

痕量金属在海水中的存在形态和分析方法的研究进展

Current researches on trace metal speciation in seawater

李 力, 王保栋

(国家海洋局 第一海洋研究所, 山东 青岛 266061)

中图分类号: P734.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2013)01-0119-07

1 研究意义

痕量金属(trace metal), 又称为痕量元素(trace element), 是指在海水中浓度低于 $100 \mu\text{mol/kg}$ 的元素。痕量金属几乎参与了海洋生命的方方面面, 从初级生产力中细胞质的形成到蛋白质的合成, 几乎都离不开痕量金属。一些痕量金属, 尤其是一些过渡金属, 例如 Mn、Fe、Ni、Co、Cu 和 Zn, 对有机体的生长至关重要^[1]。因此, 海洋无机生物学家继对有机体的“基因组(genome)”和“蛋白质组(proteome)”的研究之后, 对痕量金属也开展研究, 命名为“金属组(metallome)”, 总结出的海洋生物体中痕量金属的必需含量比值为: $(\text{C}_{106}\text{N}_{16}\text{P}_1) \times 1000 \text{Fe}_8\text{Mn}_4\text{Zn}_{0.8}\text{Cu}_{0.4}\text{Co}_{0.2}\text{Cd}_{0.2}$, 该比值为平均值, 几乎可应用于海水中发现的各种藻类, 其元素含量比例都在该系数的正负三倍以内^[2]。

大洋中溶解态痕量金属的浓度极低, 一般只有几个纳摩尔(10^{-9}mol/L)。由于一般藻类细胞中的金属浓度为海水中的百万倍^[3], 如此便造成了表层海水中某些金属元素的缺稀, 使其成为限制初级生产力的因素, 例如 Fe^[4]。其他一些金属对生物有毒性, 例如 Pb、Hg, 而当某些必需元素的浓度升高后, 也会对生物产生毒性, 例如 Cu^[5]。在近岸, 重金属的生物毒性和污染问题引起了广泛关注。

海水中痕量金属的存在形态是了解海水中金属的毒性(toxicity)和生物可利用性(availability)的一个关键指标^[6-7]。越来越多的科学研究发现, 与生物体有直接作用的并非溶解态金属, 而是其中的一部分, 被定义为活性(Labile)金属, 表示为 Me^* ^[8-10]。因为活性金属(Me^*)与生物圈的紧密相关性, 它逐渐成为研究的热点, 而针对海水中痕量金属存在形态的测定技术也在近 20 年内迅速发展^[11]。重金属的存在形态和生物毒性得到了环境监测部门的重视, 美国

环境保护署(US EPA)1995 年在水质标准(Water Quality Criteria)中指出在淡水或者海水中关于重金属的监测应该侧重于生物可利用的那部分, 而不是总溶解态的浓度^[12]。越来越多的国家环保部门开始考虑将监测活性金属纳入水质监测中, 但是由于监测海水中活性金属的难度较大, 目前还没有简单易行的分析方法, 所以尚未能列入常规监测项目。

我国海域宽广, 沿岸海水中重金属污染较为严重, 对海水中金属及其配体存在形态的测定和相关研究还较少, 所使用的测定方法也相对陈旧^[13-14]。本文将详细介绍目前国际上对海水中痕量金属存在形态及其分析测试方法的研究进展, 以期促进我国海洋科学界了解和开展该方面研究, 从而更好地理解 and 监测金属在海洋生态系统的生物地球化学循环过程。

2 存在形态

海水中的痕量金属经由过滤操作(通过 $0.4 \mu\text{m}$ 的滤膜与否), 定义分为溶解态(dissolved)和颗粒态(particulate)。早期研究认为溶解态金属与生物有着直接的相互作用关系, 但随着研究的深入, 人们发现与生物毒性紧密相关的并非金属的总溶解态, 而是其中活性的那部分。随着分析方法的进步, 溶解态金属被分为自由离子态、无机络合物和有机络合物三种不同的存在形态, 用公式可表示为:

$$[\text{Me}^{n+}] = \{\text{Me}^{n+}\} + \sum_i \{\text{Me}^{n+}\}[\text{X}_i] + \sum_j \{\text{Me}^{n+}\}[\text{L}_j]$$

其中 $\{\text{Me}^{n+}\}$ 代表自由离子浓度(Me 代表某种金

收稿日期: 2012-01-06; 修回日期: 2012-03-25

基金项目: 国家海洋局第一海洋研究所基本科研业务费专项基金(2011T09); 海洋公益性行业科研专项(201105003)

作者简介: 李力(1976-), 女, 山东青岛人, 副研究员, 博士, 主要从事海洋化学方面的研究, 电话: 0532-88967531, E-mail: Li.Li@fio.org.cn

属, 而 $n+$ 代表其价位), X_i 代表无机配位体, 而 L_j 代表有机配位体。其中自由离子的浓度称为活度, 由于活度的数值很小, 所以表示方法一般为其负对数, $pMe = -\log\{Me^{n+}\}$ 。

活性金属(Me')主要由自由离子态和无机络合态组成, 因其分子小, 易被生物体吸收或与生物细胞表面的功能团相结合。某些金属的小分子有机络合物也可被生物体利用, 例如 Fe, 但大分子的有机络合物一般很难被利用。海水中天然有机配体(natural organic ligand)的络合作用较强, 这种络合往往能够极大的降低活性金属的浓度, 抑制其毒性。

2.1 有机和无机络合配体

痕量金属易与海水中的有机配体结合成为较稳定的络合物, 其络合强度由络合稳定常数 K 来表示, 一般电化学分析法的测试结果会将有机配体归类为两种或三种。较强配体的络合常数 K_1 与较弱配体的 K_2 一般相差 2~3 个数量级。不同的金属, 其 $\log K$ 也存在差异, Cu 的较强配体的 $\log K_1$ 一般在 11~14 之间^[15]。而 Fe 则高很多, 一般检测到的 $\log K_1$ 在 20~22 之间^[16], 其强络合效应导致海水中铁的活度很低。络合较强的 L_1 的浓度一般不高(几个到几十个纳摩尔), 它大多存在于海水的表层, 一般认为它是海水中的藻类分泌的, 用来抑制金属对其的毒性^[17]。而络合较弱的 L_2 浓度高些(几十到几百个纳摩尔)在海水中的垂直分布比较均匀, 不仅仅限于表层, 其来源很可能是污水中人造合成的一些有机络合物, 如 EDTA^[18-19]。现在, 络合容量(complexing capacity, 表示为 α'_{MeL})常被用来描述海水中天然配体的综合络合能力, 它是所有配体的络合常数与浓度相乘的总和($\sum K_{MeL} [L]$)。络合容量可看作海水对总溶解态金属的缓冲能力, 直接决定自由离子态金属的浓度。值得注意的是, 目前我们所定义的有机配体的分类方法是根据分析测试方法来的, 海水中应有一系列不同络合常数的有机配体, 不止两种或三种^[20]。但为了不同研究的数据具有可比性, 应尽量采用相似的分析方法。尽管不同的分析方法得出的配体络合常数和浓度会有所不同, 但其总络合容量(complexing capacity)的结果应相差不大, 应可准确获得金属存在形态的信息。

目前金属存在形态研究面临最大的难题之一是我们对这些天然有机配体的来源和结构所知甚少。随着分析技术的进步、采样范围的扩大, 人们对其认

识和了解也在不断加深。就结构来说, 硫醇(thiol)被发现是一种在海水中广泛存在的重要有机配体, 其 $\log K$ 值比之前发现的 L_1 更高, 可与金属形成强络合物^[21-22]。空间上, Moffett 和 Dupont^[23]在西北太平洋的最新研究发现, Cu 的较强有机配体 L_1 较为均匀的垂直分布于水体中直到 3 000 m 水深, 99.9%的溶解态铜都是被有机络合的, 这与以前的研究结果非常不同^[24]。

除了有机络合物以外, 自由离子还与海水中的无机配体形成无机络合物。海水中存在着大量的无机, 如 Cl^- , OH^- , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} 等。金属离子和无机离子之间会有不同程度的络合反应。大多数金属的无机络合物占溶解态的百分比不大, 因其络合稳定常数远远小于有机络合物。但某些金属的无机络合反应也很强, 例如 Ag, 可以和 Cl^- 产生较强的络合, 形成的无机络合物也易被生物体吸收^[25]。

2.2 存在形态研究进展

不同金属的活性部分占总溶解态的百分比不同, 由该金属与有机或无机配体的络合强度、配体的浓度等因素所决定。在不同的海区中, 有机络合的强度也随海水中天然有机配体的络合容量而变。例如, Cu 和 Fe 的有机络合效应较强, 所以 Me' 通常只占总溶解态的百分之一或万分之一, 而 Pb、Cd 的络合效应相对较弱, 其活性态占总溶解态的 10%~99%不等^[26-28]。最近的研究显示, 与低纬度海区不同的是, 靠近南极附近的南大洋(Southern Ocean)海水中总是充满了活性态的锌^[29], 对罗斯海(Ross Sea)中的 Co 的研究也发现过类似现象^[30]。由于各种金属不能逐一累述, 本文重点介绍 Fe 和 Cu。

Fe 的研究重点在于其在大洋海水中的缺稀。在大洋中, 表层水中铁的含量极低(只有 0.02~1 nmol/L), 其中 99%都与有机配体络合, 导致其活性浓度更低, 而海藻的生长对铁的需求是其它金属的 10 倍。20 世纪 80 年代末 Martin 提出, 在一些大洋中, 例如靠近南极的太平洋、赤道附近的太平洋和南大洋, 存在着高营养盐低叶绿素(High-Nutrient, Low-Chlorophyll, HNLC)的区域, 其原因可能是海水中铁的缺稀抑制了初级生产力(primary production)^[31]。由于存在着 HNLC 现象的海域较广, 约占全世界大洋面积的 20%, 由此, Martin 又提出一个大胆的假设, 即通过在 HNLC 的海域中加入铁来刺激初级生产力, 从而消耗大气中的二氧化碳^[32]。在全球

变暖的大前提下,这个设想非常具有吸引力。自此,铁在海水中的存在形态及其被藻类吸收利用的过程成为研究热点。其中,与存在形态相关的发现是,海洋中的蓝藻(cynobacteria)分泌的一种小分子有机配体(siderophore)能与铁络合,而这种有机络合物能直接被藻类的细胞壁吸收^[33],这打破了以往人们认为的只有金属的自由离子态和无机络合物才能被生物吸收的看法。同时,一系列中等规模的“施铁肥(Meso-scale Iron Fertilization)”的实验也在大洋中进行,针对在海水中加入铁后的生物化学变化进行了跟踪观测,结果显示海水中加铁的确能够有效地刺激初级生产力,但同时也引起了海水中一系列的生态变化^[34]。从长远的角度来看,尚不知在大洋中施铁以消耗二氧化碳的做法是否利大于弊。

另一种金属 Cu, 被关注的较多的则是它的毒性。研究显示,一旦 Cu^+ 的浓度超过一定水平,即 Cu^+ 的浓度高于 10^{-11} mol/L ($\text{pCu}^+ < 11$), 就会对海水中的藻类或贝类产生毒性,抑制其生长^[5,9,35]。而在近岸水中,特别是海港码头,由于含有高浓度铜的污水的排放和船只上防污涂料的释放,铜的浓度都会比较高,因此从环境污染的意义上,这是一个令人担忧的问题。目前对铜的存在形态的研究显示,99%以上的溶解态铜都与有机物形成较强的络合而难以被分解利用,这可能是藻类自身的抑毒机制造成的^[17,36]。所以,虽然铜的毒性较高,可是在一般情况下,其 Cu^+ 的浓度都被控制在 10^{-11} mol/L 以内,不会对生态系统造成危害。

3 分析测试方法

大多数痕量金属的自由离子态在海水中以纳摩尔(10^{-9} mol/L)或皮摩尔(10^{-12} mol/L)的量级存在,浓度极低,在复杂的海水介质中检测如此低浓度的痕量金属并非易事,并且针对该研究的采样和测试的过程中的污染源较多。一直到20世纪70年代末和80年代初,科学家们才开始建立起各种控制样品污染的技术,统称为“痕量金属洁净技术(trace metal clean technique)”,自此开始获得值得信赖的数据,但严格的采样和分析技术要求导致目前海水中、尤其是大洋中的痕量金属及其存在形态的数据还较匮乏。目前国际上正在合作进行一个名为GEOTRACES^[37]的项目,旨在通过各国科学家的合作和交流,确定海水中痕量元素的规范采样、预处理和测试技术,在更广阔的海域内获得准确的痕量金

属的数据。

海水中金属存在形态的发展离不开分析技术的发展,目前为止,很多存在形态的定义都是由分析技术所能测定的存在形态决定的。近20年来,针对海水中痕量金属存在形态的分析测试技术发展迅速,但很多研究成果也还是在摸索和探讨当中。本文将介绍目前在国际上最流行的几种分析测试方法、其最新研究进展及其优缺点。

3.1 电化学法(electrochemistry)

用电化学方法来分析海水中痕量金属由来已久^[38],伴随着对海水中总溶解态的分析研究,也逐渐开展对其存在形态的测定。通过近三四十年的发展,随着电化学仪器精密度和稳定性的不断提高,电化学方法也日趋成熟,并逐渐成为最被承认和肯定的方法。电化学方法包括阳极溶出伏安法(ASV)、竞争配位体平衡/吸附阴极溶出伏安法(CLE-CSV),以及极谱法(pseudo-polarography),该方法中电极能够直接测定的是那部分溶解态痕量金属被称为活性金属(Me^+),主要为自由离子态、无机络合物组成,也包括一小部分易分解的有机络合物,这也是“活性(labile)”概念最初的由来。使用电化学分析法不仅可测定金属的活度,还可定性定量的测出天然有机配体(natural organic ligand)与被测金属间的络合稳定常数和有机配体浓度。

对于海水中痕量金属形态的分析,目前广泛流行的是CLE-CSV法,它是一个间接测定法,即加入已知络合强度的配体与所测试海水样品中的天然有机配体进行竞争平衡来测定溶液中天然配体的络合强度和浓度,同时计算出自由离子态金属的浓度,该方法目前成为测定海水中Cu、Fe等痕量金属存在形态的一个标准方法^[39]。该方法所使用的仪器较小,方便携带使用,且灵敏度高,所以较多的应用于野外和船上的实时测定,大洋航次中多使用该方法进行测定。该方法存在的问题是,其测定的配体络合强度和浓度的结果受制于加入的配体的络合能力(complexing capability)。Bruland^[20]等在一次电化学方法的对比研究中发现,所测得天然有机配体的络合强度和浓度会随着加入竞争配体(added competing ligand)的分析竞争强度(analytical competing strength)的变化而变化。Bruland由此指出,天然海水中其实存在着一系列的有机络合配体,只是人为的分析方法将其归类而已,但这并不影响离子活度测定的结

果,即高达 99.7%的溶解态 Cu 是有机络合状态。但是,一定要采用与天然配体络合强度匹配的竞争配体对样品进行分析,否则分析结果将产生差异。

目前针对电化学分析方法的研发还在进行中,其中较多的发展是使用 AVS 法在船上实时测定总溶解态金属,如 Cu、Co、Zn、Mn 等^[40-41],最近也展开了对 As 的形态的测定^[42]。超声技术还被引入到测定技术中^[43],使电极能更快的与溶液中的金属离子达到平衡。同时,Braungardt 等^[44]还研发出溶出法野外记录系统(VIP),可直接放入海水中,快速测定总溶解态的 Cu、Cd、Pb,1 h 内可完成 2~3 个样品的测定,极大的丰富了近岸海水中溶解态金属的数据库。同时,最近 VIP 系统应用于测定小于 4 nm 的溶解态金属浓度,Braungardt 等认为这部分金属是可被生物利用的^[45]。但是,针对金属存在形态的分析方面,目前该方法面临的问题还是实验步骤比较繁琐,CLE-CSV 法的测试要将一份海水样品分为 10~12 份进行加标测试分析,且该分析要先进行几个小时以上的平衡,耗费时间长、费时费力,而且在繁琐的处理样品的过程中,容易引起样品的污染。

3.2 离子选择电极(ISE)

离子选择电极(Ion Selective Electrodes, ISE)法也是一种测定水中金属离子活度的较为传统的方法,该方法最大的优势是前处理步骤简单,样品不需经复杂处理。但是,很长一段时间以来,该方法在海水中的应用颇具争议,Westall 等^[46]认为电极在海水中受到氯化物的影响产生了“超能斯特(Supernernstian)效应”,所以该方法只适用于在金属离子浓度较高的淡水中使用。自 20 世纪 90 年代后期开始,有研究显示一种辉铜银电极(Jalpaite)可通过适当的预处理后(pre-conditioning),用于测定海水中痕量金属的活度^[47-48]。随后,越来越多的实验证明 ISE 可用于海水中离子活度的测定,例如 Zirino 等^[49]用 Cu 的 ISE(Orion 94-29)测定的美国圣地亚哥湾近岸水的 $pCu = 12.2$,多次重复测定 pCu 的误差为 ± 0.2 。Rivera-Duarte 和 Zirino^[50]不仅测定了海水中 Cu 的活度,还尝试通过加标滴定的方法,使用 ISE 测定海水中与铜络合的有机配体的络合能力(complexing capacity)。最近,Niera 等^[51-52]使用 ISE 在美国圣地亚哥湾测定了海水和表层沉积物间隙水(porewater)中 Cu 的活度,对船只数量对海湾中铜浓度的影响、以及底栖生物对铜污染响应等问题进行了一系列研究,

这些研究都显示了离子选择电极作为一种实时快速的测试海水和间隙水中痕量金属存在形态的测试方法的巨大潜力。

特别值得注意的是,目前沉积物中间隙水中金属离子活度的测定还是个难题,因为间隙水基体复杂、样品量少使得 CLE-CSV 法无法应用,而 ISE 则显示了它在该研究领域测试的优势。然而,离子选择电极测定海水中金属离子活度的应用目前也还存在很多问题,比如:1)一种 ISE 只能测定一种金属,目前研究较多的仅限于 Cu,其它金属例如 Fe、Pb、Cd 等的研究较少^[53];2)前期对电极的预处理比较复杂,要求高;3)离子选择电极耐用性较差,会随着时间溶解腐蚀,在海水溶液中释放铜离子,从而改变溶液中铜离子的浓度;4)在光线照射下,测定结果的重复性也不好,所以要在避光的环境下进行测定;5)如果海水中铜离子浓度过高,或者海水中有有机物的络合性太强,都会影响标定曲线,从而使最终的测定结果产生误差等。

3.3 以 DGT 为代表的新型测试技术

因为传统的测定方法都比较复杂,所以,目前国际上在研发一些新型测定方法,追求原位(in-situ)记录活性金属的浓度,以及相对简单的处理和分析过程,以免引入不必要的误差。其中,以“浓差扩散法(DGT)”为代表的一种新型测试技术开始受到广泛的关注和应用^[54-56]。DGT 采用原位富集技术,主体为一个小的采样器(sampler)中包含着两层极薄的凝胶(hydrogel),上层为扩散凝胶,下层为树脂(resin)凝胶,上层凝胶外还覆有一层 $0.45\ \mu\text{m}$ 孔径的滤膜,将海水先进行过滤。DGT 可直接投掷在海水样品中,使采样器中的树脂凝胶与海水中金属离子进行一定时间的络合富集,以测定水中的活性金属浓度。该络合反应是单向的,动态的(kinetic-based),无法达到平衡,所以需要准确记录反应时间以进行下一步的计算。该方法经过近 20 年的发展,日趋成熟,已经被制作成商业成品进行广泛的推广和应用。

这类方法的优点是简单易行,可同时测定多种金属(Cu、Pb、Zn、Al、Fe、Mn、Ni、Cd),而且还被制成板式形状,插入沉积物进行间隙水中活性金属的测定。但是,该方面存在的问题是:1)与树脂胶里络合的那部分金属到底是以哪个形态存在于水体中的还有颇争议,现暂时被称为 DGT 浓度(DGT concentration);2)因为树脂的络合也是和天然有机配

络合竞争的过程, 所以 DGT 浓度会受到海水中天然有机配体的强度和浓度的影响而变化; 3) 该反应至少需要 DGT 与流动的海水样品平衡 24 h, 所以该采样器的投放需要适宜的条件。

与 DGT 法类似的一些方法也在研发中, 例如 DMT 法(Donnan membrane technique)^[57,58], FTPLM 和 HFPLM 法(flow-through and hollow fiber permeation liquid membranes)^[59,60]等, 它们面临着一些和 DGT 类似的问题和挑战, 在此不一一详述。最近, 一种新型的超声辅助金属离子记录仪(SAFIR)研制成功, 它能够原位记录海水中铜离子的浓度($10^{-15} \sim 10^{-9}$ mol/L), 且只需要十分钟的平衡时间, 该记录仪操作简单, 但目前只能用于测定海水中的铜离子^[61]。虽然类似的新型测试方法还存在着种种不足, 但该领域是一个必然的发展趋势, 将在未来日趋完善, 使得快速、准确的测定海水中的金属存在形态成为可能。

4 总结

本文对目前国际上对海水中金属存在形态及其分析方法的研究现状做了比较详细的介绍: 1) 阐述了海水中痕量金属存在形态的研究意义及其研究进展, 重点介绍了铁和铜; 2) 介绍了有机络合对金属存在形态的重要影响, 有机络合物的来源、性质等的研究进展; 3) 介绍了目前对海水中痕量金属存在形态常用的分析方法、研究进展及其发展方向。

目前国际上正在进行的 GEOTRACES^[37,62]的项目, 旨在提高人们对大洋中痕量金属和同位素的研究和认识。到目前为止, 大洋中痕量金属数据还很匮乏。GEOTRACES 通过国际科学家们的通力合作, 必将为海洋中的痕量元素及其存在形态的研究提供更多准确的数据, 使我们更好的了解金属在海洋中的循环、以及它与海洋中重要的海洋生物物理化学过程的相互关系。

参考文献:

- [1] Butler A. Acquisition and utilization of transition metal ions by marine organisms [J]. Science, 1998, 281(5374): 207-210.
- [2] Outten C E, O'Halloran T V. Femtomolar sensitivity of metalloregulatory proteins controlling zinc homeostasis [J]. Science, 2001, 292: 2488-2492.
- [3] Morel F M M, Price N M. The biogeochemical cycles of trace metals in the oceans [J]. Science, 2003, 300: 944-947.
- [4] Martin J H, Fitzwater S E. Iron deficiency limits phytoplankton growth in the north-east pacific subarctic [J]. Nature, 1988, 331: 341-343.
- [5] Sunda W G, Guillard R L. The relationship between cupric ion activity and the toxicity of copper to phytoplankton [J]. Journal of Marine Research, 1976, 34: 511-529.
- [6] Bruland K W, Lohan M C. Controls of Trace Metals in Seawater[M]// Elderfield H. Treatise on Geochemistry. Elsevier, 2003.
- [7] Morel F M M. The co-evolution of phytoplankton and trace metal element cycles in the oceans [J]. Geobiology, 2008, 6(1): 318-324.
- [8] Anderson D M, Morel F M M. Copper sensitivity of *Gonyaulax tamarensis* [J]. Limnology and Oceanography, 1978, 23(2): 283-295.
- [9] Brand L E, Sunda W G, Guillard R R L. Reduction of Marine-Phytoplankton Reproduction Rates by Copper and Cadmium [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1986, 96(3): 225-250.
- [10] Morel F M M, Price N M. The biogeochemical cycles of trace metals in the oceans [J]. Science, 2003, 300: 944-947.
- [11] Buffle J, Horvai G. In situ monitoring of aquatic systems: chemical analysis and speciation, in IUPAC series on Analytical and Physical Chemistry of Environmental Systems [M]. Chichester: John Wiley, 2000.
- [12] Paquin P R, Gorsuch J W, Apte S, et al. The biotic ligand model: a historical overview*¹ [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2002, 133(1-2): 3-35.
- [13] 陈春华, 余国辉. 东海西北部海域表层海水表观铜络合容量的分布及影响因素的探讨 [J]. 海洋环境科学, 1994, 13(1): 27-31.
- [14] 刘春颖, 张正斌, 张安慧, 等. 中国近岸部分海域海水中金属络合配位体浓度的研究 [J]. 海洋学报, 2005, 27(2): 54-62.
- [15] Buck K N, Bruland K W. Copper speciation in San Francisco Bay: A novel approach using multiple analytical windows [J]. Marine Chemistry, 2005, 96(1-2): 185-198.
- [16] Gledhill M, Buck K N. The organic complexation of iron in the Marine Environment: a review [J]. Frontiers in Microbiology, 2012, 3.
- [17] Moffett J W, Brand L E. Production of strong, extracellular Cu chelators by marine cyanobacteria in response

- to Cu stress [J]. *Limnology and Oceanography*, 1996, 41(3): 388-395.
- [18] Breault R F, Colman J A. Copper speciation and binding by organic matter in copper-contaminated streamwater [J]. *Environmental Science and Technology*, 1996, 30(12): 3477-3486.
- [19] Sedlak D L, Phinney J T, Bedsworth W W. Strongly complexed Cu and Ni in wastewater effluents and surface runoff [J]. *Environmental Science and Technology*, 1997, 31(10): 3010-3016.
- [20] Bruland K W, Rue E L, Donat J R, et al. Intercomparison of voltammetric techniques to determine the chemical speciation of dissolved copper in a coastal seawater sample [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2000, 405(1-2): 99-113.
- [21] Al-Farawati R, Van Den Berg C M G. Thiols in Coastal Waters of the Western North Sea and English Channel [J]. *Environmental Science & Technology*, 2001, 35(10): 1902-1911.
- [22] Dupont C L, Moffett J W, Bidigare R R, et al. Distribution of dissolved and particulate biogenic thiols in the Subarctic Pacific Ocean [J]. *Deep-Sea Research Part I-Oceanographic Research Papers*, 2006, 53(12): 1961-1974.
- [23] Moffett J W, Dupont C. Cu complexation by organic ligands in the sub-arctic NW Pacific and Bering Sea [J]. *Deep-Sea Research Part I-Oceanographic Research Papers*, 2007, 54(4): 586-595.
- [24] Coale K H, Bruland K W. Copper complexation in the Northeast Pacific [J]. *Limnology and Oceanography*, 1988, 33(5): 1084-1101.
- [25] Reinfelder J R, Chang S. Speciation and microalgal bioavailability of inorganic silver [J]. *Environmental Science and Technology*, 1999, 33(11): 1860-1863.
- [26] Capodaglio G, Coale K H, Bruland K W. Lead speciation in surface waters of the eastern North Pacific [J]. *Marine Chemistry*, 1990, 29:221-233.
- [27] Kozelka P B, Sanudo-Wilhelmy S, Flegal A R, et al. Physico-chemical speciation of lead in South San Francisco Bay [J]. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 1997, 44(6): 649-658.
- [28] Kozelka P B, Bruland K W. Chemical speciation of dissolved Cu, Zn, Cd, Pb in Narragansett Bay, Rhode Island [J]. *Marine Chemistry*, 1998, 60(3-4): 267-282.
- [29] Baars O, Croot P L. The speciation of dissolved zinc in the Atlantic sector of the Southern Ocean [J]. *Deep-Sea Research II: Topical Studies in Oceanography*, 2011, 58(25-26): 2720-2732.
- [30] Saito M A, Geopfert T J, Noble A E, et al. A seasonal study of dissolved cobalt in the Ross Sea, Antarctica: micronutrient behavior, absence of scavenging, and relationships with Zn, Cd, and P [J]. *Biogeosciences*, 2010, 7(12): 4059-4082.
- [31] Martin J H, Fitzwater S E. Iron deficiency limits phytoplankton growth in the north-east pacific subarctic [J]. *Nature*, 1988, 331: 341-343.
- [32] Martin J H. Glacial-interglacial CO₂ change: the iron hypothesis [J]. *Paleoceanography*, 1990, 5:1-13.
- [33] Braun V, Hantke K. Recent insights into iron import by bacteria [J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2011, 15(2): 328-334.
- [34] Boyd P M, Jickells T, Law C S, et al. Mesoscale iron enrichment experiments 1993-2005: Synthesis and future directions [J]. *Science*, 2007, 315: 612-617.
- [35] Moffett J W, Brand L E, Croot P L, et al. Cu speciation and cyanobacterial distribution in harbors subject to anthropogenic Cu inputs [J]. *Limnology and Oceanography*, 1997, 42(5): 789-799.
- [36] Nadella S R, Fitzpatrick J L, Franklin N, et al. Toxicity of dissolved Cu, Zn, Ni and Cd to developing embryos of the blue mussel (*Mytilus trossulus*) and the protective effect of dissolved organic carbon [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 2009, 149(3): 340-348.
- [37] SCOR Working Group. GEOTRACES - An international study of the global marine biogeochemical cycles of trace elements and their isotopes [J]. *Chemie der Erde - Geochemistry*, 2007, 67(2): 85-131.
- [38] Bruland K W, Coale K H, Mart L. Analysis of seawater for dissolved cadmium, copper and lead: An intercomparison of voltammetric and atomic absorption methods [J]. *Marine Chemistry*, 1985, 17(4): 285-300.
- [39] Buck K N, Selph K E, Barbeau K A. Iron-binding ligand production and copper speciation in an incubation experiment of Antarctic Peninsula shelf waters from the Bransfield Strait, Southern Ocean [J]. *Marine Chemistry*, 2010, 122(1-4): 148-159.
- [40] Achterberg E P, Van Den Berg C M G, Colombo C. High resolution monitoring of dissolved Cu and Co in coastal surface waters of the Western North Sea [J]. *Continental Shelf Research*, 2003, 23(6): 611-623.
- [41] Bi Z S, Chapman C S, Salaun P, et al. Determination of

- lead and Cadmium in sea- and freshwater by anodic stripping voltammetry with a vibrating bismuth electrode [J]. *Electroanalysis*, 2010, 22(24): 2897-2907.
- [42] Gibbon-Walsh K, Salaun P, Van Den Berg C M G. Determination of arsenate in natural pH seawater using a manganese-coated gold microwire electrode [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2012, 710: 50-57.
- [43] Alves G M S, Magalhaes J M C S, Salaun P, et al. Simultaneous electrochemical determination of arsenic, copper, lead and mercury in unpolluted fresh waters using a vibrating gold microwire electrode [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2011, 703(1): 1-7.
- [44] Braungardt C B, Achterberg E P, et al. Analysis of dissolved metal fractions in coastal waters: An inter-comparison of five voltammetric in situ profiling (VIP) systems [J]. *Marine Chemistry*, 2009, 114: 47-55.
- [45] Braungardt C B, Howell K A, Tappin A D, et al. Temporal variability in dynamic and colloidal metal fractions determined by high resolution in situ measurement in a UK estuary [J]. *Chemosphere*, 2011, 84: 423-431.
- [46] Westall J C, Morel F M M, Hume D N. Chloride interference in cupric ion selective electrode measurements [J]. *Analytical Chemistry*, 1979, 51(11): 1792-1798.
- [47] De Marco R. Response of Cu(II) ion selective electrode in seawater [J]. *Analytical Chemistry*, 1994, 66: 3203-3207.
- [48] De Marco R, Mackey D J, Zirino A. Response of the jalpaite membrane Cu(II) ion selective electrode in marine waters [J]. *Electroanalysis*, 1997, 9: 330-334.
- [49] Zirino A, VanderWeele D A, Belli S L, et al. Direct measurement of Cu(II)aq in seawater at pH 8 with the jalpaite ion-selective electrode [J]. *Marine Chemistry*, 1998, 61: 173-184.
- [50] Rivera-Duarte I, Zirino A. Response of the Cu(II) ion selective electrode to Cu titration in artificial and natural shore seawater and in the measurement of the Cu complexation capacity [J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38(11): 3139-3147.
- [51] Neira C, Delgadillo-Hinojosa F, Zirino A, et al. Spatial distribution of copper in relation to recreational boating in a California shallow-water basin [J]. *Chemistry and Ecology*, 2009, 25(6): 417-433.
- [52] Neira C, Mendoza G, Levin L A, et al. Macrobenthic community response to copper in Shelter Island Yacht Basin, San Diego Bay, California [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2011, 62(4): 701-717.
- [53] De Marco R, Clarke G, Pejic B. Ion-selective electrode potentiometry in environmental analysis [J]. *Electroanalysis*, 2007, 19-20: 1987-2001.
- [54] Davison W, Zhang H. In situ speciation of trace components in natural waters using thin-film gels [J]. *Nature*, 1994, 367: 546-548.
- [55] Zhang H. In-situ speciation of Ni and Zn in freshwaters: comparison between DGT measurements and speciation models [J]. *Environmental Science and Technology*, 2004, 38: 1421-1427.
- [56] Warnken K W, Lawlor A J, Lofts S, et al. In situ speciation measurements of trace metals in headwater streams [J]. *Environmental Science and Technology*, 2009, 43: 7230-7236.
- [57] Temminghoff E J M, Plette A C C, Van Eck R, et al. Determination of the chemical speciation of trace metals in aqueous systems by the Wageningen Donnan membrane technique [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2000, 417: 149-157.
- [58] Weng L P, Van Riemsdijk W H, Temminghoff E J M. Kinetic aspects of DMT for measuring free metal ion concentrations [J]. *Analytical Chemistry*, 2005, 77: 2852-2861.
- [59] Parthasarathy N, Pelletier M, Buffle J. Hollow fiber based supported liquid membrane: a novel analytical system for trace metal analysis [J]. *Analytica Chimica Acta*, 1997, 350: 183-195.
- [60] Tomaszewski L, Buffle J, Galceran J. Theoretical and analytical characterization of a flow-through permeation liquid membrane with controlled flux for metal speciation measurements [J]. *Analytical Chemistry*, 2003, 75: 893-900.
- [61] Li L, Pala F, Haskins J, et al. Measurement of free Cu ion activity in seawater using a passive-equilibrium sonic-assisted free ion recorder (SAFIR) [J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45: 5660-5667.
- [62] Sohrin Y, Bruland K W. Global status of trace elements in the ocean [J]. *Trends in analytical Chemistry*, 2011, 30(8): 1291-1307.

(本文编辑: 康亦兼)