

藻红外技术测试多种卫生指标下的饮用水生物毒性

林艳¹, 罗菲尔^{1,2}, 郭蔚华¹, 仲怡^{1,3}

(1. 重庆大学 环境与生态学院, 重庆 400045; 2. 上海建工集团工程研究总院, 上海 201114; 3. 常州市晋陵投资集团有限公司, 江苏 常州 213000)

摘要: 为保障人民群众的身体健康,我国制定了《生活饮用水卫生标准》(GB 5749—2006)。为明确现行标准中多种限值卫生指标共存时饮用水的安全性,选用卫生指标限值时的有机化学物 CH_2Cl_2 、 CH_2O 、 CCl_4 、 C_8H_{10} 、 C_8H_8 , 农药 $\text{C}_3\text{H}_8\text{NO}_5\text{P}$ 、 $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{O}_6\text{PS}_2$ 、 $\text{C}_8\text{N}_2\text{Cl}_4$, 重金属 Cd^{3+} 、 Mn^{2+} , 采用急性毒性藻红外测试技术,开展了3类药品共存的生物毒性测试分析。结果表明:藻对限值时的单一卫生指标均无响应,表明单一卫生指标限值安全;限值的单一卫生指标共存时藻对其响应占比情况则是二元共存为25%~100%、三元共存为37.5%~100%、四元共存为58.3%~100%、五元共存为100%、六元共存为100%,表明卫生指标共存对藻的毒性随共存元数的增加而增大;含 Mn^{2+} 、 CH_2O 或农药的共存组合对藻的毒性高于其他组合。

关键词: 生活饮用水; 生物毒性; 多元共存; 藻红外技术; 滇池铜绿微囊藻

中图分类号: TU991 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2019)19-0057-09

Detection of Biotoxicity for Drinking Water under Multiple Indexes by Algae Infrared Technology

LIN Yan¹, LUO Fei-er^{1,2}, GUO Wei-hua¹, ZHONG Yi^{1,3}

(1. College of Environment and Ecology, Chongqing University, Chongqing 400045, China;

2. Engineering General Institute of Shanghai Construction Group, Shanghai 201114, China;

3. Changzhou Jinling Group, Changzhou 213000, China)

Abstract: To guarantee the health of people, *Standards for Drinking Water Quality* (GB 5749—2006) has been set up in China. To clarify the safety of drinking water when multiple indexes coexisted at the limit concentration, the following indexes at the limit concentration were selected as organic chemicals: CH_2Cl_2 , CH_2O , CCl_4 , C_8H_{10} , C_8H_8 ; pesticides: $\text{C}_3\text{H}_8\text{NO}_5\text{P}$, $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{O}_6\text{PS}_2$, $\text{C}_8\text{N}_2\text{Cl}_4$; heavy metals: Cd^{3+} , Mn^{2+} . The biotoxicity of three types of indexes coexisted was tested through the acute toxic algae infrared technology. The results showed that, the single indexes at the limit concentration did not produce biotoxicity to the algae, indicating that the limits of a single health indicator were safe. When the single indexes coexisted at the limit concentration, the proportion of algal response in each combinations was as follows: binary 25%—100%, ternary 37.5%—100%, quaternion 58.3%—100%, quinary 100%, six kinds 100%. The above results indicated that toxicity of indexes coexistence to algae increased with the number of coexisting indexes. The coexisting combinations containing Mn^{2+} , CH_2O or pesticides were more toxic to algae than other combinations.

Key words: drinking water; biotoxicity; multiple indexes coexistence; algae infrared technology; *Microcystis aeruginosa* in Dianchi Lake

我国现行《生活饮用水卫生标准》(GB 5749—2006)对各单一卫生指标的限值作了规定,但这只是解决了饮用水中1种卫生指标存在时的饮用安全问题,并未考虑多种卫生指标共存时的饮用安全问题^[1],也即多种单一、安全的卫生指标共存时饮用是否依旧安全的问题。随着经济的发展,城市生活饮用水源已遭受污染物的复合污染^[2-3],饮用水中有存在多种污染物的可能,为保障人民群众饮水安全,进行饮用水中多类指标混合生物毒性研究具有现实意义。此前已有研究通过蚯蚓、斑马鱼等动物试验或发光细菌法对各类药品的急性或慢性生物毒性进行了研究^[4-7]。藻细胞同动物细胞一样均具有氧化磷酸化的能量代谢系统^[8],因此可采用急性毒性藻红外测试法^[9]分析药品混合共存的生物毒性。该方法已用于环境重金属急性毒性测试^[10]、环境农药残留急性毒性^[11]及多元有机毒物急性毒性的初步分析等^[12]。对于低浓度下的生物毒性,该方法进行了重金属离子在水质标准限值浓度时共存的生物毒性研究^[13],但还未对限值浓度下有机化学品、农药同类及异类共存时的生物毒性进行研究。

本研究选取GB 5749—2006中5种有机化学品、3种农药及2种重金属指标,采用藻红外技术测试在饮用水指标限值浓度时单一指标及指标间同类、异类不同组合共存时的生物毒性,考察共存指标数量、总浓度与生物毒性的关系以及可能存在的较高安全风险的低元药品组合。

1 材料及方法

1.1 试验材料

藻种:滇池铜绿微囊藻,藻种及其培养基配方均由中国科学院武汉水生生物研究所提供,采用BG11培养基。仪器:ST60红外测温仪(灵敏度为0.1℃);LRH-250A生化培养箱(灵敏度为±0.2℃);MOTICBA200数码显微镜;HETTICH-EBA离心机。测试杯:直径为4cm、高为3cm、厚为0.1~0.2cm的透明塑料容器。药品:CH₂Cl₂、CH₂O、CCl₄、C₈H₁₀、C₈H₈、Cd(NO₃)₃·4H₂O、MnSO₄·H₂O均为分析纯;草甘膦(C₃H₈NO₅P)选用草甘膦异丙胺盐药剂,草甘膦含量为30%;马拉硫磷(C₁₀H₁₉O₆PS₂)选用精制马拉硫磷溶液,含量为45%;百菌清

(C₈N₂Cl₄)选用有效成分含量为75%的可湿性粉剂。上述试剂均现配现用。

药液配制:取适量药液加入5mL藻液后,藻液中各试剂浓度等于GB 5749—2006中对应的浓度限值,即CH₂Cl₂、CH₂O、CCl₄、C₈H₁₀、C₈H₈、C₃H₈NO₅P、C₁₀H₁₉O₆PS₂、C₈N₂Cl₄、Cd(NO₃)₃·4H₂O、MnSO₄·H₂O分别为0.020、0.900、0.002、0.500、0.020、0.700、0.250、0.010、0.005、0.100mg/L,相应水中最大溶解度分别为2.00×10⁴mg/L(20℃)、易溶、8.00×10²mg/L(25℃)、1.10×10²mg/L(20℃)、3.10×10²mg/L(25℃)、1.20×10⁴mg/L(25℃)、1.45×10²mg/L(20℃)、0.90mg/L(25℃)、1.36×10⁶mg/L(20℃)、6.29×10⁵mg/L(25℃)。药液配制浓度计算公式如下:

$$M = \frac{N \times V \times (1\,000 \times D)}{1\,000 \times A} \quad (1)$$

式中: M 为药液中指标物质浓度,mg/L; N 为藻液中指标物质浓度,mg/L,本试验 N 取GB 5749—2006中对应的浓度限值; D 为移液管滴定1mL药液的滴数,滴/mL; V 为加入药液后测试杯中液体体积,mL,本试验 $V=5+1/D$; A 为所用品指标物质的质量分数。

1.2 试验方法

试验采用藻红外测试技术^[9]。测试用藻培养条件:测试用藻培养于LRH-250A生化培养箱中,光照为散射日光或灯光,起始密度 $\geq 3.16 \times 10^9$ 个/L。测试环境:测试在室内无风条件下进行,采用散射日光或灯光采光。测试杯布局:测试杯平行3列,布局见文献[13]。测试方法:各测试杯加入5mL藻液,测量并记录初始温度;加入测试试剂溶液,加药后测温并记录;测温时,测温仪头部垂直于藻液正上方10~15cm,指示红色光点对准藻液面中心,按照从上到下、从左到右的顺序连续测量3次,连续测量并记录9个时间段加药后藻温。

数据处理:藻温采用温差处理方式,通过AITAS软件处理^[14],具体过程参考文献[9]。藻响应温差:以空白组温差为基准,加药组温差绝对值与对照组温差绝对值之差。

藻响应评价:藻对试验药品是否响应采用三指

标评价法^[9]进行判断。即响应温差同时满足以下 3 个指标时判断藻对所测药品溶液有响应。

指标 I :加药组最大藻温差绝对值大于对照组,即 $|\Delta T_{j-\max}| > |\Delta T_{d-\max}|$; 指标 II :加药组平均藻温差大于对照组,即 $|\overline{\Delta T_j}| > |\overline{\Delta T_d}|$; 指标 III :9 次测温中,单次加药组藻温差绝对值大于对照组的結果不小于 5 次,即 $|\Delta T_j| > |\Delta T_d|$ 。

每组试验重复进行 3 次,取 3 次试验中有重复性的结果作为该组合响应试验结果。

采用 SPSS 22. 0 对试验结果进行方差分析及 Logistic 分析,对累积藻响应占比与藻液中混合药品总浓度进行回归分析。试验结果重现率指同一试验

材料和相同方法,在不同条件下,连续测试结果的相同性。不同的条件即不同操作者、设备、测试日期及时间等^[15]。藻响应占比是同类或异类共存组合的某元共存组合中藻有响应的组合数与该元总组合数的百分比。累积藻响应占比是指按藻液中混合药液总浓度由低到高排序的组合中,某浓度以上藻有响应的共存组数与该浓度以上总共存组数的百分比。

2 结果与分析

2.1 藻响应结果

2.1.1 有机化学品及农药同类共存

有机化学品及农药同类共存藻响应结果(试验时间为 2016 年 9 月—12 月)见表 1 和 2。

表 1 有机化学品同类共存藻响应结果

Tab. 1 Response to coexistence of organic chemicals

项 目	共存元总浓度/(mg · L ⁻¹)	试验结果				试验结果重现率/%	各元有响应结果占比/%
		第 1 次	第 2 次	第 3 次	最终结果		
CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O + CCl ₄ + C ₈ H ₁₀ + C ₈ H ₈	1. 442	+	+	+	+	100	100
CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O + CCl ₄ + C ₈ H ₁₀	1. 422	+	-	+	+	67	100
CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O + CCl ₄ + C ₈ H ₈	0. 942	+	-	+	+	67	
CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O + C ₈ H ₁₀ + C ₈ H ₈	1. 440	+	+	+	+	100	
CH ₂ Cl ₂ + CCl ₄ + C ₈ H ₁₀ + C ₈ H ₈	0. 542	+	-	+	+	67	
CH ₂ O + CCl ₄ + C ₈ H ₁₀ + C ₈ H ₈	1. 422	+	-	+	+	67	
CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O + CCl ₄	0. 922	+	+	+	+	100	60
CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O + C ₈ H ₁₀	1. 420	+	-	-	-	67	
CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O + C ₈ H ₈	0. 940	-	+	+	+	67	
CH ₂ Cl ₂ + CCl ₄ + C ₈ H ₁₀	0. 522	+	-	+	+	67	
CH ₂ Cl ₂ + CCl ₄ + C ₈ H ₈	0. 042	+	-	+	+	67	
CH ₂ Cl ₂ + C ₈ H ₁₀ + C ₈ H ₈	0. 540	-	-	+	-	67	
CH ₂ O + CCl ₄ + C ₈ H ₁₀	1. 402	+	-	+	+	67	
CH ₂ O + CCl ₄ + C ₈ H ₈	0. 922	+	-	-	-	67	
CH ₂ O + C ₈ H ₁₀ + C ₈ H ₈	1. 420	+	-	+	+	67	
CCl ₄ + C ₈ H ₁₀ + C ₈ H ₈	0. 522	-	+	-	-	67	
CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O	0. 522	+	-	+	+	67	70
CH ₂ O + CCl ₄	0. 022	+	+	+	+	100	
CH ₂ Cl ₂ + C ₈ H ₁₀	0. 520	-	-	-	-	100	
CH ₂ Cl ₂ + C ₈ H ₈	0. 040	+	+	+	+	100	
CH ₂ O + CCl ₄	0. 902	+	+	+	+	100	
CH ₂ O + C ₈ H ₁₀	1. 400	+	+	+	+	100	
CH ₂ O + C ₈ H ₈	0. 920	+	+	+	+	100	
CCl ₄ + C ₈ H ₁₀	0. 502	-	-	-	-	100	
CCl ₄ + C ₈ H ₈	0. 022	+	-	+	+	67	
C ₈ H ₁₀ + C ₈ H ₈	0. 520	-	-	-	-	100	
CH ₂ Cl ₂	0. 020	-	+	-	-	67	0
CH ₂ O	0. 900	-	-	-	-	100	
CCl ₄	0. 002	-	+	-	-	67	
C ₈ H ₁₀	0. 500	+	-	-	-	67	
C ₈ H ₈	0. 020	-	+	-	-	67	

注: “+”代表有藻响应、“-”代表无藻响应,下同。

表 2 农药同类共存藻响应结果

Tab. 2 Response to coexistence of pesticides

项 目	共存元总浓度/(mg · L ⁻¹)	试验结果				试验结果重现率/%	各元有响应结果占比/%
		第 1 次	第 2 次	第 3 次	最终结果		
C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + C ₈ N ₂ Cl ₄ + C ₃ H ₈ NO ₅ P	0.960	+	+	+	+	100	100
C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + C ₈ N ₂ Cl ₄	0.260	+	+	-	+	67	100
C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + C ₃ H ₈ NO ₅ P	0.950	+	-	+	+	67	
C ₈ N ₂ Cl ₄ + C ₃ H ₈ NO ₅ P	0.710	+	-	+	+	67	
C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	0.250	-	-	-	-	100	0
C ₈ N ₂ Cl ₄	0.010	-	-	-	-	100	
C ₃ H ₈ NO ₅ P	0.700	-	-	-	-	100	

第 1 ~ 3 次试验的环境温度分别为 19.5 ~ 26.0、19.0 ~ 26.2 和 18.8 ~ 26.2 ℃。可以看出:试验药品单独存在时均无响应,即对测试藻均无生物毒性;二元及以上共存时藻开始有响应,其中农药共存组合均有响应,73.08% 的有机化学品组合有响应。低元组合中有响应且重现率为 100% 的组合可认为存在较高生物毒性风险,此类低元组合有:CH₂O + CCl₄、CH₂Cl₂ + C₈H₈、CH₂O + CCl₄、CH₂O + C₈H₁₀ 和 CH₂O + C₈H₈。

2.1.2 重金属、农药、有机化学品异类共存

重金属、农药、有机化学品异类共存的藻响应结果(试验时间为 2017 年 3 月—5 月)如表 3 所示。

表 3 重金属、农药、有机化学品异类共存藻响应结果

Tab. 3 Response to coexistence of heavy metals, pesticides and organic chemicals

项 目	共存元总浓度/(mg · L ⁻¹)	试验结果				试验结果重现率/%	各元有响应结果占比/%
		第 1 次	第 2 次	第 3 次	最终结果		
农药、重金属异类共存	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + Cd ³⁺	0.255	-	+	-	67	25
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + Mn ²⁺	0.350	-	-	-	100	
	C ₃ H ₈ NO ₅ P + Cd ³⁺	0.705	-	-	+	67	
	C ₃ H ₈ NO ₅ P + Mn ²⁺	0.800	+	-	+	67	
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + C ₃ H ₈ NO ₅ P + Cd ³⁺	0.955	-	-	-	100	50
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + C ₃ H ₈ NO ₅ P + Mn ²⁺	1.050	+	+	+	100	
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + Cd ³⁺ + Mn ²⁺	0.355	-	-	+	67	
	C ₃ H ₈ NO ₅ P + Cd ³⁺ + Mn ²⁺	0.805	+	+	-	67	
农药、有机化学品异类共存	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + C ₃ H ₈ NO ₅ P + Cd ³⁺ + Mn ²⁺	1.055	-	+	+	67	100
	CH ₂ Cl ₂ + C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	0.270	-	-	-	100	25
	CH ₂ Cl ₂ + C ₃ H ₈ NO ₅ P	0.720	-	-	-	100	
	CH ₂ O + C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	1.150	+	-	-	67	
	CH ₂ O + C ₃ H ₈ NO ₅ P	1.600	+	-	+	67	
	CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O + C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	1.170	+	-	-	67	50
	50CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O + C ₃ H ₈ NO ₅ P	1.620	-	-	+	67	
	CH ₂ Cl ₂ + C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + C ₃ H ₈ NO ₅ P	0.970	+	+	-	67	
	CH ₂ O + C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + C ₃ H ₈ NO ₅ P	1.850	+	-	+	67	
	CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O + C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + C ₃ H ₈ NO ₅ P	1.870	+	-	+	67	100

续表 3 (Continued)

项 目		共存元总浓度/(mg · L ⁻¹)	试验结果				试验结果重现率/%	各元有响应结果占比/%
			第 1 次	第 2 次	第 3 次	最终结果		
重金属、有机化学品异类共存	Cd ³⁺ + CH ₂ Cl ₂	0.025	—	—	—	—	100	25
	Cd ³⁺ + CH ₂ O	0.905	—	—	—	—	100	
	Mn ²⁺ + CH ₂ Cl ₂	0.120	—	+	+	+	67	
	Mn ²⁺ + CH ₂ O	1.000	+	—	—	—	67	
	Cd ³⁺ + Mn ²⁺ + CH ₂ Cl ₂	0.125	+	—	+	+	67	100
	Cd ³⁺ + Mn ²⁺ + CH ₂ O	1.005	—	+	+	+	67	
	Cd ³⁺ + CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O	0.925	+	+	—	+	67	
	Mn ²⁺ + CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O	1.020	+	+	—	+	67	
	Cd ³⁺ + Mn ²⁺ + CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O	1.025	+	+	+	+	100	100
农药、重金属、有机化学品异类共存	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + Cd ³⁺ + CH ₂ Cl ₂	0.275	—	—	—	—	100	38
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + Cd ³⁺ + CH ₂ O	1.155	—	—	—	—	100	
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + Mn ²⁺ + CH ₂ Cl ₂	0.370	+	+	—	+	67	
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + Mn ²⁺ + CH ₂ O	1.250	+	—	—	—	67	
	C ₃ H ₈ NO ₅ P + Cd ³⁺ + CH ₂ Cl ₂	0.725	+	—	—	—	67	
	C ₃ H ₈ NO ₅ P + Cd ³⁺ + CH ₂ O	1.605	+	—	+	+	67	
	C ₃ H ₈ NO ₅ P + Mn ²⁺ + CH ₂ Cl ₂	0.820	+	+	—	+	67	
	C ₃ H ₈ NO ₅ P + Mn ²⁺ + CH ₂ O	1.700	—	+	—	—	67	
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + C ₃ H ₈ NO ₅ P + Cd ³⁺ + CH ₂ Cl ₂	0.975	+	+	—	+	67	58
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + C ₃ H ₈ NO ₅ P + Cd ³⁺ + CH ₂ O	1.855	—	+	—	—	67	
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + C ₃ H ₈ NO ₅ P + Mn ²⁺ + CH ₂ Cl ₂	1.070	+	+	—	+	67	
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + C ₃ H ₈ NO ₅ P + Mn ²⁺ + CH ₂ O	1.950	—	+	—	—	67	
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + Cd ³⁺ + Mn ²⁺ + CH ₂ Cl ₂	0.375	+	—	+	+	67	
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + Cd ³⁺ + Mn ²⁺ + CH ₂ O	1.255	—	+	+	+	67	
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + Cd ³⁺ + CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O	1.175	+	+	—	+	67	
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + Mn ²⁺ + CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O	1.270	+	+	—	+	67	
	C ₃ H ₈ NO ₅ P + Cd ³⁺ + Mn ²⁺ + CH ₂ Cl ₂	0.825	+	—	—	—	67	
	C ₃ H ₈ NO ₅ P + Cd ³⁺ + Mn ²⁺ + CH ₂ O	1.705	+	—	+	+	67	
	C ₃ H ₈ NO ₅ P + Cd ³⁺ + CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O	1.625	—	+	—	—	67	
	C ₃ H ₈ NO ₅ P + Mn ²⁺ + CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O	1.720	—	+	—	—	67	
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + C ₃ H ₈ NO ₅ P + Cd ³⁺ + Mn ²⁺ + CH ₂ Cl ₂	1.075	+	+	—	+	67	100
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + C ₃ H ₈ NO ₅ P + Cd ³⁺ + Mn ²⁺ + CH ₂ O	1.955	—	+	+	+	67	
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + C ₃ H ₈ NO ₅ P + Cd ³⁺ + CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O	1.875	+	+	+	+	100	
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + C ₃ H ₈ NO ₅ P + Mn ²⁺ + CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O	1.970	+	+	—	+	67	
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + Cd ³⁺ + Mn ²⁺ + CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O	1.275	+	—	+	+	67	
	C ₃ H ₈ NO ₅ P + Cd ³⁺ + Mn ²⁺ + CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O	1.725	—	+	+	+	67	
	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂ + C ₃ H ₈ NO ₅ P + Cd ³⁺ + Mn ²⁺ + CH ₂ Cl ₂ + CH ₂ O	1.975	+	+	+	+	100	100

2.2 不同元数藻响应占比分析

2.2.1 同类共存不同元数藻响应占比分析

本研究还分析了重金属、农药、有机化学品类

共存时不同元数组合的藻响应占比,其中重金属数据取自前期试验^[13]。试验结果表明,重金属、农药、有机化学品的总有响应占比分别为 73.08%、

100%、73.08%；其各元的有响应占比均随元数的增加而增加；农药同类共存结果均有响应；重金属和有机化学品四元及以上共存时响应占比达100%。

2.2.2 异类共存不同元数藻响应占比分析

异类共存藻响应占比分析结果见图1。可知，农药+重金属、农药+有机化学品、重金属+有机化学品、重金属+农药+有机化学品的总有响应占比分别为44.44%、44.44%、66.67%、62.69%；各类组合有响应占比均随元数的增加而升至100%，且重金属+有机化学品三元共存时有响应占比比较二元共存时明显增加。

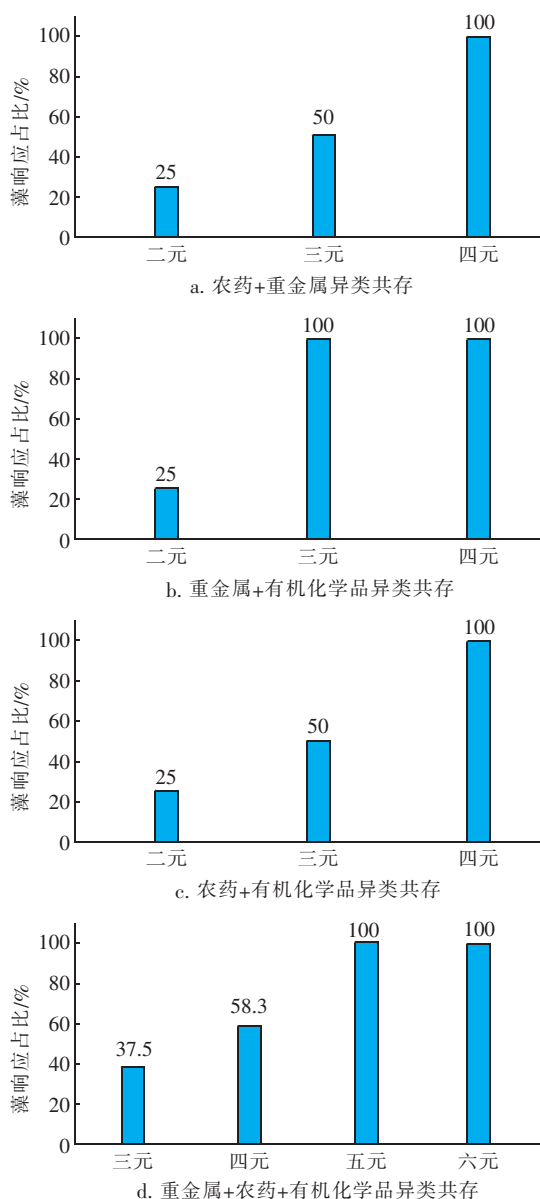


图1 异类共存试验藻响应占比

Fig. 1 Response rate to coexistence of heterogeneous drugs

2.3 累积藻响应占比及相关性分析

2.3.1 有机化学品同类共存

有机化学品同类共存累积藻响应占比如图2所示,对其与藻液中药品总浓度进行相关性分析得皮尔森相关系数 $r = 0.874$ (>0.8),呈极强正相关。拟合方程为: $N(\%) = 64.926 - 7.7x + 54.576x^2 - 22.415x^3$ ($R^2 = 0.908$), x 为药品浓度(下同)。当藻液中有机化学品浓度 ≥ 0.542 mg/L 时,累积藻响应占比 $\geq 80\%$,即80%以上的有机化学品同类共存组合产生生物毒性。

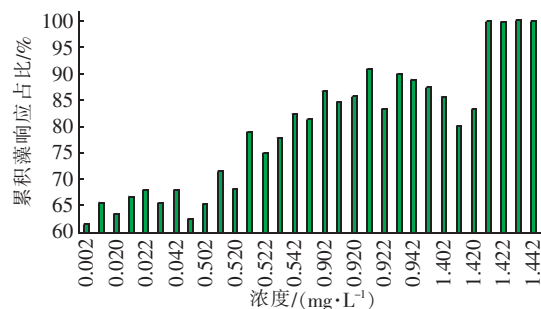


图2 有机化学品同类共存累积藻响应占比

Fig. 2 Cumulative response rate to coexistence of organic compounds

2.3.2 重金属同类共存

重金属同类共存的累积藻响应占比与浓度的皮尔森相关系数 $r = 0.894$ (>0.8),呈极强正相关。拟合方程: $N(\%) = 65.56 + 211.98x - 2705.40x^2 + 16919.65x^3$ ($R^2 = 0.913$)。藻液中重金属浓度 ≥ 0.110 mg/L 时,累积藻响应占比 $\geq 80\%$ 。

2.3.3 重金属、农药、有机化学品异类共存

重金属、农药、有机化学品异类共存累积藻响应占比见图3,其累积藻响应占比与浓度的整体皮尔森相关系数 $r = 0.677$ ($0.6 < r < 0.8$),呈强正相关。0.025~1.000、1.000~1.700、1.700~1.975 mg/L 浓度区间的 r 分别为 0.923 (>0.8)、0.137 (<0.2)、0.9078 (>0.8),可见1.000~1.700 mg/L 浓度区间无明显相关性。拟合方程为: $N(\%) = 48.023 + 72.617x - 89.563x^2 + 32.201x^3$ ($R^2 = 0.753$)。异类共存时药品总浓度在0.025~1.700 mg/L 时累积藻响应占比在57.4%~68.4%之间波动;当药品总浓度 ≥ 1.705 mg/L 时,累积藻响应占比 $\geq 70\%$;当药品总浓度 ≥ 1.955 mg/L 时,累积藻响应占比达到100%,其变化情况与联合效应广义理论^[16]相符。

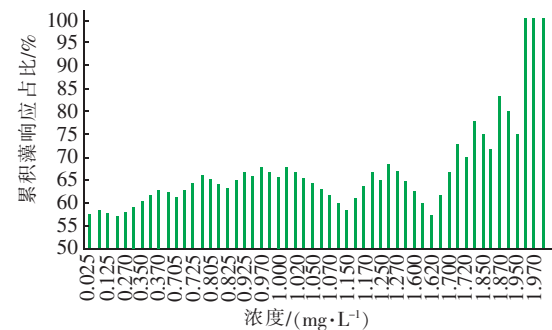


图 3 重金属、农药、有机化学品异类共存累积藻响应占比

Fig. 3 Cumulative response rate to coexistence of heavy metals, organic compounds and pesticides

2.4 各药品相对影响分析

通过方差分析判断,所选 3 种农药在同类共存试验中无明显主次因子区分。对 5 种重金属共存试验^[13]、5 种有机化学品共存试验及重金属、农药、有机化学品异类共存试验结果进行 Logistic 分析,判断其相对影响,结果如表 4 所示。其中重金属同类共存试验药品相对影响与此前分析结果相同^[13];有机化学品同类共存相对影响与水中溶解度及相对分子质量无明显关系,芳香族化合物生物毒性相对较小;异类共存试验药品相对影响无明显的类别区分。

表 4 药品相对影响分析

Tab. 4 Relative impact analysis of drugs

项 目	药品名称	Exp(B) 值	相对影响力
重金属同类共存	Cd ³⁺	0.200	Cr ³⁺ > Pb ²⁺ = Hg ²⁺ > Cd ³⁺ = Mn ²⁺
	Cr ³⁺	0.032	
	Pb ²⁺	0.074	
	Hg ²⁺	0.074	
	Mn ²⁺	0.200	
有机化学品同类共存	CH ₂ Cl ₂	0.062	CH ₂ Cl ₂ = CH ₂ O = CCl ₄ > C ₈ H ₈ > C ₈ H ₁₀
	CH ₂ O	0.062	
	CCl ₄	0.062	
	C ₈ H ₁₀	2.781	
	C ₈ H ₈	0.369	
重金属、农药、有机化学品异类共存	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	0.409	Mn ²⁺ > CH ₂ Cl ₂ > C ₃ H ₈ NO ₅ P > Cd ³⁺ > CH ₂ O > C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂
	C ₃ H ₈ NO ₅ P	0.282	
	Cd ³⁺	0.382	
	Mn ²⁺	0.100	
	CH ₂ Cl ₂	0.193	
	CH ₂ O	0.401	

3 讨论

3.1 卫生指标多元共存的生物毒性

由 2.1 节可知,对于 GB 5749—2006 规定的指标限值,单一存在的 5 种有机化学品、3 种农药均不

产生生物毒性,该结果符合指标限值时不产生生物毒性的前提,也即标准所规定的单一指标限值是安全的;二元及以上同类、异类共存组合开始出现藻的有响应结果,表明在多元卫生指标限值时共存混合有产生生物毒性的可能,存在一定的安全风险。

3.2 卫生指标多元共存产生生物毒性的原因

由 2.2 节可知,各类组合各元藻响应占比情况是:二元为 25% ~ 100%、三元为 37.5% ~ 100%、四元为 58.3% ~ 100%、五元为 100%、六元为 100%。同类、异类指标混合共存的藻响应占比总体随共存元数的增加而增加,即指标共存产生的生物毒性随元数的增加而增大,这与 Warne^[17] 和刘清^[18] 等人的研究相符。指标共存藻响应占比及生物毒性的变化与藻液中混合药品总浓度以及各指标间的联合作用有关。由 2.3 节可知,同类、异类指标混合共存的累积藻响应占比与藻液中混合药品总浓度呈正相关,即藻液中混合药品总浓度越高则对藻的生物毒性越大。同时,各指标药品共存时可产生不同联合作用,进而影响混合溶液的生物毒性^[19]。有研究表明,药品混合共存时会出现低浓度拮抗、高浓度相加或低浓度拮抗、中浓度相加、高浓度协同的交叉现象^[20],该现象可用 Hormesis 效应进行解释^[21]。

对比各指标对生物毒性的影响:同类共存时生物毒性大小为农药 > 重金属 > 有机化学品;异类共存组合中重金属 + 有机化学品组合存在更高的生态风险(见图 1)。有响应的指标共存组合中:农药同类组合、含 CH₂O 同类二元组合均有响应;异类共存的低元组合中 C₃H₈NO₅P + Mn²⁺、CH₂Cl₂ + Mn²⁺、CH₂O + C₃H₈NO₅P、C₁₀H₁₉O₆PS₂ + Mn²⁺ + CH₂Cl₂、C₃H₈NO₅P + Cd³⁺ + CH₂O 和 C₃H₈NO₅P + Mn²⁺ + CH₂Cl₂ 存在较大的生物毒性风险。结合 2.4 节可知,含 Mn²⁺、CH₂O 或农药类指标的组合同对藻的毒性高于同元数其他组合。

3.3 《生活饮用水卫生标准》存在的问题

当下在人们对饮水安全愈发重视的同时,水体复合污染问题也日益突出。而现行标准指标设置主要参考欧美相关标准,且自 2012 年 7 月强制实施以来并未根据我国发展情况进行实时更新。由 3.1 节、3.2 节讨论结果结合文献^[13]的研究表明,仅对单一卫生指标进行限制不足以保障指标共存混合时的饮用安全,针对多指标共存时的生物毒性研究及标准的更新十分必要。当前日本及美国的最新饮用

水标准中已通过对同类指标总浓度设限值^[22]或以 $\Sigma(\text{检测值}/\text{指标限值}) < 1$ 的风险评价方式强化了对混合生物毒性风险的控制,对单一指标限值的不足起到了很好的补充。但以上限值虽考虑了指标总浓度对生物毒性的影响,却仍未考虑指标物质间相互作用的影响。

结合当前现状,GB 5749—2006 中针对多指标共存时的生物毒性的修订可分为两步:参考国外相关规定,对农药等存在较大生物毒性风险指标的总浓度采用总浓度限值或风险评价等方法进行限制;随着对指标间联合作用研究的深入,结合指标间联合作用情况对单一及总浓度限值进行修正。

4 结论

① 多类饮用水卫生指标在标准限值浓度下混合共存时出现藻的有响应结果,即多类指标共存时可产生生物毒性。

② 同类、异类指标混合共存的藻响应占比随共存元数的增加而增加;累积藻响应占比与藻液中混合药品总浓度呈正相关。

③ 3类指标中含 Mn^{2+} 、 CH_2O 或农药类指标药品的共存组合对藻的毒性高于其他组合。

④ 急性毒性藻红外测试技术可用于饮用水中是否存在生物毒性的快速检测。

参考文献:

- [1] 杨晶晶,赵吉,周清,等. 国内外生活饮用水水质标准比较和建议[J]. 中国给水排水,2016,32(17):119-124.
- Yang Jingjing, Zhao Ji, Zhou Qing, et al. Comparison and suggestion on Chinese and foreign drinking water quality standards [J]. China Water & Wastewater, 2016, 32(17): 119-124 (in Chinese).
- [2] 张家敏,彭颖,方文迪,等. 有害结局路径(AOP)框架在水体复合污染监测研究中的应用[J]. 生态毒理学报,2017,12(1):1-14.
- Zhang Jiamin, Peng Ying, Fang Wendi, et al. Application of adverse outcome pathways framework in monitoring of toxic chemicals from aquatic environments [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(1): 1-14 (in Chinese).
- [3] Altenburger R, Nendza M, Schüürmann G. Mixture toxicity and its modeling by quantitative structure-activity relationships [J]. Environmental Toxicology &

Chemistry, 2010, 22(8): 1900-1915.

- [4] 张崇华,闫海,王春莲. 饮用水有机物污染及安全评价技术研究进展[J]. 环境与健康杂志,2013,30(3): 278-281.
- Zhang Chonghua, Yan Hai, Wang Chunlian. Safety assessment methods for organic pollution in drinking water: a review of recent studies [J]. Journal of Environment and Health, 2013, 30(3): 278-281.
- [5] 陈晨. 农药残留混合污染联合毒性效应研究[D]. 北京:中国农业科学院,2014.
- Chen Chen. Study on Combined Effects of Pesticide Residue Mixtures [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014 (in Chinese).
- [6] Menz J, Schneider M, Kümmerer K. Toxicity testing with luminescent bacteria—characterization of an automated method for the combined assessment of acute and chronic effects [J]. Chemosphere, 2013, 93(6): 990-996.
- [7] 周垂帆. 重金属和草甘膦复合污染生态毒理研究[D]. 南京:南京林业大学,2013.
- Zhou Chuifan. Study of the Ecology Toxic Effects of Single and Combined Pollution between Heavy Metal and Glyphosate [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2013 (in Chinese).
- [8] 王成毅,王发珠. 粘球藻固氮作用与几种能量代谢过程的关系[J]. 植物学报,1988,30(3):269-277.
- Wang Chengyi, Wang Fazhu. The relationships between nitrogen fixation and several kinds of energy metabolism by *Glococapsa* sp. [J]. Acta Botanica Sinica, 1988, 30(3): 269-277 (in Chinese).
- [9] 郭蔚华,李星广,林艳,等. 化学品急性毒性藻红外测试技术的方法改进研究[J]. 生态毒理学报,2016,11(6):330-337.
- Guo Weihua, Li Xingguang, Lin Yan, et al. Improving methods for algae infrared radiation technology of testing chemicals acute toxicity [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(6): 330-337 (in Chinese).
- [10] 郭蔚华,苏海燕,张智,等. 藻红外辐射测试环境重金属急性毒性[J]. 生态环境学报,2008,17(2):520-523.
- Guo Weihua, Su Haiyan, Zhang Zhi, et al. The research of algae infrared radiation for acute toxicity test of heavy metals [J]. Ecology and Environment Sciences, 2008, 17(2): 520-523 (in Chinese).
- [11] 郭蔚华,王翔,张智,等. 藻红外辐射测试环境农药残留急性毒性研究[J]. 农业环境科学学报,2008,27(5):2039-2042.

- Guo Weihua, Wang Xiang, Zhang Zhi, *et al.* Determination of the acute toxicity of pesticide residues in environment by algae infrared radiation [J]. *Journal of Agro - Environment Science*, 2008, 27 (5): 2039 - 2042 (in Chinese).
- [12] 郭蔚华,马金龙,吴玉龙. 藻红外测试多元有机毒物急性毒性的初步分析[J]. *生态环境学报*, 2010, 19 (11): 2733 - 2736.
- Guo Weihua, Ma Jinlong, Wu Yulong. Preliminary analysis on the acute toxicity of multiple poisonous organic matters in measuring algae infrared radiation [J]. *Ecology and Environment Sciences*, 2010, 19 (11): 2733 - 2736 (in Chinese).
- [13] 林艳,杨鹏飞,郭蔚华,等. 利用藻红外测试技术研究多种重金属溶液对滇池铜绿微囊藻的毒性作用[J]. *生态毒理学报*, 2017, 12(2): 120 - 128.
- Lin Yan, Yang Pengfei, Guo Weihua, *et al.* Research on biotoxicity of mixed solutions of heavy metals on *Microcystis aeruginosa* in Dianchi Lake through algae infrared testing technology [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, 12(2): 120 - 128 (in Chinese).
- [14] 郭蔚华,贺栋才,张莉,等. 二元联合作用藻红外测试的参照浓度分析方法[P]. 中国专利: CN201710059870. X, 2017 - 05 - 24.
- Guo Weihua, He Dongcai, Zhang Li, *et al.* A reference concentration analysis method for the infrared test of binary combined effect tested by algal infrared technology [P]. China: CN201710059870. X, 2017 - 05 - 24 (in Chinese).
- [15] 戴安全. 谈重复性与再现性[J]. *中国标准化*, 1994 (2): 20 - 22.
- Dai Anquan. The discussion of repeatability and reproducibility [J]. *China Standardization*, 1994 (2): 20 - 22 (in Chinese).
- [16] 周启星. 复合污染生态学[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1995.
- Zhou Qixing. *Combined-pollution Ecology* [M]. Beijing: China Environmental Science Press, 1995 (in Chinese).
- [17] Warne M S J, Hawker D W. The number of components in a mixture determines whether synergistic and antagonistic or additive toxicity predominate: the funnel hypothesis [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 1995, 31 (1): 23 - 28.
- [18] 刘清, 马梅, 童中华, 等. Cu、Zn、Cd、Hg 对青海弧菌 (Q67 菌株) 联合毒性作用的研究 [J]. *中国环境科学*, 1997, 17(4): 301 - 303.
- Liu Qing, Ma Mei, Tong Zhonghua, *et al.* Combined toxicity of Cu, Zn, Cd, Hg to *Vibrio qinghaiensis* sp. nov. (strain Q67) [J]. *China Environmental Science*, 1997, 17(4): 301 - 303 (in Chinese).
- [19] Uwizeyimana H, Wang M, Chen W, *et al.* The eco-toxic effects of pesticide and heavy metal mixtures towards earthworms in soil [J]. *Environmental Toxicology & Pharmacology*, 2017, 55: 20 - 29.
- [20] 张亚辉, 曹莹, 王一喆, 等. 3 种氯酚化合物对大型溞的联合毒性 [J]. *生态毒理学报*, 2011, 6(4): 403 - 409.
- Zhang Yahui, Cao Ying, Wang Yizhe, *et al.* Joint toxicity of three chlorophenols to *Daphnia magna* [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2011, 6(4): 403 - 409 (in Chinese).
- [21] Sun H, Ge H, Zheng M, *et al.* Mechanism underlying time-dependent cross-phenomenon between concentration-response curves and concentration addition curves: A case study of sulfonamides-erythromycin mixtures on *Escherichia coli*. [J]. *Scientific Reports*, 2016. DOI:10.1038/srep33718.
- [22] 刘则华, 余沛阳, 韦雪柠, 等. 日本最新饮用水水质标准及启示 [J]. *中国给水排水*, 2016, 32(8): 8 - 10.
- Liu Zehua, She Peiyang, Wei Xuening, *et al.* New drinking water standards in Japan & discussions [J]. *China Water & Wastewater*, 2016, 32(8): 8 - 10 (in Chinese).



作者简介: 林艳 (1978 -), 女, 重庆人, 博士, 讲师, 主要研究方向为饮用水安全保障及水环境综合保护。

E-mail: Sister2000@163.com

收稿日期: 2019 - 03 - 12