

水质毒性快速检测技术及其发展趋势

王广鹤, 瞿璟琰, 卢湘岳, 何德富

(华东师范大学环境科学系, 上海 200062)

摘要: 水质毒性快速检测可以及时提供水体的污染信息,为突发事件的紧急处理和水质毒性的预警提供依据。常见的水质毒性快速检测技术主要包括基于细菌的发光检测技术、化学发光检测技术、呼吸作用的检测技术、光合作用检测技术、电化学检测技术等。文章综述了主要水质毒性快速检测技术的原理和技术现状,并展望了相关发展趋势。

关键词: 水质毒性; 快速检测; 发光细菌; 脱氢酶

中图分类号: X8

文献标识码: B

文章编号: 1674-4829(2008)S2-0027-03

Technology of Rapid Assay for Water Toxicity and Its Development Trends

WANG Guang-he, QU Jing-yan, LU Xiang-yue, HE De-fu

Abstract: Information of water pollution can be timely provided by rapidly detecting water toxicity, which is the basis of dealing with pollution incidents and the warning system of water quality. Rapid assays for water toxicity are mainly based on luminescent bacteria, chemical luminescence, respiration inhibition, photosynthesis decrease and electrochemical detection technology. In the present paper, it was reviewed that the main principle and technology of rapid assays for water toxicity and its development trends.

Key words: Water toxicity; Rapid assay; Luminescent bacteria; Dehydrogenase

0 引言

为了加强生活用水及饮用水保护、工业废水排放等方面的管理力度,各级机构纷纷出台相关规定,要求在2010年前实现水质毒性控制。目前对水体毒性物质的分析主要采用气相或液相色谱等化学分析方法进行。通过分析某一种或几种代表性污染物浓度来估测水体的毒性,其有效性并不为毒理学界所广泛认同。另外,分析化学方法虽然精密度和灵敏度较高,但设备庞大,无法在野外进行水质毒性的快速检测。近来水质毒性的生物检测方法取得了快速的进展,尤其以微生物检测方法相对简便和快速,应用较广泛。

1 水质毒性快速检测原理

水体中的一些污染物对水域生态系统的毒性效应机制有多种。化学物之间的拮抗或协同作用也能影响到细胞内的毒性反应。一些化学物会通过裂解或分解产生毒性更强的副产品从而间接地破坏细

胞。另外,酸碱度也是影响毒性的主要因素^[1]。这些结果表明对水体中污染物的静态化学分析不足以充分反映这些成分对生态系统的毒性效应,更不能作为快速检测水质毒性的方法。传感器技术的应用是发展便携式快速水质监测仪的关键。传感器的优势主要体现在对分子、离子及气体物质的快速感应和分析。将生物学技术与传感器技术相结合的生物传感器是实现水质毒性快速检测中较常用的方法,其中微生物传感器是用完整细胞及代谢系统来检测和识别相应底物,从而达到测试多种有毒物质综合毒性的目的^[2-3]。

2 水质毒性快速检测技术概况

现有的水质毒性快速检测主要采用细菌类生物材料。不同类型细菌的生物发光强度、运动能力、生长发育状况、ATP产率、氧的消耗、硝化作用等性能均可以用作反映水体毒性的指标。运用细菌的毒性检测的另一个重要因素是细菌对环境毒素,尤其是有机物的渗透性十分敏感。另外,某些水质毒性快速检测也使用酶作为检测材料,主要测量酶的活性、酶的生物合成、酶的代谢产物或底物的变化^[4]。

2.1 微生物发光特性的检测技术

发光细菌法广泛地应用在废水的毒性检测中,已经开发应用的包括 Microtox, Delta Tox, Tox Alert,

收稿日期:2008-04-01

修回日期:2008-09-12

基金项目:国家高技术研究发展863计划专项;“上海城市水环境质量改善技术与综合示范”项目(2003AA601020)

作者简介:王广鹤(1986-),女,内蒙古呼伦贝尔人,硕士研究生,从事环境生理与毒理方向的研究。

Checklight 和 LUMISTox 等检测系统。Microtox 分析系统是较为成熟的发光细菌水毒性检测系统。该系统使用费希尔弧菌(*Vibrio fischeri*),检测过程中需要盐的补充和 pH 值的调整来适应菌的生存环境,因此没有提供污水自身成分的真实毒性信息。ToxAlert 分析系统在原理上与 Microtox 系统相似,且两者检测的结果可比性强^[9],但是 ToxAlert 对地表水化学物的变化不如 Microtox 检测系统敏感。由于其价格较便宜,ToxAlert 系统适合于监测工业废水的处理和地表水污染治理的监测^[6]。

由于检测仪器受周围环境条件的影响,野外水毒性快速测量结果与实验室检测结果通常会有差异。以实验室静态测量的结果作为基准,应用 Microtox 和 DeltaTox 系统在野外的测量值与实验室基准值差异的平均绝对值分别为 29.5%和 40.4%。Microtox 和 DeltaTox 系统的检测结果的相关性与水的来源有关,同一来源水样的剂量效应关系拟合较好,所以常用 DeltaTox 系统作应急毒性监测,而用 Microtox 系统作更精确的毒性分析^[7]。改进型的 Microtox 采用从工业废水活性污泥中分离的一种发光菌“Shk1”,通过对 79 种有机化合物分析,用“Shk1”分析的毒性数据与传统的 Microtox 分析的毒性数据是相关的,但其分析结果较 Microtox 分析的敏感性差,所以“Shk1”发光细菌较适合废水在线综合毒性监测^[8]。

2.2 酶活性检测法

水体毒性物质常常表现出对特定细菌的某些酶促反应的抑制特性,因而可通过测定酶活性受抑制程度来评价水体毒性^[9]。无氧条件下,一些生物染料可以作为生物新陈代谢过程中体内脱氢酶催化反应的电子受体。当生物染料与细菌悬液共存时,其褪色速度是细菌脱氢酶活性大小的标志。以动力学比色法测定亚甲基蓝褪色速度为基础,王立世等^[10]设计研制了一种水质综合毒性快速检测仪。使用该仪器测定 15 种纯化合物的毒性与使用 Microtox 检测的数据和使用鱼类急性毒性检测的结果进行比较分析,结果表明细菌脱氢酶活性法的结果与 Microtox 及鱼类急性毒性法的结果均有较好的相关性。在灵敏度方面,其与 Microtox 较为一致,但与鱼类方法相差 1~2 个数量级^[11]。另外,使用固定化胆碱酯酶的电化学生物传感器来检测有机磷和氨基甲酸酯类农药,其检测的灵敏度与高效液相色谱法相一致。显然,这种采用酶检测的灵敏方法十分适用于环境的早期预警系统^[12]。

2.3 化学发光检测技术

化学发光检测技术是根据化学发光酶促反应来检

测水毒性的检测技术,主要包括 Eclox 和 Radox 水毒性检测系统。DEWHURST 等^[13]分别用 Eclox, Microtox 和 ToxAlert 3 种检测系统检测了地表水毒性, Eclox 对地表水化学物的变化最敏感。每一种化学物分别与不同的生物分析法相关联, Eclox 生物分析的结果与地表水阳离子的浓度正相关,而 ToxAlert, Microtox 总体分析结果与硫的浓度负相关。由于 Eclox 系统没有采用细胞结构,所以对化学物的变化很敏感,尤其是对阳离子的浓度变化十分敏感。Dewhurst 等的研究表明, Eclox 检测系统易受溶解性固体和电导体的负面影响。Eclox 系统对地表水化学物的自然变化太敏感,所以此检测系统不适用于地表水毒性评价。

2.4 呼吸速率检测技术

由于水中的毒性物质能导致水中微生物的呼吸作用发生变化,因而可以通过检测微生物的呼吸速率来反映水的毒性。已经投放市场的基于呼吸速率的水毒性检测仪器有 ToxTrak 和 Baroxymeter 系统。ToxTrak 的方法是用氧化还原染料刃天青(resazurin)的减少来测量细胞的呼吸作用。ToxTrak 检测方法利用促进剂苯乙哌啶酮(gluteraldehyde)可以减少反应时间,阻止氧的干扰,而且使用苯乙哌啶酮可以用低成本的仪器(如分光光度计和色度计)来测量,从而减少检测成本。这种方法可有效地检测饮用水中的很多污染物,包括重金属、杀虫剂、除草剂、工业化学物和生物毒素等^[14]。

Baroxymeters 系统^[15]是基于呼吸测量法,即通过压力转换监测微生物的氧吸收。Baroxymeters 有较稳定的检测性能。用 1 mL 的样品量在少于 5 min 内测量即可检测到毒性的变化,测量气压的变化在 1 pa 范围内。检测杀虫剂、金属物质的毒性表明, Baroxymeter 具有较好的重现性及与其他的微生物检测法有良好的相关性。改进呼吸测量法中的一些影响气体的流通参数可以使仪器的灵敏度至少提高 50%。与普通的 Baroxymeter 法相比,改进后的 Baroxymeter 法对 3,5-二氯苯酚的检测下限由 25 mg/L 减小到 8~10 mg/L。Baroxymeter 方法可以提供不同的环境中的有机物质毒性检测。如用恶臭假单胞杆菌(*Pseudomonas putida*)、硝化细菌和混合细菌等,建立一系列的生物毒性检测指标基础。Baroxymeters 系统常用在检测污染源、海水和淡水环境下的水质毒性。

2.5 光合作用的检测技术

基于对光合作用抑制的水毒性检测系统主要包括 LuminoTox 和水质毒性分析荧光仪(ToxY-PAM)检测系统。LuminoTox 系统的原理是光合作用会抑制荧光素的产生,而水中的有毒物质抑制检测生物的光和作用,从而相应地改变荧光量。与藻类

相比,从高等植物中分离光合作用的酶系统(PECs)可在较短时间暴露后检测出金属离子,而且 PECs 能检测较宽的毒素抑制的波谱,但是对无机氮和有机氮的毒性不敏感。结合使用 PECs 和藻类作为 LuminoTox 的生物材料进行毒性检测,可以使得其检测的敏感性与使用水蚤和鱼类进行毒性分析的敏感性基本一致^[16]。

ToxY-PAM 系统采用单胞藻类作为指示生物。藻类在受到极低浓度的某些环境污染物刺激时,光合作用性能明显下降,导致藻液荧光产量的增加。ToxY-PAM 系统通过测量藻液中荧光强度的变化来判定水体毒性物质的综合毒性。水体中的多数毒物,如农药、重金属等均能破坏单细胞藻类的光合作用。ToxY-PAM 对敌草隆检测阈值低于欧盟饮用水管理规定的单一毒性物质的检测极限(0.1 μg/L)。固相提取技术与 ToxY-PAM 双通道分析相结合对敌草隆的检测极限可达 0.1 ng/L,与最敏感的化学分析气相色谱-质谱和液相色谱-质谱法有相同的灵敏度,并且具有较高的可重复性^[17]。由于水体常存在自身的荧光腐蚀物、颜色和混浊度的干扰^[18],而且现在关于藻类对不同化合物的毒性效应的详细资料还相对缺乏,因此 ToxY-PAM 检测技术还没有得到推广。显然,只有相关的基础资料积累和技术的逐步完善,ToxY-PAM 生物检测技术才会在水质实时检测和水体突发公共卫生事件的预警中得到更广泛的应用^[19]。

3 展望

随着生物工程技术的迅速发展,近年来多种水质毒性快速检测仪器研发成功并运用到水质检测。然而部分检测仪器存在缺陷,主要包括:①使用的微生物种类与监测环境水质种类不符,如 Checklight 和 Microtox 检测系统中使用的是海洋菌——费希尔弧菌,用于淡水水质的检测则受到限制;②部分理化条件难以满足检测要求,如 Randox 检测系统因为其对氧化还原电位、导电体、酸碱度的敏感性而受到限制;③某些高敏感性的低毒物质产生假阳性的检测结果干扰毒性评估,DEWHURST 等研究结果显示,铁、氨、和氯在决定地表水毒性上起着重要的作用,但多种毒性检测设备还未考虑这一因素;④利用生物和化学发光法检测毒性时,检测水体本身颜色和浑浊度对结果的干扰问题。部分研制者对颜色修正积累了相关实验数据^[20],但远未系统解决该问题。

今后对水质毒性快速检测仪器的研发将主要从以下 3 个方面展开:①寻找更敏感的生物材料或微生物品种,同时匹配高度敏感、稳定的电子元件,以

进一步提高产品的灵敏度和试验的重现性;②开发专一性强的水质毒性检测仪器,如专门针对生活类污水、不同种类工业污水、地表灌溉水等的水质检测系统;③进一步提高水质毒性检测速度,开发更加便携的检测仪器,以满足复杂环境条件下的快速检测。

[参考文献]

- [1] JENNINGS V L K, RAYNER-BRANDES M H, BIRD D J. Assessing chemical toxicity with the bioluminescent photobacterium (*Vibrio fischeri*): A comparison of three commercial systems [J]. *Water Research*, 2001,35 (14): 3 448 - 3 456.
- [2] 董文宾,胡献丽,郑丹,等. 生物传感器在水质分析监测中的应用[J]. *工业水处理*, 2005, 25(3): 17 - 19.
- [3] 黄正,汪亚洲,王家珍. 细菌发光传感器在快速检测污染物急性毒性中的应用[J]. *环境科学*, 1997, 18(4): 14 - 16.
- [4] TZORIS A, FERNANDEZ-PEREZ V, HALL E A H. Direct toxicity assessment with a mini portable respirometer [J]. *Sensors and Actuators*, 2005(B 105): 39 - 49.
- [5] TZORIS A, HALL E A H. Rapid detection of toxicity in wastewater: recent development with manometric respirometry [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006(153): 147 - 157.
- [6] DEWHURST R E, WHEELER J R, Chummun K S, et al. The comparison of rapid bioassays for the assessment of urban groundwater quality [J]. *Chemosphere*, 2002(47): 547 - 554.
- [7] MOWAT F S, BUNDY K J. Correlation of field-measured toxicity with chemical concentration and pollutant availability [J]. *Environment International*, 2001(27): 479 - 489 .
- [8] REN S, FRYMIER P D. Comparative Study of Two Bioassays for Applications in Influent Wastewater Toxicity Monitoring [J]. *Environment Engrgng*, 2003, 129 (3): 216 - 221.
- [9] 解军,祁峰裴,海燕,等. 脱氢酶活性检测方法及其在环境监测中的应用 [J]. *中国环境监测*, 2006, 22(5): 13 - 18.
- [10] 王立世,张宝贵,陈叙龙,等. 基于细菌脱氢酶活性法的水质综合毒性快速测定仪[J]. *南开大学学报*, 1998,31 (1): 100 - 104.
- [11] 王立世,黄金垣,冯建兴. 水质毒性快速测定仪的研制[J]. *分析仪器*, 1998(4): 1 - 5.
- [12] SERGEI V D, ALEXEY P S, VALENTINA N A. Early-warning electrochemical biosensor system for environmental monitoring based on enzyme inhibition [J]. *Sensor and Actuators*, 2005(B105): 81 - 87.
- [13] DEWHURST R E, CALLAGHAN A, Connon R. Toxicity testing of groundwater quality [J]. *Water and environment journal*, 2005, 19(1): 17 - 24.
- [14] KROLL D. Utilization of a new toxicity testing system as a drinking water surveillance tool [C]. 2003 Water Quality Technology Conference: Stewardship of Drinking Water

毛细管柱分析阿特拉津,取得了良好的效果,上述色谱条件下,水样中可能共存的有机氯农药(六六六, DDT)卤代烃类,氯苯等有机化合物在电子捕获检测器上虽有响应,但保留时间不同,对方法无干扰,均得到良好的分离效果。采用10 m的HP-17,10 m的HP-1等短色谱柱分离效果均不理想。

采用HP-5同一柱子在不同的检测器ECD, NPD, FID分别进行了分离条件试验,结果发现阿特拉津在NPD和FID上的色谱行为较差,并且灵敏度不高,检出限低。所以最好使用ECD进行检测分析。

2.2 净化方法的选择

常用的净化方法有液-液分配法、浓硫酸磺化法、柱层析法等。液-液分配法简单,但净化效果较差;浓硫酸磺化法操作简单、快速,但仅适合性质稳定的农药,如某些有机氯类农药的净化;柱层析法操作过程较繁琐,但净化效果较理想。弗罗里硅土(Florisil),是一种带酸性的硅酸镁。用在气相色谱进行样品分析之前,作为一种常用净化方法用于普通的柱色谱。主要可用于:酞酸酯类、亚硝胺类、有机氯农药类、硝基芳香化合物、卤代醚类、氯代烃类和有机磷农药等的样品提取液的净化过程^[3]。故选用弗罗里硅土柱层析净化法。

2.3 标准曲线

把阿特拉津标准储备液稀释成质量浓度分别为:0,0.2,0.4,1.0,2.0,4.0 mg/L系列标准使用液,以其质量浓度对峰面积分别为0,602,1 252,3 138,6 514,13 801作标准曲线。结果表明,在质量浓度0~4 mg/L范围内阿特拉津具有良好的线性关系,

其线性方程为 $Y = 3 450.7 x - 153.0$,相关系数为 $R = 0.999 5$ 。

2.4 A类不确定度

对质量浓度为0.20 mg/L阿特拉津标准溶液连续测定6次,其结果质量浓度分别为0.194,0.188,0.177,0.194,0.168,0.200 mg/L,计算其相对标准偏差均值为0.187 mg/L, R为5.5%。

2.5 最低检出浓度及加标回收

取500 mL水样,正己烷萃取,浓缩至1 mL,进样量为1 μ L时,阿特拉津的最低检出质量浓度均为0.001 mg/L。满足了环境样品的监测要求。

各取500 mL水样,分别加入质量浓度为0.20, 0.40,1.00,2.00,1000 mg/L的阿特拉津溶液1 μ L,经萃取、浓缩,测定加标回收率分别为82.3%。

2.6 注意事项

水样存放于玻璃瓶中,不留气泡。尽快分析,如不能及时分析,须在4 $^{\circ}$ C冰箱中保存^[4]。

[参考文献]

- [1] 上海医药公司上海化学试剂采购供应站. 试剂手册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1985.
- [2] 奚芳明,张明园. 中国化工医药产品大全[M]. 北京:科学出版社,1991.
- [3] 魏复盛,徐晓白,阎吉昌. 水和废水监测分析方法指南(下)[M]. 北京:中国环境科学出版社,1997.
- [4] 国家环境保护总局. 水与废水监测分析方法[M]. 第4版. 北京:中国环境科学出版社,2006.

(责任编辑 胡燕荣)

(上接第29页)

Quality.Philadelphia, PA: USA, 2003:16.

- [15] TZORIS A, FEARNside D, LOVELL M, et al. Direct toxicity assessment of waste water: baroxymeter, a portable rapid toxicity device and the industry perspective [J]. Environmental Toxicology, 2002, 17(3): 284 - 290.
- [16] BELLEMARE F, ROUETTE M E, LORRAIN L, et al. Combined use of photosynthetic enzyme complexes and microalgal photosynthetic systems for rapid screening of wastewater toxicity [J]. Inc Environ Toxicol, 2006(21): 445 - 449.
- [17] BENGTON N S M, SCHREIBER U, RALPH P J, et al. The combined SPE: ToxY -PAM phytotoxicity assay;

application and appraisal of a novel biomonitoring tool for the aquatic environment [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2005(20): 1 443 - 1451.

- [18] SEERY C R, GUNTHORPE L, RALPH P J. Herbicide impact on hormosira banksii gametes measured by fluorescence and germination bioassays [J]. Environmental Pollution, 2006(140): 43 - 51.
- [19] 王丽,应波,鄂学礼. 水质毒性分析荧光仪检测水中毒性物质的应用[J]. 卫生研究, 2006, 35(2): 254 - 256.
- [20] 瞿璟琰,卢湘岳. 发光细菌法中双层管水样色度修正法的改进[J]. 安全与环境学报, 2007, 7(1): 100 - 103.

(责任编辑 朱鼎一)