

同位素技术在测定土壤重金属 E 、 L -值中的应用及研究进展

陈世宝¹, 陈 莉², 马义兵¹, 韦东普¹

(1.农业部植物营养与养分循环重点实验室 中国农科院农业资源与农业区划研究所, 北京 100081; 2.北京市农林科学院植物保护环境保护研究所, 北京 100097)

摘 要:土壤中重金属污染物的生物有效性对污染土壤的环境风险评价、环境质量标准的修订具有十分重要的意义。目前,在对土壤重金属和微量元素的生物有效性测定中,同位素示踪(稀释)技术是非常重要的手段之一,可以对土壤中污染重金属及痕量微量元素的有效性进行精确、快速的测定。本文就同位素示踪技术在测定土壤重金属及微量元素的有效性(E 、 L -值)原理及国内外的研究现状进行了综述。可以预料,随着同位素技术的进一步发展,利用同位素技术进行土壤中无机及有机污染物有效性的测定将在现代环境分析中得到更广泛的推广和应用。

关键词:同位素技术; E -值; L -值; 有效性

中图分类号:X830.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2008)06-2131-06

Application of Isotopic Dilution Techniques in E , L -Values Measurement of Heavy Metal in Soils and Its Research Advancement

CHEN Shi-bao¹, CHEN Li², MA Yi-bing¹, WEI Dong-pu¹

(1.Ministry of Agriculture Key Laboratory of Plant Nutrition and Nutrient Cycling, and Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; 2.Institute of Plant Protection and Environment Protection, Beijing Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Beijing 100097, China)

Abstract: Bioavailability of heavy metal pollutants and trace element plays an important role in environmental quality assessment, ecological remediation and modification of current soil environmental quality threshold. Isotopic dilution techniques have become a valuable tool for assessing the lability or potential availability of heavy metal and trace elements in soil and it can make a quick, accurate assessment of the bioavailability of trace elements in soil. The mechanism of E and L value determination by using isotopic dilution techniques was interpreted, and current researching progresses in bioavailability assessment of heavy metal pollutants in soil were also summarized in this paper. It was concluded that determination of bioavailability of inorganic and organic pollutants by using isotopic dilution technique will become a more and more important tool in environmental analysis in the future.

Keywords: isotopic dilution technology; E -value; L -value; bioavailability

随着经济和社会的不断发展,环境重金属污染与防治已经成为世界各国面临的重要环境问题之一。自从上世纪 70 年代以来,随着土壤环境重金属污染的严重性,世界各国纷纷制定了本国的土壤环境质量标准,而土壤环境质量标准主要指土壤中重金属和少数

有机污染物的环境限量标准。我国是从 1995 年开始制定并实施我国第一部土壤环境质量标准的,在我国土壤环境质量标准中,主要以八大重金属和二种农药(六六六、DDT)的总量作为主要依据来进行环境质量的划分和环境污染的风险评价的,而随着现代环境分析的研究结果表明,土壤中重金属污染物的有效含量对环境风险评价具有更重要的意义。因此,研究土壤中重金属污染物有效性及其植物可利用性对污染土壤的生态风险评价、修复治理及环境质量标准的修订具有十分重要的意义。本文就同位素示踪技术在测定土壤中重金属及微量元素的有效性(E 、 L 值)原理及

收稿日期:2008-01-22

基金项目:国家自然科学基金重大国际合作项目(40610088);科技部中央公益研究单位专项基金(628-16)

作者简介:陈世宝(1971—),男,博士,副研究员,主要从事环境重金属与放射性污染物的污染防治与修复技术研究。

E-mail: sbchen@caas.ac.cn

国内外的研究现状进行了综述,并对利用同位素技术测定土壤中重金属和微量元素的研究进展及其在环境与农业科学中的应用进行了展望。

1 土壤中重金属、微量元素有效性研究现状

概括而言,目前国内外对土壤中重金属或微量元素的有效性测定主要有以下 4 种方法^[1]:(1)土壤化学法:包括 E -值测定、土壤溶液中自由金属离子浓度的测定、可浸提态(如 CaCl_2 或 NH_4NO_3 等)含量的测定等。对于自由金属离子浓度的测定,目前应用较多的是离子选择性电极(ISE)法,包括对饮用水、污水、锅炉水、冷凝水和海水中的自由金属离子浓度测定等,如水体中铜离子的测定等^[2];(2)土壤微生物测定法:包括微生物群落测定、发光微生物抑制率测定、基础诱导硝化(SIN)、基础诱导呼吸(SIR)测定等;(3)土壤无脊椎动物测定法:包括根据国际标准组织(ISO)、经济合作与发展组织(OECD)的方法,对土壤无脊椎动物(如蚯蚓)的生长测定、对动物生长发育抑制 50%、20%及 10%的指标,即半致死剂量 EC_{50} 、 EC_{20} 、 EC_{10} 及无致害浓度(No Observed Effect Concentration, NOEC)的测定等;(4)植物测定法:通过对植物中重金属的含量来对土壤中重金属有效浓度,包括利用示踪技术对重金属或微量元素植物有效性(L -值)进行测定、对植物子粒中重金属含量测定、对生物量的影响测定等。

相对于上述测定方法而言,应用同位素示踪(稀释)技术来进行土壤中污染重金属或痕量微量元素的有效性的测定,并不干扰离子在土壤多相成分之间的平衡,它对土壤中重金属的测定具有很高的灵敏度和准确度。同时,在研究土壤-植物系统中污染重金属或微量元素的可交换性及植物有效性时,利用同位素稀释技术往往比化学提取技术能够提供更直接、准确的信息^[3-7],因而比化学提取的方法更具有优越性。目前,土壤中大约有 40 多种元素可以用同位素示踪技术进行有效性测定,有些元素的检测限可达 $10^{-11} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (如 Cu、Cd 等)。土壤中很多的植物营养元素及重金属污染物的有效性都可以通过利用相应的同位素来进行示踪研究,例如: ^{27}Al 、 ^{45}Ca 、 ^{109}Cd 、 ^{115}Cd 、 ^{60}Co 、 ^{64}Cu 、 ^{59}Fe 、 ^{202}Hg 、 ^{40}K 、 ^{54}Mn 、 ^{63}Ni 、 ^{32}P 、 ^{210}Pb 及 ^{65}Zn 等^[8]。上个世纪末,随着等离子耦合光谱、质谱仪(ICP-MS)的进一步广泛应用,稳定性同位素(如 ^{65}Cu 、 ^{207}Pb 、 ^{208}Pb 等)在测定土壤中植物微量元素及重金属污染物的有效性方面也得到了进一步应用,并取得了较快的发展^[7,9]。

2 同位素技术测定土壤重金属、微量元素有效性(E 、 L -值)的原理

进入土壤中的自由金属离子,在经过一定时间的吸附-解吸反应后,可与土壤固-液相间的离子反应达到平衡。对于某一种金属离子而言,当土壤中加入一定量该元素的放射(或稳定)性同位素时,由于同位素离子间具有相同的物理、化学性质,因此,进入土壤溶液中的同位素离子随即参加该离子在土壤多相体系中的平衡反应,通过对平衡后固-溶相体系中放射性活度变化的测定(对于稳定性同位素而言,则是通过该元素的不同同位素丰度变化测定),从而得到土壤中元素的有效浓度值,这是同位素技术测定土壤中元素有效性的基本原理。我们将土壤中测定的可交换(exchangeable)离子浓度(包括土壤溶液中的离子、吸附态离子及土壤固相表面晶格边缘固定的离子)值称为 E -值,与此同时,通过培养植物(或动物,如蚯蚓等)吸收的同位素浓度(labile pool)计算所得的金属离子有效性称为 L -值^[10]。从理论上说,对于同一种元素而言,如果忽略植物根际效应引起的离子有效性变化等因素外, E -值与 L -值应该是一致的。

2.1 土壤中可交换金属离子浓度 E -值测定原理

应用同位素示踪技术进行土壤中重金属或微量元素有效性测定的假设前提是:加入土壤中的示踪核素不被土壤固定且有足够长的时间达到平衡。通过测定土壤固-液相间同位素的放射性活度或同位素丰度变化来进行计算。在自然状态下,土壤中的重金属或微量元素离子以动态平衡形式存在于土壤多相体系中,其存在状态包括水溶态、可交换态、碳酸盐结合态、氧化物结合态、有机态及晶格固定态等,就某个金属元素的有效性而言,总体可分为以下形态:

$$C_{\text{tot}} = C_s + C_e + C_n \quad (1)$$

其中: C_{tot} 为土壤中金属元素的总浓度, $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; C_s 为水溶态金属离子的浓度; C_e 为交换态金属离子的浓度; C_n 为非交换态金属离子的浓度。当一定量的示踪核素($^{\text{M}}$, 如 ^{65}Cu)加入到该体系中后,土壤中原金属离子的平衡体系将被打破,新的平衡将出现,而加入的示踪核素 $^{\text{M}}$ 将与土壤中的同位素 M 形成下列平衡:

$$\frac{M_s}{M_e} = \frac{C_s}{C_e} \quad (2)$$

其中: M_s 、 M_e 分别为加入到土壤中 $^{\text{M}}$ 在土壤溶液中及可交换态的放射性的活度, $\text{Bq} \cdot \text{kg}^{-1}$, C_s 、 C_e 同上,而:

$$M_e = M_{tot} - M_s \quad (3)$$

其中: M_{tot} 为土壤中加入的 ^{60}M 的总活度, $\text{Bq} \cdot \text{kg}^{-1}$; 由方程(2)及方程(3)可得:

$$C_e = C_s \times \frac{(M_{tot} - M_s)}{M_s} \quad (4)$$

其中 C_e , 即 Ee -值, 为土壤中金属元素的同位素可交换浓度, $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 将方程(4)变换得:

$$(C_e + C_s) = C_s \times \frac{M_{tot}}{M_s} \quad (5)$$

这里 $(C_e + C_s)$ 代表了土壤中金属元素的最大有效浓度即: Ea -值, $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。由于核素 ^{60}M 加入到土壤中后, 土壤溶液及土壤矿物中 ^{60}M 核素的活度随时间变化较大, 故在实际应用中, 往往需要说明平衡溶液的时间(t)。从方程(5)可以看出,

$$Ea = Ee + C_i \quad (6)$$

C_i 为 t 时间后, 土壤溶液中金属离子 ^{60}M 的活度, $\text{Bq} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。在实际测定中, 可以通过测定一定时间后土壤溶液中放射性金属离子的活度、土壤溶液体积、土壤重量及加入的放射性核素 ^{60}M 的总活度来分别计算金属离子的 Ea -值和 Ee -值。

2.1.1 Ea -值与 Ee -值的差异及其应用

不同的土壤类型和性质对土壤中重金属或微量元素离子的吸附性能(如最大吸附量及动力学吸附过程)差异很大, 因而影响重金属离子有效性的测定。从方程(6)可以看出, 在土壤中加入示踪核素 ^{60}M 一定时间(t)后, 土壤中可交换的金属离子浓度(Ea)值为参与土壤固-液吸附反应的可交换性离子浓度(Ee)及未参与上述反应而存在于土壤溶液中的金属离子浓度值(C_i)之和, 可见, 土壤溶液的平衡时间对土壤中金属离子有效性的测定有重要的影响。对于大多数的重金属、微量元素及植物营养元素(如磷)而言, 进入土壤溶液后的平衡过程是个快反应的过程, 因此, 土壤溶液中的金属离子浓度值(C_i)可以忽略不计。Tran 等^[11]通过对磷吸附量大于 $1\,500\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的土壤利用 ^{32}P 进行磷有效性测定时发现, 加入 ^{32}P 后 1 min, 上述土壤溶液中的 ^{32}P 活度都小于加入 ^{32}P 总活度的 10%。而 Sinaj 等^[12]利用 ^{65}Zn 对于 11 种不同性质土壤中金属元素锌有效性 E 值的研究发现, 在平衡 30 min 后, 土壤溶液中 C_{Zn} 的活度只占加入 ^{65}Zn 总活度的 0.7%~8.0%。类似的研究发现, 在 pH 值大于 7.0 的土壤中, 经过一星期平衡后, C_{Zn} 的活度占加入 ^{65}Zn 总活度不到 1.0%^[13]。在上述情况下, $Ea \approx Ee$, 即意味着土壤溶液中的金属离子浓度值(C_i)可以忽略不计。

然而, 在溶液未达到平衡情况下, 土壤溶液中的金属离子浓度值(C_i)相对较高, Ea 和 Ee -值之间存在显著的差异, 如在土壤的吸附能力较弱或土壤的阳离子吸附接近饱和(如施磷肥较多或重金属污染土壤)的情况下, C_i 值往往较高, 往往导致土壤中金属元素或营养元素的有效性偏低。Tran 等^[11]利用 Langmuir 等温吸附方程对多种不同性质的土壤磷最大吸附量研究发现, 对磷具有高吸附能力的土壤求得的同位素可交换磷(isotopically exchangeable; Ee)的值与土壤中可利用磷(available; Ea)值之间具有很好的相关性, 而在低吸附特征的土壤中, 二者的差异最大可以达到 50%(图 1)。而我们通过利用 ^{65}Cu 示踪技术对欧洲不同性质的土壤中铜的可交换性研究发现类似的结果(数据待发表)。

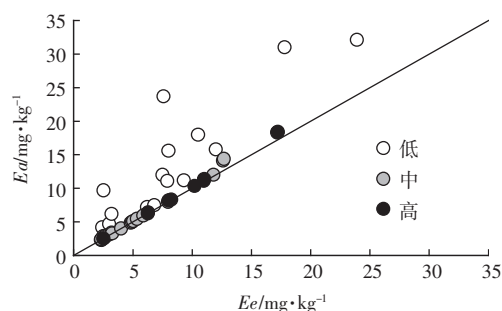


图 1 不同磷吸附量(高、中、低)土壤中同位素可交换磷(isotopically exchangeable; Ee)与土壤中可利用磷(available; Ea)值之间的关系(趋势线为 1:1 线性关系, Tran 等^[11])

Figure 1 Relationship between isotopically exchangeable(Ee) and available(Ea) phosphorus in soils. The line represents the 1:1 relationship

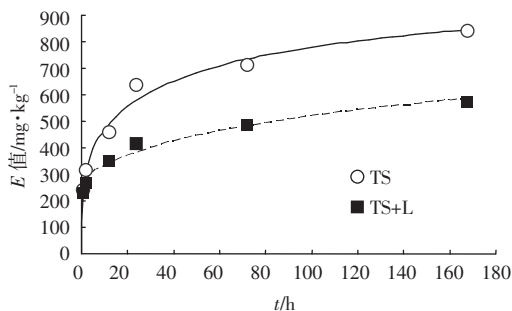
目前, 在利用同位素示踪技术对不同性质土壤中的金属及营养元素进行有效性测定或污染土壤的环境风险评价时, 多数学者^[14-16]采用 Ea -值进行计算。如上所述, 在多数情况下, Ee -值与 Ea -值间无显著差异, 因此, 有的学者^[17]在研究土壤中金属或营养元素有效性时, 将 C_i 值忽略不计, 而以 Ee -值进行研究。后来, Lemare 及 Leon^[18]通过大量不同性质土壤中磷有效性的 Ee -值与 Ea -值间的相关性发现, 可以用矫正后的同位素可交换磷(Ee'')值进行研究, 获得了较好的效果。

2.1.2 利用同位素技术对 E -值测定的影响因素

土壤物理、化学性质对土壤中金属有效性的影响主要是通过影响土壤固-液相的化学平衡反应, 从而影响 E -值的测定。如土壤中粘粒含量、可交换性阳离

子含量(CEC)、土壤中络合剂的含量与性质及金属离子的浓度等,上述性质主要通过影响土壤对金属离子的吸附量从而影响同位素的交换反应,尤其在污染土壤重金属有效性的测定时,金属离子的浓度对示踪核素的交换反应具有重要的影响。尽管如此,对于土壤中某一种金属离子而言,有的学者通过对不同的土壤性质与金属离子有效性的相关性研究来克服土壤物理、化学性质对 E -值测定的影响,取得了良好的效果^[18-19]。

除了不同物理、化学性质对土壤中金属离子有效性(E -值)的测定有影响外,如前所述,不同的平衡时间对 E -值的测定也有较大的影响^[4,14,20]。Oliver 等^[7]通过利用 ^{65}Cu 示踪技术对不同处理土壤铜 E -值进行测定时发现,随着平衡时间的增加,土壤中铜的 E -值测定结果也逐渐增加(图 2),在平衡时间达到 180 h 后曲线基本平稳。因此,在进行土壤中金属离子 E -值的测定时,应充分考虑不同因素的影响。



(TS; Tavistock 土壤; TS+L: 经过石灰处理后的 Tavistock 土壤, Oliver 等^[7])

(TS; Tavistock soil; TS+L; Tavistock soil treated with lime)

图 2 平衡时间对利用稳定性同位素 ^{65}Cu 示踪技术进行土壤中铜 E -值测定的影响

Figure 2 Effect of incubation time on the E -value measurement by using ^{65}Cu stable tracer technology

2.2 土壤中可交换金属离子浓度 (Labile pool) L -值测定原理

土壤中重金属、微量元素同位素可交换有效性(E -值)的测定主要是通过加入放射性(或稳定性)同位素后,经过一定平衡时间,通过测定土壤固-液相中的同位素放射性活度(或同位素丰度)变化来进行;而 L -值的测定是通过向土壤中加入放射性(或稳定性)的同位素后,经过一定的平衡时间,通过测定植物体内的放射性活度(或同位素丰度)变化来进行的^[3,21-22]。最早对土壤中元素 L -值的测定是哥本哈根生物学家 Larsen^[10]通过利用放射性 ^{32}P 示踪技术,对标记的磷

肥进行盆栽试验,通过植物体内 ^{32}P 的活度变化来对磷肥的有效供磷值(L -值)进行测定的。

对于利用放射性同位素进行 L -值测定而言, L -值的计算过程如下(方程 7):

$$L\text{-值} = R \times \frac{C}{C^*} \quad (7)$$

式中: L -值为植物测定的同位素可利用浓度, $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; R 为加入土壤中的放射性同位素浓度, $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; C 为植物从土壤中吸收的放射性活度, $\text{Bq} \cdot \text{kg}^{-1}$; C^* 为加入到土壤中的放射性同位素活度, $\text{Bq} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

为了对土壤中某一元素的 E -值和 L -值进行比较,往往以培养植物所需的时间作为 E -值测定中所需的平衡时间进行测定,这也从理论上保证了加入到土壤中绝大多数的同位素与土壤固-液相离子间进行了充分的交换反应。

3 同位素技术测定土壤中重金属有效性的研究进展与展望

将同位素稀释技术应用于土壤化学研究始于上世纪 30—40 年代,开始主要是应用 ^{32}P 示踪技术研究不同土壤及磷肥中磷的有效库,也即土壤中同位素可交换态磷(E -值)的含量^[23-25]。其后, Larsen 等^[10]利用 ^{32}P 示踪技术,通过盆栽实验的方法,计算不同磷肥处理大麦中 ^{32}P 的活度变化及标记的磷酸钙的活度来研究土壤中磷的植物有效性(L -值)。自从上世纪 40 年代以后,同位素稀释技术得到了迅速的发展,被广泛应用于土壤中大量营养元素、微量元素及重金属污染物生物有效性的研究。其中,植物微量及营养元素的研究主要包括:钙^[26]、铜^[7,27]、铁^[28]、锰^[28]、镍^[16,21]及锌^[13,29-30];重金属污染物如:砷^[6]、镉^[16,30]、铅^[31]、铝^[32]等。

在利用同位素技术进行土壤中重金属有效性研究获得快速发展并被广泛应用的同时,不同物理、化学因素及平衡时间对不同元素有效性测定影响的研究也获得了长足的发展。尤其是针对不同元素在土壤中的动力学反应过程中,不同反应时间对有效性的测定影响尤为重要。为了克服不同平衡时间对土壤中金属元素有效性(E -值)测定的影响,有的学者通过对不同元素在土壤中进行平衡反应的动力学过程来进行误差的矫正,并获得了满意的效果^[33-34],这种反应的动力学过程称为同位素交换反应动力学方程(Isotope Exchange Kinetics: IEK)。目前,基于同位素交换反应动力学过程(IEK 技术),在测定不同性质土壤中有效磷库及其影响因素研究中有非常重要的应用价值,如

在利用放射性同位素示踪技术对污染土壤中锌^[12]、镍^[16]、镉^[35-36]等重金属污染物的有效性测定上已有着广泛的应用。虽然利用放射性同位素进行土壤中金属元素有效性的测定具有快速简便、精确度高等优点,但针对某些重金属元素(如铅、铜等),由于这类元素具有放射性同位素的制备难或半衰期非常短(如 ⁶⁴Cu 的半衰期为 12.4 h)等特点,因此,针对这类元素的 E -值测定,往往采用稳定性同位素进行测定,尤其是随着等离子耦合光谱-质谱仪(ICP-MS)的广泛应用^[9,37-38]。对于土壤中铅而言,利用稳定性同位素 ²⁰⁷Pb 或 ²⁰⁸Pb 稀释技术,通过四方等离子耦合光谱仪(quadrupole-based ICP-MS;ICP-QMS)进行测定便可获得满意的结果^[39],而对于铜而言,应用稳定性 ⁶⁵Cu 稀释技术比应用放射性核素 ⁶⁴Cu 具有更强的可操作性^[7]。

对于土壤中不同金属元素的 E -值和 L -值间的吻合关系,多数研究结果表明,对于大多数不同类型土壤中镍的 E -值和 L -值的测定结果是基本一致的^[16,20];而对于锌而言,对碱性土壤中的测定结果显示, E -值往往高于 L -值,这可能与 E -值的测定过程中,加入到土壤中的 ⁶⁵Zn 被土壤胶体产生了大量的专性吸附(沉淀)反应有较大关系^[3,5]。对于镉有效性的测定,不同的研究者得出了不同的结论,如 Hutchinson 等^[40]对于利用橄榄油菜的 E -值和 L -值的测定结果基本相等,而 Smolders 等^[21]的测定结果显示, L -值显著大于 E -值。对于植物微量元素铜而言,由于放射性同位素 ⁶⁴Cu 具有相对较短的半衰期(12.4 h),因此,在实际操作中几乎无法利用放射性同位素 ⁶⁴Cu 进行 L -值的测定,而随着等离子质谱光谱仪(ICP-MS)技术的发展,利用稳定性 ⁶⁵Cu 稀释技术进行土壤中铜的 L -值测定获得了快速的发展,如 Nolan 等^[41]及 Oliver 等^[7]通过利用稳定性 ⁶⁵Cu 稀释技术,通过对西红柿植株体内的 ⁶⁵Cu/⁶³Cu 丰度变化,进而对土壤中铜的植物有效性(L -值)进行测定,研究结果显示,土壤中铜的 E -值与 L -值基本相等。同样,我们在利用稳定性 ⁶⁵Cu 稀释技术,通过对标记的黑麦草土壤中的 E -值和 L -值的测定也获得了类似的结果,需要提出的是,在上述实验的同时,我们对 ⁶⁵Cu 标记的培养蚯蚓土壤中的 E -值和 L -值研究却发现, L -值结果显著大于 E -值(数据待发表),其原因还在进一步研究之中。

随着经济的不断发展,环境资源也受到了极大的破坏,排放到环境中的污染物种类越来越多,包括各种有机物、无机物和微生物等,对人类健康构成极大的危害。化学污染物及时、准确的监测将是 21 世纪环

境管理和污染防治的重要手段之一。目前,有机污染物的测定还主要依靠 GC、HPLC 及 GS/MS 等方法进行总量测定,而无机污染物(重金属)的监测还主要是利用原子吸收、ICP-MS 等方法进行总量测定。随着同位素技术的进一步发展,利用同位素技术进行土壤中无机及有机污染物有效性的测定将在现代环境分析中得到更广泛的推广和应用。

参考文献:

- [1] Manahan, Stanley E. Environmental chemistry and the environmental biochemistry[C]//Environmental chemistry, CRC Press LLC, 2000. 17-24.
- [2] 王胜天, 许宏鼎, 李景虹. 环境电分析化学[J]. 分析化学评述与进展, 2002, 30(8): 1005-1011.
WANG Sheng-tian, XU Hong-ding, LI Jing-hong. Environmental electroanalytical chemistry[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2002, 30(8): 1005-1011.
- [3] Tiller K G, Honeysett J L, Vries M P C. Soil zinc and its uptake by plants. I. Isotopic exchange equilibria and the application of tracer techniques[J]. *Australian Journal of Soil Research*, 1972, 10: 151-164.
- [4] Fardeau J, Le C. Phosphore assimilable des sols; Sa représentation par un modèle fonctionnel à plusieurs compartiments[J]. *Agronomie*, 1993, 13: 317-331.
- [5] Sinaj S, Dubois A, Frossard E. Soil isotopically exchangeable zinc: A comparison between E and L values[J]. *Plant and Soil*, 2004, 261: 17-28.
- [6] Hamon R, Bertrand I, McLaughlin M. Use and abuse of isotopic exchange data in soil chemistry[J]. *Aust J Soil Res*, 2002, 40: 1371-1381.
- [7] Oliver I, Ma Y B, Lombi E, et al. Stable isotope techniques for assessing labile Cu in soils: development of an L -value procedure, its application, and reconciliation with E values[J]. *Environ Sci Technol*, 2006, 40: 3342-3348.
- [8] International Atomic Energy Agency (IAEA). Use of isotope and radiation methods in soil and water management and crop nutrition[J]. *Training course series*, 2001, 14: 1-6.
- [9] Ahnstrom Z A S, Parker D R. Cadmium reactivity in metal-contaminated soils using a coupled stable isotope dilution-sequential extraction procedure[J]. *Environ Sci Technol*, 2001, 35: 121-126.
- [10] Larsen S. The use of ³²P in studies on the uptake of phosphorus by plants[J]. *Plant and soil*, 1952, 4: 1-10.
- [11] Tran T S, Fardeau J C, Giroux M. Effects of soil properties on plant-available phosphorus determined by isotopic dilution phosphorus-32 method[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1988, 52: 1383-1390.
- [12] Sinaj S, Machler F, Frossard E. Assessment of isotopically exchangeable zinc in polluted and nonpolluted soils[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1999, 63: 1618-1625.
- [13] Tiller K G, Honeysett J L, de Vries M P C. Soil zinc and its uptake by plants. I. Isotopic exchange equilibria and the application of tracer techniques[J]. *Aust J Soil Res*, 1972b, 10: 151-164.
- [14] Frossard E, Fardeau J C, Brossard M, et al. Soil isotopically exchange-

able phosphorus: A comparison between E and L values[J]. *Soil Sci Soc Am J*, 1994, 58: 846–851.

- [15] Morel C, Plenchette C. Is the isotopically exchangeable phosphate of a loamy soil the plant-available P[J]. *Plant and Soil*, 1994, 158: 287–297.
- [16] Echevarria G, Morel J L, Fardeau J C, et al. Assessment of phytoavailability of nickel in soils[J]. *Journal of Environmental Quality*, 1998, 27: 1064–1070.
- [17] LeMare P H. Exchangeable phosphorus, estimate of it from amorphous iron oxides and soil solution phosphorus, in relation to phosphorus taken up by maize[J]. *Journal of Soil Science*, 1981, 32: 285–299.
- [18] LeMare P H, Leon L A. Effects of residues of triple superphosphate on the quantity-intensity relationships of fresh phosphate in some soil from Brazil and Colombia[J]. *Fertilizer Research*, 1990, 24: 159–166.
- [19] Castro B, Torrent J. Phosphate sorption by calcareous vertisols and inceptisols as evaluated from extended P-sorption curves[J]. *European Journal of Soil Science*, 1998, 49: 661–667.
- [20] Massoura S T, Echevarria G, Leclerc-Cessac E, et al. Response of excluder, indicator, and hyperaccumulator plants to nickel availability in soils[J]. *Australian Journal of Soil Research*, 2004, 42: 933–938.
- [21] Smolders E, Brans K, Foldi A, et al. Cadmium fixation in soils measured by isotopic dilution[J]. *Soil Sci Soc Am J*, 1999, 63: 78–85.
- [22] Gray C W, McLaren R G, Roberts A H C. Cadmium phytoavailability in a New Zealand pastoral soil. Chemical bioavailability in the terrestrial environment workshop, 18–20 November, Adelaide, Australia, 2001. 85–86.
- [23] Ballard S S, Dean L A. Soil studies with radioactive phosphorus: Significance of biological measurement of the retention of applied phosphorus by soils[J]. *Soil Sciences*, 1941, 52: 173–182.
- [24] Henderson S B, Jones U S. The use of radioactive elements for soil and fertilizer studies[J]. *Soil Sciences*, 1941, 51: 283–288.
- [25] McAuliffe C D, Hall N S, Dean L A, et al. Exchange reactions between phosphates and soils: Hydroxylic surfaces of soil minerals[J]. *Soil Science Society of American Proceedings*, 1947, 12: 119–123.
- [26] Azcon A C, Gianinazzi P V, Fardeau J C. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria on growth and nutrition of soybean in a neutral-calcareous soil amended with ^{32}P - ^{45}Ca -tricalcium phosphate[J]. *Plant and Soil*, 1986, 96: 3–15.
- [27] Delas J, Delmas C. Etude par dilution isotopique: Du cuivre incorpore dans les sols depuis, C. R.[J]. *Academie Agriculture*, 1960, 250: 3867–3869.
- [28] Lopez P L, Graham E R. Labile pool and plant uptake of micronutrients: I. Determination of labile pool of Mn, Fe, Zn, Co, and Cu in deficient soils by isotopic exchange[J]. *Soil Science*, 1972, 114: 295–299.
- [29] Hamon R E, McLaughlin M J, Naidu R, et al. Long-term changes in cadmium bioavailability in soil[J]. *Environ Sci Technol*, 1998, 32: 3699–3703.
- [30] Fujii R, Corey R B. Estimation of isotopically exchangeable cadmium and zinc in soils[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1986, 50: 306–308.
- [31] Kolthoff I M, Rosenblum C. The adsorbent properties and specific surfaces of lead sulfate[J]. *Journal of American Chemical Society*, 1933, 55: 2656–2672.
- [32] Kotze W A G, Joubert M D, Villers J F, et al. Measurement of exchangeable aluminium in soils and clay minerals by isotopic exchange[J]. *South African Journal of Plant and Soil*, 1984, 1: 57–60.
- [33] Fardeau J C. Dynamics of phosphate in soils: An isotopic outlook[J]. *Fert Res*, 1996, 45: 91–100.
- [34] Frossard E, Sinaj S. The isotope exchange kinetic technique: A method to describe the availability of inorganic nutrients applications to K, P, S and Zn[J]. *Isot Environ Health Stud*, 1997, 33: 61–77.
- [35] Gérard E, Echevarria G, Sterckeman T, et al. Cadmium availability to three plant species varying in cadmium accumulation pattern[J]. *J Environ Qual*, 2000, 29: 1117–1123.
- [36] Gray C W, McLaren R G, Gqunther D, et al. An assessment of cadmium availability in cadmium-contaminated soils using isotope exchange kinetics[J]. *Soil Sci Soc Am J*, 2004, 68: 1210–1217.
- [37] Gäbler H E, Bahr A, Mieke B. Determination of the interchangeable heavy-metal fraction in soils by isotope dilution mass spectrometry[J]. *Fresenius' J Anal Chem*, 1999, 356: 409–414.
- [38] Ayoub A S, McGaw B A, Shand C A, et al. Phytoavailability of Cd and Zn in soil estimated by stable isotope exchange and chemical extraction[J]. *Plant Soil*, 2003, 252: 291–300.
- [39] Becker J S. State-of-the-art and progress in precise and accurate isotope ratio measurements by ICP-MS and LA-ICP-MS, plenary lecture[J]. *J Anal At Spectrom*, 2002, 17: 1172–1185.
- [40] Hutchinson J J, Young S D, McGrath S P, et al. Determining uptake of 'non-labile' soil cadmium by *Thlaspi caerulescens* using isotopic dilution techniques[J]. *New Phytol*, 2000, 146: 453–460.
- [41] Nolan A L, Ma Y B, Lombi E, et al. Measurement of labile Cu in soil using stable isotope dilution and isotope ratio analysis by ICP-MS[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2004, 380: 789–797.
- [42] Tongtavee N, Shiowatanaa J, McLaren R G, et al. Assessment of lead availability in contaminated soil using isotope dilution techniques[J]. *Science of the Total Environment*, 2005, 348: 244–256.
- [43] 王光火. 高固磷土壤中的有效磷库似不宜用 E 值或 L 值评估[J]. 核农学报, 1996, 10(2): 115–119.
WANG Guang-huo. Applicability of E and L values for estimation of available P pool in high P-fixed soils[J]. *Acta Agriculturae Nucleatae Sinica*, 1996, 10(2): 115–119.
- [44] 熊礼明, 时正元. 节酸磷肥在黄棕壤性水稻土上的供磷潜力- L 值[J]. 核农学报, 1994, 8(2): 87–91.
XIONG Li-ming, SHI Zheng-yuan. Agronomic potential of partially acidulated rock phosphates on a yellow-brownish paddy soil[J]. *Acta Agriculturae Nucleatae Sinica*, 1994, 8(2): 87–91.