

王 俊, 王青清, 魏世强. 腐植酸对土壤砷化学形态及生物可给性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(6): 1124–1132.

WANG Jun, WANG Qing-qing, WEI Shi-qiang. Chemical speciation and bioaccessibility of arsenate in soil as influenced by humic acids[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(6): 1124–1132.

腐植酸对土壤砷化学形态及生物可给性的影响

王 俊^{1,2,3}, 王青清^{1,2,3}, 魏世强^{1,2,3*}

(1. 西南大学资源环境学院, 重庆 400716; 2. 重庆市农业资源与环境研究重点实验室, 重庆 400716; 3. 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400716)

摘 要: 利用 *in vitro* 方法研究了腐植酸(HAs)的两种活性组分——富里酸(FA)和胡敏酸(HA)及其不同比例(HA/FA)对土壤 As 在胃与小肠阶段生物可给性的影响, 分析了 As 的生物可给性与 HAs 影响下 As 形态转化的关系。结果表明: 在添加量 $\leq 1\%$ C 时 FA 和 HA 均可提高交换态 As 的分配比例, FA 能显著促进土壤 As 由铝型 As 和铁型 As 向残渣态 As 转化, 且随用量的增加转化作用增强, 而 HA 的这种作用强度较弱, 在 HA 添加量为 5% C 时甚至表现出相反的作用; FA 和含 3% C 的 HA 处理显著增加了土壤 As 胃阶段生物可给性, FA 和 HA 均显著增加了土壤 As 肠阶段生物可给性; HAs 添加总量为 1% C 时, 不同 HA/FA 的 HAs 均增加了土壤 As 的生物可给性, HA/FA 为 5/5 时胃肠生物可给性最大, HA/FA 为 7/3 时肠阶段生物可给性最小; HAs 对土壤 As 生物可给性的影响与其影响 As 形态分布密切相关, 在胃阶段对土壤生物可给性 As 具有显著影响的形态是交换态 As 和钙型 As, 单位交换态 As 对生物可给性 As 的贡献比钙型 As 大, 在肠阶段对生物可给性 As 影响显著的是钙型 As。

关键词: 腐植酸; 生物可给性; 砷; 形态; 胡敏酸; 富里酸

中图分类号: X53 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2017)06-1124-09 doi:10.11654/jaes.2017-0056

Chemical speciation and bioaccessibility of arsenate in soil as influenced by humic acids

WANG Jun^{1,2,3}, WANG Qing-qing^{1,2,3}, WEI Shi-qiang^{1,2,3*}

(1. College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400716, China; 2. Chongqing Key Laboratory of Agricultural Resources and Environment, Chongqing 400716, China; 3. Key Laboratory of the Eco-environments in Three Gorges Reservoir Region, Ministry of Education, Chongqing 400716, China)

Abstract: The speciation and bioaccessibility of heavy metals in soil are influenced by humic acids (HAs), which exist widely in the environment. An *in vitro* experiment was carried out to elucidate the effects of the two active components of HAs (fulvic acid, FA; and humic acid, HA) and the HA/FA ratio on the speciation and bioaccessibility of arsenate (As) in soils. The relationship between the bioaccessibility and transformation of As in soils, as influenced by HAs, was analyzed. The results showed that HAs could increase the allocation proportion of Ex-As in soil at an application dosage of $\leq 1\%$ (as carbon, C, basis). FA could observably promote the transformation of soil As from Al-As and Fe-As forms to Res-As species, and the effects were enhanced with an increase in the FA dosage. However, HA showed a weaker or even reversed role in affecting such a transformation process at the highest usage of 5% C. FA and HA at 3% C usage could increase the bioaccessibility of soil As in the gastric phase. The bioaccessibility of soil As in the small intestinal phase was always enhanced by HA and FA regardless of their usage levels. HAs with different HA/FA ratios always enhanced the bioaccessibility of soil As in both gastric and small

收稿日期: 2017-01-10

作者简介: 王 俊(1990—), 男, 湖北广水人, 硕士研究生, 主要从事环境污染化学研究。E-mail: 375977242@qq.com

* 通信作者: 魏世强 E-mail: sqwei@swu.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金项目(41171198); 国家科技重大专项(2012ZX07104-003)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(41171198); The National Science and Technology Major Project of the Ministry of Science and Technology of China(2012ZX07104-003)

intestinal phases at a constant usage of 1% C; the degree of the effect was related to the HA/FA ratio, with a maximum bioaccessibility of soil As in the gastric phase and a minimum bioaccessibility of soil As in the small intestinal phase at HA/FA ratios of 5/5 and 7/3, respectively. The bioaccessibility of soil As was strongly linked to As speciation in soil as influenced by HAs. Ex-As and Ca-As forms were found to have significantly positive contributions to the bioaccessible As in the gastric phase, with Ex-As being greater than Ca-As per unit, and only Ca-As showed a significant positive contribution to the bioaccessibility of soil As in the small intestinal phase.

Keywords: humic acids; bioaccessibility; arsenic; species; humic acid; fulvic acid

As(砷)作为一种典型的类重金属污染物,其污染状况越来越受到人们的关注,我国是受As污染最为严重的国家之一^[1-2]。食物链传递是土壤重金属进入人体的主要途径^[3],由于人类对食物链途径的有效控制,无意经口部直接摄入的土壤重金属的比例越来越高,城市或场地污染土壤甚至可能成为主要来源^[4-5],即使是农田土壤,农事活动也会导致人类对重金属污染土壤的直接暴露。因此,研究并阐明土壤重金属对人群的直接暴露风险具有重要意义。土壤重金属直接暴露对人群的健康风险不仅与其总量有关,更重要的是取决于其在胃肠环境中的溶出能力,这部分可溶出的重金属常用生物可给性表征^[6]。目前,用于土壤重金属的生物可给性研究常用的方法有体内(活体)实验(*in vivo*)和体外试验(*in vitro*)^[7-8]。*In vitro*体外模拟法是指向体外模拟胃肠环境中投加一定量的试验土壤,模拟人体肠胃环境对土壤重金属的吸收,如PBET(Physiologically Based Extraction Test)、SBET(Simple Bioavailability Extraction Test)、IVG(*In Vitro* Gastrointestinal)等方法。由于*in vitro*方法具有分析结果相对准确可靠、设计简单、试验快速、费用较低、可控性强的优点,正逐步成为研究重金属生物可给性的重要方法之一^[9],并被许多国家用于污染土壤的风险评价^[10-11],但不同的*in vitro*方法得到的结果存在差异^[12]。Ruby等^[13]最先提出用PBET方法获取土壤重金属的生物可给性,并证明其与活体试验具有很好的相关性,该方法主要用于土壤Pb的生物可给性的预测^[14]。Rodriguez等^[15]建立了IVG方法,将其用于测定土壤中As的生物可给性,并对其展开了深入的研究^[16-17],结果表明IVG体外模拟胃和小肠阶段的As生物可给性均与动物活体实验As的生物利用度具有显著的相关性。

土壤重金属的生物可给性与其化学形态密切相关^[18-19],利用分级提取法测定重金属形态变化指标是评价土壤修复效果的重要途径^[20-21]。近年来,通过施用有机物料来修复土壤重金属污染受到广泛关注。有研究表明有机质(物料)可以降低土壤重金属活性,如Covelo等^[22]发现有机物可通过吸附、螯合等作用固

定重金属,从而降低土壤重金属的有效性;向猛等^[20]认为堆肥可以使土壤As的生物可给性降低。HAs(腐植酸)广泛存在于自然环境,同时也是有机物料的主要成分,其中的HA(胡敏酸)和FA(富里酸)是影响土壤重金属形态和活性的关键活性组分。HA和FA含量及HA/FA比因有机物料来源、腐殖化程度的不同而异^[23],对土壤中As的生物有效性的影响方向和程度势必会有很大差异。HAs对土壤中As的植物有效性的影响已受到关注,考虑到As对人体的直接暴露风险,HAs对土壤As人体生物可给性的影响研究尚有待加强。本文拟探讨HAs活性组分含量和比例(HA/FA比)对As的生物可给性的影响,并分析土壤As生物可给性与As在土壤中赋存形态的关系,以期深入了解有机物料影响土壤As活性的效应和机制,为利用有机物料修复As污染土壤及对土壤As污染进行人体健康风险评价提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试土壤

供试土壤为西南地区广泛分布的紫色土——灰棕紫泥,采自重庆市涪陵区清溪镇双龙村(107°31'37"E, 29°51'30"N)。采集表层0~20 cm的土壤,去除砾石及植物残体,经自然风干后,磨细过2 mm标准筛备用。土壤基本性质见表1。参照《土壤农化分析》^[24],土壤pH值采用1:2.5的土水比,pH计测定;有机质用重铬酸钾容量法,CEC用醋酸铵淋洗法,总Fe用邻菲罗啉比色法,总Al用铝试剂比色法,总Ca用原子吸收法测定;总As用硝酸-硫酸-高氯酸消解,二乙基二硫代氨基甲酸银分光光度法(Ag-DDC法)测定。该土壤所含有机质较为匮乏,有利于分析外源HAs的作用和效应。

1.1.2 供试HAs

试验所用HAs为商品HAs。其中,HA购于天津光复精细化工研究所,样品含碳量为41.21%,灰分含量占10%,水分含量<8%;FA购于上海笛柏化学品技

表1 土壤的基本理化性质

Table 1 The basic physical and chemical properties of tested soil

土样	pH	有机质/g·kg ⁻¹	CEC/cmole·kg ⁻¹	总 Fe/g·kg ⁻¹	总 Al/g·kg ⁻¹	总 Ca/g·kg ⁻¹	总 As/mg·kg ⁻¹
灰棕紫泥	8.14	5.74±0.25	33.83±1.69	35.51±0.47	56.57±3.34	5.33±0.27	4.97±0.97

术有限公司,含碳量为 29.29%,灰分含量占 4%,水分含量≤2%。

1.2 试验方法

1.2.1 土样的制备与处理方法

将供试土壤分成 14 份,其中 8 份分为两组,一组按土重 0.5%、1%、3%、5%的碳含量添加 FA,另一组按同样的方法添加 HA,分别模拟不同 FA 和 HA 含量的影响;5 份按土重 1%的等碳量添加不同比例的 HA 和 FA,设置 HA/FA 比例分别为 0/10、3/7、5/5、7/3、10/0,模拟全 FA、主要 FA、HA 和 FA 各半、主要 HA、全 HA 处理情形的影响;剩下 1 份作为不添加 HAs 的对照。将土样与 HAs 充分混合后,通过称重添加去离子水的方法保持土壤含水量为 20%(下同),在避光条件下培养一个月后风干磨细过 2 mm 筛,得到不同 HAs 状态的模拟土壤样品,备用。

取上述模拟土样各 500 g,向其中添加 Na₂HAsO₄ 溶液,使外源 As 添加量为 80 mg·kg⁻¹;另取添加 1% C 的 FA 和 HA 处理土样各 5 份(每份 500 g),然后向两种土样中分别添加 Na₂HAsO₄ 溶液,使外源 As 添加量为 0、10、20、50、110 mg·kg⁻¹,保持含水量为 20%,充分混匀避光培养,所有处理设置两个平行,培养 90 d 后从两个平行中分别取土样,经风干后等质量混合,磨细过 0.25 mm 筛,测定土壤 As 的化学形态和土壤 As 的生物可给性,所有测定均重复三次。

1.2.2 土壤 As 化学形态提取方法

试验采用 As 形态连续提取法(SEPs)^[25-26],将土壤 As 分为 5 种形态,连续提取条件和方法见表 2。提取液中 As 的测定采用 Ag-DDC 比色法,该方法测定土壤 As 的检出限为 0.5 mg·kg⁻¹,测定过程中同一批次

样品均用标准曲线控制,标准曲线吸光度与溶液 As 浓度的 $R^2>0.99$,样品测定时设置空白样并做三组平行,平行样品相对误差≤5%。

1.2.3 土壤 As 生物可给性的测定

In vitro 人工模拟胃肠试验选用 IVG 方法。模拟胃液含有 0.15 mol·L⁻¹ 氯化钠,1%胃蛋白酶,用浓盐酸调节 pH 为 1.8。分别将 4 g 前述不同 HAs 处理土样和 600 mL 模拟胃液加入到反应器中,维持 37 ℃恒温水浴,100 r·min⁻¹ 匀速搅动,同时通入氩气模拟胃肠的厌氧环境,反应 1 h 后用针筒吸取 20 mL 反应液,过 0.45 μm 的滤膜,保存在 4 ℃冰箱中待测。胃液提取结束后,用 NaHCO₃ 粉末将反应液的 pH 调至 5.5,加入 3.6 g·L⁻¹ 胆盐,0.36 g·L⁻¹ 胰酶,继续通入氩气,100 r·min⁻¹ 转速搅动。其间,每隔约 20 min 测定反应液的 pH 值,若偏离初始值,则用浓 HCl 和 NaHCO₃ 粉末调节,使模拟液 pH 值维持稳定。反应 1 h 后,用针筒吸取 20 mL 反应液,过 0.45 μm 滤膜,保存在 4 ℃冰箱中待测。每个处理重复 3 次,反应液中的 As 采用前述同样方法测定。

1.3 数据处理与分析

胃阶段或小肠阶段土壤中 As 的生物可给性可由下式计算:

$$\text{生物可给性}(\%) = (C_{IV} \cdot V_{IV}) / (T_s \cdot M_s) \times 100\%$$

式中: C_{IV} 是试验的胃阶段或小肠阶段反应液中 As 的浓度,mg·L⁻¹; V_{IV} 为各反应器中反应液的体积,L; T_s 是土壤样品中 As 总量,mg·kg⁻¹; M_s 为反应器中土壤样品的质量,kg。

试验数据处理及统计分析采用 Excel 2003 和 SPSS 17.0 等软件进行。

表2 As 形态连续提取方法

Table 2 Sequential extraction procedure of arsenic in soil

形态	提取剂	提取条件
Ex-As(交换态 As)	1 mol·L ⁻¹ NH ₄ Cl	pH 7.0, 土液比 1:20, 25 ℃振荡 0.5 h
Al-As(铝型 As)	0.5 mol·L ⁻¹ NH ₄ F	pH 7.0, 土液比 1:20, 25 ℃振荡 1 h
Fe-As(铁型 As)	0.1 mol·L ⁻¹ NaOH	土液比 1:20, 25 ℃振荡 17 h
Ca-As(钙型 As)	0.25 mol·L ⁻¹ H ₂ SO ₄	土液比 1:20, 25 ℃振荡 1 h
Res-As(残渣态 As)	差减法计算	

2 结果与分析

2.1 HAs 对土壤 As 形态分布的影响

2.1.1 FA 和 HA 含量对土壤 As 形态分布的影响

在外源 As 浓度为 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 条件下,不同 FA 和 HA 含量处理土壤中 As 形态分布如图 1 所示。土壤 Ex-As 在五中 As 形态中占比最低,随 FA 含量的增加,Ex-As 的分配比例呈先增加后降低的趋势,但均显著高于对照($P < 0.05$),添加量为 1%C 时 Ex-As 占比最高,为 6.29%。FA 具有一定降低土壤 Ca-As 分配比例的作用,但处理组与对照之间差异不显著,变化幅度在 6.5%~8.1%之间。FA 显著降低了 Al-As 和 Fe-As 的比例,随着 FA 添加量(x)的增加,两者占比呈线性降低,而 Res-As 的占比则呈线性增加:

$$Y_{\text{Al-As}} = -3.6311x + 29.554, R^2 = 0.9960$$

$$Y_{\text{Fe-As}} = -5.0716x + 44.326, R^2 = 0.9499$$

$$Y_{\text{Res-As}} = 8.9688x + 13.384, R^2 = 0.9940$$

在 FA 最高用量 5%C 情况下,Al-As 和 Fe-As 所占的比例分别由对照的 29.54% 和 47.99% 降低至 11.78% 和 19.61%,而 Res-As 则由对照的 11.7% 增加至 58.09%,表明添加 FA 显著促进了 Al-As 和 Fe-As 向 Res-As 转化。

HA 对 As 形态分配的影响与 FA 有一定差异。随 HA 添加量的增加 Ex-As 的分配比例先增加后降低,当添加量 $\leq 1\% \text{C}$ 时 HA 增加了 Ex-As 的分配比例,而添加量 $\geq 3\% \text{C}$ 时则显著降低了 Ex-As 的分配比例,表明 HA 用量较低时能增加外源 As 向 Ex-As 的分配,HA 用量较高时则作用相反。HA 也有一定的降低外源 As 向 Al-As 和 Fe-As 分配的作用,但这种作用明显低于 FA 的作用,HA 处理使 Al-As 分配比例变动在 22.91%~25.24% 之间,显著低于对照的 29.54% ($P < 0.05$),但并不随 HA 含量的增加而降低;Fe-As 含量随 HA 含量的增加而减低,仅当 HA 添加量 $\geq 3\% \text{C}$ 时,分配比例才显著低于对照(47.99%)。HA 对 Ca-As 分配的影响与 Fe-As 和 Al-As 有所不同,当 HA 添加量 $\leq 3\% \text{C}$ 时,降低了 Ca-As 的分配比例,而当 HA 添加量达到 5%C 时,则 Ca-As 的分配比例显著提高。HA 显著提高了 Res-As 的分配比例,但不同 HA 添加量之间差异不显著。上述结果表明,随添加量的增加,FA 和 HA 对外源 As 在土壤中形态分配的影响方向和程度不同,总体上 FA 显著促进了土壤 As 由 Al-As 和 Fe-As 向 Res-As 转化,且随 FA 用量的增加转化作用增强,而 HA 的这种作用较弱,在

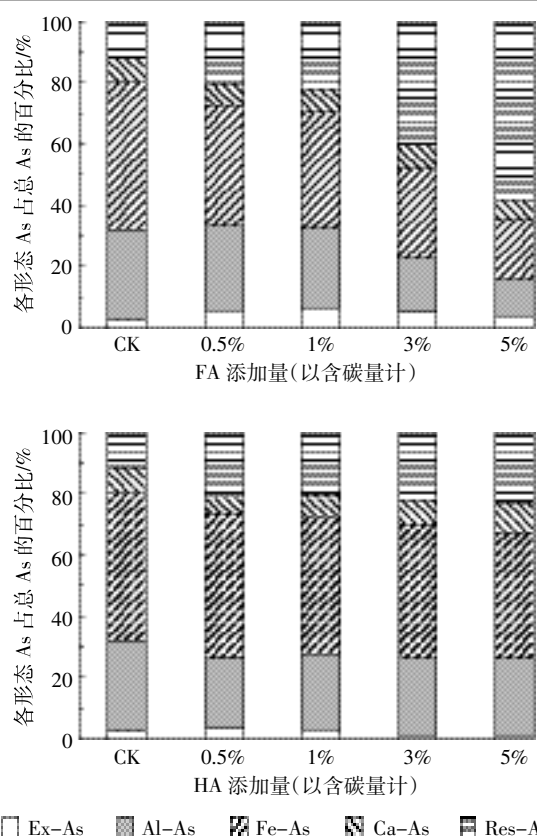


图 1 不同的 FA 和 HA 含量对土壤中 As 形态分布的影响

Figure 1 The distribution of As species in soil at different amounts of FA and HA added

大量情况下甚至表现出相反的作用。

2.1.2 不同 HA/FA 比例对土壤 As 形态分布的影响

在外源 As 浓度为 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 等量 HAs (1%C) 条件下,不同 HA/FA 比例处理土壤中 As 的形态分布如图 2 所示。当 HA/FA=3/7 时,HA 显著增加了 Ex-As 的分配比例,当 HA/FA $\geq 5/5$ 时,HA 则降低了

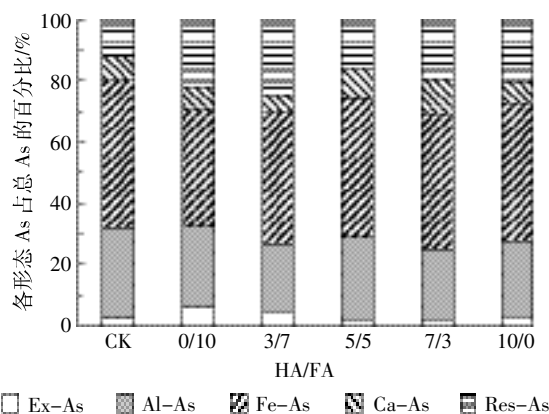


图 2 不同 HA/FA 比处理对土壤中 As 形态分布的影响

Figure 2 The distribution of As species in soil at different HA/FA ratios and constant HAs added (1%C)

Ex-As 的比例,HA/FA=7/3 时 Ex-As 的占比最低为 1.90%。HAs 对 Ca-As 的作用与 Ex-As 相反。不同 HA/FA 比的 HAs 都降低了 Al-As 和 Fe-As 的分配比例,HA/FA=3/7 时比例最低,占比分别为 21.97%和 42.73%。HAs 显著增加了 Res-As 的比例,HA/FA=3/7 时 Res-As 的比例最大为 24.51%。

2.1.3 不同外源 As 含量对土壤 As 形态分布的影响

等量(1%C)FA 和 HA 条件下,添加不同含量的外源 As(0~110 mg·kg⁻¹)后,土壤中各形态 As 的含量变化如图 3 所示。可见土壤各形态 As 的含量(y ,mg·kg⁻¹)均随着外源 As 添加量(x ,mg·kg⁻¹)的增加呈线性增加:

$$y=a+kx, R^2>0.93$$

式中:拟合曲线的斜率 k 反映了不同条件下单位外源 As 引起的各形态 As 的增加量; a 则反映了未添加外源 As 时模拟土壤中各形态 As 的拟合初始含量。

拟合参数列于表 3。由表 3 可见,无论是添加 HA 还是 FA 的土壤中,均为 Fe-As 的 k 值最大,Res-As 和 Al-As 次之,而 Ex-As 最小,说明外源 As 主要向前 3 种形态转化,而向 Ex-As 分配的比例较小,这与前

面分析结果一致。但随外源 As 的增加同一形态 As 分配速率在不同 HAs 处理土壤中差异较大。FA 处理的土壤 Ex-As、Al-As、Ca-As 和 Res-As 的 k 值高于 HA 处理,而 Fe-As 则在 HA 处理的土壤中更高,表明随外源 As 的增加,FA 处理土壤中更多的 As 向 Ex-As、Al-As、Ca-As 和 Res-As 形态转化,而 HA 处理向 Fe-As 形态分配的比例更高。等量 As 条件下,HA 处理的土壤 Ex-As、Al-As、Ca-As 和 Res-As 的分配比例均低于 FA 处理,Fe-As 的分配比例则始终高于 FA 处理。

表 3 不同 HAs 处理土壤中各形态 As 随外源 As 添加量变化的拟合参数

Table 3 The fitting parameters of every As species changing with exogenous As amount at different HAs added

As 形态	FA			HA		
	a	k	R^2	a	k	R^2
Ex-As	0.38	0.061	0.986 1	0.20	0.030	0.996 3
Al-As	0.72	0.241	0.959 6	0.28	0.189	0.991 9
Fe-As	1.33	0.405	0.985 1	1.62	0.453	0.991 7
Ca-As	0.48	0.092	0.939 8	0.36	0.067	0.975 7
Res-As	1.57	0.240	0.988 9	2.20	0.195	0.973 8

2.2 HAs 对土壤 As 生物可给性的影响及其与 As 形态分配的关系

2.2.1 不同 HAs 处理对土壤 As 生物可给性的影响

不同 FA 和 HA 添加量对土壤 As 的胃肠阶段生物可给性的影响结果如图 4a 和图 4b 所示。在胃阶段,等碳量的 HAs 条件下,FA 处理土壤 As 的生物可给性均高于 HA。随着 HAs 添加量的增加土壤 As 的生物可给性先增加后降低。不同添加量的 FA 均显著增加了土壤 As 的生物可给性,添加量为 1%C 时生物可给性最高,为 50.36%。当添加量 $\leq$ 3%C 时,HA 增加了土壤 As 的生物可给性,添加量为 3%C 时生物可给性最高,与对照之间差异显著;当添加量为最高的 5%C 时,HA 降低了土壤 As 的生物可给性,但与对照之间并无显著性差异。

小肠阶段,HAs 显著增加了土壤 As 的生物可给性。随着 HAs 添加量的增加,添加 FA 的土壤 As 的生物可给性显著增加,而添加 HA 的土壤在添加量 $\leq$ 1%C 时 As 的生物可给性显著增加,添加量为 1%C 时最高,为 29.14%,随着 HA 添加量的进一步增加,生物可给性缓慢降低,但与 1%C 时无显著性差异。HAs 添加量 $\leq$ 1%C 时 HA 处理的土壤 As 生物可给性高于等碳量的 FA,添加量 $\geq$ 3%C 时 HA 的生物可给性低于等碳量的 FA。

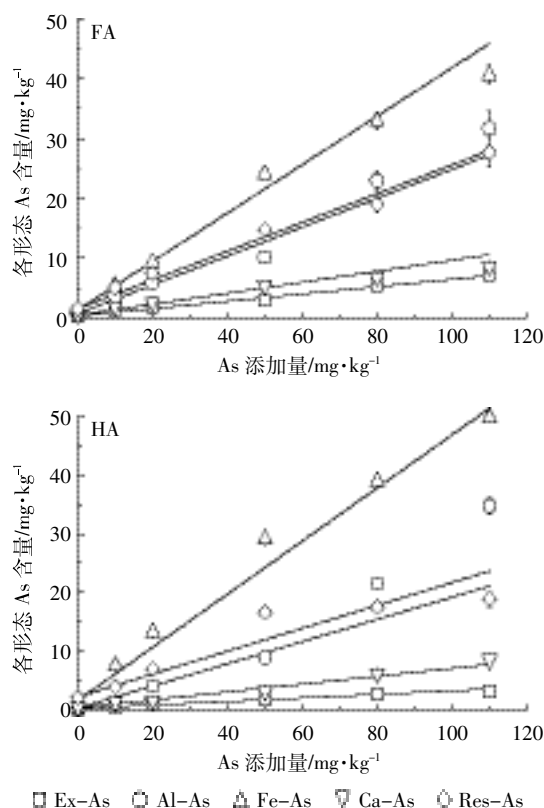
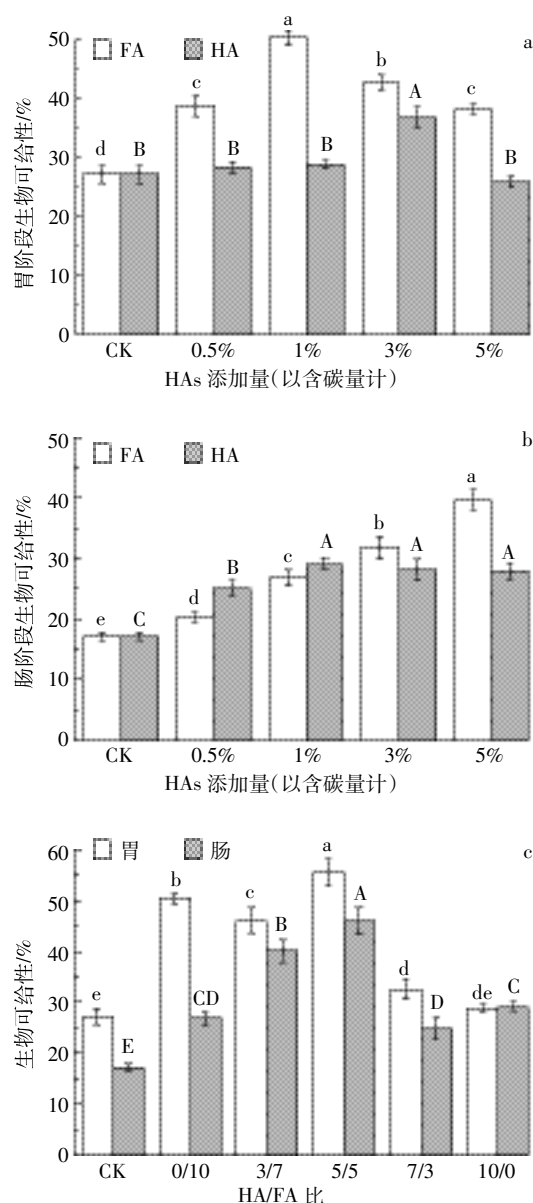


图 3 不同外源 As 添加量对土壤 As 化学形态的影响

Figure 3 The distribution of As species in soil at different amounts of As added

等碳量(1%C)条件下,不同 HA/FA 比对土壤 As 生物可给性的影响见图 4c。HAs 提高了土壤 As 的胃肠阶段生物可给性。在胃阶段,HA/FA=5/5 时生物可给性最高为 55.41%,HA/FA=0/10 时次之,当 HA/FA $\geq$ 5/5 时生物可给性随 HA/FA 比的增大逐渐降低。在肠阶段,当 HA/FA $\leq$ 5/5 时生物可给性随 HA/FA 比的增大逐渐增加,HA/FA=5/5 时最高,为 45.90%,随着 HA/FA 比的进一步增大,生物可给性急剧降低,HA/FA=7/3 时最低,为 45.90%。



图中相同 HAs 组分处理不同字母表示具有显著性差异($P<0.05$)

Different letters indicates significant differences among treatments ($P<0.05$)

图 4 不同 HAs 处理对土壤 As 胃肠生物可给性的影响

Figure 4 The bioaccessibility of As in soil at different HAs added

2.2.2 土壤 As 的生物可给性与 As 形态分配的关系

将土壤中生物可给性 As 含量与 As 各化学形态含量进行相关性分析,结果如表 4 所示。土壤中胃肠阶段生物可给性 As 含量与 As 的各形态之间都有显著正相关性,表明 HAs 处理后土壤中生物可给性 As 含量随着各形态 As 含量的增加均增加。土壤中的生物可给性 As 是各形态 As 共同表现的结果,为探究影响生物可给性 As 含量的主要形态,将土壤中胃肠阶段生物可给性 As 含量与各形态 As 含量进行逐步回归分析,结果如表 5 所示。在胃阶段对土壤生物可给性 As 具有显著影响的形态分别是 Ex-As 和 Ca-As,且都表现为正相关性,单位 Ex-As 对生物可给性 As 的贡献比 Ca-As 大。在肠阶段,对土壤生物可给性 As 影响显著的是 Ca-As。

表 4 土壤中生物可给性 As 含量与 As 化学形态含量的相关性分析($N=20$)

Table 4 Correlation analyses of the amount of bioavailability As and every As species value($N=20$)

项目	Ex-As	Al-As	Fe-As	Ca-As	Res-As
胃阶段	0.776**	0.796**	0.669**	0.787**	0.585**
肠阶段	0.533*	0.694**	0.659**	0.749**	0.726**

注:*表示具有显著相关性($P<0.05$);**表示具有极显著相关性($P<0.01$)。下同。

Note:*Indicates significant differences among treatments;** Indicates great significant differences among treatments. The same below.

表 5 土壤生物可给性 As 与 As 化学形态的多元回归分析($N=20$)

Table 5 Pluralistic regressive analyses of the amount of bioavailability As and As species value($N=20$)

项目	多元回归方程	R^2
胃阶段	$y=-4.787+4.702x_1^{**}+3.383x_2^{**}$	0.860
肠阶段	$y=2.527+3.352x_2^{**}$	0.561

注: x_1, x_2 分别代表 Ex-As 和 Ca-As。

Note: x_1 and x_2 are representing the Ex-As and Ca-As respectively.

3 讨论

本研究中 HAs 的两种活性组分 FA 和 HA 均能对土壤 As 形态产生较大的影响,但两种组分的作用效果和强度有所不同,与 FA 和 HA 结构和性质特点有关。通常,HAs 可通过多种复杂机理影响重金属的形态和活性,如与无机胶体组分形成有机-无机复合物或与无机组分中的结构性阳离子形成复合物,从而改变土壤的表面性质和吸持能力^[27-28],也可通过络合

(整合)作用改变重金属离子本身的形态^[29-30],同时 HAs 的酸性作用也将对土壤重金属吸持特性产生影响。本文中砷酸根离子带负电荷,难以直接被 HAs 所吸附,HAs 对 As 形态分配的影响可能更主要通过其对土壤组分吸持性能的影响而实现。HAs 对 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、 Mn^{2+} 等离子的强烈络合能力可能是其降低 Al-As 和 Fe-As 分配比例而增加 Res-As 的重要原因。同时,HAs 中 FA 较 HA 分子量低、酸性更高、移动性更强^[31],因而能保持土壤中更高比例的 Ex-As。

试验中添加 HAs 处理后土壤 pH 有不同程度的降低,与袁婉潼等^[32]研究结果相同。pH 能从多个方面影响 As 的生物可给性,但土壤 pH 的变化只是 HAs 影响土壤性质的一个方面,HAs 还可以增加土壤中 DOM(溶解性有机质)的含量,As 与 DOM 络合形成的 As-DOM 络合物是控制 As 的形态、移动性和生物有效性的关键因素之一^[33];同时 HAs 可以增加土壤微生物的生物量,改善土壤微生物群落结构等^[34],微生物可以通过氧化/还原、吸附/解吸、甲基化/去甲基化、沉淀/溶解等作用对 As 的迁移、形态转化等过程产生重要影响,从而影响其生物有效性^[35]。

不少研究表明低分子量的 FA 可以增加阳离子重金属的有效性,而 HA 则表现为抑制作用,如余贵芬等^[36]研究表明 FA 能促进有效态 Cd 含量的增加,而 HA 对有效态 Cd 和 Pb 有一定的抑制和钝化作用。本文结果表明无论是 HA 还是 FA 均提高了土壤 As 的生物可给性,只有当 HA 含量较高时(5%C)降低了胃阶段 As 的生物可给性,意味着通常所说的植物有效性指标难以反映土壤重金属对人群的接触暴露危害,显然这是由于植物和人体对土壤中重金属的吸收机制存在很大差异。因此,只有深入研究土壤重金属的形态及其与生物可给性的关系,才能正确评价土壤重金属污染的人群健康效应。

HAs 对土壤 As 生物可给性的影响是其对 As 形态分配综合作用的结果。本研究中 FA 显著促进土壤 As 由 Al-As 和 Fe-As 向 Res-As 的转化,但又显著增加了土壤 As 胃、肠阶段的生物可给性,其原因主要是 HAs 存在条件下 As 的各形态都对胃肠阶段的生物可给性产生影响,其中 Ex-As 和 Ca-As 的影响最大。FA 能显著增加 Ex-As 的含量,对 Ca-As 没有显著影响,综合表现为增加土壤 As 胃、肠阶段的生物可给性。虽然 HA/FA $\geq 5/5$ 时能降低土壤 Ex-As 的含量,但同时也增加了 Ca-As 的含量,因此在用有机物料降低土壤 As 的生物可给性时要综合考虑 HA 对 Ex-As 和

Ca-As 的影响。对于肠阶段,Ca-As 虽然对生物可给性 As 含量影响显著,但其决定系数 R^2 值较小,用 Ca-As 的变化并不能充分解释肠阶段生物可给性的变化,因此不能忽视其他形态及环境因素的变化对肠阶段生物可给性 As 含量的影响。相同的 HA/FA 比例情况下,胃阶段的生物可给性均高于肠阶段,有研究者认为是胃阶段的 pH 远低于肠阶段造成的^[37],唐健^[38]认为胃中的低 pH 值条件有利于 As 在胃液中的溶解,还有一部分原因是胃、肠模拟液成分不同,小肠阶段在胃阶段的基础上添加了胰酶和胆盐,两种成分的加入使本身溶于胃液中的 As 析出。

回归分析中胃阶段和肠阶段的生物可给性都与 Ca-As 呈显著正相关。一般认为 Ca-As 是难溶态的砷,其生物有效性较低,但本研究中 Ca-As 却对生物可给性起着重要作用,其原因可能是本研究中的生物可给性模拟人体胃、肠环境,土壤 As 在该环境下的溶出能力与植物吸收方式不同所致,且试验所用的 IVG 模拟方法的胃、肠环境均为酸性,有利于 Ca-As 的溶出,凸显 Ca-As 对生物可给性的作用。

4 结论

(1)HAs 会对土壤 As 的形态转化产生影响。在添加量 $\leq 1\%$ C 时 HA 和 FA 均可提高 Ex-As 的分配比例,FA 可以显著促进土壤 As 由 Al-As 和 Fe-As 向的 Res-As 转化,且随用量的增加转化作用增强,而 HA 的这种作用强度较弱,在添加量为 5%C 时甚至表现出相反的作用。

(2)HAs 对土壤 As 生物可给性的影响受其含量和组成的制约。FA 和含 3%C 的 HA 处理显著增加了土壤 As 胃阶段生物可给性;FA 和 HA 均显著增加了土壤 As 肠阶段生物可给性。HAs 添加总量为 1%C 时,不同 HA/FA 比的 HAs 均增加了土壤 As 的生物可给性。HA/FA=5/5 时胃肠生物可给性最大,HA/FA=7/3 时肠阶段生物可给性最小。

(3)HAs 通过影响土壤中 As 的形态分配而影响 As 的生物可给性。在胃阶段对土壤生物可给性 As 具有显著影响的是 Ex-As 和 Ca-As,单位 Ex-As 对生物可给性 As 的贡献比 Ca-As 大;在肠阶段对生物可给性 As 影响显著的是 Ca-As。

参考文献:

- [1] 肖细元,陈同斌,廖晓勇,等. 中国主要含 As 矿产资源的区域分布与 As 污染问题[J]. 地理研究, 2008, 27(1): 201-212.
XIAO Xi-yuan, CHEN Tong-bin, LIAO Xiao-yong, et al. Regional dis-

- tribution of arsenic contained minerals and arsenic pollution[J]. *Geographical Research*, 2008, 27(1):201-212.
- [2] Rodriguez-Lado L, Sun G F, Berg M, et al. Groundwater arsenic contamination throughout China[J]. *Science*, 2013, 341(6148):866-868.
- [3] Abrahams P W. Soils: Their implications to human health[J]. *Science of the Total Environment*, 2002, 291(1/2/3):1-32.
- [4] Agency for Toxic Substances and Disease Registry(ATSDR). Toxicological profile for lead[R]. Washington, D C: Department of Health and Human Services, 2005.
- [5] Agency for Toxic Substances and Disease Registry(ATSDR). Toxicological profile for arsenic[R]. Washington, D C: Department of Health and Human Services, 2005.
- [6] Yoon Y, Kim S, Chae Y, et al. Evaluation of bioavailable arsenic and remediation performance using a whole-cell bioreporter[J]. *Science of the Total Environment*, 2016, 547:125-131.
- [7] Ruby M V, Davis A, Link T E, et al. Development of an *in vitro* screening test to evaluate the *in vivo* bioaccessibility of ingested mine-waste lead[J]. *Environmental Science & Technology*, 1993, 27(13):2870-2877.
- [8] Ruby M V, Schoof R, Brattin W, et al. Advances in evaluating the oral bioavailability of inorganics in soil for use in human health risk assessment[J]. *Environmental Science & Technology*, 1999, 33(21):3697-3705.
- [9] 崔岩山,陈晓晨,付 瑾. 污染土壤中铅、砷的生物可给性研究进展[J]. 生态环境学报, 2010, 19(2):480-486.
- CUI Yan-shan, CHEN Xiao-chen, FU Jin. Progress in study of bioaccessibility of lead and arsenic in contaminated soils[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2010, 19(2):480-486.
- [10] Wragg J, Cave M, Basta N, et al. An inter-laboratory trial of the unified BARGE bioaccessibility method for arsenic, cadmium and lead in soil[J]. *Science of the Total Environment*, 2011, 409(19):4016-4030.
- [11] US Environmental Protection Agency(EPA). Standard operating procedure for an *in vitro* bioaccessibility assay for lead in soil[R]. Washington DC:US EPA, 2012.
- [12] Oomen A G, Hack A, Minekus M, et al. Comparison of five *in vitro* digestion models to study the bioaccessibility of soil contaminants[J]. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36(15):3326-3334.
- [13] Ruby M V, Davis A, Schoof R, et al. Estimation of lead and arsenic bioavailability using a physiologically based extraction test[J]. *Environmental Science & Technology*, 1996, 30(2):422-430.
- [14] Basta N, Gradwohl R. Estimation of Cd, Pb, and Zn bioavailability in smelter-contaminated soils by a sequential extraction procedure[J]. *Soil and Sediment Contamination*, 2000, 9(2):149-164.
- [15] Rodriguez R R, Basta N T, Casteel S W, et al. An *in vitro* gastrointestinal method to estimate bioavailable arsenic in contaminated soils and solid media[J]. *Environmental Science & Technology*, 1999, 33(4):642-649.
- [16] Beak D G, Basta N T, Scheckel K G, et al. Bioaccessibility of arsenic(V) bound to ferrihydrite using a simulated gastrointestinal system[J]. *Environment Science & Technology*, 2006, 40(4):1364-1370.
- [17] Beak D G, Basta N T, Scheckel K G, et al. Bioaccessibility of arsenic bound to corundum using a simulated gastrointestinal system[J]. *Environmental Chemistry*, 2006, 3(3):208-214.
- [18] 韩春梅,王林山,巩宗强,等. 土壤中重金属形态分析及其环境学意义[J]. 生态学杂志, 2005, 24(12):1499-1502.
- HAN Chun-mei, WANG Lin-shan, GONG Zong-qiang, et al. Chemical forms of soil heavy metals and their environmental significance[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2005, 24(12):1499-1502.
- [19] 李 季,黄益宗,保琼莉,等. 几种改良剂对矿区土壤As化学形态和生物可给性的影响[J]. 环境化学, 2015, 34(12):2198-2203.
- LI Ji, HUANG Yi-zong, BAO Qiong-li, et al. Effect of several amendments on the speciation and bio-accessibility of arsenic polluted soils in adjacent areas of mine[J]. *Environmental Chemistry*, 2015, 34(12):2198-2203.
- [20] 向 猛,黄益宗,蔡立群,等. 改良剂对土壤As钝化作用及生物可给性的影响[J]. 环境化学, 2016, 35(2):317-322.
- XIANG Meng, HUANG Yi-zong, CAI Li-qun, et al. Influence of amendments on inactivation and bio-accessibility of arsenic in soils[J]. *Environmental Chemistry*, 2016, 35(2):317-322.
- [21] Papassiopi N, Kontoyianni A, Vanuanidou K, et al. Assessment of chromium biostabilization in contaminated soils using standard leaching and sequential extraction techniques[J]. *Science of the Total Environment*, 2009, 407(2):925-936.
- [22] Covelo E F, Vega F A, Andrade M L. Competitive sorption and desorption of heavy metals by individual soil components[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2007, 140(1/2):308-315.
- [23] 贺 婧,颜 丽,杨 凯,等. 不同来源腐殖酸的组成和性质的研究[J]. 土壤通报, 2003, 34(4):343-345.
- HE Jing, YAN Li, YANG Kai, et al. Study on component and character of humic acids from different sources[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2003, 34(4):343-345.
- [24] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京:中国农业出版社, 2000.
- BAO Shi-dan. Soil agricultural chemistry analysis[M]. 3rd Edition. Beijing:China Agricultural Press, 2000.
- [25] 何 峰,苗金燕,魏世强. 外源砷、铅在三类紫色土中形态分配与其化学、生物有效性研究[J]. 农业工程学报, 2005, 21(2):44-47.
- HE Feng, MIAO Jin-yan, WEI Shi-qiang. Speciation distribution and its chemical, biological availability of arsenic, lead added in acid, neutral and alkali purple soil[J]. *Transactions of the CSAE*, 2005, 21(2):44-47.
- [26] Woolson E A, Axley J H, Kearne P C. Correlation between available soil arsenic, estimated by six methods, and response of corn[J]. *Soil Science Society of America Proceedings*, 1971, 35(1):101-105.
- [27] Janos P, Hula V, Bradnova P, et al. Reduction and immobilization of hexavalent chromium with coal- and humate-based sorbents[J]. *Chemosphere*, 2009, 75(6):732-738.
- [28] 钟晓兰,周生路,黄明丽,等. 土壤重金属的形态分布特征及其影响因素[J]. 生态环境学报, 2009, 18(4):1266-1273.
- ZHONG Xiao-lan, ZHOU Sheng-lu, HUANG Ming-li, et al. Chemical form distribution characteristic of soil heavy metals and its influencing factors[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2009, 18(4):1266-1273.

- [29] Ji G W, Laird D A. Interactions of chlorpyrifos with colloidal materials in aqueous systems[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2004, 33(5): 1765-1770.
- [30] Ylivainio K. Effects of iron(III) chelates on the solubility of heavy metals in calcareous soils[J]. *Environmental Pollution*, 2010, 158(10): 3194-3200.
- [31] 李光林. 腐植酸与几种金属离子的相互作用及影响因素研究[D]. 重庆:西南农业大学, 2002.
- LI Guang-lin. On the reaction of humic acids on some heavy metal ions and the affecting factors[D]. Chongqing: Southwest Agriculture University, 2002.
- [32] 袁婉潼. 生物腐植酸对盐碱土壤微生物数量和酶活性的影响[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(1): 1-4, 45.
- YUAN Wan-tong. Effect of biological humic acid on microbe number and enzyme activities of alkali-saline soil[J]. *Journal of Anhui Agriculture Science*, 2016, 44(1): 1-4, 45.
- [33] 刘广良, 蔡 勇. 环境中砷与溶解有机质的络合作用[J]. 环境化学, 2011, 30(1): 50-55.
- LIU Guang-liang, CAI Yong. Complexation of arsenic with dissolved organic matter in the environment[J]. *Environmental Chemistry*, 2011, 30(1): 50-55.
- [34] 马 斌, 刘景辉, 张兴隆. 褐煤腐植酸对旱作燕麦土壤微生物量碳、氮、磷含量及土壤酶活性的影响[J]. 作物杂志, 2015(5): 134-140.
- MA Bin, LIU Jing-hui, ZHANG Xing-long. Effects of applying brown coal humic acid on soil enzyme activity and microbial biomass C, N and P content of oat in dry farming[J]. *Crops*, 2015(5): 134-140.
- [35] 苏世鸣, 曾希柏, 白玲玉, 等. 微生物对砷的作用机理及利用真菌修复砷污染土壤的可行性[J]. 应用生态学报, 2010, 21(12): 3266-3272.
- SU Shi-ming, ZENG Xi-bai, BAI Ling-yu, et al. Action mechanisms of microorganisms on arsenic and the feasibility of utilizing fungi in remediation of arsenic-contaminated soil[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 21(12): 3266-3272.
- [36] 余贵芬, 蒋 新, 和文祥, 等. 腐植酸对红壤中铅镉赋存形态及活性的影响[J]. 环境科学学报, 2002, 22(4): 508-513.
- YU Gui-fen, JIANG Xin, HE Wen-xiang, et al. Effect of humic acids on species and activity of cadmium and lead in red soil[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2002, 22(4): 508-513.
- [37] 崔岩山, 陈晓晨, 朱永官. 利用3种 *in vitro* 方法比较研究污染土壤中铅、砷生物可利用性[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(2): 414-419.
- CUI Yan-shan, CHEN Xiao-chen, ZHU Yong-guan. Comparison of three *in vitro* methods to study the bioaccessibility of soil lead and arsenic[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(2): 414-419.
- [38] 唐 健. 砷的体外生物利用度研究进展[J]. 环境卫生学杂志, 2012, 2(3): 141-144.
- TANG Jian. Progress on the bioaccessibility of arsenic in the simulated gastrointestinal absorption system[J]. *Journal of Environmental Hygiene*, 2012, 2(3): 141-144.