

## 土壤镉元素一步萃取技术比较研究

王凯, 林国冰, 王琳\* (中南大学化学化工学院, 湖南长沙 410083)

**摘要** 为优化土壤摄入过程中 Cd 生物可给含量的评估方法, 以土壤标准物质 GSF-5 (GBW07445) 和 GSF-3 (GBW07443) 为样本比较一步萃取法、PBET 法和赋存形态的关系, 并采集长沙市周边 40 个土壤样本进行方法验证。结果表明, Cd 在胃相中的生物可给含量与前 4 种结合形态密切相关; 一步萃取法中 6 种萃取剂对土壤中 Cd 的提取能力从强到弱依次为 EDTA-2Na>DTPA>CH<sub>3</sub>COONa>CH<sub>3</sub>COOH>NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>>CaCl<sub>2</sub>, EDTA-2Na 最优的萃取剂浓度为 0.02 mol/L; 测定实际样本的结果表明, 优化后的一步萃取方法 [0.02 mol/L EDTA-2Na, pH=7, 固液比 1:20 (W/V), 温度 (25±2) °C, 转速 200 r/min, 时间 2 h] 与相应的 PBET 方法模拟的 Cd 生物可给含量具有高度相关性, 其回归方程 R<sup>2</sup> 为 0.98, 证明土壤一步萃取技术在某种程度上可以代替 PBET 方法来评估土壤中的某些重金属生物可给性, 简化土壤重金属生物可给性的研究。

**关键词** 镉; 一步萃取法; 生物可给性; 土壤污染

**中图分类号** X53 **文献标识码** A

**文章编号** 0517-6611(2022)10-0059-04

**doi**: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.10.015



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

## Comparative Study on One-step Extraction Method of Cadmium in Soil

WANG Kai, LIN Guo-bing, WANG Lin (College of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha, Hunan 410083)

**Abstract** In order to optimize the evaluation method of Cd bioavailable content in the process of soil uptake, the relationship between one-step extraction method, PBET method and occurrence form was compared with soil standard substances GSF-5 (GBW07445) and GSF-3 (GBW07443) as samples. And 40 soil samples around Changsha City were collected for method verification. The results showed that the bioavailable content of Cd in the gastric phase was closely related to the first four binding forms. The six extractants in the one-step extraction method could extract Cd in the soil as follows: EDTA-2Na>DTPA>CH<sub>3</sub>COONa>CH<sub>3</sub>COOH>NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>>CaCl<sub>2</sub>, the optimal extractant concentration of EDTA-2Na was 0.02 mol/L. The results of measuring actual samples showed that the optimized one-step extraction method (0.02 mol/L EDTA-2Na, pH=7, solid-liquid ratio = 1:20 (W/V), temperature 25±2 °C, speed = 200 r/min, time = 2 h) was highly correlated with the Cd bioavailable content simulated by the corresponding PBET method. The regression equation R<sup>2</sup> was 0.98, which proved the one-step soil extraction technology could replace the PBET method to assess the bioavailability of certain heavy metals in the soil to some extent, simplifying the research on the bioavailability of heavy metals in the soil.

**Key words** Cadmium; One-step extraction method; Bioavailability; Soil pollution

工业生产和冶炼活动可能会对土壤环境造成较大的重金属污染<sup>[1]</sup>, 全国土壤污染调查显示, 我国耕地土壤重金属点位超标率为 19.4%, 其中镉 (Cd)、汞 (Hg)、砷 (As)、铜 (Cu)、铅 (Pb)、铬 (Cr)、锌 (Zn)、镍 (Ni) 8 种重金属元素均有不同程度的超标, 以 Cd 污染程度最重, 超标率为 7.0%<sup>[2]</sup>。张建辉等<sup>[3]</sup>对湖南省 108 组土壤样品检测发现, 土壤 Cd 超标率达 90.7%。土壤中 Cd 可以通过食入、吸入和皮肤接触的方式轻易进入人体<sup>[4]</sup>, 严重危害人体的健康, 且具有长期性、隐蔽性和不可逆性等特点<sup>[5]</sup>。因为误食土壤可能会极大地影响化学物质暴露估计值, 所以土壤摄入量问题也得到相当多的关注并因此出台了关于土壤和灰尘摄入量的推荐规范<sup>[6-7]</sup>。大量研究表明, 摄入土壤中的 Cd 能引起一系列的健康问题<sup>[8-9]</sup>, 土壤摄入率 (SIR) 已经成为对污染土壤风险评估的重要指标之一<sup>[10]</sup>。

体外模拟法<sup>[11]</sup>接近人体内真实的生理环境, 常用来评估人体所摄入物质中的重金属可给性, 但体外模拟法步骤烦琐, 因此在大批量土壤分析中有很大局限性。对于 Cd 元素来说, 其在基质中的可给性部分主要是在胃相中的酸性条件

下释放的。基于这个原因, 很多简化的一步萃取法被开发出来以代替传统体外模拟法来模拟 Cd 在胃相生物可给性<sup>[12]</sup>。因此, 笔者研究了生物原理提取法 (PBET) 和一步萃取法以及土壤中 Cd 赋存形态的关系, 并分析了一步萃取方法中不同萃取剂的萃取。

## 1 材料与方法

**1.1 土壤实际样品的采集与处理** 从长沙市周边的农田中随机采集 40 个土壤样本 (约 500 g), 每个样本均采自距土壤表层 0~20 cm 深的耕作层, 用自封袋封装后带回实验室阴干, 随后剔除土壤中的石块、木屑等杂物并过 2 mm 尼龙筛, 使样本充分混匀。取大约 10 g 混匀后的样本进一步研磨、混匀, 过 0.2 mm 尼龙筛后用自封袋封装并置于干燥器中。

**1.2 土壤标准物质** 土壤标准物质 GSF-5 (GBW07445) 和 GSF-3 (GBW07443) 被用来研究 PBET 和一步萃取法对土壤中重金属的提取效率以及提取的重金属生物可给含量与相应的赋存形态之间的关系。标准物质 GSF-5 和 GSF-3 中的重金属赋存形态包括水溶态、离子交换态、碳酸盐结合态、腐殖酸态、铁锰氧化物结合态、有机结合态和残渣态。

**1.3 基于 PBET 法测定土壤重金属生物可给性** 采用 PBET 法提取土壤中的生物可给重金属, PBET 法所需试剂见表 1。具体操作步骤如下: 称取 0.2 g 土壤粉末样品并转移至 50 mL 密封的离心管中, 加入 20 mL 胃相溶液混合。将离心管放在水浴摇床中于 37 °C、150 r/min 条件下进行

**基金项目** 国家自然科学基金项目 (41977351); 中南大学研究生自主探索创新项目 (1053320210996)。

**作者简介** 王凯 (1997—), 男, 河北邯郸人, 硕士研究生, 研究方向: 土壤污染和水稻污染。\* 通信作者, 副教授, 博士, 硕士生导师, 从事环境化学、环境工程和食品安全相关研究。

**收稿日期** 2021-10-11

模拟消化。每个样品设置6个平行。在反应进行1 h时取出对应样品的3个离心管(3个平行),以9 000 r/min离心10 min后上清液过0.22  $\mu\text{m}$ 滤膜得到胃相消化液。同时,其余3个离心管用饱和的碳酸氢钠溶液将pH调升至7,再分别加入35 mg猪胆汁盐和10 mg胰酶,然后在37  $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min条件下继续反应4 h。待反应结束后将离心管以9 000 r/min离心10 min并过0.22  $\mu\text{m}$ 滤膜得到肠相消化液。胃相和肠相消化液保存在4  $^{\circ}\text{C}$ 条件下并在24 h内进行As总量与形态分析。

表1 PBET法所需试剂和含量以及pH

Table 1 Reagents, content and pH required for PBET method

模拟状态 Simulation state	所需试剂及含量 Required reagents and content	pH
胃相 Stomach phase	胃蛋白酶 1.25 g/L; 柠檬酸 0.5 g/L; 苹果酸钠 0.5 g/L; DL-乳酸 420 $\mu\text{L}$ /L; 乙酸 500 $\mu\text{L}$ /L	2.5
肠相 Intestinal phase	胃蛋白酶 1.25 g/L; 柠檬酸 0.5 g/L; 苹果酸钠 0.5 g/L; DL-乳酸 420 $\mu\text{L}$ /L; 乙酸 500 $\mu\text{L}$ /L; 胰酶 0.5 g/L; 猪胆汁盐 1.75 g/L	7.0

为了分析重金属生物可给含量的变化趋势,用GSF-5和GSF-3土壤标准物质模拟土壤重金属生物可给含量。对于PBET胃相,检测了0.5、1.0、1.5、2.0 h时的重金属含量。对于PBET肠相,检测了1.0、2.0、3.0、4.0 h时的重金属含量。

**1.4 基于一步萃取法测定土壤重金属生物可给性** 用6种常用的一步萃取法萃取土壤标准物质GSF-5和GSF-3,以检测不同萃取剂的萃取能力并比较不同萃取剂的萃取浓度及其赋存形态之间的关系。不同萃取剂的试剂浓度和萃取条件如表2所示。称取1 g土壤样品置于50 mL离心管中,加入20 mL萃取剂在200 r/min、(25 $\pm$ 2)  $^{\circ}\text{C}$ 条件下萃取2 h。待萃取结束后,将离心管在4 000 r/min下离心10 min,并将上清液过滤、稀释、酸化,随后用ICP-MS在24 h内检测。

表2 萃取剂及萃取条件

Table 2 Extractants and extraction conditions

试剂 Reagent	分子式 Molecular formula	浓度 Concentration mol/L
氯化钙 Calcium chloride	CaCl <sub>2</sub>	0.01
醋酸钠 Sodium acetate	CH <sub>3</sub> COONa	1
硝酸铵 Ammonium nitrate	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0.1
醋酸 Acetic acid	CH <sub>3</sub> COOH	0.1
EDTA-2Na(乙二胺四乙酸二钠)	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.01、0.02、0.03、0.05、0.08、0.10
DTPA(二乙基三胺五乙酸)	C <sub>14</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> O <sub>10</sub>	0.005

## 2 结果与分析

**2.1 长沙市周边农田土壤Cd总量** 经统计,长沙市周边40个农田土壤Cd总量平均值(0.78 mg/kg)高于湖南省(0.08 mg/kg)<sup>[13]</sup>和全国(0.097 mg/kg)<sup>[14]</sup>土壤背景值,分别达到湖南省和全国背景值的9.75和8.04倍,表明长沙市周边农田土壤存在较为严重的Cd污染。Cd含量最大值

(2.46 mg/kg)分别达到湖南省和全国土壤背景值的30.75和25.36倍,表明在个别农田土壤中存在极为严重的Cd污染情况,应当引起足够的重视并采取相应的措施。

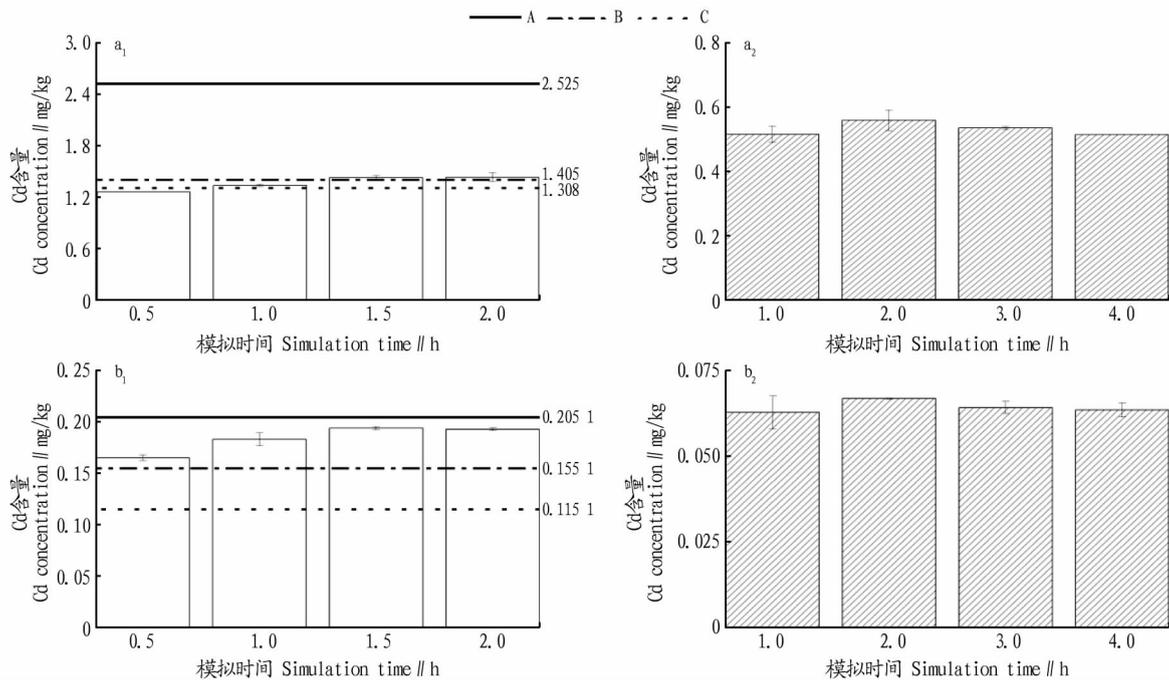
**2.2 Cd生物可给性和赋存形态之间的关系** 通过对GSF-5和GSF-3土壤标准物质的体外PBET模拟研究了Cd的可给性变化,以及重金属生物可给含量与结合形态之间的关系,试验条件及生物可给含量变化的趋势如图1所示。

在胃相和肠相体系中,Cd生物可给含量均随着时间的增加而增加。对于肠相和胃相过程,Cd在肠相中的生物可给含量低于在胃相中的含量,出现这种现象的原因之一是肠相中的pH从2.5急剧升高到7.0,模拟消化液中的Cd元素形成沉淀或与其他营养物质形成共沉淀<sup>[15]</sup>。对于Cd在胃相和肠相中生物可给含量与赋存形态的关系,其在胃相中的生物可给含量与前4种结合形态(水溶态、离子交换态、碳酸盐结合态和腐殖酸态)密切相关。

**2.3 一步萃取法的比较和优化** 从图2可以看出,6种萃取剂(0.05 mol/L EDTA-2Na、0.005 mol/L DTPA、1 mol/L CH<sub>3</sub>COONa、0.1 mol/L CH<sub>3</sub>COOH、0.1 mol/L NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>、0.01 mol/L CaCl<sub>2</sub>)对土壤中Cd的提取能力存在较大差别。平均而言,6种萃取剂对土壤中Cd的提取能力从强到弱依次为EDTA-2Na>DTPA>CH<sub>3</sub>COONa>CH<sub>3</sub>COOH>CaCl<sub>2</sub>>NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>,其中EDTA-2Na、DTPA的提取能力显著高于其他4种萃取剂。目前,主流的有效镉提取剂包括络合剂、稀酸、缓冲溶液和中性盐溶液等<sup>[16]</sup>。EDTA-2Na、DTPA是常用的络合剂,可通过离子螯合作用将部分与土壤固相结合Cd置换并生成螯合物,可提取水溶态、可交换态和部分碳酸盐结合态、有机结合态和铁锰氧化物结合态的Cd<sup>[17]</sup>,具有较强的提取能力。

在该试验中,EDTA-2Na萃取剂的提取能力和PBET法最相近,因此对EDTA-2Na萃取剂进行单因子优化,研究EDTA-2Na的最佳萃取浓度。从图3可以看出,EDTA-2Na萃取剂浓度在0.01~0.10 mol/L时,其对Cd的萃取能力出现先增大后减小的现象。在GSF-5和GSF-3中,EDTA-2Na分别在0.02和0.03 mol/L时表现出了最强的萃取能力,表明当EDTA-2Na萃取剂浓度过低或过高时其萃取能力都会受到抑制,有类似研究也得到相近结果<sup>[18]</sup>。相比GSF-3,GSF-5具有更高的Cd含量,因此该研究选择0.02 mol/L的EDTA-2Na作为一步萃取法中的萃取剂。

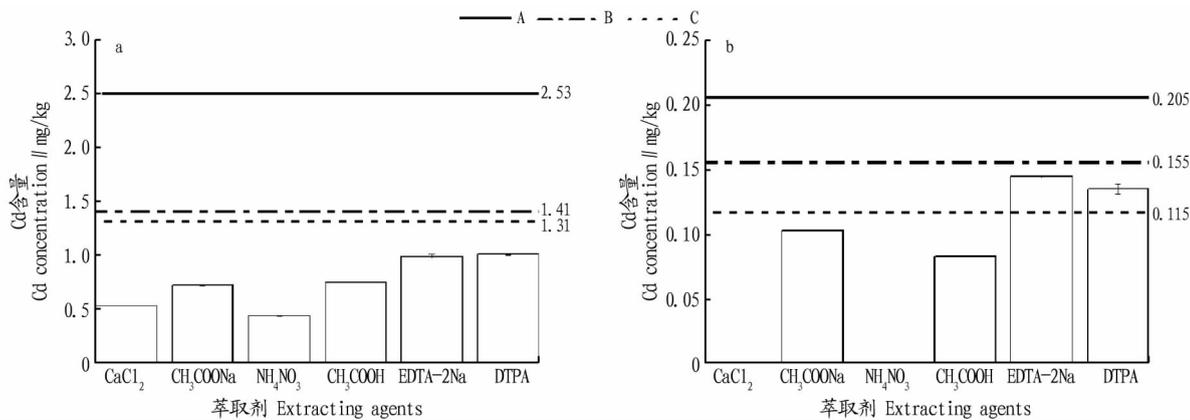
**2.4 一步萃取法与PBET法的比较** 采用0.02 mol/L EDTA-2Na萃取剂和PBET法对长沙市周边40个农田土壤实际样品进行萃取,并比较一步萃取含量和PBET模拟的生物可给含量之间的关系,其结果如图4所示。对于Cd元素,一步萃取含量和胃相中的生物可给含量非常接近且大于肠相中的生物可给含量。结果表明,对于实际土壤样品,采用0.02 mol/L EDTA-2Na作为萃取剂的一步萃取法和PBET法胃相模拟也具有接近的提取能力。



注: a<sub>1</sub>, b<sub>1</sub> 为 PBET 模拟方法的胃相; a<sub>2</sub>, b<sub>2</sub> 为 PBET 模拟方法的肠相。A、B 和 C 分别表示前 5、前 4 和前 3 种赋存形态的重金属含量之和, 第 1~5 种赋存形态分别指水溶态、离子交换态、碳酸盐结合态、腐殖酸态和铁锰氧化物结合态  
 Note: a<sub>1</sub>, b<sub>1</sub> are the gastric phase of the PBET simulation method; a<sub>2</sub>, b<sub>2</sub> are the intestinal phase of the PBET simulation method. A, B and C represent the sum of the heavy metal contents in the top 5, 4 and 3 existing forms, respectively, the first to fifth occurrence forms refer to water-soluble state, ion-exchange state, carbonate-bound state, humic acid state and iron-manganese oxide-bound state, respectively

图 1 PBET 模拟期间 GSF-5(a) 和 GSF-3(b) 中 Cd 生物可给含量变化

Fig.1 Changes of Cd bioavailable content in GSF-5(a) and GSF-3(b) during PBET simulation



注: A、B 和 C 分别表示前 5、前 4 和前 3 种赋存形态的重金属含量之和, 第 1~5 种赋存形态分别指水溶态、离子交换态、碳酸盐结合态、腐殖酸态和铁锰氧化物结合态  
 Note: A, B and C represent the sum of the heavy metal contents in the top 5, 4 and 3 existing forms, respectively, the first to fifth occurrence forms refer to water-soluble state, ion-exchange state, carbonate-bound state, humic acid state and iron-manganese oxide-bound state, respectively

图 2 不同萃取剂对 GSF-5(a) 和 GSF-3(b) 中 Cd 的萃取能力

Fig.2 The extraction ability of different extractants for Cd in GSF-5(a) and GSF-3(b)

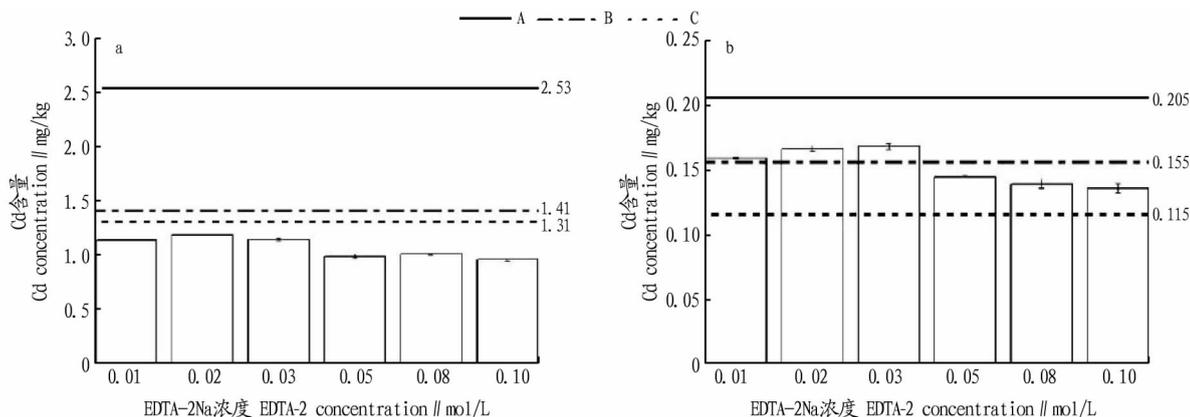
如图 5 所示, 对 40 个农田土壤中的一步萃取 Cd 含量和 PBET 法模拟的胃相 Cd 生物可给含量的回归方程和相关性进行比较, 可知优化的一步萃取法对 Cd 有接近于 PBET 法胃相模拟的提取能力, 一步萃取 Cd 含量(x)与胃相 Cd 生物可给含量(y)具有较好的相关性, 其回归方程为  $y = 0.89x + 0.01 (R^2 = 0.98)$ , 表明一步萃取法可以用来代替 Cd 元素在 PBET 法中相应的生物可给含量, 从而避免 PBET 法相对复

杂、烦琐的问题。

### 3 结论

(1) Cd 胃相浓度随着 PBET 模拟时间的增加趋近于其在土壤中前 4 种赋存形态(水溶态、离子交换态、碳酸盐结合态和腐殖酸态)之和, 证明这 4 种赋存形态的 Cd 在摄入后可被人体吸收, 具备生物可给性。

(2) 6 种常用萃取剂比较表明, EDTA-2Na 萃取剂一步

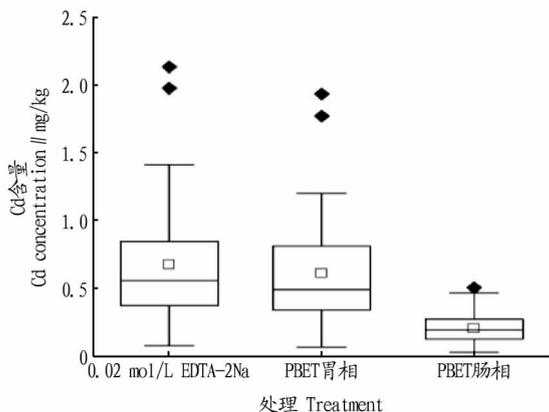


注: A、B 和 C 分别表示前 5、前 4 和前 3 种赋存形态的重金属含量之和,第 1~5 种赋存形态分别指水溶态、离子交换态、碳酸盐结合态、腐殖酸态和铁锰氧化物结合态

Note: A, B and C represent the sum of the heavy metal contents in the top 5, 4 and 3 existing forms, respectively, the first to fifth occurrence forms refer to water-soluble state, ion-exchange state, carbonate-bound state, humic acid state and iron-manganese oxide-bound state, respectively

图 3 不同含量 EDTA-2Na 对 GSF-5 (a) 和 GSF-3 (b) 中 Cd 的萃取能力

Fig.3 Extraction ability of Cd in GSF-5 (a) and GSF-3 (b) with different contents of EDTA-2Na



注: 箱形内部矩形为平均值, 菱形代表离群值, 箱体外上下 2 条横线为本组数据的异常值截断点, 箱体内外中上 3 条横线分别为本组数据的 25% 数据点、中点和 75% 数据点

Note: The rectangle inside the box is the mean value, the diamond is the outlier, the upper and lower horizontal lines outside the box are the cut-off points of outliers in this group of data. The three horizontal lines in the lower, middle and upper part of the box are the 25% data points, the midpoint and the 75% data points of the group of data respectively

图 4 长沙市农田土壤一步萃取、PBET 胃相和 PBET 肠相中 Cd 生物可给含量箱形图

Fig.4 Box plot of Cd bioavailable content in one-step extraction of farmland soil, PBET gastric phase and PBET intestinal phase in Changsha City

萃取 Cd 的效果最接近 PBET 法, 针对 EDTA-2Na 萃取剂进行单因子优化, EDTA-2Na 萃取剂在 0.02 mol/L 时表现出最强的萃取能力。

(3) 对长沙市周边 40 个农田土壤进行一步萃取法的方法验证, 结果证明, 优化的一步萃取法对 Cd 有接近于 PBET 法胃相模拟的提取能力, 一步萃取含量与胃相生物可给含量具有较好相关性, 其回归方程  $R^2$  为 0.98, 可代替 PBET 法进行大批量土壤中 Cd 生物可给含量的分析。

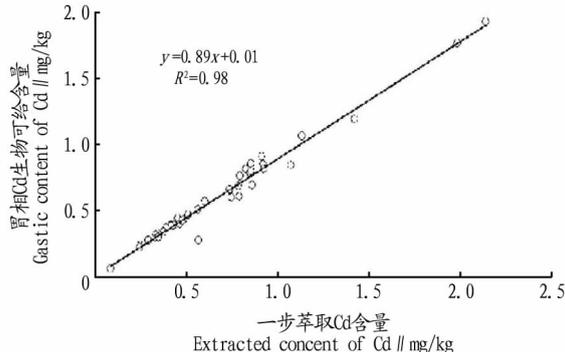


图 5 一步萃取 Cd 含量和 PBET 胃相 Cd 生物可给含量之间的关系

Fig.5 Relationship between Cd content in one-step extraction and PBET gastric Cd bioavailable content

## 参考文献

- [1] 陈雅丽, 翁莉萍, 马杰, 等. 近十年中国土壤重金属污染源解析研究进展 [J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(10): 2219-2238.
- [2] 全国土壤污染状况调查公报 [J]. 中国环保产业, 2014(5): 10-11.
- [3] 张建辉, 王芳斌, 汪霞丽, 等. 湖南稻米镉和土壤镉锌的关系分析 [J]. 食品科学, 2015, 36(22): 156-160.
- [4] GU Y G, GAO Y P. Bioaccessibilities and health implications of heavy metals in exposed-lawn soils from 28 urban parks in the megacity Guangzhou inferred from an *in vitro* physiologically-based extraction test [J]. Ecotoxicology and environmental safety, 2018, 148: 747-753.
- [5] 李婧, 周艳文, 陈森, 等. 我国土壤镉污染现状、危害及其治理方法综述 [J]. 安徽农学通报, 2015, 21(24): 104-107.
- [6] U.S.E. Exposure Factors Handbook Chapter 5 (Update): Soil and Dust Ingestion [M]. Washington, DC: US EPA Office of Research and Development; US EPA Office of Research and Development, 2017.
- [7] DOYLE J R, BLAIS J M, WHITE P A. Mass balance soil ingestion estimating methods and their application to inhabitants of rural and wilderness areas: A critical review [J]. Science of the total environment, 2010, 408(10): 2181-2188.
- [8] 崔祥芬, 张琴, 田森林, 等. 中国稻田土壤镉污染及务农性暴露概率风险 [J]. 中国环境科学, 2021, 41(8): 3878-3886.
- [9] 沈倩, 党秀丽. 土壤重金属镉污染及其修复技术研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2015, 43(15): 92-94.
- [10] DUAN X L, ZHAO X G, WANG B B, et al. Highlights of the Chinese Exposure Factors Handbook [M]. Beijing: Science Press, 2015.

及治疗后酶活提升,基因表达量也有所上调,因此对多子小瓜虫具有一定的治疗效果。硫酸铜可以促进多子小瓜虫从鱼体脱落形成包囊,但也会影响体表黏液细胞的形成和黏液正常分泌,并不利于草鱼免疫力的提升,因此硫酸铜对小瓜虫的预防和治疗效果均较差。上述结果表明药物可以通过调控鱼类自身的黏液分泌,增强其屏障作用的机制,从而对多子小瓜虫起到一定的防治作用,在鱼类养殖和疾病防治方面具有重要意义和良好前景。

## 参考文献

- [1] LAZADO C C, CAIPANG C M A. Mucosal immunity and probiotics in fish [J]. *Fish & shellfish immunology*, 2014, 39(1): 78-89.
- [2] GOMEZ D, SUNYER J O, SALINAS I. The mucosal immune system of fish: The evolution of tolerating commensals while fighting pathogens [J]. *Fish & shellfish immunology*, 2013, 35(6): 1729-1739.
- [3] GUARDIOLA F A, CUESTA A, ABELLÁN E, et al. Comparative analysis of the humoral immunity of skin mucus from several marine teleost fish [J]. *Fish & shellfish immunology*, 2014, 40(1): 24-31.
- [4] SHOEMAKER C A, LAFRENTZ B R. Growth and survival of the fish pathogenic bacterium, *Flavobacterium columnare*, in tilapia mucus and porcine gastric mucin [J]. *FEMS microbiology letters*, 2015, 362(4): 1-5.
- [5] SITJÀ-BOBADILLA A, ESTENSORO I, PÉREZ-SÁNCHEZ J, et al. Immunity to gastrointestinal microparasites of fish [J]. *Developmental & comparative immunology*, 2016, 64: 187-201.
- [6] 李言伟, 江飏, 但学明, 等. 鱼类抗刺激隐核虫感染的黏膜免疫研究进展 [J]. *水产学报*, 2019, 43(1): 156-167.
- [7] 程卫东, 唐婉琴, 张江惠, 等. 水体中铬暴露对斑点叉尾鮰血液生理生化指标的影响 [J]. *重庆师范大学学报(自然科学版)*, 2017, 34(3): 33-37.
- [8] VANN C D, MEGONIGAL J P. Elevated CO<sub>2</sub> and water depth regulation of methane emissions: Comparison of woody and non-woody wetland plant species [J]. *Biogeochemistry*, 2003, 63(2): 117-134.
- [9] VON GERSDORFF JØRGENSEN L. The fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis*-Host immunology, vaccines and novel treatments [J]. *Fish & shellfish immunology*, 2017, 67: 586-595.
- [10] DAWOOD M A O, KOSHIO S, EL-SABAGH M, et al. Changes in the

growth, humoral and mucosal immune responses following  $\beta$ -glucan and vitamin C administration in red sea bream, *Pagrus major* [J]. *Aquaculture*, 2017, 470: 214-222.

- [11] 王利. 鲤鱼实验性铜中毒的病理学研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2003: 32-34.
- [12] 姜蕾. 五倍子对鲤鱼细胞色素 P4503A 的影响和药效研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2006: 10-13.
- [13] 邓永强, 汪开毓, 黄小丽. 鱼类小瓜虫病的研究进展 [J]. *大连水产学院学报*, 2005, 20(2): 149-153.
- [14] ZHANG Q Z, XU D H, KLESIUS P H. Evaluation of an antiparasitic compound extracted from *Galla chinensis* against fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis* [J]. *Veterinary parasitology*, 2013, 198(1/2): 45-53.
- [15] ROOSTA Z, HAJMORADLOO A, GHORBANI R, et al. The effects of dietary vitamin C on mucosal immune responses and growth performance in Caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*) fry [J]. *Fish physiology & biochemistry*, 2014, 40(5): 1601-1607.
- [16] 谢一荣, 吴锐全, 谢骏, 等. 维生素 C 对大口黑鲈生长与非特异性免疫的影响 [J]. *大连水产学院学报*, 2007, 22(4): 249-254.
- [17] LYGREN B, HAMRE K, WAAGBØ R. Effects of dietary pro- and antioxidants on some protective mechanisms and health parameters in Atlantic salmon [J]. *Journal of aquatic animal health*, 1999, 11(3): 211-221.
- [18] 胡毅, 黄云, 文华, 等. 维生素 C 对青鱼幼鱼生长、免疫及抗氨氮胁迫能力的影响 [J]. *水产学报*, 2013, 37(4): 565-573.
- [19] 文华, 严安生, 雍文岳, 等. 饲料维生素 C 水平对草鱼的免疫功能和抵抗病菌感染的影响 [J]. *饲料工业*, 2005, 26(18): 55-59.
- [20] AI Q H, MAI K S, TAN B P, et al. Effects of dietary vitamin C on survival, growth, and immunity of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* [J]. *Aquaculture*, 2006, 261(1): 327-336.
- [21] ROBERTS M L, DAVIES S J, PULSFORD A L. The influence of ascorbic acid (vitamin C) on non-specific immunity in the turbot (*Scophthalmus maximus* L.) [J]. *Fish and shellfish immunology*, 1995, 5(1): 27-38.
- [22] 刁菁, 李乐, 叶海斌, 等. 一种中草药复方和 11 种单方的体外抑菌效果及对大菱鲂肠道菌群的影响 [J]. *水产科学*, 2018, 37(4): 433-440.
- [23] 高平. 高效氯氰菊酯对鲫的安全性评价及其相关研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2007: 27-32.
- [24] 覃栋明. 硫酸铜等药物治疗鱼种小瓜虫病的试验 [J]. *科学种养*, 2016(5): 54.

(上接第 62 页)

- [11] 陈海珍, 龚春生, 陈丽秋, 等. 基于体外模拟法的城市土壤铅的健康风险评估 [J]. *环境与健康杂志*, 2012, 29(3): 254-257.
- [12] RODRIGUES S M, CRUZ N, CARVALHO L, et al. Evaluation of a single extraction test to estimate the human oral bioaccessibility of potentially toxic elements in soils: Towards more robust risk assessment [J]. *Science of the total environment*, 2018, 635: 188-202.
- [13] 中国环境监测总站. 中国土壤元素背景值 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990: 329-472.
- [14] 王学求, 周建, 徐善法, 等. 全国地球化学基准网建立与土壤地球化学基准值特征 [J]. *中国地质*, 2016, 43(5): 1469-1480.

- [15] JUHASZ A L, WEBER J, NAIDU R, et al. Determination of cadmium relative bioavailability in contaminated soils and its prediction using *in vitro* methodologies [J]. *Environmental science & technology*, 2010, 44(13): 5240-5247.
- [16] 许莉莉. 土壤中有效态重金属的化学试剂提取法研究进展 [J]. *冶金与材料*, 2019, 39(3): 32-33.
- [17] 刘繁灯, 袁军, 吴方圆, 等. 不同提取方法测定的油茶林地 6 种重金属有效性的比较研究 [J]. *江西农业大学学报*, 2017, 39(3): 525-534.
- [18] PALDEN T, MACHIELS L, ONGHENA B, et al. Selective leaching of lead from lead smelter residues using EDTA [J]. *RSC advances*, 2020, 10: 42147-42156.