

doi: 10.3969/j.issn.1007-2861.2010.06.003

大沽排污河和永定新河水样的生物毒性

雷炳莉

(上海大学 环境与化学工程学院 环境污染与健康研究所, 上海 200444)

摘要: 应用发光细菌法,对天津市大沽排污河和永定新河的水样进行生物毒性测试,并比较水样经亲水-疏水平衡(hydrophilic-lipophilic balance, HLB)固相萃取柱富集前后的毒性变化情况,分析水样中有机污染物对发光菌生物毒性的贡献.根据水质毒性分级标准,对水样进行综合毒性评价.结果表明,大沽排污河和永定新河均对发光菌显示出一定的毒性效应,其毒性级别从低毒到剧毒,呈现较大差异.总体上说,大沽排污河水样的毒性高于永定新河,并且均表现为水样富集前的毒性大于富集后毒性.通过计算发现,南八里台等5个采样点的有机污染物对发光菌生物毒性贡献率超过90%;而其他7个采样点的有机污染物对发光菌生物毒性贡献率则在40%以下,这说明造成发光菌毒性的物质主要是不易被HLB柱富集的化合物.

关键词: 发光菌;大沽排污河;永定新河;生物毒性评价

中图分类号: X 8

文献标志码: A

文章编号: 1007-2861(2010)06-0567-05

Biotoxicity of Water Samples from Dagu Drain River and Yongdong New River

LEI Bing-li

(Institute of Environmental Pollution and Health, School of Environmental and Chemical Engineering,
Shanghai University, Shanghai 200444, China)

Abstract: Biotoxicity of water samples from Dagu Drain River and Yongding New River in Tianjin was determined using the *Photobacterium phosphoreum* toxicity test method. The toxicity change of water samples was analyzed before and after hydrophilic-lipophilic balance (HLB) enrichment, and toxicity contribution rates of organic chemicals were calculated. Comprehensive toxicity intensity of water samples was evaluated on the basis of toxicity rank standard. The results show that the water samples from Dagu Drain River and Yongding New River had toxicity to *Photobacterium phosphoreum* and their toxicity grades were from low toxicity to dramatic toxicity. Generally, the biotoxicity of Dagu Drain River was higher than that of Yongding New River, and the toxicities of water samples before HLB enrichment were higher than those after HLB enrichment. The toxicity contribution rates of organic chemicals for five water samples to *Photobacterium phosphoreum* were higher than 90%, while the toxicity contribution rates of organic chemicals for another seven samples were less than 40%, indicating that the main toxicity substances to *Photobacterium phosphoreum* could not be enriched by HLB.

收稿日期:2010-03-11

基金项目:上海大学创新基金资助项目(A10011109904)

通信作者:雷炳莉(1979~),女,助理研究员,博士,研究方向为有机污染物的环境行为及风险分析. E-mail:leibingli@126.com

Key words: *Photobacterium phosphoreum*; Dagu Drain River; Yongding New River; biotoxicity evaluation

随着工农业的快速发展和人类活动的日益增加,大量有毒有害污染物被排放到河流、湖泊和海洋等各种水体中,对水生态系统的生态平衡和生物体造成危害.现行的理化监测反映的只是河流中污染物的浓度水平,并不能反映出这些污染物产生的综合毒性强度,因此,采用水生生物进行环境样品的毒性检验成为评价环境污染物的必要手段之一^[1].水生生物的急慢性毒性实验通常采用浮游生物和鱼类作为受试生物,但其具有实验时间较长、费用较高等缺点.因此,人们倾向于发掘一些快速、简便、经济的方法,发光细菌法就是符合这些要求的毒性检验方法之一.该方法以发光菌作为指示生物进行毒性测试,与传统生物毒性测试(以水蚤、藻类或鱼等为受试对象)相比,可以在较短的时间内进行大量化合物的毒性测定,具有简便、快速、灵敏、廉价、应用广泛等优点,并且其灵敏度可与鱼类96 h急性毒性测试结果相媲美,是进行水质生物监测的快捷方法^[2].发光细菌法毒性测试中应用最广的是海洋发光菌,成套方法一般称为 Microtox 检验,它是依据海洋发光菌的自然发光性建立的.发光菌的发光与污染物的毒性成负相关,一般是污染物毒性越强,发光就越弱^[3,4].

本研究应用发光菌生物毒性监测技术,测定天津大沽排污河和永定新河水样的综合毒性,进行毒性分级和河流水质综合毒性评价.同时,比较亲水-疏水平衡(hydrophilic-lipophilic balance, HLB)柱富集前后水样的毒性变化,分析有机污染物对发光菌的毒性贡献情况,为进一步的河流污染物监测分析和生态风险评价提供基础资料,并为河流水质评价、水质污染应急性生物毒性测试提供基础数据和基本方法.

1 实验部分

1.1 主要实验仪器和材料

高压灭菌锅(YXOG-02),山东新华医疗器械股份有限公司;发光测定仪(Lumat LB9501),德国,配3 mL的样品管;超净工作台(Clean Bench),哈尔滨市东联电子技术开发有限公司;KQ5200型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;定时恒温磁力搅拌器(JB-3型),上海雷磁仪器厂新泾分厂;可调式移液器,热电上海仪器有限公司;全温振荡培养箱

(HZQ-F),哈尔滨市东联电子技术开发有限公司;HS-3S数字酸度计,杭州东星仪器设备厂;GPS定位仪;固相萃取柱 Oasis@ HLB, Waters公司,500 mg.

1.2 流域概况与样品采集

大沽排污河建于1958年,主河道是一条人工开挖的污水河,全长67.5 km,是海河改造工程的主要组成部分^[5].该河是天津市两大排污河之一,对天津市的排水起着至关重要的作用.数十年来,大沽排污河的功能是接受及输送经过处理的和未经处理的污水和雨水,目前已成为一条名副其实的污水河,河带有明显的臭味,对沿途的小区、村庄造成很大的危害.2002年10月,有关人员以试验场为中心对河道的淤泥和底质进行了检测,与《农用污泥中污染物的控制标准》(GB 4284—1984)进行对比后发现,河道软泥中的铜、锌、汞和镍等重金属严重超标^[6].

永定新河位于天津市区北侧,河道开挖于1971年,西起天津市北辰区屈家店,东至塘沽区北塘镇入渤海,全长66 km,是海河流域北系永定、潮白、北运和蓟运河洪水的共同入海通道,在海河流域防洪体系中占有极其重要的地位^[7].永定新河河道所经地带两岸村镇密集,交通便利,经济比较发达,分布有工厂、农田及水产养殖场等,由于沿途接纳一定的生活污水、工业废水等,致使河流受到了一定的污染.

为了能较系统地反映大沽排污河和永定新河的污染特征,结合大沽排污河和永定新河市郊段河道特征、地貌特征与城镇分布,我们于2007年6月在大沽排污河和永定新河的上、中、下游河道上,应用GPS定位选取12个具有代表性的采样点进行水样采集.表1为采样点位置及水样的pH值.

水样采集后进行过滤,去除水中大于0.45 μm的悬浮颗粒物.收集部分过滤后水样,对另一部分过滤后的水样进行HLB柱富集,并收集富集后的流出液.调节水样盐度,使其NaCl的质量分数大约在3%左右,并调节水样pH值范围在6~8之间.

1.3 菌种培养

明亮发光杆菌(*Photobacterium phosphoreum*)冻干粉,购自中国科学院南京土壤研究所微生物室.关于培养液与固体培养基的制备、冻干粉的复苏、斜面菌种和摇瓶菌液的培养见文献[8].

表1 采样点位置及水样的 pH 值

Table 1 Sampling locations and pH of water samples

河流	编号	样点名称	纬度 N	经度 E	pH 值
大沽 排污河	d1	南八里台	117°18'47"	38°57'32"	6.26
	d2	巨葛庄东闸	117°19'45"	38°58'33"	4.55
	d3	巨葛庄北闸	117°19'45"	38°58'33"	4.32
	d4	巨葛庄南闸	117°19'45"	38°58'33"	4.74
	d5	三河交汇处	117°20'38"	38°58'20"	2.44
	d6	翟甸桥	117°21'38"	38°58'02"	2.20
	d7	大沽入海口	117°42'30"	38°57'32"	6.80
永定 新河	y1	京津高速	117°09'21"	39°16'09"	7.60
	y2	霍庄大桥	117°19'04"	39°17'06"	7.37
	y3	永和桥	117°22'49"	39°16'38"	7.50
	y4	蓟运河	117°41'46"	39°07'57"	7.00
	y5	永定入海口	117°45'26"	39°04'47"	7.40

1.4 工作菌液的制备及毒性测试

工作菌液的制备:吸取一定量刚培养好的摇瓶菌液,用3%的NaCl溶液稀释并搅拌均匀,控制对照(0.99 mL 3% NaCl 溶液 + 0.01 mL 工作菌液)发光强度为200~500万光子数^[9]。

将0.01 mL 配制好的工作菌液加入到0.99 mL 3% NaCl 的样品溶液中(每组3个平行样品),混合均匀后于20 °C 恒温20 min,测发光强度。在预实验的基础上,将毒性大的待测样品稀释成5个浓度梯度进行测试,求出相应的EC50值(即使发光强度减少50%的毒物浓度或污水稀释浓度或稀释倍数),对于毒性小的样品直接进行测试。

1.5 数据处理与分析

毒性效应结果用相对抑光率表示如下:

相对抑光率 =

$$\frac{\text{对照发光强度} - \text{样品发光强度}}{\text{对照发光强度}} \times 100\% \quad (1)$$

将稀释成一定浓度梯度的样品的百分数和相对抑光率用Origin7.1统计软件进行回归分析,根据回归方程求出相应的EC50值(用百分数表示)。

2 结果与讨论

2.1 毒性测试结果

根据式(1)计算得到的大沽排污河和永定新河水样的发光菌毒性测试结果分别如图1(a)和图1(b)所示。图中可见,大沽排污河和永定新河的水样都对发光菌显示出了一定的急性毒性,并且大沽排污河对发光菌毒性总体上高于永定新河,且二者均表现为富集前水样的毒性大于富集后水样的毒

性。毒性较大的水样为d2,d3,d5和d6,其对发光菌的相对抑光率在富集前后都超过了50%。y3水样在富集前呈现较大的发光菌毒性效应,对发光菌的相对抑光率达到100%,而富集后其毒性减小,相对抑光率降至10%以下。其他各采样点水样在富集前后对发光菌的相对抑光率均小于50%,显示出较小的急性毒性,其中y2水样显示出最弱的发光菌毒性效应,其富集前对发光菌的相对抑光率仅为1.5%,富集后相对抑光率降为0,说明富集后水样对发光菌不产生毒性效应;其次为y1水样,其富集前后对发光菌的相对抑光率均在5%以下。

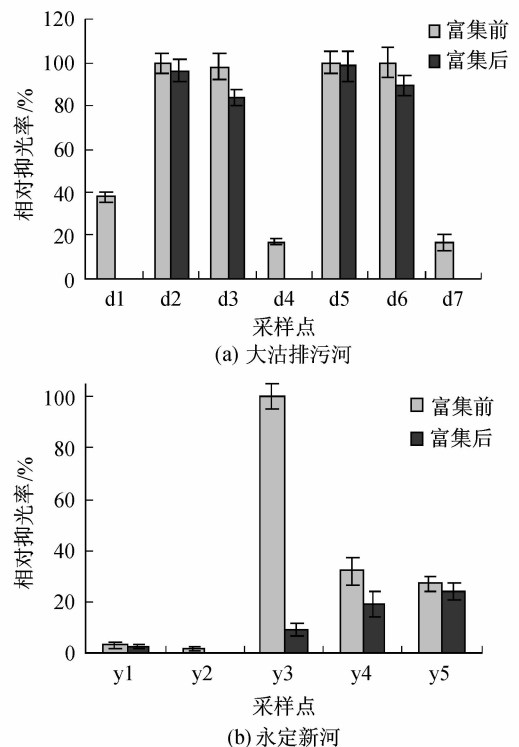


图1 大沽排污河和永定新河水样的发光菌毒性测试结果
Fig. 1 Toxicity test results of water samples from Dagou Drain River and Yongding New River

Waters Oasis@ HLB 固相萃取柱内的吸附剂为大孔的亲脂性二乙烯苯与亲水性 N-乙基吡咯烷酮按一定比例聚合而成的,对亲水及亲油有机污染物均具有较好的保留作用。HLB 作为一种通用型的固相萃取柱,能用于多种极性和非极性有机化合物的提取,如硝基苯类、曲霉毒素、抗菌素、染料、除草剂、苯酚、类固醇等。因此,通过比较 HLB 柱富集前后水样对发光菌相对抑光率的变化,可以初步鉴定水样中有机污染物对发光菌生物毒性的贡献率为

$$\frac{\text{样品富集前相对抑光率} - \text{样品富集后相对抑光率}}{\text{样品富集前相对抑光率}} \times 100\% \quad (2)$$

根据式(2)计算得到各水样有机污染物对发光菌生物毒性的贡献率如图2所示。图中可见,有机污染物对发光菌生物毒性贡献率达到100%的采样点分别为d1, d4, d7和y2;其次为y3,其贡献率为91.1%,说明这几处水样对发光菌产生毒性的物质主要来自有机污染物;其他7个水样的有机污染物对发光菌生物毒性贡献率都在40%以下,其中贡献率最小的采样点是d5,仅为1.4%,说明这几处水样有机化合物对发光菌产生的毒性较小,其致毒物质主要是来自不易被HLB柱富集的化合物,如重金属等。以往的调查研究也发现,大沽排污河多处存在重金属严重超标现象^[5]。此外,由于发光菌能对具有一定水溶度的有机污染物的急性毒性进行监测^[10-11],因此,富集前水样对发光菌产生毒性的有机物类型主要是在水中具有一定溶解度的极性或中等极性的有机污染物。但由于多种有机污染物和无机污染物都能对发光菌产生毒性效应,因此,对发光菌产生毒性效应的具体物质需要结合化学分析作进一步的毒性鉴别评价。

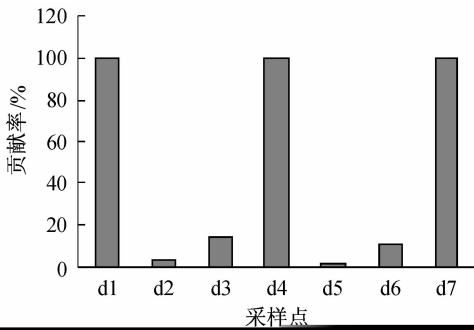


图2 有机污染物对发光菌生物毒性的贡献率

Fig. 2 Toxicity contribution rates of organic chemicals to *Photobacterium phosphoreum*

2.2 综合毒性评价

一般来说,利用发光细菌、鱼类、蚤类测定工业废水急性毒性的实验结果,可采用一些毒性分级方法进行毒性评价。如 Bulich 等^[12]提出的 EC50 值百分等级划分标准,以及顾宗濂^[13-14]提出的相对抑光率毒性分级标准^[13],其中顾宗濂的相对抑光率毒性分级标准由于不需要求出 EC50 值就能对水质的生物毒性进行评价,且其划分较为细致和直观而应用较广,其描述如表2所示。

表2 毒性分级标准

相对抑光率/%	毒性级别	毒性等级
< 30	低毒	I
30 ~ 50	中毒	II
50 ~ 70	重毒	III
70 ~ 100	高毒	IV
100	剧毒	V

应用顾宗濂提出的相对抑光率毒性分级标准,对大沽排污河和永定新河的水样进行综合毒性评价和毒性等级划分,其结果如表3所示。两条河流不同采样点的毒性级别不同,从低毒到剧毒,呈现较大差异。大沽排污河除d1和d4两个采样点的水样毒性较低外,其他各点的水样均表现出较强的毒性效应,其毒性级别为高毒或剧毒,其中d6采样点富集前水样的 EC50 值最小,只有3.1%,说明其毒性最大。永定新河除y3采样点富集前水样的毒性级别为剧毒外(其 EC50 值为5.3%),其他各点水样的毒性级别均为低毒。可以看出,大沽排污河对发光菌的毒性强度总体上明显高于永定新河,呈现这样的状况可能与两条河流的功能以及河流两岸污水来源不同有关。大沽排污河的主要功能是作为纳污导污水体,天津市大约有60%以上经过和未经处理的工业废水、生活污水以及雨水由其接纳和排走,致使其受到较严重的污染,因此,对发光菌显示出较大的毒性效应;而永定新河的主要功能是作为海河的防洪抗涝水系,受到的污染相对较轻,因此,对发光菌也显示出较弱的毒性效应。

3 结束语

大沽排污河和永定新河水样均对发光菌显示出了一定的毒性效应,其毒性级别从低毒到剧毒,呈现较大差异,并且大沽排污河的毒性总体上高于永定新河,且二者均表现为富集前水样的毒性大于富集

表 3 水样的综合毒性评价

Table 3 Comprehensive toxicity evaluation of water samples

河流名称	编号	样品类型	抑光率/ %	EC50 值/ %	毒性级别	毒性等级
大沽 排污河	d1	富集前	37.6	—	中毒	II
		富集后	0	—	低毒	I
	d2	富集前	100.0	18.0	剧毒	V
		富集后	96.5	40.0	高毒	IV
	d3	富集前	97.4	30.0	高毒	IV
		富集后	83.8	45.0	高毒	IV
	d4	富集前	17.0	—	低毒	I
		富集后	0	—	低毒	I
	d5	富集前	100.0	4.6	剧毒	V
		富集后	98.6	4.2	高毒	IV
	d6	富集前	100.0	3.1	剧毒	V
		富集后	89.4	4.5	高毒	IV
	d7	富集前	17.1	—	低毒	I
		富集后	0	—	低毒	I
永定 新河	y1	富集前	2.9	—	低毒	I
		富集后	2.3	—	低毒	I
	y2	富集前	1.5	—	低毒	I
		富集后	0	—	低毒	I
	y3	富集前	100.0	5.3	剧毒	V
		富集后	8.9	—	低毒	I
	y4	富集前	32.2	—	中毒	II
		富集后	19.4	—	低毒	I
	y5	富集前	26.9	—	低毒	I
		富集后	24.0	—	低毒	I

注:“—”表示 EC50 值 >100% 或求不出 EC50 值。

后水样的毒性. 通过比较 HLB 柱富集前后水样对发光菌相对抑光率的变化, 初步鉴定了水样中有机污染物对发光菌的生物毒性贡献情况。

参考文献:

[1] 马梅, 王子健, 祝如心, 等. 白洋淀地区污染状况的生物毒性评价[J]. 中国环境科学, 1995, 15(3): 166-177.
 [2] 方战强, 陈中豪, 胡勇有, 等. 发光细菌法大水质监测

中的应用[J]. 重庆环境科学, 2003, 25(2): 56-58.
 [3] HASTINGS J W, POTRIKUS C J, GUPTA S C, et al. Biochemistry and physiology of *bioluminescent bacteria* [J]. *Advances Microbial Physiology*, 1985, 26: 235-291.
 [4] RIBO J M, KAISER K L E. *Photobacterium phosphoreum* toxicity bioassay: (I) test procedures and applications [J]. *Toxicity Assessment*, 2006, 2(3): 305-323.
 [5] 迟海燕, 黎荣, 赵子良, 等. 大沽排污河沉积物中重金属的分布特性研究[J]. 中国给水排水, 2006, 22(6): 102-104.
 [6] 张云霞, 王立彤, 王馨, 等. 天津大沽排污河清淤污泥填埋场设计方案[J]. 中国给水排水, 2006, 22(8): 46-50.
 [7] 刘卫, 郭英卓, 冯亚耐. 永定新河治理工程生态环境影响评价[J]. 海河水利, 2006(5): 9-11.
 [8] 董玉瑛, 雷炳莉, 马静, 等. 助溶剂对发光菌生物毒性测试的影响[J]. 化工学报, 2006, 57(3): 636-639.
 [9] 马梅, 童中华, 王子健. 新型淡水发光菌 (*Vibrio qinghaiensis* sp. -Q67) 应用于环境样品毒性测试的初步研究[J]. 环境科学学报, 1998, 18(1): 86-90.
 [10] REN S, FRYMIER P D. Estimating the toxicities of organic chemicals to *bioluminescent bacteria* and activated sludge [J]. *Water Research*, 2002, 36(17): 4406-4414.
 [11] CSERHÁTI T, FORGÁCS E, OROS G. Biological activity and environmental impact of anionic surfactants [J]. *Environment International*, 2002, 28(5): 337-348.
 [12] BULICH A A, LSENBERG D L. Use of the luminescent bacterial system for the rapid assessment of aquatic toxicity [J]. *Instrument Society of America Transactions*, 1981, 20(1): 29-32.
 [13] 姜斌, 张涤非. 不同行业工业废水生物毒性强度研究[J]. 环境保护科学, 2003, 29(3): 21-23.
 [14] 顾宗濂, 谢思琴, 吴留松, 等. 用生物发光计测定污染水体生物毒性[J]. 环境科学, 1983, 4(5): 30-33.

(编辑: 刘志强)