc、EDTA、CaCl₂和NaAc提取法测定的土壤有效态Cd含量均随Cd

表2 植株Cd含量与土壤有效态Cd含量之间的线性相关系数
Table 2 Linear correlation coefficients(r) between Cd concentrations in plant tissues and bioavailable Cd concentrations in soil measured by six methods

种类	部位	DGT	土壤溶液	HAc	EDTA	NaAc	CaCl ₂
小麦	地上部	0.946**	0.919**	0.849**	0.843*	0.882**	0.960**
	根系	0.939**	0.905**	0.784*	0.768*	0.855**	0.941**
玉米	地上部	0.986**	0.977**	0.897**	0.901**	0.887**	0.928**
	根系	0.918**	0.967**	0.872*	0.833**	0.803**	0.901**

注:**表示 $P<0.01$ 水平(双侧)极显著相关;*表示 $P<0.05$ 水平(双侧)显著相关。

污染土壤中 Pb 添加浓度的增加而增加,并与植物体内 Cd 含量呈现显著的正相关关系,其中 DGT 法、土壤溶液法和 CaCl₂ 的 Pearson 相关系数数值明显大于 HAc、EDTA 和 NaAc 提取法。结果显示,DGT 法、土壤溶液法和 CaCl₂ 可用于预测土壤 Cd 的生物有效性,与传统方法相比 DGT 技术在测试原理上有一定的优势。本文局限于室内盆栽实验,因 DGT 的测试与土壤的含水量相关,DGT 能否真正做到野外现场的原位应用仍值得进一步探索。

参考文献:

- [1] 茹淑华, 苏德纯, 王激清. 土壤镉污染特征及污染土壤的植物修复技术机理[J]. 中国生态农业学报, 2006, 14(4):29-33.
RU Shu-hua, SU De-chun, WANG Ji-qing. Characteristics of Cd pollution in soil and the mechanisms of phytoremediation for soil contamination[J]. *China Journal of Eco-agriculture*, 2006, 14(4):29-33.
- [2] 曾咏梅, 毛昆明, 李永梅. 土壤中镉污染的危害及其防治对策[J]. 云南农业大学学报, 2005, 20(3):360-365.
ZENG Yong-mei, MAO Kun-ming, LI Yong-mei. Damage of cadmium in soil and its control[J]. *Journal of Yunnan Agriculture University*, 2005, 20(3):360-365.
- [3] 罗军, 王晓蓉, 张昊, 等. 梯度扩散薄膜技术(DGT)的理论及其在环境中的应用 I:工作原理、特性与在土壤中的应用[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(2):205-213.
LUO Jun, WANG Xiao-rong, ZHANG Hao, et al. Theory and application of diffusive gradients in thin films in soils[J]. *Journal of Agricultural Sciences*, 2011, 30(2):205-213.
- [4] Davison W, Zhang H. Progress in understanding the use of diffusive gradients in thin films(DGT)-back to basics[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2012, 9(3):1-13.
- [5] Davison W, Zhang H. *In situ* speciation measurements of trace components in natural waters using thin film gels[J]. *Nature*, 1994, 367(6463):546-548.
- [6] 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]. *Journal of Environmental Quality*, 2005, 34(14):496-507.
- [7] Tandy S, Mundus S, Yngvesson J. The use of DGT for prediction of plant available copper, zinc and phosphorus in agricultural soils[J]. *Plant and Soil*, 2011, 34(6):167-180.
- [8] Tian Y, Wang X R, Luo J, et al. Evaluation of holistic approaches to predicting the concentrations of metals in field-cultivated rice[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(20):7649-7654.
- [9] Soriano D J M, Speir T W, Gómez I, et al. Evaluation of different extraction methods for the assessment of heavy metal bioavailability in various soils[J]. *Water Air Soil Pollut*, 2010, 21(3):471-483.
- [10] Cornu J Y, Denaix L. Prediction of zinc and cadmium phytoavailability within a contaminated agricultural site using DGT[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006, 3(11):61-64.
- [11] Almås Å R, Lombos P, Sogn T A, et al. Speciation of Cd and Zn in contaminated soils assessed by DGT-DIFS, and WHAM/Model VI in relation to uptake by spinach and ryegrass[J]. *Chemosphere*, 2006, 6(2):1647-1655.
- [12] Nowack B, Koehler S, Schulin R. Use of diffusive gradients in thin film in undisturbed field soils[J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38(6):1133-1138.
- [13] Koster M, Reijnders L, van Oosta N R, et al. Comparison of the method of diffusive gels in thin films with conventional extraction techniques for evaluating zinc accumulation in plants and isopods[J]. *Environmental Pollution*, 2005, 13(3):103-116.
- [14] 林琦, 陈英旭, 陈怀满, 等. 小麦根际铅、镉的生态效应[J]. 生态学报, 2000, 20(4):634-638.
LIN Qi, CHEN Ying-xu, CHEN Huai-man, et al. The ecological effects of Pb and Cd on the root activities of wheat[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2000, 20(4):634-638.
- [15] 孙琴, 王超. 土壤外源 Cd 和 Pb 复合污染对小麦(*Triticum aestivum* L.)根系植物络合素和谷胱甘肽合成的影响[J]. 生态环境, 2008, 17(5):1833-1838.
SUN Qin, WANG Chao. Phytochelatin and glutathione synthesis in roots of wheat (*Triticum aestivum* L.) under combined pollution of Cd and Pb: A pot study[J]. *Ecology and Environment*, 2008, 17(5):1833-1838.
- [16] Zhang H, Davison W. Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the in situ measurement of trace metals in aqueous solution[J]. *Analytical Chemistry*, 2005, 67(19):3391-3400.
- [17] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京:中国农业科学出版社, 1999.
LU Ru-kun. The Analysis method of soil agricultural chemistry [M]. Beijing: China Agricultural and Technology Press, 1999.
- [18] Luo J, Zhang H, Zhao F J, et al. Distinguishing diffusional and plant control of Cd and Ni uptake by hyperaccumulator and nonhyperaccumulator plants[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 4(4):6636-6641.
- [19] Houba V J G, Lexmond T M, Novozamsky I, et al. State of the art and future developments in soil analysis for bioavailability assessment[J]. *Science of the Total Environment*, 1996, 17(8):21-28.
- [20] Wear J I, Evans C E. Relationship of zinc uptake by corn and sorghum to soil zinc measured by three extractants[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1968, 3(2):543-546.
- [21] Novozamsky I, Lexmond T H M, Houba V J G. A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy metals by plants [J]. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 1993, 5(1):47-58.
- [22] Kaplan O, Yaman M, Kaya G. Distribution of nickel in different phases of soil samples and plant parts taken from serpentine and copper mining area[J]. *Asian Journal of Chemistry*, 2009, 21(7):5757-5767.
- [23] Jiang W, Liu D, Hou W. Hyperaccumulation of cadmium by roots, bulbs and shoots of garlic[J]. *Bioresource Technology*, 2001, 7(6):9-13.

- [24] Dahmani-Muller H, Oort F V, Gelie B, et al. Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter[J]. *Environment Pollution*, 2000, 10(9):231-238.
- [25] 孙铁珩, 李培军, 周启星. 土壤污染形成机理及修复技术[M]. 北京: 科学出版社, 2005: 78.
SUN Tie-heng, LI Pei-jun, ZHOU Qi-xing. The formation mechanism of soil pollution and remediation technology[M]. Beijing: Science Press, 2005: 78.
- [26] Harper M P, Davison W, Zhang H, et al. Kinetics of metal exchange between solids and solutions in sediments and soils interpreted from DGT-measured fluxes[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1998, 62(16):2757-2770.
- [27] Forsberg L S, Kleja D B, Greger M, et al. Effects of sewage sludge on solution chemistry and plant uptake of Cu in sulphide mine tailings at different weathering stages[D]. Ultuna: Swedish University of Agricultural Science, 2009.
- [28] Lin Q, Chen Y X, Chen H, et al. Chemical behavior of Cd in rice rhizosphere[J]. *Chemosphere*, 2003, 50(6):755-761.
- [29] 宋宁宁, 王芳丽. 基于梯度薄膜扩散技术的广西环江流域桑田中铅的生物有效性研究[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(7):1317-1323.
SONG Ning-ning, WANG Fang-li. Assessment of lead bioavailability by diffusive gradients in thin films (DGT) in mulberry fields of Guangxi Huanjiang River Basin, China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(7):1317-1323.
- [30] Feng M H, Shan X Q, Zhang S Z, et al. Comparison of a rhizosphere-based method with other one-step extraction methods for assessing the bioavailability of soil metals to wheat[J]. *Chemosphere*, 2005, 59:939-949.
- [31] 任华静, 马宏瑞, 王晓蓉, 等. 太湖沉积物中镉的赋存形态及其与河蚬体内富集的关系[J]. 湖泊科学, 2011, 23(3):321-324.
REN Hua-jing, MA Hong-rui, WANG Xiao-rong, et al. Speciation of Cd and its relationship with the bioaccumulation of *Corbicula fluminea* in the sediments of Lake Taihu[J]. *Journal of Lake Science*, 2011, 23(3):321-324.
- [32] 张茜, 张宇峰, 王晓蓉, 等. 化学提取法与梯度扩散薄膜技术提取太湖沉积物中有效砷的比较[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(7):1398-1403.
ZHANG Qian, ZHANG Yu-feng, WANG Xiao-rong, et al. Comparison of sequential chemical extraction procedure and DGT technique to measure effective arsenic in sediment of Lake Taihu, China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(7):1398-1403.
- [33] Menzies N W, Donn M J, Kopittke P M, et al. Evaluation of extractants for estimation of the phytoavailable trace metals in soils[J]. *Environmental Pollution*, 2007, 14(5):121-130.
- [34] Kamewada K, Nakayama M. Cadmium uptake by garland chrysanthemum can be predicted from the cadmium in the soil solution, independent of soil type[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2009, 5(5):441-451.
- [35] McBride M B. Cadmium uptake by crops estimated from soil total Cd and pH[J]. *Soil Science*, 2002, 16(7):62-67.
- [36] 宋宁宁, 王芳丽, 沈跃, 等. 梯度薄膜扩散技术(DGT)与传统化学方法评估黑麦草吸收 Cd 的对比[J]. 环境化学, 2012, 31(12):1960-1967.
SONG Ning-ning, WANG Fang-li, SHEN Yue, et al. Comparison of the method of diffusive gradients in thin films with traditional chemical extraction techniques for evaluating cadmium[J]. *Environmental Chemistry*, 2012, 31(12):1960-1967.