

生物毒性快速检测与给水水质预警

李东

(广州市番禺区自来水公司)

摘要:本文重点介绍了五种生物毒性快速检测方法——发光细菌毒性实验、生物传感器检测、鱼类毒性实验、藻类毒性实验和水蚤毒性实验等,为建立城市给水水质预警系统提供新的思路。

关键词:生物毒性;快速检测;水质预警

近几年来,突发性污染事故及水质突变现象时有发生,且呈现出明显的增加趋势,例如哈尔滨松花江苯类污染、广东北江韶关段镉污染及近期的太湖蓝藻暴发等。水质突发性污染事故直接威胁到了人民群众的生命安全。保障安全供水,建立供水预警系统已成为水质监测部门的一项不可推卸的责任,而应急毒性检测是供水预警系统中至关重要的一环。

现在的研究认为,完整的应急检测应该分为三级:一级是快速检测,二级是确定性检测,三级是精确权威检测。每一级的检测方法特点不同,能提供的信息也不同,其中第一级应以快速检测为主要特点:①应急检测(是否能喝,是不是停水);②几分钟检出结果;③检测谱应尽可能宽;④基本确定是化学还是病毒污染。一级检测方法包括快速综合性毒性检测,快速生物总量检测和颗粒与有机污染检测等。目前,我国绝大部分水质中心的分析方法都属于第二级或第三级,但作为应急检测体系的最重要的预警环节,第一级的快速检测方法还没有在国内得到很好的应用。

传统的理化分析方法能定量分析污染物中主要成分的含量,但不能直接、全面地反映各种有毒物质对环境的综合影响。因水中有毒物质的多样性,实际中不可能对全部物质都分别实施检测,更不可能考虑到各种化学物质之间的拮抗、抑制和协同作用。而生物检测可以综合多种有毒物质的相互作用,判定有毒物质的质量浓度和生物效应之间的直接关系,为水质的监测和综合评价提供科学依据,因而得到了迅速发展。

生物毒性检测方法包括急性毒性实验、亚急性毒性实验、慢性毒性实验以及生物致畸、致癌、致突变实验等,其中急性毒研究方向性实验可以探明环境污染物与机体短间接接触后所引起的损害作用,找出有毒物质的作用途径、剂量与效应的关系,为进行其他各种动物实验提供设计依据,并对环境污染提供预警,因而已成为应用最广泛的毒性测试方法。

1 发光细菌毒性实验方法

发光细菌在正常条件下能发出一定波长的光,许多有毒物质可抑制其发光强度,通过测定发光强度变化可以实现水质的急性毒性检测,因而受到众多研究者的关注。1978年,美国 Backman 公司首先研制成一种商品名为“Microtox”的生物发光光度计(即生物毒性测定仪),用明亮发光杆菌发光强度的变化检测污染物的毒性,其灵敏度可与鱼类 96h 急性毒性实验相媲美。此后许多学者利用这种方法研究了工业废水、河流、海水等样品的毒性,中国于 1995 年将这一方法列为水质急性毒性检测的标准方法。但是,发光细菌法检测毒性具有发光强度本底值差异较大,检测期间发光变化幅度宽的问题。林志芬等研究了培养时

间、培养世代、培养温度等条件对测定值的影响,并通过引入校正因子改进了测试方法,使实验数据的标准偏差降低,提高了实验的重现性。明亮发光杆菌是海水发光菌,毒性测试时需要向样品中加入一定量的盐以维持菌的正常生长,这会导致样品中一些有毒物质毒性大小发生变化。1985年,中国学者从青海湟鱼体表分离出了一种淡水型发光菌——青海孤菌,该菌具有在淡水体系中能正常发光的特点,更适用于淡水环境样品的生物毒性测试。童中华等利用该菌对印染废水中的 14 种染料进行了毒性检测,结果表明,发光菌比化学参数能更准确地反映废水的生物毒性。马梅等将淡水发光菌与明亮发光杆菌测试结果进行了平行对比,结果表明,淡水发光菌对重金属的毒性检测具有更高的灵敏度。

许多微生物呼吸活性也会受到有毒物质的抑制从而表现为活性下降、生理发生变化等,基于这种原理,研究者将底泥硝化细菌、硝化细菌富集培养物等用于有毒物质的毒性检测,通过测定硝化细菌的呼吸速率的变化来检测废水毒性,测得毒物。值与发光菌法具有较好的相关性,该方法适用于测试城市污水和工业废水的毒害作用,也适用于河道底泥的毒性检测。英国 PPM 公司研发了一种名为 AMTOX 的在线测试仪,该仪器基于固定化硝化细菌消耗样品中的氨,并通过测定底物中氨氮的消耗速率来检测样品的毒性,可广泛用于废水的毒性检测。

2 酶传感器、微生物传感器、DNA 传感器和免疫传感器检测方法

目前,用于毒性检测的生物传感器有酶传感器、微生物传感器、DNA 传感器和免疫传感器等。酶、DNA 和抗原抗体的专一性强,因此,酶传感器、DNA 传感器和免疫传感器能特异地检测某种有毒物质的毒性。微生物传感器是一类用完整细胞作为识别元件的传感器,由于微生物本身是一个复杂的有机体,包含多种酶系,利用其体内的各种酶系及代谢系统来检测和识别相应底物,可以达到测试多种有毒物质综合毒性的目的,因此,微生物传感器是目前具有很好发展前途的毒性检测生物传感器。田中良春等将硝化细菌固定化菌膜固定在溶解氧电极上组成传感器,以 KCN 为毒性参照物,通过监测硝化细菌的呼吸速率的变化来测定有毒物质的毒性,响应时间能达到 20min,最低检出限为 0.05mg/L,微生物膜能够稳定使用 1 个月。严珍用普通滤纸作菌膜组装的发光细菌生物传感器可用于海洋水质监测和蔬菜农药残留的检测,选择脱脂牛奶作为保护剂,采用冷冻干燥并真空包装的方法,使菌膜在一定程度上隔绝水分和氧气而不会过分生长,便于野外或携带至船上进行实时监测,菌膜的使用寿命能

达到 1 个月,与标准的发光细菌毒性实验相比,具有操作简单,重现性好,易于携带等优点。

3 鱼类毒性实验方法

鱼类对水环境的变化十分敏感,当水体中有毒物质达到一定质量浓度时,就会引起一系列中毒反应,因而被广泛用于毒物和废水的生物监测、评价,进而据此进行质量标准和排放标准的制定以及工业废水的管理等。早在 1946 年,DAVIS 就用一种比较的食蚊做废水毒性的现场检验。近些年,鱼类急性毒性试验涉及了多种鱼类和多种有毒物质:ROEX 等探讨了 1,2,3-三氯苯和对硫磷对斑马鱼的急性毒性效应;王春风等利用剑尾鱼检测了重金属汞和硒的急性毒性 L₂;GERHARDT 利用虹鳟鱼检测了南非采矿污水的毒性;TOUSSAINT 等论述了饮用水消毒副产品对青鳉鱼的毒性影响;其他还有有毒物质对草鱼、鲫鱼、鲢鱼等的毒性研究。

传统鱼类毒性实验采用 24, 48, 96h 有毒物质的半数致死的质量浓度来表征急性毒性作用的程度,实验周期较长,且需要大量实验材料和多次重复实验,应用生物标志物评价污染物毒性可弥补这些不足,因而成为当前的研究热点。某些特定的外来有毒物质能诱导或抑制生物体内的酶活力,使酶活性异常增高或降低,利用酶活性变化作为生物标志物可以检测有毒物质的生物毒性。霍传林等发现芳烃及其类似化合物(多氯联苯、多环芳烃等)对鱼体内细胞色素 P450 系统依赖的 7-乙氧基-3-异吩唑酮-脱乙酰基酶 (EROD) 活性具有很强的诱导能力,因此,EROD 可以作为检测这类污染物的生物标志物。

4 藻类毒性实验方法

在水生生态系统及水生食物链中,藻类是初级生产者,其个体小、繁殖快、对毒物敏感,易于分离、培养并可直接观察细胞水平上的中毒症状,是一种较理想的生物毒性实验材料。水体中重金属和有机污染物对藻类的毒性表现在可抑制其光合作用、呼吸作用、酶的活性和生长等。在急性毒性实验中,常用藻类的生长抑制作为测试指标。MA 等通过检测 33 种除草剂对蛋白核小球藻的生长抑制效应发现,除草剂能明显地抑制藻类的生长,其中毒性最大的是百草枯,其 EC₅₀(96h)为 1.0×10⁻⁴mg/L,与毒性最小的草除灵(EC₅₀(96h)=37.26mg/L)相差几万倍。WONG 等在研究工业废水对藻类的生长抑制毒性时发现,大部分有机金属化合物(铜和砷除外)对藻类的毒性大于无机金属离子。孙红文等通过有机物对斜生栅藻、蛋白核小球藻和盐泽螺旋藻、扁藻等的生长抑制毒性实验,认为斜生栅藻和扁藻对毒物非常敏感。

以藻的生长抑制效应作为测试指标,准确可靠,但是工作量大,测定周期长。陈德辉等提出以氧电极法的光合率作为藻类毒性测试指标,研究了铜离子对羊角月牙藻光合作用效率的抑制效应,整个测试过程简便、快速,能够随时测定受试毒物对藻类光合作用的影响,与藻类生长抑制作用的急性毒性实验比较,测定时间由 96h 缩短到 2h,灵敏度提高了约 1 倍。康瑞娟等将细菌荧光酶基因转入丝状体固氮蓝藻—鱼腥藻 7120(*Anabaena* sp. PCC7120)中,利用其作为报告基因,通过对发光强度的测定,能快速、灵敏地反映不同浓度砷对藻细胞生长和代谢的影响,检测出砷的急性毒性。

5 水蚤毒性实验方法

水蚤是浮游动物中体形较小的一类,以藻类、真菌、碎屑物及溶解性有机物为食,分布广泛,繁殖能力强,同时对多种有毒物质敏感,是国际上普遍采用的标准毒性实验生物。当水体受到污染时有毒物质会影响水蚤的生长,干扰水蚤的生殖和发育,导致蚤类个体死亡,因此,目前常用水蚤的死亡率或繁殖能力作为毒性测试指标。张凤民等利用死亡率作为毒性指标研究了 13 种硝基苯类有机物对大型蚤的急性毒性,实验结果表明,二硝基苯的毒性最大。利用蚤类死亡率作为测试指标,实验现象直观,易观察,但是测试灵敏度低,实验时间长。近年来,一些学者发现采用生物生理或行为上的变化(如捕食行为、趋光行为及代谢过程等)作为毒性测试指标可以缩短实验时间,提高灵敏度,达到早期预报控制和有效保护生物的目的。吴永贵等利用隆线蚤的趋光行为变化,并以趋光指数为指标检测水中铬的毒性,检测下限能达到 0.056mg/L,远低于 48h 的 LC₅₀(0.144mg/L)和 EC₅₀(半数效应浓度)(0.139mg/L),测定数据的平均精度达到 5.46%,说明趋光指数法用于监测铬的生物毒性灵敏度高、精确可靠,能很好地反映水中铬的毒性。CONNOR 等利用大型蚤体内酶活性的变化作为生物标志物检测了地下水中煤油的污染,实验证明,低质量浓度煤油溶液能明显地诱导大型蚤体内血红素过氧化氢酶活性,导致酶活性达到最大值的煤油剂量为 EC₅₀ 的 30%~40%,因此能更早地检测出地下水中煤油的污染,有利于提前控制污染,防止水体恶化。黄国兰等以大型蚤的死亡率为指标,检测到邻苯二甲酸二丁酯(DBP)的 EC₅₀ 为 10.35mg/L(24h),而对大型蚤滤过速率产生影响的 EC₅₀ 为 6.25mg/L(24h),对大型蚤的消化速率产生影响的 EC₅₀ 为 6.62mg/L(24h)。可见在非致死的质量浓度下 DBP 已经对大型蚤的捕食行为产生了危害,因此,以大型蚤捕食行为改变为指标比以死亡率为指标更为灵敏。

6 未来的研究方向

生物传感器检测有毒物质生物毒性具有检测时间短,易于实现连续在线监测等优点,是一种理想的生物毒性检测方法。目前的研究方向是选择合适的生物识别元件,提高传感器的灵敏度和准确性,延长传感器的使用寿命。

环境中有毒物质常是多来源、多种类的复合污染,它们之间可能存在拮抗、抑制和协同作用,因此众多有毒物质的联合毒性检测是目前的研究方向之一。

为了快速获得水质的毒性资料,达到早期预警的目的,利用受试生物的生物生化指标(生物标志物等)来检测有毒物质的急性毒性能缩短实验时间并简化操作过程,是鱼类、藻类、蚤类急性毒性实验的研究方向之一。

7 结语

尽管生物毒性监测系统仍存在的一些局限性,但因其在对突发性水质污染事件方面所具有的简便、快速的优势,是传统检测手段无法比拟的,故其在水质预警和给水安全控制方面可发挥更大的作用。