

纳米羟基磷灰石对重金属污染土壤 Cu/Cd 形态分布及土壤酶活性影响

崔红标¹, 田超^{2*}, 周静³, 范玉超¹, 司友斌¹, 杜志敏⁴

(1. 安徽农业大学资源与环境学院, 合肥 230036; 2. 安徽农业大学理学院, 合肥 230036; 3. 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008; 4. 南京农业大学资源与环境学院, 南京 210095)

摘要:通过室内培养实验,研究了纳米羟基磷灰石对重金属污染土壤 Cu/Cd 形态分布及土壤酶活性的影响。结果表明,施加纳米羟基磷灰石显著提高了土壤 pH,其中 3%和 5%添加剂量处理 60 d 后使土壤 pH 分别提高了 1.23 个和 1.35 个单位;纳米羟基磷灰石显著减少了毒性较强的离子交换态 Cu/Cd 的含量,增加了毒性中等的碳酸盐结合态、铁锰氧化物结合态、有机结合态及毒性最低的残留态 Cu/Cd 含量,使 Cu/Cd 由植物可利用态向潜在可利用态转变;纳米羟基磷灰石不同程度地提高了土壤过氧化氢酶、脲酶和酸性磷酸酶活性。3 种酶活性与 Cu/Cd 形态分布的相关性表明,过氧化氢酶和酸性磷酸酶对土壤重金属 Cu/Cd 活性变化比较敏感,可以作为重金属 Cu/Cd 污染土壤的评价指标。

关键词:纳米羟基磷灰石;Cu;Cd;形态;酶活性

中图分类号:X53 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2011)05-0874-07

The Effects of Nano-scale Hydroxyapatite on the Speciation of Cu and Cd and Enzymatic Activities in Soils

CUI Hong-biao¹, TIAN Chao^{2*}, ZHOU Jing³, FAN Yu-chao¹, SI You-bin¹, DU Zhi-min⁴

(1.School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China; 2. School of Science, Anhui Agricultural University, Hefei 230036,China; 3. Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 4.School of Resources and Environmental, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract:The batch experiments were set up to test the effects of nano-scale hydroxyapatite on the speciation of Cu and Cd and enzymatic activities in soils. The results showed nano-scale hydroxyapatite could increase soil pH, and 1.23 and 1.35 of pH units were improved in the treatments with 3% and 5% nano-scale hydroxyapatite after 60 days incubation. Nano-scale hydroxyapatite significantly decreased the contents of exchange forms Cu and Cd, and increased the contents of carbonate form, Fe-Mn oxides bound form, organic form and residual Cu and Cd, which promoted the transformation of Cu and Cd from the active forms to the inactive ones. Nano-scale hydroxyapatite effectively increased the enzymatic activities of hydrogen peroxidase, urease and acid phosphatase in soils. The high correlativity among soil enzymatic activities and the contents of Cu and Cd with different forms suggested that hydrogen peroxidase and acid phosphatase were sensitive to the changes of available Cu and Cd, and could be served as the evaluation index for Cu and Cd contaminated soil.

Keywords:nano-scale hydroxyapatite; Cu; Cd; forms; enzymatic activity

土壤中的重金属具有多种化学形态,一般分为水溶态(WS)、离子交换态(EXC)、碳酸盐结合态(CA)、铁锰氧化物结合态(Fe-Mn)、有机结合态(OM)、残留

态(RES)。WS 态和 EXC 态重金属在土壤环境中毒性强,易被植物吸收,并能在一定条件下向其他形态转化。RES 态重金属毒性小,难被植物吸收。土壤一旦被重金属污染,便会对土壤特性,尤其是土壤生物学性质产生显著影响,进而引起土壤质量的下降,并通过食物链对人类健康造成严重危害^[1-2]。酶广泛分布于土壤环境中,土壤酶系统是土壤中最活跃的部分,它直接影响着土壤的代谢性能,并能反应土壤对污染物质自净能力的大小^[3]。土壤酶能够活化土壤有机质,转化

收稿日期:2010-11-23

基金项目:国家 973 计划(2007CB936604);国家科技支撑计划课题项目(2009BADA6B04,2009BAD4B02);安徽省科技攻关计划(07010302212)

作者简介:崔红标(1985—),男,安徽凤台人,硕士研究生,主要从事环境污染防治的研究。E-mail:cuihongbiao0554@163.com

* 通讯作者:田超 E-mail:tiancha654@yahoo.com.cn

为供植物吸收的无机物,其活性大小在一定程度上代表了土壤肥力的高低^[4-5]。土壤酶对重金属的抑制和激活作用比较敏感,因此可以作为表征土壤质量的生物学指标^[6-7]。

羟基磷灰石(HAP)是人体牙齿和骨骼等硬组织重要的矿物组成部分^[8],属于磷灰石族,化学组成为 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ 。羟基磷灰石特殊的晶体化学特征,使得它对多种金属阳离子具有较强的吸附固定作用,被广泛用于水体和土壤重金属污染的修复研究,并取得了一定的成果^[9-11]。但关于纳米羟基磷灰石用于土壤重金属污染 Cu/Cd 形态分布和土壤酶活性影响的研究尚未见报道。本实验以受某冶炼厂 Cu/Cd 污染土壤为例,研究了不同投加剂量纳米羟基磷灰石对重金属 Cu/Cd 形态含量、分布特征和土壤酶活性变化的影响,为应用纳米羟基磷灰石防治和减少重金属污染及评价提供科学理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤取自江西省贵溪市被某大型铜冶炼厂等企业排放的污水及废气污染的农田,位于江西省贵溪市滨江乡柏里村陈家村小组。土壤采样深度 0~17 cm,基本理化性质见表 1。根据《土壤质量标准》(GB 15618—1995),采用单因子污染指数法对供试土壤重金属污染进行评价,结果表明:Cu 污染为重度,Cd 污染为中度。

表 1 供试土壤基本理化性质

Table 1 The physical-chemical properties of tested soil

有机质/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	碱解 N/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	速效 P/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	速效 K/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	全 Cu/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	全 Cd/ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	pH(土水 比 1:2.5)
32.82	169.26	76.59	56.79	981.38	879.62	4.34

供试纳米羟基磷灰石(NHAP, 40 nm)购自南京埃普瑞纳米材料公司,pH 为 7.14,Cu 和 Cd 含量分别为 $4.40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $37.14 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

1.2 实验设计

NHAP 与土壤的投加质量百分比分别为 1%、3%、5%,处理编号相应记为 N-1、N-3、N-5。另设不加任何材料的空白,记为 CK。共 4 个处理,每一处理均设 3 个重复。

2010 年 3 月 15 日准确称取过 3 mm 筛的重金属污染风干土壤 200 g 于三角瓶(规格 500 mL,共 48 个)中,按照实验设计比例分别向污染土壤中加入材

料,混合均匀。维持土壤水分分为土壤田间持水量的 60%,于安徽农业大学玻璃温室内培养。每隔 3 d 称重,用去离子水平衡土壤水分。分别在第 7、14、30、60 d 取土壤样品测定土壤过氧化氢酶、脲酶、酸性磷酸酶,并测定第 60 d 时土壤 Cu/Cd 各形态含量。

1.3 分析方法

土壤样品分析采用常规分析方法^[12]。土壤 pH 采用 1:2.5 的土水比,用 pH 玻璃电极进行测定;土壤全 Cu、全 Cd 采用氢氟酸-高氯酸-硝酸消煮,原子吸收分光光度计法测定;土壤 Cu 和 Cd 水溶态测定方法为:取 1 g 过 20 目筛干燥土壤,加入 10 mL 去离子水,在 25 °C 下振荡 30 min, $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液待测。其他 5 种形态采用连续提取法^[13-14]进行提取,并用原子吸收分光光度计法测定。

土壤过氧化氢酶、脲酶、酸性磷酸酶活性测定参照关松荫和周礼凯^[3,15]的方法。过氧化氢酶用每克土滴定 H_2O_2 消耗 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KMnO}_4$ 的毫升数表示,记为 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$;脲酶用比色法测定,以 37 °C 下培养 24 h 后每克土中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的毫克数表示,记为 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$;酸性磷酸酶用比色法测定,以 37 °C 下培养 24 h 后每克土中酚的毫克数表示,记为 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

1.4 数据处理方法

试验数据采用 Excel 2003 和 SPSS11.5 软件进行分析处理。

2 结果与讨论

2.1 不同剂量 NHAP 对污染土壤 pH 的影响

与对照相比,经过 60 d 培养,1%、3%和 5%投加水平下,NHAP 处理土壤 pH 分别为 5.60、5.80、5.98,分别比对照提高了 0.97、1.17、1.35 个单位,均与对照处理达到显著性差异,且 3 个剂量处理之间也达到显著性差异(表 2)。同时表 2 表明:随着 NHAP 投加剂量的增加,土壤 pH 逐渐增加,增加幅度分别为:N-3 比 N-1 增加 0.2~0.3 个单位,N-5 比 N-3 增加 0.14~0.27 个单位;随着时间的推移,各个处理土壤 pH 没有表现出较大的变化,N-1、N-3 及 N-5 处理分别使土壤 pH 维持在 5.44~5.60、5.67~5.89 及 5.94~6.03 的较高水平,对土壤 pH 表现出一定的持久性;且在同一时期,各处理土壤 pH 的大小顺序均表现为 N-5>N-3>N-1>CK。可见,添加不同剂量 NHAP 在不同时间段均显著提高了污染土壤 pH,这可能是由于 NHAP 发生水解释放出 PO_4^{3-} ,进一步转化为 HPO_4^{2-} 和 H_2PO_4^- ,该过程释放出大量的 OH^- ,使土壤 pH 值增

表 2 NHAP 对土壤 pH 的影响				
Table 2 The effects of nano-scale hydroxyapatite on soil pH				
处理	培养时间			
	7 d	14 d	30 d	60 d
CK	4.52d	4.56d	4.55d	4.63d
N-1	5.44c	5.52c	5.59c	5.60c
N-3	5.67b	5.76b	5.89b	5.80b
N-5	5.94a	6.02a	6.03a	5.98a

注:同列小写字母不同表示在 $P<0.05$ 水平上差异显著。

加,这与陈杰华等^[6]研究结果一致。

2.2 不同剂量 NHAP 对污染土壤 Cu/Cd 形态分布的影响

2.2.1 对污染土壤 Cu 形态分布的影响

添加纳米羟基磷灰石处理 60 d 后,土壤各化学形态 Cu 含量及百分含量如表 3 所示。与对照相比,NHAP 的添加增加了 WS 态 Cu 含量,且 3 个投加剂量处理均与对照表现出显著性差异,彼此之间亦表现出显著性差异。随着 NHAP 投加剂量的增加,土壤 EXC 态 Cu 含量逐渐降低,表现为 CK>N-1>N-3>N-5,其中 N-3 及 N-5 处理 EXC 态 Cu 含量分别比对照显著降低了 133.96 mg·kg⁻¹ 和 161.38 mg·kg⁻¹。除 N-1 处理增加了土壤 CA 态 Cu 含量外,N-3 及 N-5 处理均降低了土壤 CA 态 Cu 含量,但均未与对照达到显著性差异。NHAP 3 个投加剂量处理均不同程提高了土壤 Fe-Mn 态 Cu 含量,均与对照处理达到显著

性差异。除 N-1 处理降低了 DM 态 Cu 含量外,N-3 及 N-5 处理均增加了 OM 态 Cu 含量,但均未与对照处理表现出显著性差异。N-1 处理降低了土壤 RES 态 Cu 含量,N-3 及 N-5 处理提高了土壤 RES 态 Cu 含量,并均与对照处理达到显著性差异水平。

对照处理中,土壤 Cu 主要以 RES、OM 及 EXC 为主,百分含量大小分别为 32.70%、19.98%及 19.74%,Cu 各形态百分含量大小顺序为:RES>OM>EXC>Fe-Mn>CA>WS。添加 NHAP 处理,显著降低了土壤 EXC 态 Cu 百分含量,N-1、N-3 及 N-5 处理土壤 EXC 态 Cu 百分含量分别比对照降低了 1.98%、69.10%和 83.84%,并逐渐向 Fe-Mn 态、OM 态和 RES 态转化,且 N-3 及 N-5 处理 Cu 各形态百分含量大小顺序表现为:RES>OM>Fe-Mn>CA>EXC>WS。

2.2.2 对污染土壤 Cd 形态分布的影响

如表 4 所示,NHAP 3 个投加剂量处理污染土壤 60 d 后,土壤 WS 态 Cd 含量分别比对照提高了 25.97、23.16、22.49 μg·kg⁻¹,且均分别与对照处理达到显著性差异,但彼此之间未表现出显著性差异。与对照相比,NHAP 显著降低了土壤 EXC 态 Cd 含量,N-1、N-3 及 N-5 处理分别比对照处理降低了 172.29、181.44、178.08 μg·kg⁻¹,并均与对照处理达到显著性差异。N-1 及 N-3 处理对土壤 CA 态 Cd 含量影响较小,均未与对照达到显著性差异;N-5 处理使土壤 CA 态 Cd 含量比对照提高了 13.73 μg·kg⁻¹,且均与其他

表 3 NHAP 对土壤 Cu 化学形态含量及分布的影响												
Table 3 The effects of nano-scale hydroxyapatite on the contents of Cu forms												
处理	WS 态		EXC 态		CA 态		Fe-Mn 态		OM 态		RES 态	
	mg·kg ⁻¹	%	mg·kg ⁻¹	%	mg·kg ⁻¹	%	mg·kg ⁻¹	%	mg·kg ⁻¹	%	mg·kg ⁻¹	%
CK	5.62d	0.58	191.98a	19.74	112.03ab	11.52	150.60c	15.48	194.33ab	19.98	318.37b	32.70
N-1	12.37c	1.29	185.68a	19.35	120.20a	12.52	188.71b	19.66	185.15b	19.30	267.99b	27.88
N-3	13.34b	1.41	58.02b	6.10	106.95b	11.27	192.89b	20.32	202.70ab	21.37	375.22a	39.53
N-5	15.19a	1.58	30.60c	3.19	102.76b	10.69	208.95a	21.74	210.24a	21.90	394.07a	40.90

注:同列小写字母不同表示在 $P<0.05$ 水平上差异显著,%表示该形态含量占总量的百分含量。

表 4 NHAP 对土壤 Cd 化学形态含量及分布的影响												
Table 4 The effects of nano-scale hydroxyapatite on the contents of Cd forms												
处理	WS 态		EXC 态		CA 态		Fe-Mn 态		OM 态		RES 态	
	μg·kg ⁻¹	%	μg·kg ⁻¹	%	μg·kg ⁻¹	%	μg·kg ⁻¹	%	μg·kg ⁻¹	%	μg·kg ⁻¹	%
CK	8.50b	0.98	296.48a	34.06	87.76b	10.08	63.15c	7.27	7.97c	0.91	406.93a	46.70
N-1	34.47a	4.13	124.19b	14.87	83.73b	10.03	145.75b	17.47	20.05b	2.40	426.20a	51.10
N-3	31.66a	3.83	115.04b	13.91	89.38b	10.82	155.09b	18.76	25.24ab	3.05	410.18a	49.64
N-5	30.99a	3.56	118.40b	13.59	101.49a	11.65	181.32a	20.83	28.21a	3.24	410.57a	47.13

注:同列小写字母不同表示在 $P<0.05$ 水平上差异显著,%表示该形态含量占总量的百分含量。

处理均达到显著性差异。N-1、N-3 及 N-5 处理土壤 Fe-Mn 态含量分别比对照增加了 82.60、91.94、118.17 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 均与对照处理达到显著性差异, 其中 N-5 处理分别又与 N-1 及 N-3 处理之间达到显著性差异。NHAP 处理不同程度地提高了土壤 OM 态 Cd 含量, 均表现为随着材料投加剂量的增加而增加, 但 N-1、N-3 及 N-5 三者之间增加幅度较低。NHAP 3 个投加剂量处理对土壤 RES 态 Cd 含量影响较小, 且均未与对照处理达到显著性差异。

对照处理中, 土壤 Cd 主要以 RES 态、EXC 态为主, 百分含量分别为 46.70% 和 34.06%, Cd 各形态百分含量大小顺序为: RES>EXC>CA>Fe-Mn>WS>OM。添加 NHAP 处理, 显著降低了土壤 EXC 态 Cd 百分含量, N-1、N-3 及 N-5 处理土壤 EXC 态 Cd 百分含量分别比对照降低了 56.34%、59.16% 和 60.10%, 并逐渐向 CA 态、Fe-Mn 态、OM 态和 RES 态转化, Cd 各形态百分含量大小顺序表现为 RES>Fe-Mn>EXC>CA>WS>OM。

2.2.3 NHAP 对污染土壤 Cu/Cd 形态分布影响机理

综上, NHAP 处理显著提高了污染土壤中 WS 态 Cu/Cd 含量, 这主要是由于 NHAP 对重金属 Cu/Cd 具有较强的吸附固定作用, 用去离子水振荡提取时使被吸附固定的重金属 Cu/Cd 离子解吸下来, 其增加了 WS 态 Cu/Cd 含量。由于 WS 态 Cu/Cd 含量较小, 分别只占 Cu/Cd 全量的 0.58%~1.58% 和 0.98%~4.13%, 因而对土壤污染的整体毒性影响较小。同时, NHAP 的加入减少了毒性较强的 EXC 态 Cu/Cd 的含量, 增加了毒性居中的 CA 态、Fe-Mn 态和 OM 态 Cu/Cd 含量和毒性最低的 RES 态 Cu/Cd 含量, 使 Cu/Cd 由植物可利用态向潜在可利用态转变。土壤 Cu/Cd 化学形态含量的变化, 一方面是由于 NHAP 的添加提高了土

壤 pH, 另外可能通过 NHAP 表面基团与金属离子的吸附及络合作用, 金属离子与 NHAP 内部释放的可交换性 Ca^{2+} 进行离子交换; 通过金属离子与 NHAP 水解的进行沉淀和共沉淀作用^[17-19]。

2.3 不同剂量 NHAP 对污染土壤酶活性的影响

由图 1 可知, 土壤过氧化氢酶在 60 d 的培养中, 表现出先逐渐下降, 然后在第 60 d 增加的趋势。与对照相比, N-1、N-3 及 N-5 处理在第 7 d 时, 土壤过氧化氢酶活性与对照处理基本持平, 但随着时间的推移, 在第 60 d 3 种水平处理土壤过氧化氢酶活性分别比对照处理提高了 0.51、1.28 和 1.50 倍。

NHAP 的添加对土壤脲酶活性的影响如图 2 所示。与对照相比, NHAP 的添加显著增加了土壤脲酶活性, 但随着投加剂量的增加, 土壤脲酶活性没有表现出显著的增加。土壤脲酶活性在第 14 d 达到较高值, N-1、N-3 及 N-5 处理土壤脲酶活性分别比对照提高了 0.82、0.86 倍和 0.95 倍。14 d 后, 随着时间的推移, 土壤脲酶活性逐渐降低, 且在同一时期, 土壤脲酶活性大小均表现为: N-5>N-3>N-1>CK。

如图 3 所示, 与对照相比, N-1、N-3 及 N-5 处理均没有显著增加土壤酸性磷酸酶活性, 且各处理均表现为: 随着时间的推移, 土壤酸性磷酸酶活性逐渐增加。在第 60 d, N-1、N-3 及 N-5 处理土壤酸性磷酸酶活性达到较大值, 分别比对照提高了 0.29、0.34 倍和 0.39 倍。

总之, 随着 NHAP 剂量的增加, 土壤过氧化氢酶、脲酶和酸性磷酸酶没有表现出显著的增加; 随着时间的推移, NHAP 处理土壤过氧化氢酶、脲酶和酸性磷酸酶均表现出与对照相似的变化趋势, 但其酶活性均显著高于对照处理。NHAP 的加入对土壤 3 种酶活性不同程度地提高, 主要是由于 NHAP 不同程度地降低

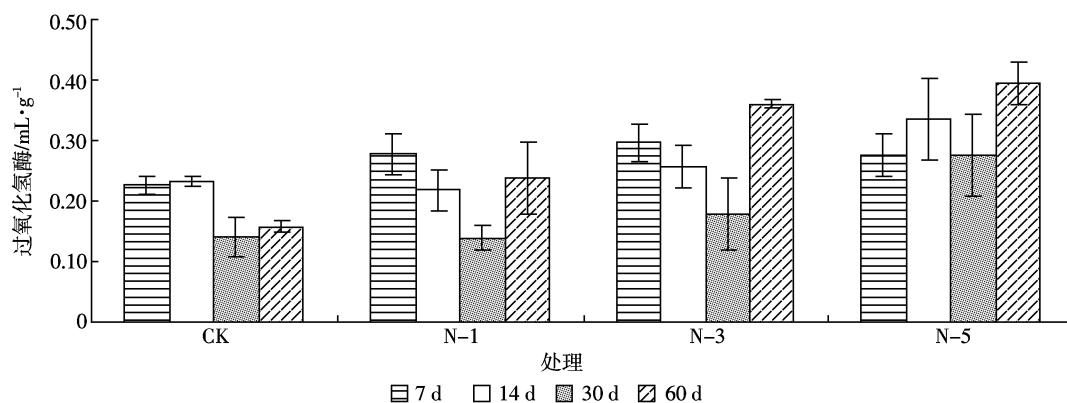


图 1 NHAP 对土壤过氧化氢酶活性的影响

Figure 1 The effects of nano-scale hydroxyapatite on the activities of hydrogen peroxidase

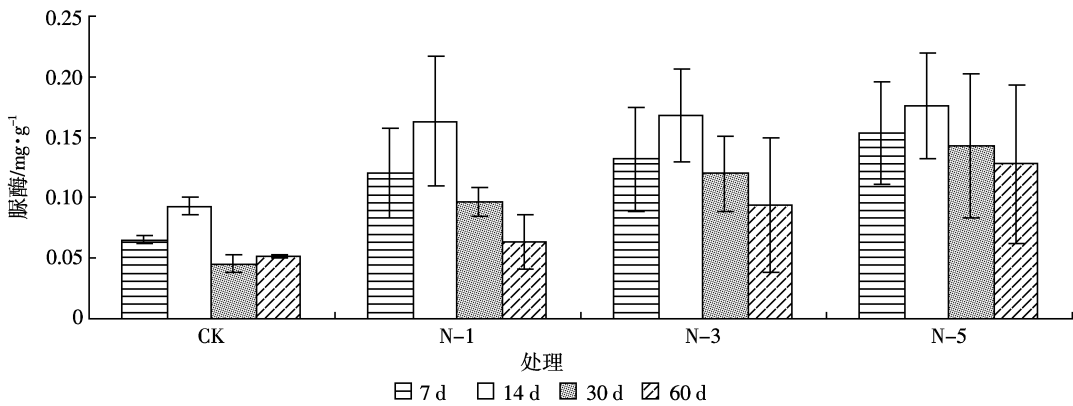


图 2 NHAP 对土壤脲酶活性的影响

Figure 2 The effects of nano-scale hydroxyapatite on the activities of urease

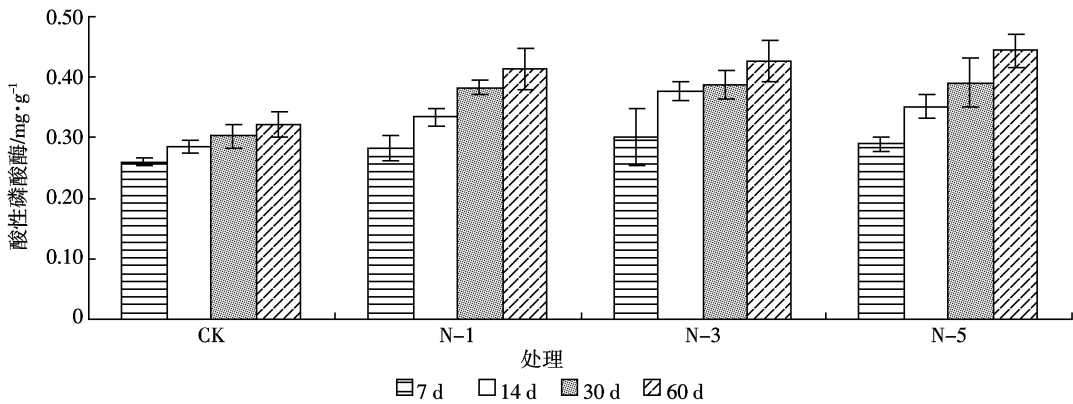


图 3 NHAP 对土壤酸性磷酸酶活性的影响

Figure 3 The effects of nano-scale hydroxyapatite on the activities of acid phosphatase

了土壤中重金属 Cu/Cd 活性,尤其是显著地降低了土壤 EXC 态 Cu/Cd 含量,减轻了对土壤酶活性的抑制作用。另外,NHAP 的加入也显著提高了土壤 pH,同时土壤 pH 的提高可能使酶空间构象、氨基酸残基微环境发生改变,增加土壤微生物活性,导致土壤酶活性的提高^[20-21]。

2.4 土壤 Cu/Cd 各形态含量与土壤酶活性的关系

由表 5 和表 6 可知,土壤 pH 与 WS 态、EXC 态、Fe-Mn 态 Cu 和 Cd 含量之间均达到极显著(正或负)相

表 5 各形态 Cu 含量与土壤酶活性关系							
Table 5 Correlation coefficients between contents of Cu forms and activities of soil enzyme							
Cu 形态	WS	EXC	CA	Fe-Mn	OM	RES	全 Cu
pH	0.99**	-0.77**	-0.34	0.98**	0.34	0.41	-0.32
过氧化氢酶	0.86**	-0.90**	-0.59*	0.87**	0.68*	0.56	-0.39
脲 酶	0.54	-0.63*	-0.68*	0.47	0.24	0.57	-0.18
酸性磷酸酶	0.88**	-0.67*	-0.35	0.84**	0.40	0.31	-0.36

注:* 表示 $P<0.05$ 显著相关;** 表示 $P<0.01$ 极显著相关。

表 6 各形态 Cd 含量与土壤酶活性关系							
Table 6 Correlation coefficients between contents of Cd forms and activities of soil enzyme							
Cd 形态	WS	EXC	CA	Fe-Mn	OM	RES	全 Cd
pH	0.92**	-0.96**	0.37	0.98**	0.95**	0.12	-0.32
过氧化氢酶	0.70**	-0.79**	0.51	0.86**	0.86*	0.03	-0.15
脲 酶	0.29	-0.39	0.48	0.46	0.60*	-0.10	0.01
酸性磷酸酶	0.82**	-0.84**	0.49	0.88**	0.83**	-0.08	-0.35

注:* 表示 $P<0.05$ 显著相关,** 表示 $P<0.01$ 极显著相关。

关,相关系数分别为 0.99、-0.77、0.98 和 0.92、-0.96、0.98,说明随着土壤 pH 的提高,WS 态和 Fe-Mn 态 Cu 和 Cd 含量逐渐增加,而 EXC 态 Cu 和 Cd 含量逐渐减少。土壤 pH 与 CA 态 Cu 和 Cd 相关性分别为-0.34 和 0.37,表现出一定的差异。可见,pH 是影响土壤 Cu 和 Cd 化学形态含量变化的关键因子^[22]。

除脲酶外,土壤过氧化氢酶和酸性磷酸酶与土壤 WS 态、EXC 态 Cu 和 Cd 含量均表现出极好的相关性。过氧化氢酶和酸性磷酸酶均与土壤 WS 态 Cu 呈

极显著正相关关系,相关系数分别为 0.86 和 0.88;与土壤 WS 态 Cd 呈极显著正相关关系,相关系数分别为 0.70 和 0.82;与土壤 EXC 态 Cu 相关系数分别为-0.90 和-0.67,与 EXC 态 Cd 含量相关系数分别为-0.79 和-0.84。可见,过氧化氢酶和酸性磷酸酶对土壤重金属 Cu/Cd 活性变化比较敏感,可以作为重金属 Cu/Cd 污染土壤的评价指标。与过氧化氢酶和酸性磷酸酶相似,土壤脲酶与土壤 WS 态 Cu/Cd 表现出正相关关系,与 EXC 态 Cu/Cd 表现出负相关关系,说明对酶活性起抑制作用的主要是 WS 态和 EXC 态 Cu/Cd。同时,由表 5 和表 6 可知,土壤 3 种酶活性与 CA 态、Fe-Mn 态、OM 态 Cu 和 Cd 之间的相关性明显优于与土壤 RES 态 Cu 和 Cd 之间的相关性,这可能是由于 RES 一般比较稳定不易转化,而 CA 态、Fe-Mn 态随环境变化可转化为毒性更大的 EXC 态。土壤 3 种酶活性均未与土壤 Cu 和 Cd 总量表现出显著的相关性,但与 WS 态、EXC 态、Fe-Mn 态及 OM 态 Cu 和 Cd 表现出显著的相关性,说明用土壤重金属形态分析来研究重金属对土壤酶活性的关系要比用总量更为准确,这与刘霞等的研究结果一致^[23]。

3 结论

在供试污染土壤中,添加 NHAP 显著提高了土壤 pH,同时 NHAP 的加入减少了毒性较强的 EXC 态 Cu/Cd 的含量,增加了毒性居中的 CA 态、Fe-Mn 态和 OM 态 Cu/Cd 和毒性最低的 RES 态 Cu/Cd 含量,使 Cu/Cd 由植物可利用态向潜在可利用态转变,降低 Cu/Cd 对土壤的毒害;随着 NHAP 添加剂量的增加,土壤 Cu/Cd 各形态含量表现出或增加或减少的趋势;相关性分析表明 pH 是影响重金属 Cu/Cd 形态分布的关键因素。

NHAP 的添加不同程度地增加了土壤过氧化氢酶、脲酶和酸性磷酸酶的活性,但随着 NHAP 添加剂量的增加,3 种土壤酶的活性并未表现出显著的增加;同时 3 种酶的活性均分别与土壤 WS 态和 EXC 态 Cu/Cd 表现出正相关和负相关关系,说明对酶活性起抑制作用的主要是 WS 态和 EXC 态 Cu/Cd;3 种酶的活性与 Cu/Cd 形态分布的相关性表明,过氧化氢酶和酸性磷酸酶对土壤重金属 Cu/Cd 活性变化比较敏感,可以作为重金属 Cu/Cd 污染土壤的评价指标。

参考文献:

- [1] Huang Q, Shindo H. Effects of copper on the activity and kinetics of free and immobilized acid phosphatase[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32(13): 1885-1892.
- [2] Chen C L, Liao M, Huang C Y. Effect of combined pollution by heavy metals on soil enzymatic activities in areas polluted by tailings from Pb-Zn-Ag mine[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2005, 17(4): 637-640.
- [3] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
GUAN Song-yin. Soil enzyme and research methods for soil enzyme[M]. Beijing: Agricultural Press, 1986.
- [4] Kang H, Freeman C. Phosphatase and arylsulphatase activities in wetland soil: Annual variation and controlling factors[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, 31(3): 449-454.
- [5] Srivastava S C, Singh J S. Microbial C, N and P in dry tropical forest soils: Effects of alternate land uses and nutrient flux[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1991, 23(2): 117-124.
- [6] Giller K E, Witter E, Mcgrath S P. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agriculture soils: A review [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, 30(11): 1389-1414.
- [7] Kizilkaya R, Askin T, Bayrakli B, et al. Microbiological characteristics of soils contaminated with heavy metals[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2004, 40(2): 95-102.
- [8] Barralet J, Best S, Bonfield W. Carbonate substitution in precipitated hydroxyapatite: an investigation into the effects of reaction temperature and bicarbonate ion concentration[J]. *Journal of Biomedical Materials Research*, 1998, 41(1): 79-86.
- [9] Corami A, Acapito F D, Mignardi S, et al. Removal of Cu from aqueous solutions by synthetic hydroxyapatite: EXAFS investigation[J]. *Materials Science and Engineering: B*, 2008, 149(2): 209-213.
- [10] Ma Q Y, Logan T J, Traina S J. Lead immobilization from aqueous-solutions and contaminated soils using phosphate rocks[J]. *Environmental Science & Technology*, 1995, 29(4): 1118-1126.
- [11] Seaman J C, Arey J S, Bertsch P M. Immobilization of nickel and other metals in contaminated sediments by hydroxyapatite addition[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2001, 30(2): 460-469.
- [12] 鲁如坤. 土壤农业化学分析法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999.
LU Ru-kun. Analytical methods for soil and agricultural chemistry[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1999.
- [13] 王新, 周启星. 外源镉铅铜锌在土壤中形态分布特性及改性剂的影响[J]. 农业环境科学学报, 2003, 22(5): 541-545.
WANG Xin, ZHOU Qi-xing. Distribution of forms for cadmium, lead, copper and zinc in soil and its influences by modifier[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2003, 22(5): 541-545.
- [14] Tessier A, Campbell P G C, Bisson M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals[J]. *Analytical Chemistry*, 1979, 51(7): 844-851.
- [15] 周礼凯. 土壤酶学[M]. 北京: 科学出版社, 1987.
ZHOU Li-kai. Soil enzymology[M]. Beijing: Science Press, 1987.
- [16] 陈杰华, 王玉军, 王汉卫, 等. 基于 TCLP 法研究纳米羟基磷灰石对污染土壤重金属的固定[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(4): 645-648.

- CHEN Jie-hua, WANG Yu-jun, WANG Han-wei, et al. Assessment of remediation of soil heavy metals with nano-particle hydroxyapatite by toxicity characteristic leaching procedure[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(4):645-648.
- [17] Dybowskaa A, Manning D A C, Collinsc M J, et al. An evaluation of the reactivity of synthetic and natural apatites in the presence of aqueous metals[J]. *Science of the Total Environment*, 2009, 407(8):2953-2965.
- [18] Lusvardi G, Malavasi G, Menabue L, et al. Removal of cadmium ion by means of synthetic hydroxyapatite[J]. *Waste Management*, 2002, 22(8):853-857.
- [19] Fernanea F, Mecherria M O, Sharrock P, et al. Sorption of cadmium and copper ions on natural and synthetic hydroxylapatite particles[J]. *Materials Characterization*, 2008, 59(5):554-559.
- [20] 王 涵, 王 果, 黄颖颖, 等. pH 变化对酸性土壤酶活性的影响[J]. *生态环境*, 2008, 17(6):2401-2406.
- WANG Han, WANG Guo, HUANG Ying-ying, et al. The effects of pH change on the activities of enzymes in an acid soil[J]. *Ecology and Environment*, 2008, 17(6):2401-2406.
- [21] Frankenberger W T, Johanson J B. Effect of pH on enzyme stability in soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1982, 14(5):433-437.
- [22] 敖子强, 林文杰, 严重玲, 等. 土法炼锌区土壤重金属形态及其转化[J]. *农业环境科学学报*, 2008, 27(2):564-569.
- AO Zi-qiang, LIN Wen-jie, YAN Chong-ling, et al. Speciation and transformation of heavy metals in the indigenous zinc smelting area[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(2):564-569.
- [23] 刘 霞, 刘树庆, 唐兆宏. 潮土和潮褐土中重金属形态与土壤酶活性的关系[J]. *土壤学报*, 2003, 40(4):581-587.
- LIU Xia, LIU Shu-qing, TANG Zhao-hong. The relationship between heavy metal forms and soil enzymatic activities in alluvial meadow soils and meadow cinnamon soils[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2003, 40(4):581-587.