

· 监测技术 ·

doi:10.3969/j.issn.1674-6732.2011.02.006

大型蚤在线生物监测系统研究

郑新梅, 冯政, 丁亮, 刘红玲, 于红霞

(南京大学环境学院污染控制与资源化研究国家重点实验室, 江苏 南京 210046)

摘要:近年来,世界范围内突发性废水泄漏事件频发,在引起人们对水质问题恐慌的同时,也促进了饮用水在线监测与早期污染预警系统的发展。生物监测可以对污染环境多污染物的联合毒性进行有效评估,具有传统化学监测所不具备的优点,已成为判定水质是否对水生生物存在影响、是否符合人类安全饮用的有效依据和手段。介绍了大型蚤在线生物监测系统的多通道流通生物测试室和生物传感器系统,并对世界范围内的研究与应用情况做了研究综述。目前,采用大型蚤作为指示生物在线监测系统已在饮用水水质监测方面成功实现,但其在工业废水接管过程中毒性评估和早期预警的研究和应用上尚有不足,有待更加深入地探讨与研究。

关键词:在线生物监测系统;水质预警;大型蚤

中图分类号:X835

文献标识码:A

文章编号:1674-6732(2011)-02-0021-04

Review of Online Biological Monitoring Systems with the Use of Daphnia Magna

ZHENG Xin-mei, FENG Zheng, DING Liang, LIU Hong-ling, YU Hong-xia

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing, Jiangsu 210046, China)

ABSTRACT: In recent years, the emergencies of leakage waste water into the environment took place all over the world frequently and it not only arose more and more panicky people to concern the water pollution problem but also improved the development of the online monitoring methods and the biota early warning system (BEWS). BEWS can evaluate the toxicity of simplex compound on the aquatic organisms, and also be used in the evaluation of the actual pollution environment which contains a lot of complex compounds. Comparing with the chemical methods that mainly focused on the detection of physio-chemical index, BEWS has more advantages and now it has become the available method in estimating whether water quality toxic to aquatic organisms or match the standards of drinking water. In this paper, the BEWS with the use of Daphnia was presented, and mechanisms of the systems units which included multi-channels biological testing cells and the biosensor systems were also demonstrated. Application of these systems in drinking water quality monitoring was already realized. But it still needed further study of its development in industrial wastewater toxicity identification.

KEY WORDS: online biological monitoring systems; water quality warning; daphnia magna

生物监测技术起源于20世纪初,通过表征特定生物群落、种群或个体对环境因子变化的响应,实现对环境污染状况的监测与评估^[1]。生物监测在环境监测中主要的应用方向,是对河流、湖泊和湿地等自然水体水环境质量的监测。与化学监测侧重理化指标(pH、溶解氧、硬度等)分析与化学品含量测定、不能直接反映化学物质对水生生物毒性效应相比,生物监测是通过水生生物种群退化、物种行为方式变化、个体器官特殊功能异常或细胞水平发生的毒性物质暴露响应来进行监测。因此,生物监测不仅能够评价某一种化合物对水生生物的影响,还可以对多种化合物共存体系的联

合毒性进行有效的评估,从而成为判定水质改变对水生生物生存、人类饮用水健康评价的有效依据和手段^[2]。

随着世界范围内化学品生产和使用的快速增长,化学品突发泄漏已成为严重影响水体水质安全

收稿日期:2010-09-03

基金项目:国家水体污染控制与治理科技重大专项项目(2008ZX08526-003),江苏省环境监测科基金项目(0809),江苏省环保科技项目(2008005)。

作者简介:郑新梅(1985—),女,在读博士研究生,从事环境毒理研究工作。

的重要隐患之一。近30年来,诸如1986年瑞士巴塞尔生产杀虫剂化工厂爆炸致使莱茵河流域水质严重污染、2005年吉林双苯厂爆炸引发松花江苯和硝基苯严重超标等污染事件,在唤醒公众水环境安全意识的同时,更凸显饮用水在线监测与早期污染预警的重要性。在线生物监测系统通过生物传感器传输和记录受试水生生物特征指标的变化,进而实现水体污染的实时监测与早期预警。大型蚤不但对毒性物质十分敏感,而且在适宜条件下采取孤雌生殖,具有较好的均质性和个体差异,从而成为在线生物监测系统开发利用最多的指示生物^[3]。因此,针对采用大型蚤作为受试生物在线监测系统进行组成和原理的阐述、运行现状的分析以及应用前景的展望,有着重要的指导作用和现实意义。

1 大型蚤在线生物监测系统

1.1 系统组成

概括来说,在线生物监测系统由多通道流通生物测试室和生物传感器系统两单元组成。前一单元主要实现受试生物(大型蚤)的循环动态暴露,而受试生物的动态暴露可消除传统静态毒性试验过程中溶氧及目标化合物浓度随时间变化等因素的影响;后一单元主要实现水质毒性评价由致死或抑制指标(LC₅₀和EC₅₀等)向行为指标信号的转化,即将大型蚤的行为指标(趋光性、游动速率及分布概率等)通过传感器的光、电或磁感信号的变化在输出端(计算机等)以函数值或波形图的形式输出。

1.2 多通道流通生物测试室

多通道流通生物测试室的材质为有机玻璃或聚合塑料^[4,5],测试室划分为6或8个等尺寸通道。通常选择其中一个通道作为参照通道测定大型蚤在无化合物暴露条件下行为探针信号,其余通道将预设浓度梯度的化合物溶液与标准培养液混合,暴露测定大型蚤受污染物胁迫条件下的行为探针信号。

为了便于大型蚤行为特征的观察以及后续探针信号的转化和输出,每一单通道生物测试室的尺寸不宜过大。同时,在每一通道内放置等量相同蚤龄的大型蚤(一般为5—20只),通道入流及出流处使用小孔径尼龙网密封,以保证大型蚤不会因液体循环流出通道^[6]。流速控制装置将每个通道控制在一个较低的流速(一般小于10 mL/

min),以可保证大型蚤游动行为不受液体循环流动的影响;而恒温器件(如电加热棒等)可保证监测过程中生物测试室通道内温度的恒定,排除温度因素对大型蚤活动的影响。此外,生物测试室上方或侧面根据探针传感系统工作原理的不同布置单色或复色光源,通过控制光源照度使大型蚤在未暴露于化合物条件下,均匀或规律地分布在测试室通道中^[7]。

1.3 生物传感器系统

1.3.1 数码影像记录与分析(Digital Image Recording and Analyzing)传感器

数码影像记录与分析传感器的基本工作原理是利用微型摄像装置对通道内大型蚤活动拍照,得到图像经过数据分析软件处理后转换为运动轨迹、游动速率等行为指标,进而判定大型蚤行为指标是否因毒性物质暴露出现异常变化和分布。韩国光州科学与技术研究所的JUNHON等研究人员开发出的一套针对水体中重金属铜的生物早期预警系统(Biological Early Warning System, BEWS),采用“数字网格计数器”分别观测并记录6个监测通道内大型蚤活动。系统中每个通道内均设置一个与输出端计算机相连的摄像头,而“数字网格计数器”则可将大型蚤运动轨迹以30 s/帧(高达640×480像素)的图像输出,并依靠统计分析软件对图像进行处理和数据分析^[8]。

1.3.2 电场、磁场感应(E/M induction)传感器

以电磁感应信号变化反映大型蚤行为变化的传感器是目前大型蚤在线生物监测系统发展的一个主要趋势。此类传感器通常由载流电极和感应电极组成:载流电极负载高频变化的电压或电流信号;感应电极则能够生成相应变化的电压或电流信号。通过感应生成电信号的变化,作为判定大型蚤行为是否出现异常的标准,从而达到在线监测与预警的目的。GERHARDT等研制出的多物种在线生物监测仪(Multi species Freshwater Bio monitor, MFB),即利用由电场形成的生物传感器内水生生物在电场内对电场形成的干扰来感知指示生物行为的变化,然后通过信号转换装置,将电信号转换成可视图像来加以分析^[9]。

2 基于大型蚤的在线生物监测系统应用

2.1 实验室研究

实验室研究侧重利用各种在线监测系统,观

察并记录大型蚤各项运动行为指标与水体中常见的污染物质(有机物、重金属等)浓度及其他环境因素的综合效应,为敏感行为指标的筛选和目标物质与系统的特征响应提供理论依据。任宗明等使用3种毒性很强的有机磷杀虫剂马拉硫磷(malathion)、敌百虫(dipterex)和柏拉息昂(parathion),证实大型蚤的行为强度与3种杀虫剂亚致死浓度间存在显著相关性,并且可通过逐级压力模型对其进行解释^[10]。比利时安特卫普大学的WOLF等研究人员采取一套在线生物监测系统记录大型蚤平均速率(average velocity)、在测试室顶部与底部分布比率(distribution rate)等行为指标,评价大型蚤行为指标与亚致死浓度(3.5 $\mu\text{g/L}$ 和5 $\mu\text{g/L}$)金属镉之间的行为效应-浓度关系^[11]。

2.2 原位(in-situ)监测

以德国 Limco 公司(出品多物种在线生物监测仪 MFB)和 Bbe 公司(生产水蚤毒性仪 Daphnia taximeter)为代表的制造商,实现利用大型蚤作为指示生物的在线监测系统的商品化和产业化,并将商品化的在线监测系统应用在湖泊、河流及饮用水水源地水质的实时原位监测。据《莱茵河流域早期预警实践与战略报告》报道,莱茵河流域设置的9个水质监测中心全部实现了在线生物监测仪与 GC-MS、LC-MS 等化学分析仪器的联合使用,而9个监测中心之中的7个采用的是以大型蚤作为指示生物的在线监测系统。报告中列举德国 Bimmen 监测中心 2002 年 1 月 20 日 12:00 pm 至 1 月 22 日 12:00 pm 监测到的莱茵河中甲基叔丁基醚(methyl t-butyl ether, MTBE)化学监测与在线生物监测数据,这些数据显示当水体中 MTBE 质量浓度超过 12 $\mu\text{g/L}$ 时,大型蚤活动强度超过 38 impulses/min。由此可由水蚤活动强度(activity of daphnids)与 MTBE 水中浓度呈现正相关性设置报警阈值,从而实现具备生物毒性化合物进入饮用水源地的早期预警与原位实时监测^[12]。

国内大型蚤在线生物监测系统的研究起始于 20 世纪 90 年代末,但其应用则仍处于起步阶段。中科院生态中心王子健研究员等研发出一套可用于多类水源中化学品污染综合监控和预警的在线生物安全预警系统,采用 8 通道的生物传感器实现定点、定时和远程控制报警等功能,在北京、深圳、成都、无锡和宁波等城市水源水监测中取得应用。

3 应用展望

目前,国内工业废水处理正由分散式向集中式过渡,但废水由化工企业到集中处理厂接管过程中的基准制定还不完善。以无锡市锡山区 2009 年 3 月发布的数据为例,全区共上报的 1 042 家企业废水接管的进度为 645 家已接管、309 家未接管和 88 家无法接管。对已接管企业废水水质评估和未接管、无法接管企业废水的审查,都亟需除理化指标监测外的生物毒性指标作为判定的重要依据。大型蚤在线生物监测系统运行成本较低、具有对水质毒性评估与预警功能的特性,一旦成功运用在化工企业废水排放过程中的在线监控,不仅能够解决已接管企业废水在接管过程中毒性监测问题,而且可以作为判定目前未接管甚至无法接管企业废水排放的重要标准之一。

采用大型蚤作为指示生物的在线监测系统已经成功应用于饮用水水质监测,但国内外应用此类系统在工业废水毒性评估和预警方向的研究却鲜有报道。一方面,现有的大型蚤在线监测系统仍处于发展阶段,存在行为指标受环境因子的影响复杂、预警阈值设定依据不充分、低浓度污染物短期内生物学效应不明显导致的系统无报警以及错误报警等问题;另一方面,工业废水较自然水体水质的复杂性和污染物质的高浓度水平,使其对大型蚤游动行为的影响难以预计,进而影响大型蚤在线生物监测系统预警敏感性和准确度。

尽管面临诸多问题与挑战,但在工业废水接管过程中应用水质在线生物监测系统将是水质监测发展的重要方向。随着生物传感器技术以及信号转换手段的不断发展,大型蚤在线生物监测系统在原位监测、水质预警和毒性评价等领域的应用必将趋向完善与成熟。

[参考文献]

- [1] 王海洲, 刘文华, 候福林. 在线生物监测技术及其应用研究 [J]. 生物学通报, 2007, 42(1): 15-16.
- [2] 任宗明. 在线生物监测技术在饮水安全预警中的应用研究 [R]. 济南: 山东师范大学, 2005: 1-74.
- [3] 孟凡信, 祝茜, 刘丽君. 水质污染的在线生物监测 [J]. 城镇供水, 2006(6): 6-8.
- [4] UNTERSTEINER H, KAHAPKA J, KAISER H. Behavioural response of the cladoceran daphnia magna Straus to sublethal Copper stress—validation by image analysis [J]. Aquatic Toxicology, 2003, 65(4): 435-442.

- [5] LOPES I, BAIRD D J, RIBEIRO R. Avoidance of Copper contamination by field populations of daphnia longispina [J]. *Environmental Toxicity and Chemistry*, 2004, 23(7): 1702 - 1708.
- [6] REN Z M, LI Z L, ZHA J M, et al. The avoidance responses of daphnia magna to the exposure of organophosphorus pesticides in an on-line biomonitoring system [J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2009, 14(3): 405 - 410.
- [7] GERHADRT A, INGRAM M K, KANG I J, et al. In situ on-line toxicity biomonitoring in water: recent developments [J]. *Environmental Toxicity and Chemistry*, 2006, 25(9): 2263 - 2271.
- [8] JUNHO J, JOON H K, BYUNG C L, et al. Development of a new biomonitoring method to detect the abnormal activity of daphnia magna using automated grid counter device [J]. *Science of Total Environment*, 2008, 389(2 - 3): 545 - 547.
- [9] GERHADRT A, BISTHOVEN L J, SCHMIDT S. Automated recording of vertical negative phototactic behavior in daphnia magna Straus (Crustacean) [J]. *Hydrobiologia*, 2006, 559(1): 433 - 441.
- [10] REN Z M, ZHA J M, MA M, et al. The early warning of aquatic organophosphorus pesticide contamination by on-line monitoring behavioral changes of daphnia magna [J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2007, 134(1 - 3): 373 - 383.
- [11] GRETEL W, PAUL S, MARCEL S. Evaluation of the swimming activity of daphnia magna by image analysis after administration of sub lethal Cadmium concentrations [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology: Part A: Molecular & Integrative physiology*, 1998, 120(1): 99 - 105.
- [12] PETER D, THOMAS G, AD J, et al. Early warning strategies and practices along the river Rhine [J]. *Handbook of Environment Chemistry*, 2006 (5): 99 - 124.

(上接第 15 页)

度范围在 0.010~0.046 mg/L 之间,均值为 0.032 mg/L(图 3)。

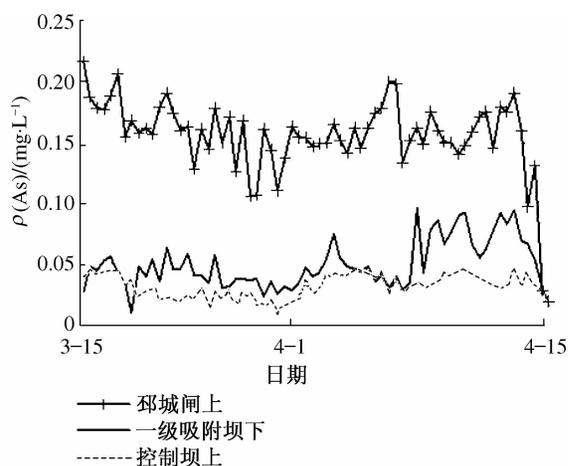


图 3 城河截污区治理期间砷质量浓度变化趋势

4 结语

砷是剧毒和致癌物质,水体砷污染的治理已成为长期以来困扰环境领域的难题,尤其对于庞大的河流、湖泊水体砷污染治理,国内外并没有可以借鉴的成功案例。目前,水中砷污染的去除,主要有物理法、化学法和生化法^[2]。以 2008 年 10 月河南大沙河砷污染治理为例,该河流的治理方法主要是通过向河水中投加药剂,使砷氧化、吸附后

集中沉入河底,上部清水达标下排,此法对大沙河高浓度砷污染水体(单样砷质量浓度最高值达 8.585 mg/L,超出地表水Ⅲ类标准限值 0.05 mg/L 的 170.6 倍)处理效果较好^[3],但存在着底泥污染和二次处置问题。与大沙河治污相比,邳苍分洪道砷浓度最高峰值为 1.978 mg/L,超出地表水Ⅲ类标准 38.6 倍,截污区整体砷质量浓度均值在 0.2 mg/L 以下,属中低浓度污染,适宜用吸附剂吸附过滤进行处理。该法在邳苍分洪道砷污染水体处理应用过程中,表现出了较高的处理效率,而且处理成本低,操作方法简便,处理过程中也没有对底泥产生二次污染,对于今后大水量、中低浓度的河流砷污染处理有较好的借鉴意义。

[参考文献]

- [1] 苑宝玲,李坤林,邢核,等. 饮用水砷污染治理研究进展[J]. *环境保护科学*, 2006(1): 17 - 19.
- [2] 江世强. 砷及其化合物的水污染治理研究进展[J]. *医学文选*, 2004, 23(3): 364 - 367.
- [3] 王玲玲,多克辛,徐广华,等. 一起河流砷污染事故的处置与监测分析[J]. *中国环境监测*, 2010, 26(1): 34 - 37.

(本栏目编辑 周立平)