

· 专论与综述 ·

主动生物监测技术在水环境风险评价中的应用

刘小卫¹, 陆光华²

(1. 河海大学公共管理学院, 江苏 南京 210098; 2. 浅水湖泊综合治理与资源开发教育部重点实验室, 河海大学环境科学与工程学院, 江苏 南京 210098)

摘要:采用生物监测技术综合分析污染物的环境行为和污染诱导的生物学效应,用于评估和预测水环境中化学品的生态风险,对保护有限的水资源和维持生态系统健康具有重要意义。介绍了主动生物监测的概念、操作流程,以及相对传统的被动生物监测所具有的优势,综述了主动生物监测技术在海洋和淡水环境监测中常用的指示生物,以及能对不同污染物作出响应的各种生物标志物,讨论了该领域国内外的最新研究进展。

关键词:主动生物监测;指示生物;生物标志物;生态风险

中图分类号: X826 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-2009(2008)03-0012-04

Application of Active Biomonitoring Techniques in Risk Assessment of Aquatic Environment

LU Xiao-wei¹, LU Guang-hua²

(1. School of Public Administration, Hohai University, Nanjing, Jiangsu 210098, China; 2. Key Laboratory for Integrated Regulation and Resources Development on Shallow Lakes, Ministry of Education, College of Environmental Science and Engineering, Hohai University, Nanjing, Jiangsu 210098, China)

Abstract: The environmental action of pollutants and pollution-induced biological effects were comprehensively analyzed with biological monitoring techniques for ecological risks assessment and forecast of water environmental chemicals. It is important for protection of the limited water resources and maintenance of ecosystem health. The concept of active biological monitoring, operational procedures and the advantages of relatively traditional passive biological monitoring were introduced. The commonly used bioindicators in environmental quality of marine and freshwater in active biomonitoring technology were summarized as well as biomarkers responding to different pollutants. The latest developments of research in the field at home and abroad were discussed.

Key words: Active biomonitoring; Bioindicator; Biomarker; Ecological risk

传统的环境监测主要通过化学分析了解环境污染物的浓度,难以显示污染物的毒性效应,因而难以反映其环境风险。生物监测方法与其相比,生物和生化效应可将目标化合物的生物利用度与其在靶器官的浓度和内在毒性相联合,能直接反映污染物对生物及人类的影响。因此,生物监测已成为环境风险评价的重要内容。人们已经认识到有毒物质可在生物化学水平上干预生物组织完整的性质和状态,不仅在生物个体水平上引起效应,还会明显减少与生态学有关的特征,如生长发育、繁殖和生存,最终在生态系统水平上引起效应^[1]。传

统生物毒性测试都基于死亡率,而评价天然水体长期暴露对生物体内各组织不同水平的生化反应过程所产生的效应,则需采用现场生物测定技术。

1 主动生物监测的概念

生物监测分为被动生物监测 (Passive Biomoni-

收稿日期: 2007-03-23; 修订日期: 2008-03-14

基金项目: 新世纪优秀人才支持计划基金资助项目 (CET 05-0481)

作者简介: 刘小卫 (1967—), 男, 湖南邵阳人, 工程师, 在读博士研究生, 主要研究方向为水生态经济学。

toring, PBM)和主动生物监测 (Active Biomonitoring, ABM)两种形式。PBM 是利用生态系统中天然存在的生物体、生物群落或部分生物体对污染环境的响应,指示和评价环境质量变化;ABM 是在控制条件下将生物体(放于合适容器中)移居至监测点进行生态毒理学参数测试^[2]。ABM 已广泛应用于环境毒理学研究,陆地和水生环境研究均表明,应用 ABM 技术得到的结果优于 PBM,可能是因为本土生物已适应了污染环境。ABM 可以提供污染环境生物效应的综合观点,用于评估和预测污染胁迫下水生生态系统的时空变化趋势。

将受试生物从参考点移居到某个污染区域是监测水生生态系统环境变化效应的可行方案。这种形式 ABM 技术一般的操作流程为:指示生物一般来自饲养厂或取自未污染的对照点,将一定数量的生物个体放置在特制的笼子里,悬浮在污染水体水面下,每个点都做平行。经过 2~6 周的暴露后收集受试生物,用于生物标志物测试和污染物含量

分析,在生物标志物测试前生物组织于 -80 保存。在暴露的不同阶段进行水质分析,定期测定 pH 值、水温、电导率、总溶解性固体(TDS)和溶解氧(DO)等指标^[1,3]。

2 ABM 中指示生物的选择

根据拟评价的水环境及其污染特征,可以选择不同的生物种作为指示生物。底栖动物(Zoobenthos)是淡水生态系统的一个重要生态类群,主要包括寡毛类、软体动物和昆虫幼虫等,起促进有机质分解、加速自净过程等作用,是维持健康生态系统的关键成员。底栖动物对环境变化比较敏感,在水环境监测中已作为有机污染的重要指示生物,起水下哨兵的作用^[4]。在海洋污染监测中,双壳类(*Mytilus sp.*)以其富集污染物的能力及定居习性,被认为是最有价值的先锋生物^[5]。ABM 中通常选择的水生生物物种见表 1。

表 1 ABM 中常用的指示生物

指示生物	监测水域	污染物	参考文献
蚌类 <i>Mytilus galloprovincialis</i>	Kastela 海湾 (亚得里亚海东海岸)	总汞、甲基汞	[6]
腹足动物 <i>M. tuberculata</i> , <i>colomella</i>	Rietvlei 水库 (南非)	Cd, Zn	[7]
鲶鱼 <i>Clarias fucus</i>	受电厂污染的水渠 (越南北部)	Cu, Zn, As, Se, Cd, Pb, Cr, P, S, K, Ca, Fe, Mn	[8]
蚊幼虫 <i>Chironomus riparius</i>	河流底泥 (比利时佛兰德斯)	Cd, Cr, Cu, Pb, Ni, Zn	[9]
蛤 <i>Merxneria merxneria</i>	Tampa 海湾 (美国佛罗里达)	PCBs, PAHs, 金属	[10]
鲑鱼 <i>Salmo trutta</i> L.	河流 (瑞士)	城市污水处理厂排水	[11]
蜗牛 <i>Radix peregra</i>	Ton 河 (法国东北部)	造纸厂废水	[3]
牡蛎 <i>Crassostrea gigas</i>	Arcachon 海港 (法国大西洋沿岸)	痕量金属、PAHs	[12]

3 ABM 中生物标志物的选择

使用亚致死毒性效应评估环境健康,生物标志物研究是最经济有效的工具。生物标志物可以定义为与环境化学品暴露或毒性作用相关的生物学响应(从分子水平到细胞水平,从生理反应到行为变化)的变化^[13]。在 ABM 中使用生物标志物最重要的原因是其不仅能够量化污染物的环境水平,而且能够表达污染物引起的生物效应。生物标志物具有高度灵敏性及分子和细胞水平上的特异性,可以在不可逆转的生理学损害和环境影响到来之前对污染胁迫早期预警^[14]。

ABM 中常用的生化指标包括乙酰胆碱酯酶(AChE)活性、细胞色素 P450 诱导、乳酸脱氢酶

(LDH)活性、金属硫因(MT)、DNA 损伤、过氧化氢酶(CAT)活性、谷胱甘肽硫转移酶(GST)活性等。

AChE 活性测定已成为海洋和陆上水域生物监测的一种工具,它能评价暴露在氨基甲酸盐和有机磷杀虫剂及其他神经毒害效应化合物(包括重金属)下分子水平的生物效应。AChE 参与神经末梢乙酰胆碱的钝化效应,阻碍持续性的神经传导,对于感官系统和神经肌肉系统维持正常功能非常重要。许多有机磷和氨基甲酸盐杀虫剂都是有效的 AChE 抑制剂^[15]。

细胞色素 P450 连接的混合功能氧化酶系统(MFO)已广泛应用于毒理学研究,其中细胞色素 P4501A1 活性是最广泛使用的生物标志物之一,能

被一系列环境中的重要平面分子影响,如多环芳烃 (PAHs)、多氯联苯 (PCBs)、二氯二苯三氯乙烷 (DDT)、二恶英和呋喃等^[16]。最早使用 MFO 酶作为生物标志物的野外研究开展于 20 世纪 70 年代早期,现已在全球范围的许多野外研究中得到应用。

MT 合成的诱导是金属污染的象征。MT 是一种金属键合的低分子量蛋白质,痕量金属的暴露可诱导其产生。在生理学上,这些蛋白质控制着生物体必须的痕量金属如 Zn 和 Cu 的吸收和组织分布,其合成诱导机制是适应和解毒过程,因为这些蛋白质与重金属以共价键结合而影响其活性。当脊椎动物和无脊椎动物暴露于 Cd、Hg、Cu、Zn 中,可发生 MT 合成的诱导^[17]。

DNA 结构的永久性改变是致突变化合物和致癌物暴露的传统生物标志物。因为与活性剂达到靶器官的剂量直接相关,所以 DNA 加合物、染色体异常、染色体破坏和细胞质微粒体都可以作为风险评价中剂量效应的测定工具。DNA 损伤可以作为基因毒物暴露的生物标志物,其强度与诱变程度直接相关^[18]。DNA 的完整性是生态多样性和生态稳定的基本点,因而从生态学观点看,该生物标志物值得关注。由于诱变是癌变的第一步,因而 DNA 损伤同样可作为毒性的生物标志物。

在 ABM 技术实际应用中,除了选择测试上述分子水平的生物标志物外,有时也结合某些生理学指标和组织病理学指标观察。宏观的生理学指标能够综合反映生物体现实情况下较低水平的功能复杂性,指示污染物暴露下生物体的状态,适用于污染监测和环境管理^[19]。生长因子是常用的生理学指标之一,通过测定生长因子,可以综合评价生物体的营养状态和受胁迫程度^[20]。在污染严重的区域,受试生物的死亡率也作为评价污染程度的指标。组织病理学改变主要包括炎症响应、退化改变、增殖改变及寄生生物负担等几个方面^[10],常用指标包括肝损伤、退化、发炎、腮的结构改变和增生损伤,脾肿大及肾损伤等^[21]。

大多数生物标志物评价单一响应,缺乏对污染环境的综合评价。因此,结合多个生物标志物的多元方法在海水和淡水环境质量评价中已开始使用,并取得了一定进展。

4 ABM 技术国内外最新研究进展

— 14 —

由于人口增长、城市化水平提高、工农业活动增加及自然资源探测和开发,来自各种点源和非点源的人为排放污染物对水生态系统构成了持续的压力,污染物的排放方式及环境的理化性质都会影响水体中污染物的分布和浓度。水生态系统中污染物的浓度时常变化,而且常低于检测限,因而控制水环境质量是长期而艰巨的任务。目前,越来越多的研究倾向于利用污染物的环境行为(如生物可利用性和生物累积)及污染诱导的生物学效应来评价和预测水生态系统中化学品的生态风险。采用 ABM 技术,将指示生物主动转移到监测点,可以确保得到可比较的生物学样品,相对于 PBM 的野外采样过程,可减少结果的可变性。水生生物监测与化学监测相结合可提供有价值的水环境质量时空信息^[22],即水生态系统的污染水平,尤其是当多种微量污染物共存的时候。

在海洋污染监测中,贻贝被公认为最适合的水生生物之一,如普通的贻贝 (*Mytilus edulis*) 已被用于河口和海洋生态系统的 ABM 研究^[23]。最近一些研究者发现斑马贻贝 (*Dreissena polymorpha*) 是淡水生态系统适合的监测生物,显示了与 *Mytilus* 相似的特征和优势,即定居、易于操作、易于迁移,而且对污染物耐受性强,对有机和无机污染物都具有很高的累积能力^[24]。

Wepener 等^[1]采用生活在淡水里的软体动物 *Melanoides tuberculata* 和淡水鱼 *Oreochromis mossambicus* 为指示生物,对位于南非 Gauteng 的沼泽系统进行了野外研究。将受试生物暴露于一条主要是废水的河流中 28 d,通过测定细胞生物标志物如 DNA 损伤,MT 浓度, AChE, LDH 和 7-乙氧基-异吩唑酮-脱乙酰基酶 (EROD) 的活性来确定现场暴露的效应。结果表明,虽然传统的以致死率为基础的总废水毒性 (WET) 测试显示河水没有任何毒性,但现场暴露的生物体却明显受到了胁迫。该研究指出多元统计方法在综合分析生物标志物的响应时有很大的应用价值,尤其适合于需要详细分析化学污染物成分的地点。

在最近的 ABM 研究中,研究人员将贻贝 (*Mytilus galloprovincialis*) 从清洁区域迁移到嘎纳海湾 (地中海西北部) 的多个监测点,同时测定了多个生物标志物,包括 AChE, GST 和 CAT 活性,以及硫代巴比妥反应物 TBARS 和 MT 浓度,还在此基础上计算了综合生物标志物响应指数 (BR)。

通过与生物体内金属 (Cd、Cu、Zn)、PAHs 和 PCBs 浓度的比较研究, 尝试了将 BR 作为环境风险评估工具的可行性^[25]。

生物监测技术在国际上已经得到广泛关注, 在水污染控制和水资源保护方面发挥了巨大作用, 尤其是近年来 ABM 技术发展迅速, 已经逐步在区域水环境风险评价中得到应用。

我国经济持续高速发展, 城市化水平不断提高, 但是污水处理程度不高, 水体污染问题非常严重。以海洋为例, 2006 年中国海洋环境质量公报显示, 我国海域总体污染形势依然严峻, 近岸海域污染状况仍未得到改善, 严重污染海域主要分布在辽东湾、渤海湾、长江口、杭州湾、江苏近岸、珠江口和部分大中城市近岸局部水域, 部分海域沉积物受到 DDT、PCBs 和 As 等污染。但我国目前在近岸海域实施的贻贝监测计划仍采用 PBM 方法, 测定指标仅限于生物体内污染物的残留量分析, 结合化学分析和生物标志物测试的 ABM 技术在我国尚未见相关研究报道。

[参考文献]

- [1] WEPENER V, VAN-VUREN J H J, CHATZA F P, et al Active biomonitoring in freshwater environments: early warning signals from biomarkers in assessing biological effects of diffuse sources of pollutants [J]. *Physics and Chemistry of the Earth*, 2005 (30): 751 - 761.
- [2] SALAZAR M H, SALAZAR S M. Standard guide for conducting in situ field bioassays with marine, estuarine and freshwater bivalves[S] // American Society for Testing and Materials Annual book of ASTM standards West Conshohocken, PA: American Society for Testing and Materials, 2001.
- [3] GUERLET E, LEDY K, GIAMBINI L. Field application of a set of cellular biomarkers in the digestive gland of the freshwater snail *Radix peregra* (Gastropoda, Pulmonata) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2006(77): 19 - 32.
- [4] 刘建康. 高级水生生物学 [M]. 北京: 科学出版社, 1999: 241 - 259.
- [5] GOLDBERG E D, BOWEN V T, FARRINGTON J W, et al The mussels watch [J]. *Environmental Conservation*, 1978 (5): 101 - 125.
- [6] KLJAKOVIC-GASPARIC Z, ODZAK N, UJEVIC I, et al Biomonitoring of mercury in polluted coastal area using transplanted mussels [J]. *Science of the Total Environment*, 2006 (368): 199 - 209.
- [7] MOOLMAN L, VAN-VUREN J H J, WEPENER V. Comparative studies on the uptake and effects of cadmium and zinc on the cellular energy allocation of two freshwater gastropods [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007 (65): 443 - 450.
- [8] WAGNER A, BOMAN J. Biomonitoring of trace elements in muscle and liver tissue of freshwater fish [J]. *Spectrochimica Acta (Part B)*, 2003 (58): 2215 - 2226.
- [9] BERVOETS L, MEREGALLI G, COOMAN W D, et al Caged midge larvae (*Chironomus riparius*) for the assessment of metal bioaccumulation from sediments in situ [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2004, 23 (2): 443 - 454.
- [10] NASCIC, DAROS L, CAMPESAN G, et al Clam transplantation and stress-related biomarkers as useful tools for assessing water quality in coastal environments [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 1999, 39 (1 - 12): 255 - 260.
- [11] BERNET D, SCHMIDT H, WAHLIT, et al Effluent from a sewage treatment works causes changes serum chemistry of brown trout (*Salmo trutta*) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2001 (48): 140 - 147.
- [12] QUN DU F, DAMIENS G, GNASSA-BARELLIM, et al Marine water quality assessment using transplanted oyster larvae [J]. *Environment International*, 2007 (33): 27 - 33.
- [13] EVERAARTS J M, SLEDER N K H M, DEN-BESTEN P J, et al Molecular responses as indicators of marine pollution: DNA damage and enzyme induction in *Limanda limanda* and *Asterias rubens* [J]. *Environ Health Perspect*, 1994, 102 (12): 37 - 43.
- [14] CAJARAVILLE M P, BEBIANO M J, BLASCO J, et al The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach [J]. *Science of the Total Environment*, 2000 (247): 295 - 311.
- [15] FLAMMARON P, NOURY P, GARRIC J. The measurement of cholinesterase activities as a biomarker in chub (*Leuciscus cephalus*): the fish length should not be ignored [J]. *Environmental Pollution*, 2002 (120): 325 - 330.
- [16] PAINE J F, MATHIEU A, MELVIN W, et al Acetylcholinesterase, an old biomarker with a new future field trials in association with two urban rivers and a paper mill in Newfoundland [J]. *Mar Pollut Bull*, 1996, 32 (2): 225 - 231.
- [17] VASSEUR P, COSSU-LEGUILLE C. Biomarkers and community indices as complementary tools for environmental safety [J]. *Environment International*, 2003 (28): 711 - 717.
- [18] VASSEUR P, CODET F, BESSI H, et al Indices for carcinogenicity in aquatic ecosystems: significance and development [J]. *NATO ASI Ser*, 1995 (128): 180 - 193.
- [19] NICHOLSON S, LAM P K S. Pollution monitoring in Southeast Asia using biomarkers in the mytilid mussel *Perna viridis* (Mytilidae: Bivalvia) [J]. *Environment International*, 2005 (31): 121 - 132.
- [20] NICHOLSON S. Cytological and physiological biomarker responses from green mussels, *Perna viridis* (L.) transplanted to contaminated sites in Hong Kong coastal waters [J]. *Mar Pollut Bull*, 1999 (39): 261 - 268.

(下转第 49 页)

定。实际需要测定的垃圾填埋气中的 CO_2 质量浓度较高, 稀释 50 倍比较合适。不同稀释倍数 CO_2 标气的测定结果见表 2。

表 2 不同稀释倍数 CO_2 标气测定结果

标准气	标准值 ($\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$)	稀释倍数					
		30倍		50倍		100倍	
		测定值 ($\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$)	相对误差 /%	测定值 ($\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$)	相对误差 /%	测定值 ($\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$)	相对误差 /%
标气 1	3.48×10^3	2.94×10^3	- 15.5	2.45×10^3	- 29.6	4.90×10^3	40.8
标气 2	8.56×10^3	8.82×10^3	3.0	7.35×10^3	- 14.1	9.80×10^3	14.5
标气 3	1.48×10^4	1.47×10^4	- 0.7	1.47×10^4	- 0.7	1.47×10^4	- 0.7
标气 4	2.41×10^4	2.35×10^4	- 2.5	2.45×10^4	1.7	2.45×10^4	1.7
标气 5	2.80×10^5	2.82×10^5	0.7	2.79×10^5	- 0.4	2.84×10^5	1.4

2.3 配气体积的精确度

该方法采用静态配气法, 稀释比取决于注入的待测气样和背景气体高纯氮气的总体积。待测气样通过高气密性微量注射器注入, 使用前需作气密性检查。将注射器推到底, 针头插入一块橡皮中, 用力推拔 3 次, 若注射器内有空气, 则密封性不好, 不能使用。采用微量自动进样阀可减少人为操作误差。该方法采用转子流量计配合皂膜流量计的方法校准氮气流量, 在实际应用中还可以尝试使用动态配气系统。

2.4 填埋气成分的影响

该方法使用的标气纯度高, 背景气的影响可以忽略, 而填埋气含有水汽、 CH_4 、 H_2S 等气体, 会影响测定。分析仪在透过红外线的窗口处安装有红外线滤光片, 波长为 $4.26 \mu\text{m}$, CO_2 在该波长有强烈吸收, CH_4 等气体则不吸收^[8]。水汽和灰尘会对 CO_2 的测定产生干扰, 使气室反射率下降, 从而降低仪器灵敏度, 影响测定结果的准确性。因此, 气样进入分析仪前需经过变色硅胶和活性炭过滤

装置, 以去除水汽和灰尘的干扰。

[参考文献]

- [1] 周效志, 桑树勋, 程云环, 等. 城市生活垃圾可生物降解有机质成分的测定 [J]. 环境监测管理与技术, 2007, 19 (2): 30 - 33.
- [2] 文科军, 杨丽, 吴丽萍. 城市生活垃圾高效资源化建设体系的研究 [J]. 环境科学与技术, 2007, 30 (9): 55 - 57.
- [3] 彭绪亚, 吉方英, 肖波, 等. 垃圾填埋气的产生及其影响因素分析 [J]. 重庆建筑大学学报, 1999, 21 (6): 66 - 68.
- [4] 王大逊. 杭州天子岭垃圾填埋场利用填埋气体发电 [J]. 环境卫生工程, 1999, 7 (4): 151 - 153.
- [5] 唐青云, 王琪, 董路. 便携式红外线分析系统在垃圾填埋场的应用 [J]. 分析仪器, 2002 (3): 40 - 42.
- [6] 王松林, 廖利, 吴学龙, 等. 填埋场封场覆盖技术及其工程质量控制 [J]. 环境科学与技术, 2006, 29 (7): 82 - 84.
- [7] 国家环境保护总局《空气和废气监测分析方法》编委会. 空气和废气监测分析方法 [M]. 4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2003.
- [8] 国家质量技术监督局. GB/T 18204. 24 - 2000 公共场所空气中二氧化碳测定方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.

(上接第 15 页)

- [21] SCHMIDT H, BERNET D, WAHLI T, et al Active biomonitoring with brown trout and rainbow trout in diluted sewage plant effluents [J]. Journal of Fish Biology, 1999 (54): 585 - 596.
- [22] 曾丽璇, 陈桂珠, 余日清, 等. 水体重金属污染生物监测的研究进展 [J]. 环境监测管理与技术, 2003, 15 (3): 12 - 15.
- [23] GRANBY K, SPLID N H. Hydrocarbons and organochlorines in common mussels from the Kattegat and the Belts and their relation to condition indices [J]. Mar Pollut Bull, 1995 (30): 74 - 82.

- [24] HENDRIKS A J, PIETERS H, DEBOER J. Accumulation of metals, polycyclic (halogenated) aromatic hydrocarbons and biocides in zebra mussel and eel from the Rhine and Meuse River [J]. Environ Toxicol Chem, 1998 (17): 1885 - 1898.
- [25] DAMIENS G, GNASSIA-BARELLI M, LOQUÉ F, et al Integrated biomarker response index as a useful tool for environmental assessment evaluated using transplanted mussels [J]. Chemosphere, 2007 (66): 574 - 583.

本栏目责任编辑 姚朝英