

内蒙古砷中毒和台湾乌脚病病区井水中 腐植酸性质的比较

余孝颖¹, 吕锋洲², 郑宝山¹, 刘聪桂³, 黄天祥⁴, 夏雅娟⁵, 洪清霖⁶

(1. 中国科学院地球化学研究所 环境地球化学国家重点实验室, 贵阳 550002; 2. 台湾大学医学院生化所, 3. 台湾大学地质系, 4. 台湾大学医学院内科, 5. 内蒙古地方病防治研究所, 内蒙古呼和浩特 020020; 6. 台北医学院)

[摘要] **目的** 为了探讨地下水性质与台湾乌脚病区相似的内蒙砷中毒病区今后是否会出现乌脚病 **方法** 用AAS(原子吸收光谱)、ICP-MS(等离子体发射光谱质谱)、红外、荧光和TLS(Total luminescence spectroscopy)光谱分析了两地水样的理化特征、元素组成、荧光强度和各种谱学特征;还对两病区水样中提取的腐植酸样品进行了Ames试验和脂质过氧化反应的试验 **结果** 发现内蒙砷中毒病区地下水属于HCO₃⁻-Na和HCO₃⁻-Cl-Na型,平均pH值为7.91,为弱碱性还原环境,两地水样中的砷浓度和腐植酸的荧光强度均较高,荧光强度与砷浓度、pH值和总溶解固体(TDS)呈正相关关系,且两地水中腐植酸的荧光光谱性质也相似,但是它们的红外光谱和TLS光谱有差异,这些差异在生物学效应上表现为:内蒙腐植酸具有较强的引发脂质过氧化反应的能力,而台湾腐植酸对TA98(±S9)菌株具有致突变作用 **结论** 内蒙砷病区5年内不太可能出现乌脚病。

[关键词] 砷中毒;腐植酸;光谱分析;致突变性;脂质过氧化反应;乌脚病

[中图分类号] R599.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-4955(2002)01-0037-04

Comparison of humic acid from endemic arsenicosis areas in Inner Mongolia with the Blackfoot disease areas in Taiwan

YU Xiao-ying¹, LU Feng-zhou², ZHENG Bao-shan¹, LIU Cong-gui³, HUANG Tiao-xiang⁴, XIA Ya-juan⁵, HONG Qing-lin⁶

(1. State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Academy of Chinese Sciences, Guiyang 550002, China; 2. Department of Biochemistry, College of Medicine, National Taiwan University, China; 3. Department of Geology, National Taiwan University, China; 4. Department of Internal Medicine, College of Medicine, National Taiwan University, China; 5. Institute of Preventive Disease in Inner Mongolia, Huhehaote, 010020; 6. College of Medicine Taipei, China)

Abstract: Objective In order to shed light on the pathogenesis of the Blackfoot disease (BD) with the concern is to whether the disease may eventually occur in arsenicosis-affected areas in Inner Mongolia. **Methods** The physical and chemical properties of humic acids (HA) extracted from drinking waters from the endemic arsenicosis areas in Inner Mongolia and from BD areas in Taiwan are studied by using AAS (atomic absorption spectrophotometry), ICP-MS (inductively coupled plasma emission-mass spectrometry), IR (Infrared spectroscopy), FR (fluorescence spectrometry) and TLS (total luminescence spectroscopy). Ames test and lipid peroxidation experiments were also conducted on these HA samples. **Results** It is found that water samples from the two regions are considerably high in As with strong fluorescence and apparent positive correlations between As content, fluorescence, pH and total dissolved solids (TDS). The water samples are similar in fluorescence spectra but differ somewhat in IR and TLS between the two regions. The difference may be a reflection of the difference in radicals and structure of the HA owing to different hydrogeological conditions, and may also be related to the difference in their biological effects, i. e., HA from Inner Mongolia have a stronger ability to cause lipid peroxidation while HA from Taiwan exhibits a more prominent effect of mutation with respect to TA98(±S9). **Conclusions** It is considered that BD is unlikely to be expected in Inner Mongolia at least in the near future.

Key words: Arsenicosis; Humic acid; Spectrum analysis; Mutation; Lipid peroxidation; Blackfoot disease

[收稿日期] 2001-07-25 **[修订日期]** 2001-11-02

[基金来源] 国家自然科学基金委员会(19475302)和中华发展基金会(台北)资助项目

[作者简介] 余孝颖(1945-),女,重庆市人,中国科学院地球化学研究所副研究员,学士,长期从事环境地球化学与健康研究。

1993年中国大陆和台湾学者共同考察时发现,内蒙砷病区某些高砷井水中也含有与台湾乌脚病区井水中相似的“荧光物质”,其荧光强度甚至超过了乌脚病区井水。水中的“荧光物质”首先是吕锋洲

1975年在台湾乌脚病区饮水中发现的,研究证实这种“荧光物质”就是腐植酸(Lu F. J., 1990)。由于乌脚病的临床症状与典型的砷中毒症状有较大差异,因此其病因一直存在争议。动物实验显示,砷会加强腐植酸诱发小白鼠末梢血管病变,砷与腐植酸具有协同的毒理作用(Lee E. F., 1997)。那么内蒙砷病区将来会不会也出现乌脚病呢?为此,两岸学者共同对两病区的水样以及从水样中提取的腐植酸进行了多方面的对比研究。

1 采样与腐植酸提取

1.1 采样区的地质地貌与水样采集

内蒙古中西部河套平原砷中毒病区地处河套新断陷盆地,中生代以来沉积了以河湖相为主的巨厚的松散堆积物。该区地处狼山、大青山山前冲洪积倾斜平原与黄河、大黑河冲湖积平原的交接地带,东西长约100 km,南北宽约10~40 km。病区北部的狼山、大青山古老变质岩系地层砷含量为10~60 mg/kg,狼山西段有大型多金属硫化物矿床,原生矿砷含量为24.6~70.6 mg/kg;南部是鄂尔多斯高原,区内地势低洼,在构造上为扇群前缘断裂南侧的深陷带,成为地表水与地下水的盐聚集地,也是各种有机质和风化淋溶物富集的强盐渍化地区。区内气候干旱,蒸发强烈,表层土壤次生盐渍化程度严重。山区岩石和矿物中的砷,通过风化淋溶和地下水的渗透,被带到山前平原的低洼带,经蒸发浓缩,富集在距地表5~30 m的浅部含水层中;该地层以冲湖积层和冲积层为主,间夹大量淤泥质和泥炭层的粉砂质粘土,腐植酸等有机质含量很高。此层位正是病区居民的取水层位,居民自1979年饮用压把井水后发生砷中毒。本次调查的水样采自上述病区的阿盟巴音毛道农场、巴盟临河市狼山镇、五原县什巴乡、乌拉特后旗的青山镇和呼和浩特市郊只几梁村的51户已发生砷中毒的农家压把井中。采样时采取了逐户调查的方法,先检查和记录病情,再从病家的压把井中取新鲜井水进行各项检测。

台湾乌脚病区主要分布在台湾西南海岸冲积平原上,地表水和浅层地下水含盐度甚高。自本世纪初开凿承压水井,井深在100~280 m之间,这一承压水的地下含水层称为“古亭坑层”,是浅海至中深海沉积层,含有多层大量的有机质软泥。地下水中腐植酸含量很高。台湾水样采自台湾云林、嘉义、台南及屏东县的38个乡1189口饮水井中,由台湾大学吕锋洲等分析测试(吕锋洲 a., 1989)。

1.2 腐植酸的提取

内蒙腐植酸样品采自阿盟巴

音毛道农场,从井深30 m的压把井中采取1000 L新鲜井水提取出约15 mg的固体腐植酸,饮用此井水的农民砷中毒症状典型,井水中腐植酸的荧光强度为61.0,砷含量为0.74 mg/L, pH值为7.97,前期做过比较详细的分析,具有较好的代表性。

台湾腐植酸样品由吕锋洲教授提供,是用同样的方法从台南县北门乡一口深井水中提取的,前期对此样品也做过比较详细的研究,作为对照的商品腐植酸样品购自美国Aldrich公司。

对这3种固体腐植酸样品进行了红外光谱、Ames致突变试验和脂质过氧化反应实验。

2 仪器与方法

2.1 水样的理化特征检测

在采样现场使用便携式仪器测定水样的pH值和电导率/TDS,内蒙水样中的砷浓度用ICP-MS测定, K, Na, Ca, Mg, Fe等阳离子浓度用原子吸收光谱测定, SO_4^{2-} , Cl^- , CO_3^{2-} , HCO_3^- 等阴离子浓度用容量法测定, CoDer, 用微波消解仪(重铬酸钾法)测定。台湾样品由吕锋洲等用相同的方法测定。

2.2 谱学分析

水样的荧光强度和腐植酸的荧光光谱,用岛津RF-540荧光分光光度计测定,腐植酸的红外光谱用傅立叶转换红外光谱测定。两地水样的TLS(Total Luminescence spectroscopy)光谱,委托加拿大Memaster University的J. R. Kramer教授测定。

2.3 Ames试验和脂质过氧化试验

根据Ames et al., 1975的方法,选用TA98(移码突变株)和TA100(碱基取代型突变株)对3种腐植酸样品进行了不加大鼠肝均浆(monooxygenase)(-S₀)和加大鼠肝均浆(+S₀)的致突变试验。各种腐植酸引发脂质过氧化反应按(Steven et al., 1987)的方法测定。

3 结果与讨论

3.1 内蒙水样的理化特征、砷浓度和地下水类型

表1是内蒙砷病区51口井水理化分析结果,从中可以看出,水样的平均水砷浓度为0.53 mg/L,高于世界卫生组织WHO和我国饮用水标准(0.05 mg/L)10倍以上。分析结果还显示,水样的荧光强度和COD都高,说明该区湖相沉积层中的腐植酸等有机质大量溶出,阳离子平均浓度变化顺序是: $\text{Na}^+ > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{K}^+$,阴离子的平均浓度变化顺序是: $\text{HCO}_3^- > \text{Cl}^- > \text{SO}_4^{2-} > \text{CO}_3^{2-}$,地下水类型主要是 $\text{HCO}_3^- \text{-Na}^+$ 型和 $\text{HCO}_3^- \text{-Cl}^- \text{-Na}^+$ 型。

表1 内蒙砷病区51口水井水样理化分析结果统计(mg/L)

分析项目	平均值	标准误差	标准偏差	样品数	置信度5%
井深(m)	21.52	1.72	10.89	51	1.06
K	4.39	0.35	2.51	51	0.71
Na ⁺	425.83	47.25	547.64	51	91.96
Ca ²⁺	70.33	7.16	51.12	51	11.58
Mg ²⁺	55.66	8.29	59.19	51	15.85
CO ₃ ²⁻	9.44	1.74	12.40	71	3.49
HCO ₃ ⁻	838.44	31.76	248.21	51	89.81
Cl ⁻	363.12	13.89	334.87	51	81.28
SO ₄ ²⁻	273.87	68.95	192.57	51	148.48
As	0.53	0.05	0.31	51	0.20
Fe	0.62	0.11	0.73	71	0.21
荧光强度	27.56	2.91	20.77	71	7.84
CODCr	29.97	2.11	17.21	51	5.84
pH	7.91	0.04	0.30	51	0.08
电导率 S/cm	1.72	0.13	0.95	51	0.28

在这种环境中,由于有丰富的盐类(K、Na、Ca、Mg等)提供营养物质,细菌活跃,微生物的生物化学作用引起环境氧化还原值降低,SO₄²⁻还原成S²⁻,HCO₃⁻还原成CH₄。不但产生出大量的H₂S、甲烷,而且也积累HCO₃⁻和Fe²⁺,形成了一个高还原性的复杂盐水体。As是一种亲生物、亲硫元素,在这种高还原性盐水体中,伴随大量有机质的分解,热力学预测,水中溶解的As³⁺将超过As⁵⁺占优势,可能主要以AsS₃⁻、H₂AsO₃⁻、大量的有机砷和少量的As⁵⁺(H₂AsO₄⁻、H₂AsO₄²⁻、HASO₄²⁻和AsO₄³⁻)的形式存在;于广军等(1995)对其中8口井水中的总砷、As³⁺和As⁵⁺进行的测试证实,在采取井水的24 h内As³⁺占

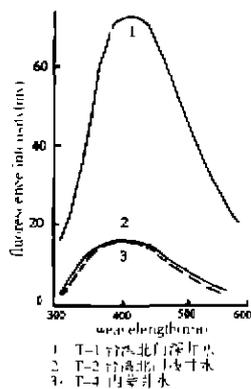


图1 内蒙和台湾水样的荧光光谱

普通荧光光谱和红外光谱比较:图1是两地水样的普通荧光光谱图。谱线①是台湾北门深井水,其荧光强度很大,显示腐植酸的浓度很高。谱线②(实线,台湾北门浅井水)和谱线③(虚线,内蒙只几染乡井水)几乎是两条重合的谱线,这一方面说明2份水样

到总砷的70%~90%,72 h后下降到20%~50%,与热力学预测相符。在任何地质上合理的H₂S浓度条件下,As₂S₃都是唯一的稳定相,而盐水中Na⁺、HS⁻和Cl⁻离子的存在以及微碱性的条件,增加了As₂S₃在水中的溶解度,大量的As³⁺在水中可能与腐植酸形成配合物保存在地层的有机质中。

3.2 影响内蒙水样中砷浓度的因素以及与台湾水样的比较 相关性分析显示,内蒙水样中的砷浓度与荧光强度、COD、pH显著正相关(*r*分别为0.39, 0.36, 0.56, *P* < 0.01),与主要的阳离子K、Na、Ca、Mg浓度和Fe²⁺的浓度均不相关;与阴离子中的CO₃²⁻(*r*为0.30, *P* < 0.05)显著正相关,而CO₃²⁻主要也是有机质分解产物CO₂溶于水形成的,砷浓度与HCO₃⁻、Cl⁻和SO₄²⁻不相关。但与井深有一定的相关关系。相关程度的顺序是:pH > 荧光强度 > COD > CO₃²⁻。这进一步证明砷的富集主要是由水中的有机质分解引起的,pH值对腐植酸富集砷的影响最大,环境的氧化还原程度是砷富集最主要的控制因素。

从两地水样理化特征比较中发现内蒙和台湾水样在pH值、荧光强度和总溶解固体(TDS)方面具有相似性,砷浓度的差异较大,内蒙水样的砷浓度明显大于台湾,产生差异的原因最主要是水文地质条件不同,从相关分析结果显示,两地水样的腐植酸荧光强度都与砷浓度、pH值和电导率呈显著正相关关系。

3.3 内蒙与台湾两地腐植酸样品的光谱性质比较

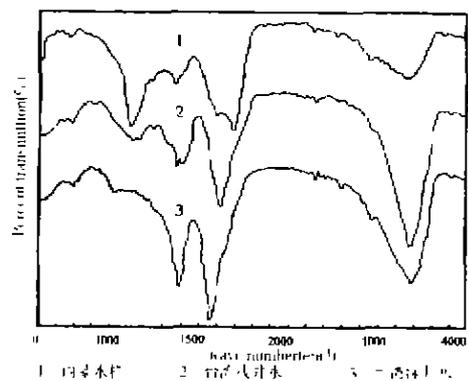


图2 两地水样腐植酸的红外光谱

所含腐植酸的荧光性质和强度都极相似;另一方面也说明用传统的荧光光谱来检测腐植酸的荧光性质缺乏特异性,许多细节无法检测出来。

图2是两地水样的红外光谱,各个吸收峰的位置和峰形有相似之处,但两地谱线也有不同的地方;内

蒙水样在 1700 cm^{-1} 处有 $\text{C}=\text{O}$, 1200 cm^{-1} 处有 $\text{C}-\text{O}$ 的吸收振动峰;而台湾水样在 $1100\sim 1200\text{ cm}^{-1}$ 处有一个大的 $\text{C}-\text{O}$ 的吸收振动峰,台湾北门深井水与浅井水在峰的强度上也有明显差异,说明由于地质地层条件不同,同一个地区的腐植酸在聚合度、含氧量等方面存在差异。

TLS 光谱比较,传统荧光光谱无法区分出两地

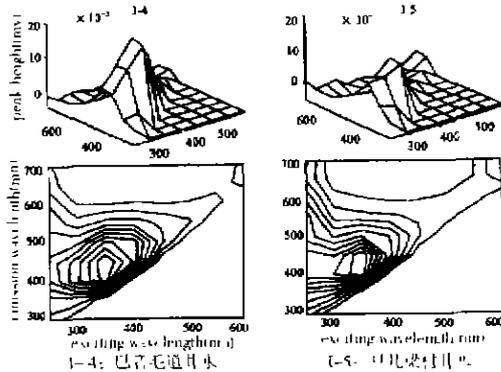


图3 内蒙水样的 TLS 光谱

图3显示内蒙组的 I-4 和 I-5 在 $350/450$ 处都有一个主峰,暗示有一种以上的荧光物质对所观察到的荧光性质有所贡献。图4显示台湾组的 T-1 和 T-2 大约在 $367/450$ 的位置上有一个峰,还有一个峰在较长的波长上,已超出扫描范围。它在 $367/450$ 处的峰不象内蒙组那样向短波长延伸。可以看出内蒙组和台湾组样品组内是相似的,但组间有差异。通过与典型荧光化合物峰位置图形的对比,推断内蒙与台湾水样中的腐植酸荧光性质很相似,但内蒙样品中简单芳香族化合物多于台湾样品,这些差异的毒理学意义,还需进一步研究。

3.4 两地腐植酸样品的致突变能力比较和引发脂质过氧化反应能力比较 为研究两地腐植酸差异的生物学效应,对内蒙和台湾腐植酸以及商品腐植酸进行了 Ames 试验,结果发现台湾腐植酸对于 TA98 (S9) 菌株有致突变能力,但致突变能力较弱;这与过去的实验结果基本相符(吕锋洲 b, 1989),也是对当地癌症高发的流行病学调查结果的一种支持。而内蒙腐植酸样品的荧光强度虽然很高,但没有发现致突变作用;单纯的商品腐植酸和单纯的神也没有发现致突变作用。

台湾乌脚病与典型神中毒病的最大区别在于乌脚病的主要症状是下肢末梢血管栓塞症,主要病理变化都与血管内脂质过氧化过程有密切关系,因此,我们在试管内测定了两地腐植酸引起不饱和脂肪酸钠盐($\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{O}_2\text{Na}$)产生脂质过氧化反应的能力,结果发现,内蒙腐植酸引起脂质过氧化反应的能力最

水样荧光性质的细节,但红外光谱已经显示两地腐植酸样品在结构上有差异,而“TLS”分析技术能非常精确且特异地用来表征溶解有机质,特别是天然样品的荧光性质,因此对内蒙水样 I-4(巴音毛道农场井水)、I-5(只几梁乡井水)和台湾水样 T-1(北门深井水)、T-2(北门浅井水)进行了“TLS”分析,结果显示在图3和4内。

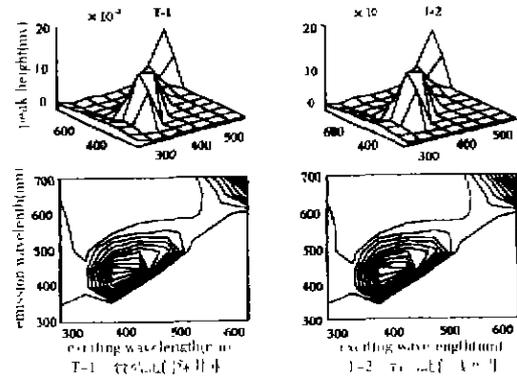


图4 台湾水样的 TLS 光谱

强,其次是台湾,最后是商品腐植酸。同时发现, 0.05 nmol/L 的 Fe^{2+} 能促进这一反应而 1 nM 的 As_2O_3 却不能,推测内蒙腐植酸中自由基的含量可能大于台湾。

通过以上分析发现,内蒙砷病区与台湾乌脚病区的井水在理化特征上有许多相似之处,但其砷浓度和腐植酸的结构有明显差异,生物学效应也不一样,因此作者认为,内蒙砷病区5年内不太可能发生乌脚病。

[参考文献]

- [1] Lu FJ. Blackfoot disease: arsenic or humic acid? [J]. *Lancet*, 1930, 336, 115-116.
- [2] Lee EF, and Lu FJ. Pathological changes in experimental animals induced by fluor-escence humic acid and arsenic [J]. *Symposium Journal of Medicine*, 1937, 6, 689-697.
- [3] 吕锋洲,谢宏彦,吴新英,等.乌脚病流行区井水中砷浓度、砷浓度、pH值和总溶解固体物彼此之相关性及其与乌脚病流行度之探讨[A]. 经济部中央地质调查所水与地质研讨会论文集[C], 1989, 9, 151-164.
- [4] 吕锋洲,吕明芬,张金坚,等.乌脚病患区井水荧光物质的诱变性分析[J]. *中华癌医杂志*, 1989, 5(1), 1-8.
- [5] 于广军,马恒之,武克基,等.内蒙古地方性砷中毒地区环境砷调查[A]. *中国地方病学杂志*, 地方性砷中毒论文集[C], 1995, 2, 16-17.
- [6] Ames B, N. M. C. and T. M. S. K. E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with *Salmonella typhimurium* mutagenicity test [J]. *Mut. Res.*, 1975, 31, 347-61.
- [7] Steven H. Y. Wong, Joseph A. Knight et al. Fluor-escence in Plasma is Measured by Liquid-Chromatographic Separation of Malondialdehyde-Thioarbituric Acid Adduct [J]. *CLIN CHEM*, 1987, 33(2), 214-220.