·专论与综述 ·

水质生物毒性在线监测技术研究进展

彭强辉^{1,2},陈明强¹,蔡强²,刘辉³,何苗³,陈明功¹

- (1. 安徽理工大学,安徽 淮南 232001; 2. 浙江清华长三角研究院,浙江 嘉兴 314000;
- 3. 清华大学环境科学与工程系环境模拟与污染控制国家重点联合实验室,北京 100084)

摘 要:从生物分子、细胞、个体、种群和群落水平,系统介绍了国内外研发的水质毒性在线监测技术,归纳分析了各种技术的特点及应用,并提出了其发展前景与趋势。

关键词:水质;生物毒性;在线监测

中图分类号: X835; X84 文献标识码: A 文章编号: 1006-2009 (2009) 04 - 0012 - 05

Research Development of On-line Toxicity Bio-monitoring Technique of Water Quality

PENG Qiang-hui^{1,2}, CHEN Ming-qiang¹, CA I Qiang², LIU Hui³, HE Miao³, CHEN Ming-gong¹
(1. Anhui University of Science and Technology, Huainan, Anhui 232001, China; 2 Yangtze Delta Region Institute of Tsinghua University Zhejiang, Jiaxing, Zhejiang 314000, China; 3 State Key Joint Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control, Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: The water toxicity monitoring methods both home and abroad were briefly reviewed on bimolecular, cellular, individual and biologic community. Characteristics and applications of the technology were inductively analyzed. The development prospect and trends of on-line monitoring were presented.

Key words: Water quality; Bio-toxicity; On-line monitoring

随着人类工农业活动的增加,水体污染物种类及毒性作用日益复杂化,同时由于检测标准不完善,相应的生态毒理数据缺乏,给水质综合毒性分析带来困难。在线监测技术顺应水质评价的需要逐渐发展起来^[1],它利用活体生物在水质变化或污染时的行为生态学改变,反映水质毒性变化。污染物进入环境后,在生态系统各级生物学水平产生不良影响,包括生物分子、细胞器、细胞、组织、器官、器官系统、个体、种群、群落生态系统等,引起生态系统固有结构和功能的变化^[2]。今从各级生物学水平响应水环境污染物的不同生物效应出发,系统介绍水质生物毒性在线监测技术及其应用进展。

1 分子和亚细胞水平的生物在线监测

根据细胞内部的特征性分子效应改变来实现水体污染物检测,如通过测定脱氢酶^[3]、鱼类肝脏

抗氧化系统酶^[4]、ATP酶、磷酸化酶、尿激素酶等酶活性或细胞微观结构功能特性,判断外界环境毒性大小。

Ishimori等基于细胞膜生物传感器开发了高级环境监测系统,由于细胞膜的脂双层结构含有疏水区,具有对被运输物质高度选择通透性,使细胞能主动从环境中摄取所需物质,并产生一定的生理效应,再通过信号转换器测定。此外,还研究了其自动装置,增强了生物传感器的重复检测能力和敏感性,已用于地下水监测及工业废水处理过程实时

收稿日期: 2008 - 09 - 11:修订日期: 2009 - 05 - 06

基金项目: "十一五"国家科技支撑计划基金资助项目 (2006BAC19B06);浙江省科技基金资助项目 (2007C03002);嘉兴市科技基金资助项目 (2006A Y2059)

作者简介:彭强辉 (1984—),男,湖南株洲人,在读硕士,主要 从事环境化学方面的研究。 监测[5]。

目前的研究都针对单一污染物,而自然界中水体污染往往是复杂随机的复合污染,降低了酶活性检测法的针对性和目的性。因此,必须大量积累单一和复合污染毒理数据,以促进其在在线分析中的应用^[6]。

2 细胞和微生物水平的生物在线监测

毒物抑制单细胞或多细胞组织、器官正常生理功能的酶活性,破坏细胞膜和细胞间质正常结构,削弱细胞膜识别、粘着机制,干扰细胞及细胞之间的许多生物学系统,或在毒物刺激下改变微生物正常生理行为,从而指示出水体污染指数^[7]。

2.1 细菌类

2 1.1 发光细菌

2 1.2 硝化细菌

硝化细菌属于自养型细菌,包括两类细菌亚群,一类是亚硝酸细菌(又称氨氧化菌),将氨氧化成亚硝酸^[9];另一类是硝酸细菌(又称硝化细菌),将亚硝酸氧化成硝酸^[10]。它们分别从氧化氨及亚硝酸中取得能量,以 CO₂为碳源进行生活,其大致途径为:NH₃ NH₂ - OH(羟胺)或 H₂N - NH₂(联胺) NO₂ NO₃ NO₂ NO N₂O N₂。硝化细菌对污染物毒性十分敏感,污染物通过抑制细胞酶类 (如氨单加氧酶、羟氨氧化酶、亚硝酸氧化酶)干扰硝化过程。

2 1.3 氧化亚铁硫杆菌

氧化亚铁硫杆菌(Thiobacillus Ferroxidans)是一种以 CO_2 为碳源、铵盐为氮源的化能自养好氧型细菌,通过在细胞质膜上的氧化磷酸化作用,可以从 Fe^{2+} 和还原态 S获得电子,将 Fe^{2+} 和还原态 S氧化成 Fe^{3+} 和 SO_4^{2-} ,并且在体内特定酶催化作用下,氧化 Fe^{2+} 的速度比同样条件下空气中氧的纯

化学速度快 200 000倍,氧化硫化物的速度快 100 ~1 000倍[11]。

细菌类在线监测仪比较见表 1。

表 1 细菌类在线监测仪比较

细菌		性能
发光细菌	试验菌种	明亮发光杆菌、费氏弧菌、基因工程菌
	观测指标	发光强度
	敏感毒物	有机污染物、重金属类
	应用	美国 Microtox、荷兰 TOX control、韩国多
		通道毒性连续监测系统
硝化细菌	试验菌种	亚硝酸细菌、硝酸细菌
	观测指标	呼吸速率、氨氮消耗速率
	敏感毒物	干扰硝化过程的毒性物质
	应用	英国 PPM 公司的 AMTOX、日本固定化菌
		膜传感器
氧化亚铁	试验菌种	氧化亚铁硫杆菌及其改良型基因工程菌
硫杆菌	观测指标	细菌呼吸作用的抑制量、耗氧量
	敏感毒物	KCN, Na ₂ S, NaN ₃
	应用	日本的氧化亚铁硫杆菌固定化膜传感器

2.2 微生物燃料电池

微生物燃料电池 (Microbial Fuel Cell,MFC)是一种以微生物为阳极催化剂,将化学能直接转化成电能的装置^[12]。原理是微生物直接将水或污泥中的有机物降解,同时产生电子,代谢过程中的电子转化成电流,利用 MFC电流与有机物之间的定量关系开发新型 BOD传感器。

Chang等[13]基于电流分析法研制了 MFC型BOD传感器,分批测定溶液 BOD时发现,电池转移电荷与污水浓度呈明显线性关系,相关系数达0.99;电池在低浓度时响应时间少于 30 min;水力停留时间 1.05 h,连续测定 BOD质量浓度低于100 mg/L时,电流与质量浓度呈线性关系;当 MFC阳极处于"饥饿"状态后,喂养新鲜污水可使 MFC电流恢复;电池中污水浓度发生变化时,电流需滞后 1 h达到稳定。

MFC型 BOD 传感器虽然具有电流与污染物浓度之间呈良好线性关系、对污水浓度响应速度较快、重复性较好等优点,但应用于贫营养水体时,阴极还原速率低,导致电池输出电流的信号很小。

3 个体水平的生物在线监测

水生生物行为生态变化是生理、生化指标变化 的外在表现,易于观察,测定其变化程度就能快速 进行水质安全性评价。

3.1 鱼类

鱼类对水环境变化十分敏感,水体中有毒物质 达到一定浓度便会引起其一系列中毒反应,如浮 头、反应迟钝、眼口周围出血、皮肤分泌异常粘液 等,可根据毒理反应判断毒性大小[14]。

Schalie等[15]利用美国陆军环境与健康研究中 心 (the USA my Center for Environmental Health Research)的在线生物监测预警系统,分析了鱼类作 为水质实时检测指示生物所涉及的参数和数据。 这种连续自动鱼通气监测系统,以蓝鳃鱼换气率、 平均通气深度、运动强度作为指标参数,1,3,5-三 硝基苯 (TNB)和混合溶剂 (Triton X - 100和丙酮) 作为载体溶剂,进行氯丹毒性测试,数据评估每 10 min一次,采样频率为 60 Hz,预警通常发生在接 触时间 30 min之内,接近 96 h半致死浓度值。

Glasgow等[16]介绍了一种用于军事防御体系 的基于 RTRM (Real-Time Remote Monitor)平台的 在线监测系统。大西洋幼鲑在含有较高浓度金属 污染物的水体中会进行静鳃动作,产生换气停顿, 发出类似"咳嗽"的声音。系统以这种"咳嗽反应" 作为监测水体污染的一种标志,利用鱼口肌肉一张 一闭活动所产生的微弱电场,通过高灵敏度电极与 计算机相连,绘制出大量测定关系图,根据"咳嗽" 状态对照关系曲线便可随时掌握水质污染情况。 该系统首先收集每条鱼在清水中的生理行为数据, 然后实时监测鱼在目标水样中的各种生理行为,通 过比较分析便可得出毒性数据。

MFB (Multispecies Freshwater Biomonitor)是比 较成熟的在线监测仪,通过测试管内水生生物对电 场的影响来感知其行为生态变化,然后由信号转换 器将电信号转换成图像加以分析,获得被测生物死 亡时间、行为反应时间、行为反应种类、反应持续时 间等信息。MFB可以利用几乎所有水生生物在水 体不同层次进行生物在线监测,根据不同类型水生 生物的行为生态变化(如水生生物泳动和腮呼吸 运动等)监测水体不同层次的水质变化,实现不同 层次水体的生物在线监测(上层、中层、下层及沉 积物监测),提供迅速、灵敏、低成本的水体毒性测 试数据[17]。

非洲尼日尔河中的狗鱼 (gar) [18],体长约 1 m, 嗅觉异常灵敏,对水中有害物质和气体反应十分迅 速。在尼日利亚首都拉各斯和其他一些大城市供 水系统中,每天都有3条狗鱼轮流在蓄水池游动, 随时监测自来水是否受到化学物质和其他有毒物 质污染。监测人员借助电信号放大器测出狗鱼发 出的脉冲信号,该信号正常情况下每分钟振荡 400 次~800次,水中一旦出现有毒物质,脉动信号就 会产生相应瀑袭声,其频率也会随之减少至每分钟 200次以下。这种方法可及时、准确地预报水质状 况,节省了大量人力、物力和财力,已在美国、英国、 瑞士和德国等国家得到应用。

利用鱼类在线监测一定要排除运行过程中投 饵不当、鱼类自身状况等影响,使干扰因素降到最 低。还需进一步开展研究,将鱼类在水中的生理反 应作为信号与微机相联,经放大、处理、分析、预警、 报警、记录等,得到精确的分析数据和可靠的毒性 资料。

3.2 水溞类

水溞是体形较小的浮游动物,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, 对多种有毒物质敏感。当水体受到污染时,有毒物 质会影响水溞生长,干扰其生殖和发育,导致个体 死亡,可用水溞死亡率、繁殖能力或生理行为变化 作为毒性测试指标[19]。

德国 BBE公司研发的大型溞水质毒性检测仪 (the BBE Daphnia Toximeter) [20]包括两个腔室,一 个用来培养藻类发酵槽,利用自动控制机制调控培 养环境,使藻类达到最佳生长状态,然后作为食物 泵入另一个装有大型发光溞的反应器。仪器连续 记录和分析发光溞在被监测水样中的各项生理行 为参数,比对正常环境下的行为参数,反算出水质 毒性数据,实现连续在线监测。2002年冬季奥运 会期间,大型溞水质毒性检测仪被用于监测保护区 域内水安全,以应对恐怖袭击活动。

Jeon等^[21]开发研究了六通道生物在线预警系 统,以大型溞为指示生物,6个独立通道分别检测 大型溞 magna的 6项生理活性指标,结合能迅速激 发预警的数字"网格计数器 (Grid Counter) 机制, 每隔 5 min进行一次数据处理。当大型溞 magna 暴露在铜离子质量浓度分别为 50 μg/L、 100 µg/L、200 µg/L、400 µg/L 的水样中时,其出 现生物迟钝忧郁反应时间分别为 (7.17 ±1.75) h, $(3.94 \pm 2.02) h$, $(1.85 \pm 0.49) h$, $(1.00 \pm 0.18) h$, 3次连续监测发现系统预警阈值均在 p=0.009.3。 试验结果表明,毒性试验以 ρ值为监测指标比游动

速度、游动轨迹等指标更精确、可靠。

利用水溞开展在线毒性试验较直观,易观察,但测试灵敏度低,试验时间长,影响因素较复杂。水体 pH值和温度都会在一定程度上增加或降低毒性大小,不同年龄、类别的水溞对毒物反应也有差异,必须考虑综合因素毒性效应,以提高在线检测的实用性和准确性。

3.3 藻类

藻类是水生生态系统及水生食物链的初级生产者,个体小,繁殖快,对毒物敏感,易分离培养,可直接观察细胞水平的中毒症状,是理想的生物毒性试验材料,常用藻类生长抑制和光合作用效率作为测试指标[22]。

Kuhn等 $^{[23]}$ 对多种鞭毛藻种、原甲藻种、海草等开展重金属毒性试验,发现微小原甲藻中的 Lissabon和 Kattegat最灵敏,对 Cu^{2+} 的 EC_{50} 值分别为 13. 5 mg/L 和 7. 5 mg/L,为 ECOTOX 在线毒性检测系统更换高灵敏度指示生物提供了理论依据。

藻类可以指示生物毒性,而且藻类的生长情况还能提供水中 N、P等无机营养物、重金属和除草剂类有机化合物的含量信息^[24],但尚缺乏相应的检测标准,以及各种特定试验藻种的细胞化学结构和生理生化特性研究。

4 种群和群落水平的生物在线监测

在水生自然环境中,不同种群占据着各自的生态位,彼此间有复杂的相互作用,构成了特定群落,对生存环境变化十分敏感,能反映出整个水生生态系统的结构和许多功能特征,具有水污染监测使用价值^[25]。

Zolotarev^[26]用微生物模拟群落 (microbial model communities)对湿地生态系统进行水质监测,以 periphy ton鞭毛虫指数作为水体营养状态新指标, periphy ton鞭毛虫生物多样性和相对丰富的原生动物被用来指示有毒污染和酸化程度。

由于群落自身结构的复杂性,利用生物群落监测水质毒性的方法还处于发展初期,深化其在线监测功能还面临着挑战,但该方法的潜在优越性注定了其广阔的应用前景^[27]。

5 发展前景与趋势

生物毒性在线监测克服了理化检测的局限性和连续取样繁琐性,并能缩短实验时间,简化操作

过程,快速获得水质毒性资料,达到早期预警的目的,发展前景非常广阔。

生物毒性在线监测技术经过不断发展,应用范围逐渐延伸,其现阶段发展趋势越来越清晰[28]:

- (1)目前被监测水体主要有饮用水、水源水和污水。饮用水毒性普遍较低,而生物体对毒物均有一定的耐受能力,造成生物毒性检测仪检测限不高;污水一般含杂质较多,且毒物成分复杂,容易造成检测仪管道堵塞、腐蚀,给仪器维护和使用寿命带来挑战。因此,针对不同性质水域多角度地优化在线监测仪器的综合功能是近期研究重点。
- (2)在水质生物监测过程中,由于选用活体生物,同一种生物不同生长时期对污染物的敏感性和反应不同,即便同一种生物在相同时期也存在个体差异,因而提高生物监测稳定性值得深入研究。
- (3)水质在线监测技术将越来越趋向于综合 多个物种于同一监测仪器中,提升毒性数据的可信 度和精准度,同时采用本地物种检测本地水域毒性 也是未来的研究方向^[29]。

[参考文献]

- [1] 陈建江. 对我国环境自动监测发展的思考 [J]. 环境监测管 理与技术,2007,19(1):1-3.
- [2] 王晓辉,金静,任洪强,等.水质生物毒性检测方法研究进展 [J].河北工业科技,2007,24(1):58-62
- [3] HROAKI S Microfabrication of chemical sensors and biosensors for environmental monitoring [J]. Materials Science and Engineering C: Biomimetic and Supermolecular Systems, 2000, 12(1):55 61.
- [4] KRATASYUK V A, ESMBEKOVA E N, GLADYSHEV M I, et al The use of bioluminescent biotests for study of natural and laboratory aquatic ecosystems [J]. Chemosphere, 2001, 42: 909 - 915.
- [5] YOSH D I, KO ICH IRO K, H IROSH I T, et al Advanced environmental monitoring system using eco-sensor based on bilayer lip id membrane [J]. Proceedings of SPIE—the International Society for Optical Engineering, 2002, 45 (4): 312 319.
- [6] ROBERTO F F, BARNES J M, BRUHN D F, et al Evaluation of a GFP reporter gene construct for environmental arsenic detection [J]. Talanta, 2002, 58 (1):181 - 188.
- [7] M RASOL IM, FEL CANO J, M CHEL N I E, et al. Internal response correction for fluorescent whole-cell biosensors [J]. Anal Chem, 2002, 74 (23): 5948 5953.
- [8] KM B C, GU M B. A multi-channel continuous water toxicity monitoring system: its evaluation and application to water discharged from a power plant[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2005, 109 (3): 156 - 164.

- [9] 董春宏、胡洪营、黄霞、等、底泥硝化菌群用于生物毒性测试 的初步研究 [J]. 环境科学研究, 2002, 15(6): 45 - 48.
- [10] BURGESS J E, QUARMBY J, STEPHENSON T, et al Vitamin addition: an option for sustainable activated sludge process effluent quality[J]. Journal of Microbiology & Biotechnology, 2000, 24: 267 - 274.
- [11] OKOCHIM, MMA K, MIYATAM, et al Development of an automated water toxicity biosensor using thiobacillus ferrooxidans for monitoring cyanides in natural water for a water filtering plant[J]. Biotechnol Bioeng, 2004, 87 (7): 905 - 911.
- [12] CHANG IS, JANG J K, GL G C, et al Continuous determination of biochemical oxygen demand using microbial fuel cell type biosensor [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2004, 19: 607 - 613.
- [13] CHANG I S, MOON H, JANG J K, et al Improvement of a microbial fuel cell performance as a BOD sensor using respiratory inhibitors[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2005, 20: 1856 - 1859.
- [14] TOUSSA NTM W, BRENNAN L M, ROSENCRANCE A B, et al Acute toxicity of four drinking water disinfection by-products to Japanese medaka fish [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2001, 66: 255 - 262
- [15] SCHAL IE W H V D, SHEDD T R, KNECHTGES P L, et al Using higher organisms in biological early warning systems for real-time toxicity detection [J]. Biosensors & Bioelectronics, 2001, 16: 457 - 465.
- [16] GLASGOW H B, BURKHOLDER JM, REED R E, et al Realtime remote monitoring of water quality: a review of current applications, and advancements in sensor, telemetry, and computing technologies [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2004 (300): 409 - 448.
- [17] GERHARDT A, SCHM DT S, HOSS S The multispecies freshwater biomonitor(MFB) and its in aquatic toxicology and biomonitoring [J]. Conference Proceedings, 2002, 120 (3): 513
- [18] GMUNDER A. Treatment of lake water: using the example of the Maennedorf Lake water plant[J]. Gas Wasser Abwasser, 2006, 86(9):701 - 707.
- [19] CHOUTEAU C, DZYADEV YCH S, CHOV ELON J M, et al De-

- velopment of novel conductometric biosensors based on immobilised whole cell chlorella vulgaris microalgae [J]. Biosens Bioelectron, 2004, 19 (9): 1089 - 1096.
- [20] LECHELTM, BLOHM W, KR SCHNE IT B, et al Monitoring of surface water by ultra-sensitive daphnia toximeter[J]. Biological & Toxicity Monitoring, 2001, 5 (2): 23 - 30.
- [21] JEON J, KM J H, LEE B C, et al Development of a new biomonitoring method to detect the abnormal activity of Daphnia magna using automated Grid Counter device[J]. Science of the Total Environment, 2008 (389): 545 - 556.
- [22] LATALA A, STEPNOW SKI P, NEDZIM, et al Marine toxicity assessment of imidazolium ionic liquids: acute effects on the baltic algae ocystis submarina and cyclotella meneghiniana [J]. Aquat Toxicol, 2005, 73 (1): 91 - 98.
- [23] KUHN RMD, STREBC, BREITERR, et al Screening for unicellular algae as possible bioassay organisms for monitoring marine water samples [J]. Water Research, 2006, 40: 2695 - 2703.
- [24] BENGTSON N S M, QUAYLE P A. The selection of a model microalgal species as biomaterial for a novel aquatic phytotoxicity assay[J]. Aquatic Toxicology, 2005, 72: 315 - 326.
- [25] GERHARDTA, KIENLE C, ALLAN IJ, et al Biomonitoring with gammarus pulex at the Meuse (NL), Aller (GER) and Rhine(F) rivers with the online multispecies freshwater biomonitor[J]. Journal of Environmental Monitoring, 2007, 9 (9): 979 - 985.
- [26] ZOLOTAREV V. Water quality monitoring in wetland ecosystems using microbial model communities [J]. International Journal of Water, 2007, 3(3): 231 - 242.
- [27] KUNGOLOS A. Evaluation of toxic properties of industrial wastewater using on-line respirometry[J]. J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environment Eng, 2005, 40 (4): 869
- [28] 张涛,熊光陵.创新监测科研管理 推进环境监测进展[J]. 环境监测管理与技术,2008,20(2):1-3.
- [29] GERHARDT A. Recent trends in online biomonitoring for water quality control [J]. Biomonitoring of Polluted Water, 2000, 11 (3):95 - 118.

本栏目责任编辑 姚朝英

· 简讯 ·

江苏太湖流域再建 55个水站

近日从江苏省环境保护工作座谈会议上获悉,针对太湖今后仍有可能大规模暴发蓝藻水华的现状,江苏太湖流域年底 前还将建成 55个水站,以进一步完善环境监测工作。

据介绍,截至 2009年 5月,太湖沿湖 6个主要饮用水源地水质稳定,藻类密度未见异常。卫星遥感共计监测到蓝藻水 华现象 19次 ,与去年同期相比 ,累计面积、平均聚集面积和最大面积均有所下降。 5月份蓝藻聚集现象主要集中在西部湖 区、梅梁湖和竺山湖。其中,竺山湖南部近宜兴沿岸水域蓝藻聚集频次及藻密度均相对较高。总体看,5月份太湖蓝藻聚集 情况较去年同期有较为明显减轻,水质总体保持稳定。

摘自 www. jshb. gov. cn 2009 - 07 - 21