

防止植物样品中无机砷形态转化的样品保存方法

阎秀兰, 陈同斌*, 廖晓勇, 武斌

(中国科学院地理科学与资源研究所环境修复研究中心, 北京 100101)

An appropriate method of preserving plant samples to maintain concentration of inorganic arsenic species

YAN Xiulan, CHEN Tongbin*, LIAO Xiaoyong, WU Bin

(Center for Environmental Remediation, Institute of Geographic Sciences and Natural Resource Research, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

中图分类号: Q94-3

文献标识码: A

文章编号: 1008-505X(2005)06-0855-03

随着砷污染问题越来越受到人们的关注,有关砷污染区土壤、植物和水体的研究也日益得到重视^[1-3]。砷污染区粮食作物、蔬菜和饲料作物等砷含量过高,通过食物链会直接或间接地影响到人类的身体健康^[4]。不同形态的砷对人体健康的影响不同,一般无机砷的毒性大于有机砷,无机砷中 As(III)的毒性大于 As(V)^[5]。准确测定植物样品中砷的形态,不仅可了解其生理毒性,而且还有利于评价其环境风险。

在野外和大田试验条件下,采集新鲜植物样品后往往很难做到马上就进行样品处理和砷的形态分析。植物样品从取样后若需要放置一段时间,则容易变干或腐烂,砷的形态也可能会随之发生改变,影响到砷形态分析的准确性。因此,如何避免样品保存过程中砷的形态转化是一个很关键的步骤。为此,本试验以砷超富集植物蜈蚣草 (*Pteris vittata* L.)为材料,研究了植物样品在不同保存条件下砷形态的变化,以找到适宜的植物样品保存方法。

1 材料与方法

蜈蚣草孢子(采自湖南)在温室中育苗,待长出2片幼叶后移栽至土壤中,在温室中培养。土壤中砷含量为 100 mg/kg,每天光照 14h,白天温度 26℃,夜间温度为 20℃,相对湿度为 85%。待植株成熟后

取新鲜植物叶片进行试验。

1.1 试验设计

1.1.1 新鲜叶片的保存方法 从同一植株上取新鲜的蜈蚣草叶片若干,混匀后分成 24 份,准确称量每份叶片的鲜重。试验设 3 个处理: 常温保存,即将样品密封在聚乙烯袋中,于光照培养箱中(25℃,每天 12h 光照)保存; 冷藏保存,即将样品密封在聚乙烯袋中,于冰箱中(4~5℃,避光)保存; 冷冻保存,即将新鲜叶片用液氮速冻后密封在聚乙烯袋中,在冰箱中(-20℃)避光保存。在不同时期进行动态取样和分析,了解样品中砷的形态变化。分析前将叶片研磨成浆,再加入 25mL 的亚沸水,摇匀后离心(3000 r/min) 15min,过滤后取滤液定容至 50mL,滤液即为叶片水提取液,测定叶片水溶态 As(III)、As(V)和无机总砷的浓度,浓度值均以叶片鲜重计算。

1.1.2 叶片水提取液的保存方法 称取 50g 新鲜蜈蚣草叶片,按 1.1.1 的方法得到叶片水提取液,混匀后分装于 90 个 5mL 的聚乙烯管中,作为 90 个水提取溶液样品。将叶片水提取液同 1.1.1,置于常温(25℃)、冷藏(4~5℃)和冷冻(-20℃)下保存,每种处理条件下各保存 30 个水提取溶液样品。在不同时期取出各处理的 3 个样品,测定其 As(III)和 As(V)和总无机砷的浓度。

收稿日期: 2004-12-30

修改稿收到日期: 2005-03-28

基金项目: 国家杰出青年基金项目(40325003); 国家高新技术研究发展计划(2001AA645010); 国家自然科学基金重点项目(40232022)资助。

作者简介: 阎秀兰(1978—),女,湖北人,博士研究生,主要从事植物修复技术工作。* 通讯作者

1.2 砷的测定方法

砷形态的测定：将待测样品按一定比例稀释，然后加入 NaAc-HAc 缓冲液，用原子荧光吸收光谱仪(海光 AFS-2202,北京海光公司)测定样品的 As(III) 浓度^[6]。As(V) 的浓度为无机总砷和 As(III) 的浓度之差。

总 As 的测定：将待测样品按一定比例稀释，加入预还原剂(硫脲和抗坏血酸)，用原子荧光吸收光谱仪(海光 AFS-2200,北京海光公司)测定^[7]。

2 结果与分析

2.1 新鲜植物叶片中不同形态砷的动态变化

试验结果(图 1)看出,常温条件下(25℃),蜈蚣

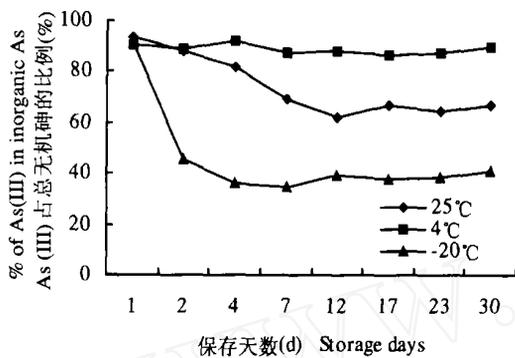


图 1 不同保存条件下植物叶片水溶态 As(III) 占无机总砷的百分率的动态变化

Fig.1 Ratio of water-soluble As(III) in water-soluble inorganic arsenic of pinnae in different conditions

草叶片水溶态 As(III) 占总无机砷的比例逐渐降低，到第 13d 趋于平缓,可见将叶片保存在常温、光照条件下,水溶态 As(III) 的浓度会明显降低;在冷藏条件下(4℃),As(III) 占总无机砷的比例变化不大;在冷冻条件下(-20℃),植物叶片中的 As(III) 在第 1d 就明显降低,之后变化不大。

2.2 叶片水提取液中不同形态砷的动态变化

蜈蚣草叶片水提取液中总无机砷的浓度在常温和冷藏条件下几乎没有变化,在冷冻条件下第 1d 后就降低了 9.3%,之后变化幅度较小(图 2A)。在常温条件下保存,叶片水提液 As(III) 的浓度在 32d 以内变化不大,其变化幅度[变化幅度=(样品浓度-第 1d 浓度)/第 1d 浓度]的绝对值在 5.0%以内,到第 40d 浓度降低了 61.7%。在预备试验和本试验中都分别发现这一现象,但其原因还不十分清楚。在冷藏条件下 As(III) 的浓度变化有起伏,变化幅度在 5.0%以内,而在冷冻条件下叶片水提液中 As(III) 的浓度呈下降趋势(图 2B)。As(V) 占总无机砷百分率的变化趋势与 As(III) 的浓度变化趋势相同,在冷藏条件下变化不大;常温保存下在 32d 以内变化不大,到第 40d 出现较大幅度的降低;在冷冻条件下呈逐渐降低的趋势(图 2C)。

以上试验结果表明,冷藏是比较理想的保存新鲜植物和植物样品水提取溶液的方法,随着保存时间的延长,样品中 As(III) 和 As(V) 浓度的变化相对平缓。

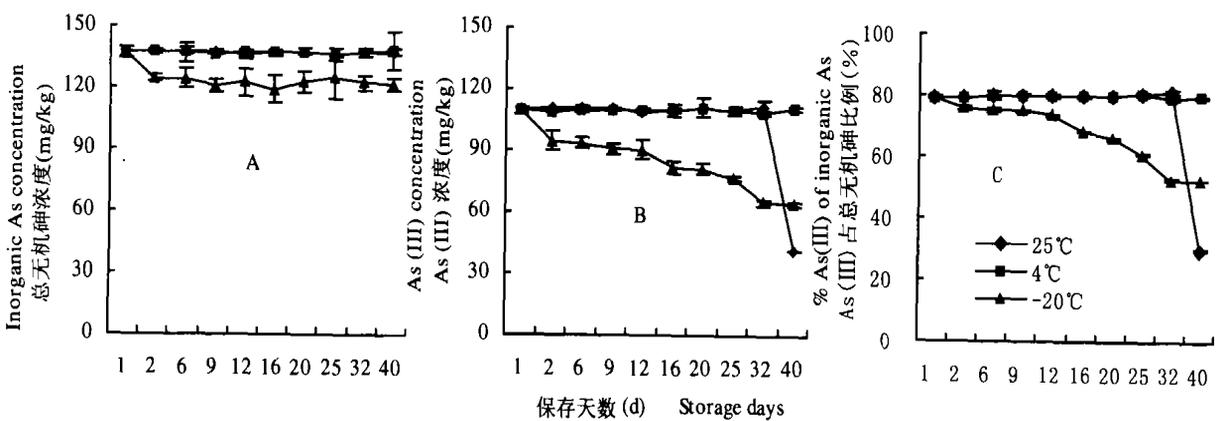


图 2 不同保存条件下叶片水提取液中无机砷形态的动态变化

Fig.2 Concentration of inorganic arsenic, arsenite and ratio of As(III) / As(V) in water extracted solution of pinnae in different conditions

3 讨论

砷超富集植物蜈蚣草羽叶中富集有大量的砷,主要以无机砷存在,其中 80% 左右是 As(III)^[8-10]。从本研究的结果可以看出,新鲜的蜈蚣草羽叶和新鲜的蜈蚣草羽叶的水提取溶液在冷藏避光条件下保存比较适合。在此条件下,即便保存 40 d,新鲜叶片中水溶态 As(III) 占总无机砷的比例几乎没有发生变化,蜈蚣草羽叶水提取溶液中无机砷形态变化也不大。Pizarro 等^[11]将水稻水提取溶液保存在避光和 4℃ 条件下,在 3 个月内,水稻水提取液中的 As(III) 会缓慢地向 As(V) 转化。冷藏避光保存有利防止植物样品中 As(III) 的氧化,可能是由于低温减缓了化学反应速率、抑制酶的活性、微生物的活动等缘故,使样品中 As(III) 不容易发生转化^[12]。

常温条件下,随着保存时间的延长,新鲜羽叶中 As(III) 占总无机砷的比例呈降低趋势,羽叶水提取溶液中的 As(III) 浓度也逐渐降低。Aggett 等^[13]指出,冷冻条件下保存会引起一些化学反应,比如化合物的共沉淀,且该沉淀反应在样品溶解过程中不会发生逆转。本研究也同样发现,在冷冻保存过程中,蜈蚣草羽叶中的水溶态总无机砷和羽叶水提取溶液中的 As(III) 和 As(V) 的浓度发生改变。表明冷冻处理并不适合于测定植物样品中无机砷形态的样品保存方法。而在 40 d 的保存期内,蜈蚣草新鲜羽叶中的水溶态 As(III) 占总无机砷的比例在冷藏条件下几乎没有变化,采用相同的方法保存羽叶水提取溶液,其 As(III) 浓度在冷藏条件下稳定不变。因此,推荐采用避光冷藏的方法保存新鲜植物,以保证植物样品保存过程中的无机砷形态不会发生变化。

参考文献:

[1] 韦朝阳,陈同斌. 高砷区植物的生态与化学特征[J]. 植物生态学报,2002,26(6): 695-700.
Wei C Y, Chen T B. The ecological and chemical characteristics of plants in the areas of high arsenic levels[J]. Acta Phytocologica Sinica, 2002, 26(6): 695-700.

[2] 蔡保松,陈同斌,廖晓勇,等. 土壤砷污染对蔬菜砷含量及食用安全性的影响[J]. 生态学报,2004,24(4): 711-717.
Cai B S, Chen T B, Liao X Y *et al.* Arsenic concentrations in soils and vegetables and their risk assessments in highly contaminated area in Hunan Province[J]. ACTA Ecologica Sinica, 2004, 24(4): 711-

717.

[3] Baroni F, Boscagli A, Di Lella L A *et al.* Arsenic in soil and vegetation of contaminated areas in southern Tuscany (Italy) [J]. Journal of Geochemical Exploration, 2004, 81(1-3): 1-14.

[4] 谢华,廖晓勇,陈同斌,林鉴剑. 污染农田中植物的砷含量及其健康风险评估—以湖南郴州邓家塘为例[J]. 地理研究,2005,24(1): 151-159.
Xie H, Liao X Y, Chen T B, Lin J Z. Arsenic in plants of farmland and its healthy risk: A case study in an As-contaminated site in Dengjiatang, Chenzhou city, Hunan province [J]. Geographical Research, 2005, 24(1): 151-159.

[5] Nriagu J O. Human health and ecosystem effects (Part II) [A]. Nriagu J O. Arsenic in environment[M]. New York: Wiley, 1994.

[6] 顾微,杨慧芬. 氢化物发生-原子荧光光谱法(HG-AFS)测定食品中不同价态的无机砷[J]. 卫生研究,1999,28(6): 372-374.
Gu W, Yang H F. Determination of inorganic arsenic in food by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry (HG-AFS) [J]. Journal of Hygiene Research, 1999, 28(6): 372-374.

[7] 廖晓勇,陈同斌,谢华,肖细元. 磷肥对砷污染土壤的植物修复效率的影响: 田间实例研究[J]. 环境科学学报,2004,24(3): 455-462.
Liao X Y, Chen T B, Xie H, Xiao X Y. Effect of application of P fertilizer on efficiency of As removal from As contaminated soil using phytoremediation: Field study[J]. ACTA Scientiae Circumstantiae, 2004, 24(3): 455-462.

[8] 陈同斌,韦朝阳,黄泽春,等. 砷超富集植物蜈蚣草及其对砷的富集特征[J]. 科学通报,2002,47(3): 207-210.
Chen T B, Wei C Y, Huang Z C *et al.* Arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and its arsenic accumulation [J]. Chinese Science Bulletin, 2002, 47(11): 902-903.

[9] 黄泽春,陈同斌,雷梅,等. 超富集植物蜈蚣草中砷化学形态的 EXAFS 研究[J]. 植物学报,2004,46(1): 46-50.
Huang Z C, Chen T B, Lei M *et al.* Direct determination of arsenic species in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* by EXAFS[J]. Acta Botanica Sinica, 2004, 46(1): 46-50.

[10] Ma L Q, Komar KM, Tu C *et al.* A fern that hyperaccumulates arsenic[J]. Nature, 2001, 409-579.

[11] Pizarro I, Gómez M, Càmara C, Palacios M A. Arsenic speciation in environmental and biological samples—Extraction and stability studies [J]. Analytica Chimica Acta, 2003, 495(1-2): 85-98.

[12] 陶溶溶,余定学,王亮,等. 砷形态水样的贮存方法及稳定性研究[J]. 干旱环境监测,2000,14(4): 193-196.
Tao R R, Yu D X, Wang L *et al.* Study on the reserving methods and stability of arsenic species in water sample[J]. Arid Environmental Monitoring, 2000, 14(4): 193-196.

[13] Aggett J, Kriegman M R. Preservation of arsenic (III) and arsenic (V) in samples of sediment interstitial water [J]. Analyst, 1987, 112: 153-157.