水环境中溶解有机物对铜生物可利用性的影响

王木兰^{1,2}, 沙聪^{1,2}, 姜玥璐^{1,2*}

1. 清华大学深圳研究生院, 深圳 518055;

2. 清华大学环境学院, 北京 100084

* 联系人, E-mail: jiang.yuelu@sz.tsinghua.edu.cn

2018-04-08 收稿, 2018-06-06 修回, 2018-06-08 接受, 2018-07-19 网络版发表

国家自然科学基金(41506129)和深圳市科技创新委员会计划(KQCX201533115153644, JCYJ20170412171959157, JCYJ20150529164918736)资助

摘要 具有生物毒性的铜是水体重要的金属污染物之一, 而溶解有机物(dissolved organic matter, DOM)的存在能够降低金属铜对生物的危害. 本文综述了水环境DOM的来源、特征和形成消耗过程, 并归纳了已知组成、细菌和浮游植物3种不同来源的DOM与金属铜之间的络合作用, 探讨了水环境DOM影响金属铜生物可利用性的因素及机制. 已有研究表明DOM对金属铜生物可利用性的影响主要体现在两方面: (1) DOM能够降低或提高铜的生物毒性, 海洋环境存在DOM维持铜生物毒性的平衡机制; (2) DOM通过降低食物链底端对金属铜的吸收, 限制铜进入食物链. DOM对金属铜生物可利用性影响主要通过自由铜离子(Cu^{2+})产生络合或螯合作用实现, 同时还受DOM自身特征以及分子大小的影响. 随着研究技术的发展, 现在研究可以从分子结构或官能团的角度更准确地评价DOM对金属的影响. 本文最后总结了目前DOM对金属铜生物可利用性影响研究中新技术的应用、面临的问题和挑战以及未来的发展方向.

关键词 水环境, 溶解有机物, 铜, 浮游植物, 细菌, 生物可利用性

溶解有机物(dissolved organic matter, DOM)一般是指能通过一定孔径滤器的有机物^[1]. 常用的滤器孔径有0.7、0.45与0.22 μm 等, 孔径在1 nm和0.2 μm 之间的DOM又常被称为胶体(colloids)^[2]. 尽管溶解有机物能通过一定孔径的滤器, 但是其组成还可能包含小颗粒物和细菌等, 因此溶解有机物中的“溶解”并不是化学意义上的溶解, 其组成尚无法完全准确地描述^[3]. 在水环境中, DOM的组成多样, 包括溶解有机碳(dissolved organic carbon, DOC)、溶解有机磷(dissolved organic phosphorus, DOP)、溶解有机氮(dissolved organic nitrogen, DON)等, 其作为水体最大的碳存储库和生物圈最大的碳存储库之一, 不仅对水生生态系统的碳(C)、氮(N)、磷(P)循环有重要的

意义, 且因其具有表面活性与天然的负电荷性可以和金属发生吸附、络合及富集反应, 对金属的循环以及形态和毒性等改变也有重要的作用^[4,5].

重金属铜是浮游植物生长的必需元素, 参与细胞中超氧化物歧化酶的构成. 然而高浓度的铜则会对浮游植物等产生毒性, 甚至通过食物链的放大作用最终对人体健康产生危害. 随着社会的进步发展, 工矿业生产、农药化肥的大量施用、交通污染等行为将导致更多铜通过各种途径进入到水生生态系统中. 铜的生物可利用性和生物毒性主要跟其自由离子形态有关^[6,7], 而在大多数水体中 Cu^{2+} 与有机配体都呈现出络合作用^[8], 为准确评价金属铜对浮游植物等生物的影响, 探究不同来源水环境DOM对金属铜生物

引用格式: 王木兰, 沙聪, 姜玥璐. 水环境中溶解有机物对铜生物可利用性的影响. 科学通报, 2018, 63: 2348–2360

Wang M L, Sha C, Jiang Y L. The effect of dissolved organic matter on copper bioavailability in aquatic ecosystems: A review (in Chinese). Chin Sci Bull, 2018, 63: 2348–2360, doi: 10.1360/N972018-00106

可利用性的影响尤为重要。

1 不同来源水环境溶解有机物的特征

1.1 来源和类型

水环境DOM根据来源可以简单地分为外源性DOM与内源性DOM(图1), 径流、河口等陆源性输入是外源性DOM的重要来源。内源性DOM的产生与形成则存在于生物整个生命过程中, 包括病毒感染、

细胞裂解、浮游植物的直接分泌、大型浮游植物摄食过程中的有机物损耗等^[9]。水生生态系统中DOM的主要形成和消耗过程如图2所示, 浮游植物通过光合自养进行的初级生产是DOM最根本的来源。浮游植物和细菌都会通过胞外释放和胞内裂解产生DOM, 同时非自养细菌的化能异养消耗是去除DOM的主要方式, 另外浮游动物也会通过吞噬、吸收等过程吸收利用DOM^[11]。由此可见, 浮游植物和细菌产生的DOM是内源性DOM的重要来源, 这两者在DOM的

图1 水环境DOM的种类
Figure 1 Types of aquatic DOM

Figure 2 Conceptual model of the production and consumption processes for DOM in the aquatic ecosystem. Blue arrows refer to DOM production processes. Red arrow refers to DOM consumption processes, while the bold red arrow describes the dominance. Dashed lines refer to food chains, according to Hansell et al.^[10]

形成与消耗过程中扮演着重要的角色。

研究中常见的DOM类型有：胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS), 主要由细菌和浮游植物分泌所产生的DOM, 其组分主要以多糖和蛋白质为主^[12]；表面活性物质(surface-active substance, SAS), 主要是由水体表层多种来源形成的DOM, 以降解和凝聚的生物体为重要组成部分, 包含各种各样的亲水和疏水基团^[13]；有色溶解有机物(chromophoric dissolved organic matter, CDOM), 是水体中会吸光的溶解态有机物质, 对紫外光和可见光都具有吸收作用；透明胞外聚合物颗粒(transparent exopolymer particles, TEP), 主要是由浮游植物和细菌释放的TEP前体——纤维所形成的, 富含酸性多糖、具有很高的黏性, TEP是DOM和颗粒有机物中间的一种重要胶体物质, 部分TEP组成是颗粒有机物, 但是有重要意义部分的TEP组成是DOM^[14]。

1.2 特征和功能

不同来源的DOM的分子量不同, 不同水体中DOM的含量也不同。海洋DOC占海洋总有机碳(total organic carbon, TOC)的80%~95%, 是海洋DOM的重要组成部分, 平均总量为DOM的50%±5%, 加上其易表征和易测定的特征, 在一些研究中常被用来代替或表征DOM。一般情况下, 近海流域的DOC含量高于远海流域, 表层海水的DOC含量高于深层海水。Ogawa等人^[1]总结了, 用高温催化氧化方法测定的1994~2001年不同海域表层和深层DOC的含量, 结果显示大部分表层海水的DOC含量范围在60~80 μmol/L, 而深层海水的DOC含量为40 μmol/L左右, 且深层海水中难以被降解的小分子量DOC多达65%~80%^[1]。

DOM在环境中有着重要的功能：一方面可以促进C、N、P等元素的生物地球化学循环, 另一方面可以影响金属的生物可利用性。DOM作为生物的营养物质时, 是水生生态系统中C、N及金属等元素进行生物地球化学循环过程的重要载体。例如, 斑马贻贝通过摄食水溶液中的DOM获得碳源和“溶解性”金属(与DOM络合的金属), 得以在北美洲的淡水生态系统中大量的繁衍^[15], 斑马贻贝在摄食DOM的过程中也提高了金属的生物可利用性。细菌和浮游植物产生的EPS能够覆盖在细胞表面、形成疏松的聚合体, 从而有助于细胞捕捉水环境中的营养盐, 用以维系

细胞的生长^[16]。环境中很多DOM都能通过络合吸附重金属, 对重金属的生物毒性起到缓冲作用, 例如DOC的浓度对降低金属铜作用于大型蚤(*Daphnia magna*)的慢性毒性起到关键的作用, 超过了其他环境影响因子, 如pH^[17]。

2 不同来源水环境溶解有机物对金属铜的作用

河口环境中的外源性DOM与金属铜之间有强耦合作用^[18], 内源性DOM与金属铜之间的络合作用因DOM的种类不同而存在差异。表1总结了不同来源不同种类的DOM与金属铜之间产生的强弱不同的络合作用。

2.1 已知组成的DOM

自然界DOM的组成非常复杂, 含有多糖、蛋白质、脂类和核酸等。为能准确评价DOM与重金属之间的相互作用, 很多研究常用一些已知组成的模型DOM代替自然界DOM来研究其与金属之间的络合特性。

按对金属作用的主要官能团不同, 将已知组成的DOM可分为：(1) 官能团含氨基：组氨酸(histidine, His)、二乙基二硫代氨基甲酸酯(diethyldithiocarbamate, DDC)等；(2) 官能团含羧基：组氨酸, EDTA, NTA, HA^[35]等；(3) 官能团含巯基：金属硫蛋白^[36]、半胱氨酸(cysteine, Cys)^[37]等；(4) 官能团含羰基：苯甲酸^[38]等；(5) 官能团含酚羟基：腐殖酸^[35]等。其中, EDTA可与Cu²⁺, Mn²⁺, Fe³⁺, Co²⁺等金属离子均能形成稳定的螯合物, 常被用于去除藻细胞表面吸附的Cd²⁺^[39,40]。Plavšić等人^[21]研究发现, 在角叉菜胶、硫酸软骨素、葡萄糖聚糖、葡聚糖硫酸酯、海藻酸钠、腐殖质等多糖的模型物质中, 只有硫酸软骨素和海藻酸钠与Cu²⁺存在络合作用。

2.2 细菌来源的DOM

细菌产生的DOM对金属铜的作用也是自然界的重要作用之一。一些细菌产生的DOM对Cu会产生很强的吸附作用, 如枯草杆菌产生的EPS^[25], 海洋蓝细菌(*Synechococcus* spp.)分泌强的铜络合物^[41]。另外, 存在于细菌表面的EPS还可能增加细胞对铜的吸附能力, 蓝细菌(*Spirulina platensis*)表面EPS的存在

表 1 不同种类DOM与金属铜Cu的络合作用

Table 1 The summary of copper complexation with different types of DOM

DOM种类	DOM浓度($\mu\text{g/L}$)	Cu浓度(nmol/L)	络合作用的强弱	参考文献
已知组成的DOM				
氮川三乙酸(nitrilotriacetic acid, NTA)	200	≥ 50	强络合作用	[19]
乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)	0.19~0.96 ^{a)}	40	强络合作用, 且络合物无生物利用性	[20]
柠檬酸盐	76.8~1200 ^{a)}	40	强络合作用, 且络合物有生物利用性	[20]
硫酸软骨素和海藻酸钠	10000	—	强络合作用	[21]
角叉菜胶、葡萄聚糖、葡聚糖硫酸酯类、腐殖质	10000	—	无络合作用	[21]
植物凝胶	5000	330	尺寸大于0.7 $\mu\text{mol/L}$ 与Cu络合; 小于0.7 $\mu\text{mol/L}$ 与Cd络合	[22]
腐殖酸(humic acid, HA)	10000	1050	络合作用	[23]
HA	2500~10000	0~500	吸附作用	[24]
细菌DOM				
枯草杆菌(<i>Bacillus subtilis</i>)EPS	100~1000	0~3125	吸附作用	[25]
浮游植物DOM				
赫氏圆石藻(<i>Emiliana huxleyi</i>)	50000	140	弱络合作用	[22]
河底沉积物(太湖爆发藻类地区)	15000	0~230000	弱络合作用	[26]
多种淡水真核藻(<i>Glomydomonas</i> sp. G6, <i>Chlorella autotrophica</i> 等)	12 ^{a)}	100~100000	弱络合作用	[27]
4种淡水蓝绿藻(<i>Anabaena flos-aquae</i> , <i>Anacystis nidulans</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i> , <i>Gloeocapsa alpicola</i>)	6 ^{a)}	100~100000	强络合作用	[27]
尖细栅藻(<i>Scenedesmus acutus</i>)	2340 $\pm$ 1104 ^{a)}	200~100000	强结合作用	[28]
中肋骨条藻(<i>Skeletonema costatum</i>)	0.96~130 ^{a)}	0~5000	络合作用	[29]
威氏海链藻(<i>Conticribra weissflogii</i>)	0.48~0.96 ^{a)}	4~40	络合作用	[30]
尖细栅藻(<i>Scenedesmus acuminatus</i>)	50000	800~44000	络合作用	[31]
鱼腥藻(<i>Anabaena spiroides</i>)EPS	10000	1000	络合作用	[6]
杜氏藻(<i>Dunaliella tertiolecta</i>)EPS	3.06 ^{a)}	10~1000	强络合作用	[32]
未知组成DOM				
沼泽水	4600~5000	≥ 50	强络合作用	[19]
Aquatron 海水	33.9	500	络合作用	[33]
Narragansett 海湾入口	2000	0~780	弱络合作用	[34]
Narragansett 海湾工业化污染点	3000	0~780	强络合作用	[34]

a) 表示DOM的单位转换以12 g/(mol C)为标准计算

显著提高其对Cu的吸附能力^[42]。植物凝胶(phytagel或gellan gum)是经假单胞菌(*Pseudomonas elodea*)发酵转化、生产而来,富含葡萄糖、葡萄糖醛类等物质,通常代替琼脂作为配制植物组织和微生物培养基的主要成分,其自动形成的胶体颗粒与自然界TEP很相近。研究发现植物凝胶对Cu具有较强的络合作用,尤其是尺寸大于0.7 μm 的植物凝胶的结合能力更强,表明Cu容易被大尺寸水凝胶内部的孔和通道

捕获^[22]。

2.3 浮游植物来源的DOM

(i) 不同种浮游植物产生的DOM。对太湖不同水域以及最大汇入河流沉积物中DOM的研究发现,汇入河流DOM即外源性DOM比内源性DOM结合Cu的能力强;而在内源性DOM中,水生大型植物衍生的腐殖质类DOM对Cu的结合能力要高于藻类分泌的

DOM^[26]. 不同种浮游植物产生的DOM物化特征不同, 因此由不同种浮游植物产生的DOM对重金属的络合作用也不同. 早在1974年, McKnight等人^[27]对Cu与21种藻类释放的有机物的结合特性的研究就发现, 大部分的真核藻类释放的络合物为弱有机酸, 其中4种蓝绿藻则释放了具有强Cu络合作用的DOM. 后续的研究又发现同一浮游植物也会产生不同种类的DOM, 淡水绿藻尖细栅藻产生的腐殖质类DOM和小分子DOM都会与Cu产生很强的结合作用, 但同时也发现腐殖质类的DOM对其他重金属如Cd, Pb, Zn却没有结合作用^[28,31].

(ii) 同一种浮游植物在不同生长阶段下产生的DOM. 由于浮游植物在不同生长阶段产生的DOM组成不同, 因此对Cu具有络合作用的DOM可能产生在浮游植物生长的某一阶段, 也可能随生长阶段的变化而发生种类上的改变. McKnight等人^[27]对3种绿藻(*Pandorina morum*, *Chlamydomonas* sp. 和 *Gloeo-cystis gigas*)和2种蓝藻(*A.flos-aquae*和*A.nidulans*)的研究发现, 藻细胞主要在细胞生长的平台期释放能结合Cu的络合物. 海洋硅藻中肋骨条藻在生长的前7天(同化阶段), 藻细胞自身产生的蛋白质类DOM是络合自由Cu²⁺的主要有机物; 而在生长的后7天(异化阶段), 以细菌降解浮游植物产生的腐殖质类DOM则变成络合Cu²⁺的主要配体^[29]. 海洋硅藻三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornutum*)释放的胞外DOM可以络合Cu, 络合Cu的DOM数量随着藻细胞增长速率的增加而增加, 并且在光合作用活跃的白天呈现更多的释放量^[33].

由浮游植物产生的DOM常包含2类: (1) 自身分泌的蛋白质类; (2) 藻细胞产生或受微生物降解影响形成的腐殖质类DOM. 例如, 尖细栅藻在指数生长阶段分泌1种含蛋白质类DOM和2种含腐殖质类(1种来自于微生物降解, 1种来自于藻细胞产物)DOM, 其中微生物降解产生的腐殖质类DOM与Cu²⁺有很强的结合作用, 表明与微生物活动有关的DOM对Cu²⁺的结合特性有重要的影响^[28].

3 水环境溶解有机物对金属铜生物可利用性的影响

3.1 水环境溶解有机物对金属铜生物毒性的影响

水环境DOM可与Cu²⁺形成络合物, 降低铜生物

可利用性, 减轻铜的生物毒性, 此时DOM起到类似缓冲液的作用. 由于金属铜生物毒性的不可忽视性, 1957年, Spencer^[43]就发现了EDTA能降低金属铜对浮游植物的生物毒性, EDTA和Cu²⁺的络合物还被证明对于荧光细菌没有生物效应(荧光效应)^[20]; NTA对Cu²⁺, Cd²⁺和Zn²⁺等重金属离子也有解毒的作用^[19]. 因此, EDTA和NTA常被用作细胞培养基中的金属络合剂, 以防止过量金属对细胞产生危害作用. 后续的研究则多关注于, 自然水环境中DOM对金属铜生物毒性的影响, 如斯库台湖和布纳河流中高浓度DOM能通过络合Cu²⁺, 显著降低金属铜的生物毒性^[44]; 鱼腥藻分泌的胞外多糖可降低铜对水蚤(*Simocephalus serrulatus*)的生物毒性^[45].

然而, 外界环境发生改变时, 如pH或盐度剧烈变化, 被DOM络合的Cu可能被释放出来, 增加环境中自由铜离子的比例, 从而可能增加铜的生物毒性. 例如, 河口水域, 淡水快速流向海洋过程中, 盐度的升高会使得腐殖酸络合铜的占比下降, 更多的铜趋于自由分散状态^[46]. 另外, 淡水系统中可能存在一些类似于DDC、8-羟基喹啉(8-hydroxyquinoline, O₈)等亲脂性DOM^[47], DDC可以和Cu形成脂溶性且可以被被动扩散的Cu(DDC)₂复合物^[48]; O₈作为常见的杀真菌剂和螯合剂与Cu形成的络合物Cu(O₈)₂, 也可以通过被动扩散作用穿过细胞质膜^[49,50]. 一方面, 络合物Cu(O₈)₂、Cu(DDC)₂通常对生物都会产生毒性作用, 因此这些亲脂性DOM的存在提高了生物对Cu的吸收, 同时也增加了Cu的生物毒性; 另一方面, 当亲脂性DOM-Cu铜络合物到达细胞体内后, Cu可以从络合物上解离出来并可能与胞内配体发生结合, 从而具有生物可利用性.

另有研究表明, 有些DOM对重金属具有活化作用, 可提高Cu等重金属的生物有效性, 如柠檬酸. 柠檬酸(citrate)是常被用于研究金属溶解度、形态变化和生物可利用性的小分子有机酸的典型物质, 可以和Cu形成亲水性Cu-citrate复合物. 据Campbell等人^[51]研究认为, Cu和柠檬酸复合物Cu-citrate⁻, 可以通过细胞膜上的阴离子通道进入藻类细胞; Nybroe等人^[20]的研究结果也发现Cu-柠檬酸的复合物具有较高的生物可利用性. 这种类型的DOM增加了生物对铜的吸收, 一方面可满足生物对铜的必需需求, 但另一方面也有可能造成过量的铜被吸收, 从而增加铜的生物毒性.

3.2 海水中溶解有机物维持铜生物毒性的平衡机制

在大洋环境中,能络合铜的DOM可大致分为两种:一种是强铜配合基(L_1),另一种是弱铜配合基(L_2)^[52,53]。 L_1 可能来源于浮游植物,其浓度低,但是络合作用强(条件稳定常数为 $10^{12}\sim 10^{14}$ L/mol),主要分布在海水表面的透光层,在200 m以下分布较少,生命周期只有几个月; L_2 是海水混合的结果,其浓度高,但是络合作用弱(条件稳定常数为 $10^9\sim 10^{12}$ L/mol),在海水中的垂直分布没有规律,生命周期为几年到几百年、甚至更长。 L_1 可通过快速的空气流动被带到深层海水,并在络合铜的作用中占据主要位置,在DOM对铜的络合作用达到饱和后,铜会被颗粒物迅速清除掉。这两种DOM一定程度上维持了表层海水与深层海水中铜的生物毒性以及生物可利用性之间的平衡。后续的研究进一步表明,在大洋环境中,大部分真核浮游植物都分泌了 L_2 ,而原核生物蓝细菌可能是大洋环境中 L_1 的主要来源,比如对铜的生物毒性极其敏感的聚球藻属,该生物可能通过分泌 L_1 来改变环境条件使其利于自身生长。在沿海,真核浮游植物分泌的 L_2 可能主要控制铜的形态,尤其在藻华爆发的时候^[30,41]。

最新的研究表明,在南大洋, L_2 络合的铜在25~50 nmol/L范围内呈相对均衡的分布,但是没有发现 L_1 的存在, L_1 的缺失可能和该区域缺少蓝细菌有关^[54]。尽管没有 L_1 的存在,但是自由 Cu^{2+} 的浓度很低($pCu=13.5\sim 12.5$),不会对生物产生毒性作用,表明 L_2 的存在可能已经满足南大洋DOM对铜生物毒性的限制作用^[55]。海洋中 L_2 的类型可能主要是浮游生物细胞分泌的谷胱甘肽或类似硫醇类的DOM^[37,56,57]。

研究表明,铜对浮游植物的生物毒性具有种间差异,其中蓝细菌对铜生物毒性最敏感,而其他藻类可以通过藻细胞分泌或产生具有金属络合功能的多肽或化合物、甚至改变细胞元素组成、含量,降低铜的生物可利用性,进而减轻铜对微藻的生物毒性^[58,59]。因此,水环境中DOM的存在降低了铜离子的活度,实现了对敏感性浮游植物的保护,进而对初级生产力和浮游植物种群组成产生影响;同时河水的交汇带来的DOM对铜生物毒性的降低作用,则可能造成沿海区域鞭毛虫的爆发^[60]。

3.3 水环境溶解有机物对金属铜在食物链中生物可利用性的影响

从图2可以直观看到被DOM络合的铜可能通过

DOM的形成与消耗过程,实现在海洋系统中食物链之间的传递。现有研究主要集中在自然水环境DOM和浮游植物来源的DOM两种类型的影响。如,苏旺泥河的DOM同时降低了第一营养级细菌和第二营养级草履虫(*Paramecium caudatum*)对Cu的吸收^[61];鱼腥藻产生的EPS降低了第一营养级细菌和第二营养级草履虫以及第三营养级桡足剑水蚤(*Metacyclops mendocinus*)对水体中铜的吸收,被EPS络合的铜不会被细菌和草履虫吸收利用,自由铜离子才是其吸收的主要方式^[6]。但是Lores等人^[23]的研究却发现,DOM对食物链上不同营养级的生物可利用性还可能存在着差异性,例如,苏旺泥河的腐殖酸(Suwannee River humic acid, SRHA)可显著降低细菌(*Vibrio natriegens*)对Cu表面吸附和吸收的可利用性,也能降低纤毛虫(*Uronema* sp.)对Cu的吸收,但却无法降低纤毛虫对Cu的吸收,一部分被SRHA络合的Cu还会通过摄食过程被纤毛虫利用。从图2可以看出,尽管生物可以通过摄取或消耗等过程直接吸收DOM络合的Cu,从而提高Cu的生物可利用性,但是现有的研究都表明DOM可通过降低食物链底端对Cu的吸收,进而限制Cu进入食物链,影响Cu的生物可利用性。然而,现有的研究基本上是单向食物链,即在第一营养级暴露在含有DOM和Cu的环境中一段时间后再逐步接种至第二或第三营养级,因此为了得到更贴近现实水环境中,DOM与Cu生物可利用性相互作用和关系,对不同营养级同时暴露在含有DOM和Cu环境中的研究也需要深入开展。

值得注意的是,在苏旺泥河的DOM降低细菌对Cu的吸收以及鱼腥藻产生的EPS降低水蚤对Cu的吸收过程中,同时观察到培养基中自由 Cu^{2+} 浓度的增加。这可能包括两方面原因:(1)生物直接摄取DOM并在吸收利用过程中对DOM进行了降解,从而导致被DOM络合的 Cu^{2+} 被释放并排放至培养基中;(2)生物自身存在一种管理体内金属铜平衡的机制,比如通过向外分泌金属离子,降低膜对金属的渗透率或是表面吸附作用等^[62]。

重金属和DOM分别会对生物产生影响,然而DOM与重金属之间又存在相互作用,DOM浓度的高低会影响金属的生物利用性,因此在DOM含量高的地方调整相应的金属水质标准,将对准确评价金属的生物效应十分重要。

4 水环境溶解有机物影响金属铜生物可利用性的因素

4.1 络合作用

具有生物可利用性或毒性的铜大都是自由 Cu^{2+} , DOM对铜生物毒性的降低作用与自由 Cu^{2+} 的浓度或活度密切相关^[63,64]. 因此, 不同DOM与 Cu^{2+} 之间的络合或螯合作用, 是降低 Cu^{2+} 生物毒性的关键. 自然水体中DOM通过与 Cu^{2+} 产生络合作用, 降低了铜生物可利用性, 减轻其对单细胞藻(*Monochrysis lutheri*)以及假微型海链藻(*Thalassiosira pseudonana*)的毒性^[34,60]; 藻类产生的DOM, 如杜氏藻的分泌物可与 Cu^{2+} 产生强络合作用^[32]; 鱼腥藻产生的EPS可通过与 Cu^{2+} 形成络合物, 降低细菌、草履虫和水蚤对 Cu^{2+} 的吸收和积累^[6].

DOM与生物细胞膜表面金属的结合位点形成竞争机制时, DOM与金属离子的络合或螯合作用会降低细胞对金属的吸附或吸收作用^[65]. 同时, DOM络合的其他金属如锰, 也可能通过与铜竞争生物细胞表面的活性点位, 阻碍生物对铜的吸收^[66]. DOM对金属铜的络合作用, 受DOM结合位点亲和力高低的影响. 具有低亲和力位点的DOM, 对铜的络合作用弱, 反之亦然. 但在水环境中低亲和力的DOM数量很多, 如腐殖酸可占达到水体表层DOM的40%~60%, 因此低亲和力的DOM可控制水环境中大量铜的形态; 而当水体中铜浓度较低时, 具有高亲和力位点的DOM在对铜的形态变化起主导作用. Croue等人^[67]采用多种方法对从南普拉特河(South Platte River)中分离出来的DOM进行分析发现, 南普拉特河主要包含3种能络合铜的DOM的类型: 疏水酸性组分(hydrophobic acids, HPOA)、过渡亲水性有机酸(transphilic acids, TPHA)和过渡亲水性中性有机物(transphilic neutrals, TPHN), HPOA主要通过低亲和力位点与铜络合, 如羧基; TPHA主要通过高亲和力位点与铜络合; TPHN为蛋白质类的物质, 其氨基类基团是络合铜的主要位点. 因此, 当水环境中铜浓度较低时, 含氮丰富的DOM可能是络合铜的主要类型, 其类似氨基酸的官能基团能与铜产生络合作用.

4.2 螯合作用

DOM对金属铜的螯合作用主要受pH的影响: 一方面pH通过影响DOM的性质影响螯合作用. 如在pH

为8的碱性环境中, 腐殖酸羧基的解离程度可以达到97%, 为金属阳离子的螯合提供了更多配位原子, 因此在偏碱性的海洋环境中, 金属铜容易被腐殖酸螯合、聚集, 从而影响铜的生物可利用性^[46]. 另一方面, pH通过影响铜的价态影响螯合作用. 如海水中硫醇类DOM, 主要通过亚铜离子 Cu^+ 产生很强的螯合作用, 形成稳定的复合物^[68]. 因此, 环境pH若有利于亚铜离子存在时, 其与硫醇类DOM可能会形成更强的螯合作用.

尽管DOM与金属铜形成的络合物或螯合物本身对生物可能没有可利用性, 但是DOM通过络合或螯合作用降低了自由 Cu^{2+} 的量及活性, 从而间接降低生物对铜的吸收, 影响铜的生物可利用性.

4.3 DOM自身的特征

不同性质和组成的DOM与金属形成的结合形态不同, 不同的结合形态对重金属毒性和迁移等行为会产生不同的影响^[28]. 一些性质特殊的DOM可能被细胞膜表面吸附, 从而提高细胞对金属铜的吸附, 吸附在细胞膜表面的DOM还可能改变细胞膜的性能, 促进铜通过细胞膜被细胞吸收; 但吸附在细胞表面的铜也可能被阻止吸收, 形成提高吸附降低吸收的现象. 吸附的铜被阻止进一步胞内吸收的原因, 可能跟DOM性质有关, 如EPS在环境与微生物细胞膜之间形成一个缓冲层, 这个缓冲层可以累积金属, 有助于保护细胞体免受金属损害^[69]; 还可能跟生物特殊的细胞膜有关, 如硅藻特殊的二氧化硅细胞膜. 被腐殖酸络合的铜容易被威氏海链藻细胞表面的二氧化硅膜吸附, 但二氧化硅膜又能够阻止铜进一步的胞内吸收, 降低已经吸附在细胞表面的铜对藻细胞的危害^[24].

一些亲脂性的DOM可直接被生物细胞被动吸收, 如前述 O_x 、DDC等. 这些亲脂性DOM对金属铜生物可利用性的影响与自由 Cu^{2+} 浓度或是络合物穿过细胞膜通量的关系可能都不是很大, 即使铜的浓度很低时也可以通过形成亲脂性DOM-Cu络合物被细胞大量快速地吸收. 这时铜从DOM络合物上脱附分离, 然后与胞内配体螯合的能力, 则成为限制生物吸收铜的关键性因素^[49].

自然水环境中一些DOM因本身性质的不稳定或是易受外界环境pH等变化的影响, 使得被DOM络合后的铜可能被再释放出来, 进而对铜的生物可利用

性产生影响。如太湖中由浮游植物产生的蛋白质类DOM由于性质不稳定,易将络合的铜释放出来^[26];低pH环境会增加海水DOM与铜的络合物的易变性^[53]。

4.4 DOM的分子大小

DOM分子大小也是影响金属铜生物可利用性的主要因素之一。前人研究发现^[48,70~72],有机物尤其是小分子有机物,通过螯合作用与Cu形成DOM-Cu复合物,影响铜的生物可利用性;且由于不同小分子有机物(富里酸、半胱氨酸、谷胱甘肽、柠檬酸等)对铜结合位点及强度不同,其对铜生物可利用性也产生不同影响。Boyd等人^[70]在圣地亚哥湾水域的研究发现,铜和大于1 kDa DOM络合可以减轻对微生物的毒性,其他研究也表明与Cu²⁺进行络合的DOM主要是分子量在1~10 kDa之间的谷胱甘肽类和植物螯合肽类物质^[73,74]。Strmečki^[22]也认为浮游植物DOM能与Cu²⁺进行络合的主要是谷胱甘肽类配合物,而且金属铜更小的晶体结构使得其易与配合物进行结合,形成稳定性更强的络合物。尖细栅藻产生的DOM因其分子大小不同与Cu²⁺的结合能力也有所区别:大

分子DOM(>12~14 kDa)与Cu²⁺产生弱结合作用;小分子DOM(<12~14 kDa)与Cu²⁺则产生强结合作用^[31]。威氏海链藻通过被动吸收小分子亲脂性DOM-Cu的络合物,增加了对Cu的吸收^[49]。

一般情况下,小分子DOM结合金属铜时,能够促进金属形成易被生物吸收的溶解态金属,或是通过生物摄取DOM的过程提高对金属的吸收;大分子DOM结合金属铜时,则会降低金属的扩散运动速率从而降低细胞对金属的吸收,或是因孔径较大阻碍金属通过细胞膜表面进入细胞。

另外,不同金属的电子层分布或价位差异等都是与DOM相互作用的影响因素。图3以藻细胞为例简要绘出了DOM对金属铜生物可利用性影响可能存在的机制。

5 新的研究发现和技术手段

最近研究发现,不同分子大小DOM影响长期暴露环境中金属铜的生物可利用性,并提出了“三元复合物”的影响机制^[75]。Shi等人^[75]通过对小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)长达10 d的研究发现,DOM对铜的生物可利用性有抑制效应,且DOM分子越大抑

图3 (网络版彩色)DOM对藻细胞吸收吸附铜离子的影响机制

Figure 3 (Color online) Effect of dissolved organic matter on the bioavailability of copper to microalgae

制效应越明显: 腐殖酸>富里酸>柠檬酸. 研究推测金属-DOM-藻细胞的三元复合物是一种影响DOM吸收、吸附金属的可能机制, 如图3所示, 但其详细机制还有待进一步研究.

自然水环境中DOM的复杂性和多样性, 限制了人们对DOM性质的深入和完整理解, 相关DOM提取、分离以及分析技术也亟待发展. 海水中大量的盐分是海洋DOM提取和研究的重要影响和限制因素, 传统超滤技术(ultrafiltration)可以分离海水中大分子DOM, 固相萃取技术(solid-phase extraction, SPE)可以分离出疏水DOM, 后续发展的反渗透(reverse osmosis, RO)和电透析(electrically assisted dialysis, ED)可以同时分离出疏水和亲水的DOM. 近年来, 随着核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)分析技术的发展, 也被用于分析大分子DOM中的多糖和蛋白质类物质的特性; 而高分辨质谱仪(high-resolution mass spectrometry, high-resolution MS)和2D NMR分析技术以及化学降解法被认为是分析由SPE分离得到的疏水DOM的最有效方法^[76]. 另外, 衰减全反射傅里叶变换红外(attenuated total reflection fourier transform infrared, ATR-FTIR), 高分辨透射电子显微镜以及X射线吸收精细结构(X-ray absorption fine structure, XAFS)等技术的应用, 对DOM组成的细节得到了更深入的了解, 对与金属进行配位络合的DOM的组成或官能团结构的判断更为准确, 进而更有力地揭示了络合物形成的机理和影响机制. 例如, 对枯草杆菌产生的EPS的研究发现, 其EPS上金属结合位点的浓度很高, 使得这种EPS有很强的金属结合能力; ATR-FTIR分析结果表明, 与 Cu^{2+} 结合有关的是EPS的羧基和含磷基团, 其中羧基基团是占主导性的位点; XAFS和热力学分析表明, 羧基的阴离子含氧配体与 Cu^{2+} 进行结合并且与EPS的功能团形成了内圈络合物^[25]. 碳是构成DOM的主要框架结构, 利用碳同位素组成分析技术, 有助于分析DOM中多环芳烃组分的来源和循环^[77], 该技术的推广应用可能有利于分析DOM对金属铜在食物链中生物可利用性的影响.

6 问题与展望

DOM与 Cu^{2+} 产生的络合作用强弱不同, 其对金属铜生物可利用性的影响及机制多样而复杂, 因此不同自然环境条件下产生的DOM对金属铜生物可利

用性的影响有待进一步深入研究. 再加上DOM成分复杂, 从分子水平探讨DOM组分、分子量、结构和功能团等对金属吸收吸附行为的影响可揭示水环境DOM对金属铜生物可利用性影响的内在机制. 从以下几点对未来研究提出展望:

(1) 营养盐多寡对DOM的影响. 氮(N)源是藻细胞生长的重要营养条件, N限制会抑制细胞的生长. N缺乏使威氏海链藻和中肋骨条藻的藻细胞生长速率、细胞数量和叶绿素a含量明显低于正常条件^[78]. 藻细胞在不同营养条件下生长所分泌的DOM在组成和含量方面都可能不同, 例如, Jiang等人^[79]研究发现威氏海链藻在不同N含量条件下, 其生长及胞内的构成均不相同, 蛋白质和油脂的含量也会发生变化. 但是目前关于因营养盐多寡造成藻类分泌DOM组成和含量差异的研究还较少. 因此, 对特定营养盐有需求的藻细胞受该营养盐多寡影响产生的DOM的特征有待深入研究, 这些DOM对金属铜生物可利用性的影响也需要进一步扩展探究.

(2) DOM对生物本身吸收吸附金属铜的影响及机理. 现有研究多关于自然界已存在的DOM或是某种特定DOM对其他生物的影响, 但是关于生物分泌或分解产生的DOM对生物本身的影响却很缺乏. 杜氏藻分泌物和 Cu^{2+} 的结合常数与表面高结合位点的一致, 表明藻细胞自身分泌物对于降低自由金属离子的浓度有重要作用^[25]. 藻细胞DOM与其细胞膜表面官能团存在结构的相似性, 这些DOM存在于其生长的环境中, 对于本身吸收金属的影响显得尤为重要, 对评价浮游植物缓冲或抵御金属危害, 以及金属和营养元素的循环都具有重要的意义. 因此, 关于生物分泌或分解产生的DOM对生物本身吸收吸附金属 Cu^{2+} 的影响及机理还需要加强研究.

(3) 关于藻类吸收金属铜及铜在生物体内迁移转化的动力学过程的研究较为匮乏. 随着外界环境中铜含量的改变和随着时间的推移, 藻细胞吸收铜的变化特性, 以及吸收过程中铜在细胞内迁移转化的动力学过程均有待进一步研究.

(4) 现阶段DOM前处理、提取保存方法和分析技术缺乏可比性和标准. 提取DOM的操作复杂, 尤其是海洋DOM的提取还需要进行除盐操作, 在复杂的操作过程中, DOM活性的保证对准确评价DOM性质及作用有重要的影响, 因此应建立统一的操作规范包括DOM的提取及保存等.

参考文献

- 1 Ogawa H, Tanoue E. Dissolved organic matter in oceanic waters. *J Oceanogr*, 2003, 59: 129–147
- 2 Buffle J. Complexation reactions in aquatic systems. *Sci Total Environ*, 1988, 77: 298–299
- 3 Kirchman D L. *Microbial Ecology of the Oceans*. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 2008. 335–382
- 4 Wetz M S, Hales B, Wheeler P A. Degradation of phytoplankton-derived organic matter: Implications for carbon and nitrogen biogeochemistry in coastal ecosystems. *Estuar Coast Shelf Sci*, 2008, 77: 422–432
- 5 Yoshimura T, Nishioka J, Ogawa H, et al. Dissolved organic phosphorus production and decomposition during open ocean diatom blooms in the subarctic Pacific. *Mar Chem*, 2014, 165: 46–54
- 6 Nogueira P F M, Melão M G G, Lombardi A T, et al. The effects of *Anabaena spiroides* exopolysaccharides on copper accumulation in an aquatic food chain. *Aquat Toxicol*, 2009, 93: 125–130
- 7 Yu X D. Toxic effects of three kinds of heavy metal ions on four species of marine microalgae: Studies basing on integrated biology (in Chinese). Master Dissertation. Qingdao: Ocean University of China, 2012 [于小娣. 重金属胁迫对海洋微藻的影响. 硕士学位论文. 青岛: 中国海洋大学, 2012]
- 8 Buck K N, Bruland K W. Copper speciation in San Francisco Bay: A novel approach using multiple analytical windows. *Mar Chem*, 2005, 96: 185–198
- 9 Kirchmann D L. *Microbial Ecology of the Ocean*. New York: John Wiley and Sons, Inc., 2000. 121–151
- 10 Hansell D A, Carlson C A. *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*. 2nd ed. San Diego, Calif: Academic Press, 2015. 68–102
- 11 Michelou V K, Cottrell M T, Kirchman D L. Light-stimulated bacterial production and amino acid assimilation by cyanobacteria and other microbes in the North Atlantic Ocean. *Appl Environ Microbiol*, 2007, 73: 5539–5546
- 12 Sutherland I W. Polysaccharases for microbial exopolysaccharides. *Carbohydr Polym*, 1999, 38: 319–328
- 13 Liss P S, Liss P S, Duce R A. *The Sea Surface and Global Change*. Cambridge: Cambridge University Press, 2005
- 14 Passow U. Transparent exopolymer particles (TEP) in aquatic environments. *Prog Oceanogr*, 2002, 55: 287–333
- 15 Roditi H A, Fisher N S, Sañudowilhelmy S A. Uptake of dissolved organic carbon and trace elements by zebra mussels. *Nature*, 2000, 407: 78–80
- 16 Suh J H, Yun J W, Kim D S. Effect of extracellular polymeric substances (EPS) on Pb^{2+} accumulation by *Aureobasidium pullulans*. *Bio-process Eng*, 1999, 21: 1–4
- 17 De Schampelaere K A C, Janssen C R. Effects of dissolved organic carbon concentration and source, pH, and water hardness on chronic toxicity of copper to *Daphnia magna*. *Environ Toxicol Chem*, 2004, 23: 1115–1122
- 18 Shafer M M, Hoffmann S R, Overdier J T, et al. Physical and kinetic speciation of copper and zinc in three geochemically contrasting marine estuaries. *Environ Sci Technol*, 2004, 38: 3810–3819
- 19 Hongve D, Skogheim O K, Hindar A, et al. Effects of heavy metals in combination with NTA, humic acid, and suspended sediment on natural phytoplankton photosynthesis. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1980, 25: 594–600
- 20 Nybroe O, Brandt K K, Ibrahim Y M, et al. Differential bioavailability of copper complexes to bioluminescent *Pseudomonas fluorescens* reporter strains. *Environ Toxicol Chem*, 2008, 27: 2246–2252
- 21 Plavšić M, Strmečki S. Carbohydrate polymers as constituents of exopolymer substances in seawater, their complexing properties towards copper ions, surface and catalytic activity determined by electrochemical methods. *Carbohydr Polym*, 2016, 135: 48–56
- 22 Strmečki S, Plavšić M, Steigenberger S, et al. Characterization of phytoplankton exudates and carbohydrates in relation to their complexation of copper, cadmium and iron. *Mar Ecol Prog Ser*, 2010, 408: 33–46
- 23 Lores E M, Snyder R A, Pennock J R. The effect of humic acid on uptake/adsorption of copper by a marine bacterium and two marine ciliates. *Chemosphere*, 1999, 38: 293–310
- 24 Sánchez-Marín P, Slaveykova V I, Beiras R. Cu and Pb accumulation by the marine diatom *Thalassiosira weissflogii* in the presence of humic acids. *Environ Chem*, 2010, 7: 309–317
- 25 Fang L C, Yang S S, Huang Q Y, et al. Biosorption mechanisms of Cu(II) by extracellular polymeric substances from *Bacillus subtilis*. *Chem Geol*, 2014, 386: 143–151
- 26 Zhang Y, Zhang Y, Yu T. Quantitative characterization of Cu binding potential of dissolved organic matter (DOM) in sediment from Taihu Lake using multiple techniques. *Front Environ Sci Eng*, 2014, 8: 666–674
- 27 McKnight D M, Morel F M M. Release of weak and strong copper-complexing agents by algae. *Limnol Oceanogr*, 1979, 24: 823–837

- 28 McIntyre A M, Gueguen C. Binding interactions of algal-derived dissolved organic matter with metal ions. *Chemosphere*, 2013, 90: 620–626
- 29 Lorenzo J I, Nieto-Cid M, Alvarez-Salgado X A, et al. Contrasting complexing capacity of dissolved organic matter produced during the onset, development and decay of a simulated bloom of the marine diatom *Skeletonema costatum*. *Mar Chem*, 2007, 103: 61–75
- 30 Croot P L, Moffett J W, Brand L E. Production of extracellular Cu complexing ligands by eucaryotic phytoplankton in response to Cu stress. *Limnol Oceanogr*, 2000, 45: 619–627
- 31 Lombardi A T, Hidalgo T M R, Vieira A A H. Copper complexing properties of dissolved organic materials exuded by the freshwater microalgae *Scenedesmus acuminatus* (Chlorophyceae). *Chemosphere*, 2005, 60: 453–459
- 32 Gonzalezdávila M, Santanacásiano J M, Perezpena J, et al. Binding of Cu(II) to the surface and exudates of the alga *Dunaliella tertiolecta* in seawater. *Environ Sci Technol*, 1995, 29: 289–301
- 33 Zhou Z L, Wangersky P J. Production of copper-complexing organic ligands by the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* in a cage culture turbidostat. *Mar Chem*, 1989, 26: 239–259
- 34 Davey E W, Morgan M J, Erickson S J. A biological measurement of the copper complexation capacity of seawater. *Limnol Oceanogr*, 1973, 18: 993–997
- 35 Hirose K. Determination of a strong organic ligand dissolved in seawater: Thorium-complexing capacity of oceanic dissolved organic matter. *J Radioanal Nucl Chem*, 1996, 204: 193–204
- 36 Hamer D H. Metallothionein. *Annu Rev Biochem*, 1986, 55: 913–951
- 37 Dupont C L, Moffett J W, Bidigare R R, et al. Distributions of dissolved and particulate biogenic thiols in the subarctic Pacific Ocean. *Deep-Sea Res I*, 2006, 53: 1961–1974
- 38 Shi J C, Yuan H A, Jia Y Q, et al. Studies of the complexes on Cu(II), Co(II) and Ni(II) with 2-[(halophenylamino) carbonyl] benzoic acids (in Chinese). *Chin J Inorg Chem*, 1991, 7: 333–350 [石进超, 袁宏安, 贾婴琦, 等. 2-[(卤代苯胺基)羰基]苯甲酸与 Cu(II)、Ni(II)、Co(II)的配合物研究. *无机化学学报*, 1991, 7: 333–350]
- 39 Vigneault B, Campbell P G C. Uptake of cadmium by freshwater green algae: Effects of pH and aquatic humic substances. *J Phycol*, 2005, 41: 55–61
- 40 Verheyen L, Versieren L, Smolders E. Natural dissolved organic matter mobilizes Cd but does not affect the Cd uptake by the green algae *Pseudokirchneriella subcapitata* (Korschikov) in resin buffered solutions. *Aquat Toxicol*, 2014, 154: 80–86
- 41 Moffett J W, Brand L E. Production of strong, extracellular Cu chelators by marine cyanobacteria in response to Cu stress. *Limnol Oceanogr*, 1996, 41: 388–395
- 42 Fang L C, Zhou C, Cai P, et al. Binding characteristics of copper and cadmium by cyanobacterium *Spirulina platensis*. *J Hazard Mater*, 2011, 190: 810–815
- 43 Spencer C P. Utilization of trace elements by marine unicellular algae. *J Gen Microbiol*, 1957, 16: 282–285
- 44 Plavšić M, Strmečki S, Dautović J, et al. Organic matter characterization and distribution in the Lake Shkodra/Skadar and the Buna/Bojana River, Albania: A case study in May 2009. *Fresenius Environ Bull*, 2013, 22: 2283–2290
- 45 Nogueira P F M, Melao M D, Lombard A T, et al. The effects of *Anabaena spiroides* (Cyanophyceae) exopolysaccharide on copper toxicity to *Simocephalus serrulatus* (Cladocera, Daphnidae). *Freshw Biol*, 2005, 50: 1560–1567
- 46 Zhuang H P, Lu J L. The interaction of organic-metal in the natural aquatic system and its environmental significance (in Chinese). *Guangzhou Environ Sci*, 1995, 10: 14–17 [庄汉平, 卢家烂. 天然水体系统中的有机-金属相互作用及其环境意义. *广州环境科学*, 1995, 10: 14–17]
- 47 Giesy J P, Leversee G J, Williams D R. Effects of naturally occurring aquatic organic fractions on cadmium toxicity to *Simocephalus serrulatus* (daphnidae) and *Gambusia affinis* (poeciliidae). *Water Res*, 1977, 11: 1013–1020
- 48 Lakomaa E L, Sato S, Goldberg A M, et al. The effect of sodium diethyldithiocarbamate treatment on copper and zinc concentrations in rat brain. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1982, 65: 286–290
- 49 Phinney J T, Bruland K W. Uptake of lipophilic organic Cu, Cd, and Pb complexes in the coastal diatom *Thalassiosira weissflogii*. *Environ Sci Technol*, 1994, 28: 1781–1790
- 50 Phinney J T, Bruland K W. Effects of dithiocarbamate and 8-hydroxyquinoline additions on algal uptake of ambient copper and nickel in South San Francisco Bay water. *Estuaries*, 1997, 20: 66–76
- 51 Campbell P G C, Errecalde O, Fortin C, et al. Metal bioavailability to phytoplankton—Applicability of the biotic ligand model. *Comp Biochem Physiol C*, 2002, 133: 189–206
- 52 Coale K H, Bruland K W. Copper complexation in the Northeast Pacific. *Limnol Oceanogr*, 1988, 33: 1084–1101
- 53 Moffett J W, Dupont C. Cu complexation by organic ligands in the sub-arctic NW Pacific and Bering Sea. *Deep-Sea Res Part I-Oceanogr Res Papers*, 2007, 54: 586–595

- 54 Heller M I, Croot P L. Copper speciation and distribution in the Atlantic sector of the Southern Ocean. *Mar Chem*, 2015, 173: 253–268
- 55 Brand L E, Sunda W G, Guillard R R L. Reduction of marine phytoplankton reproduction rates by copper and cadmium. *J Exp Mar Biol Ecol*, 1986, 96: 225–250
- 56 Dupont C L, Goepfert T J, Lo P, et al. Diurnal cycling of glutathione in marine phytoplankton: Field and culture studies. *Limnol Oceanogr*, 2004, 49: 991–996
- 57 Dupont C L, Nelson R K, Bashir S, et al. Novel copper-binding and nitrogen-rich thiols produced and exuded by *Emiliania huxleyi*. *Limnol Oceanogr*, 2004, 49: 1754–1762
- 58 Bossuyt B T A, Janssen C R. Long-term acclimation of *Pseudokirchneriella subcapitata* (Korshikov) Hindak to different copper concentrations: Changes in tolerance and physiology. *Aquat Toxicol*, 2004, 68: 61–74
- 59 Wang D L, Xia W W, Kumar K S, et al. Increasing copper alters cellular elemental composition (Mo and P) of marine diatom. *Ecol Evol*, 2017, 7: 3362–3371
- 60 Sunda W G, Lewis J A M. Effect of complexation by natural organic ligands on the toxicity of copper to a unicellular alga, *Monochrysis lutheri*. *Limnol Oceanogr*, 1978, 23: 870–876
- 61 Nogueira P F M, Melao M G G, Lombardi A T, et al. Natural DOM affects copper speciation and bioavailability to bacteria and ciliate. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2009, 57: 274–281
- 62 Albergoni V, Piccinni E, Coppellotti O. Response to heavy-metals in organisms—I. excretion and accumulation of physiological and non physiological metals in *Euglena gracilis*. *Comp Biochem Physiol C*, 1980, 67: 121–127
- 63 Anderson D M, Morel F M M. Copper sensitivity of *Gonyaulax tamarensis*. *Limnol Oceanogr*, 1978, 23: 283–295
- 64 Sunda W, Guillard R R L. The relationship between cupric ion activity and the toxicity of copper to phytoplankton. *J Mar Res*, 1976, 34: 511–529
- 65 Gorski P R, Armstrong D E, Hurley J P, et al. Speciation of aqueous methylmercury influences uptake by a freshwater alga (*Selenastrum capricornutum*). *Environ Toxicol Chem*, 2006, 25: 534–540
- 66 Zhang H C, Sun B Y, Shi Z L, et al. The effects of heavy metal, chelator and Fe^{3+} , Mn^{2+} , ions on the division of *Dicratoria* and the combination effects of them (in Chinese). *J Ocean Univ Qingdao*, 1990, 20: 59–67 [张怀成, 孙秉一, 史致丽, 等. 重金属, 螯合剂以及铁、锰离子对叉边金藻生长的影响. 青岛海洋大学学报: 自然科学版, 1990, 20: 59–67]
- 67 Croue J P, Benedetti M F, Violleau D, et al. Characterization and copper binding of humic and nonhumic organic matter isolated from the South Platte River: Evidence for the presence of nitrogenous binding site. *Environ Sci Technol*, 2003, 37: 328–336
- 68 Leal M F C, Van den Berg C M G. Evidence for strong copper(I) complexation by organic ligands in seawater. *Aquat Geochem*, 1998, 4: 49–75
- 69 Kang F X, Long J, Wang Q, et al. Environmental & biochemical effects of microbial extracellular polymeric substances on the heavy metals and eutrophic elements in water areas: A review (in Chinese). *Chin J Appl Environ Biol*, 2010, 16: 129–134 [康福星, 龙健, 王倩, 等. 微生物胞外聚合物对水体重金属和富营养元素的环境生化效应研究展望. 应用与环境生物学报, 2010, 16: 129–134]
- 70 Boyd T J, Wolgast D M, Rivera-Duarte I, et al. Effects of dissolved and complexed copper on heterotrophic bacterial production in San Diego Bay. *Microb Ecol*, 2005, 49: 353–366
- 71 Brandt K K, Holm P E, Nybroe O. Evidence for bioavailable copper-dissolved organic matter complexes and transiently increased copper bioavailability in manure-amended soils as determined by bioluminescent bacterial biosensors. *Environ Sci Technol*, 2008, 42: 3102–3108
- 72 Zhong H, Evans D, Wang W X. Uptake of dissolved organic carbon-complexed ^{65}Cu by the green mussel *Perna viridis*. *Environ Sci Technol*, 2012, 46: 2383–2390
- 73 Wells M L, Kozelka P B, Bruland K W. The complexation of “dissolved” Cu, Zn, Cd and Pb by soluble and colloidal organic matter in Narragansett Bay, RI. *Mar Chem*, 1998, 62: 203–217
- 74 Wen L S, Santschi P, Gill G, et al. Estuarine trace metal distributions in Galveston Bay: Importance of colloidal forms in the speciation of the dissolved phase. *Mar Chem*, 1999, 63: 185–212
- 75 Shi W, Jin Z F, Hu S Y, et al. Dissolved organic matter affects the bioaccumulation of copper and lead in *Chlorella pyrenoidosa*: A case of long-term exposure. *Chemosphere*, 2017, 174: 447–455
- 76 Hansell D A, Carlson C A. Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter. 2nd ed. San Diego, Calif: Academic Press, 2015. 21–58
- 77 Ziolkowski L A, Druffel E R M. Aged black carbon identified in marine dissolved organic carbon. *Geophys Res Lett*, 2010, 37: L16601
- 78 Liu H, Gao Y L, Yin K D, et al. Effects of N to P ratio on the growth of two red tide diatom *Skeletonema costatum* and *Thalassiosira weissflogii* (in Chinese). *J Trop Oceanogr*, 2010, 29: 92–97 [刘皓, 高永利, 殷克东, 等. 不同氮磷比对中肋骨条藻和威氏海链藻生长特性的影响. 热带海洋学报, 2010, 29: 92–97]
- 79 Jiang Y L, Yoshida T, Quigg A. Photosynthetic performance, lipid production and biomass composition in response to nitrogen limitation in marine microalgae. *Plant Physiol Biochem*, 2012, 54: 70–77

Summary for “水环境中溶解有机物对铜生物可利用性的影响”

The effect of dissolved organic matter on copper bioavailability in aquatic ecosystems: A review

Mulan Wang^{1,2}, Cong Sha^{1,2} & Yuelu Jiang^{1,2*}

¹ Graduate School at Shenzhen, Tsinghua University, Shenzhen 518055, China;

² School of Environmental, Tsinghua University, Beijing 100084, China

* Corresponding author, E-mail: jiang.yuelu@sz.tsinghua.edu.cn

Copper is a very common substance occurred in the natural environment and was the first metal used by human since very early days, the Bronze and Iron Ages. In the first several thousand years, copper production only contributed little to global and even local pollution because its usage was too little to affect human health or ecosystems. However, things have rapidly changed during the industrial revolution. Copper has begun playing a critical role in the technologies developed and being applied in many aspects, such as electrical industries and agricultures. Hence, copper quantities in the environment have hugely increased and are still rising. Many studies have shown that naturally occurred organic matter in different aquatic environments controls the speciation, bioavailability, and, thus, its toxicology and distribution of soluble copper in aquatic ecosystems. And the binding potential of dissolved organic matter (DOM) is largely depending on its components, functional groups, and origins. In this article, we summarized sources, characteristics, and reactivity of aquatic dissolved organic matter (DOM) and its complexation abilities of soluble copper. Aquatic DOM can be classified into exogenous DOM and endogenous DOM. Exogenous DOM is mainly from overland runoff and terrestrial origins leaching from soils and plants, whereas endogenous DOM is from extracellular release, cell decomposition of phytoplankton and bacteria. DOM composition varies a lot among different sources and thus changes the binding potential of copper. The effects of DOM on the bioavailability of copper are mainly manifested in two aspects: (1) DOM can reduce or increase the biological toxicity of Cu^{2+} ; (2) DOM deprives the entry of metals into the food chain by reducing the absorption of copper at the bottom level of the food chain. Aquatic DOM can reduce the biotoxicity of Cu by forming complexation so as to serve as buffer solution in natural environments in most instances. When the environmental conditions change, such as pH or salt, it would favor the formation of free Cu^{2+} , the most toxic form of copper. In an active ecosystem, copper complexes to some lipophilic DOM, such as diethyldithiocarbamate (DDC) and 8-hydroxyquinoline (O_x), may induce cellular toxicity through membrane-facilitated transport. In the marine ecosystem, the class 1 ligands (L1) and the class 2 ligands (L2) balance the copper biotoxicity and bioavailability between surface and deep seawater. Although DOM-Cu complexation may increase the bioavailability of copper through DOM uptake process, Cu-DOM complexes are less bioavailable to organisms at lower trophic level. Thus, DOM can deprive Cu entering the food chain and being bioaccumulated in the higher trophic levels. The effects of aquatic DOM on the bioavailability of copper are mediated by the complexation or chelation potentials, as well as the characteristics of DOM itself and the size of DOM molecules. In the aquatic ecosystem, the extent of Cu binding to DOM as affected by the binding sites depends on its strength. Cu speciation is mostly controlled by DOM with weaker binding sites; whereas the DOM which has stronger binding sites bind Cu at lower Cu concentration environment, such as nitrogen DOM. The chelation of DOM to copper is strongly affected by pH which can both influence the number of the binding sites of DOM and the valence state of copper. In generally, small DOM can increase the uptake of Cu while large DOM can reduce or limit the uptake and adsorption of Cu. With the development of research techniques, research now can more accurately evaluate the effect of DOM on metals from the perspective of molecular structure and its functional groups.

aquatic ecosystem, dissolved organic matter, copper, phytoplankton, bacteria, bioavailability

doi: 10.1360/N972018-00106