

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20131120001

陈文艳, 赵远, 郑国娟, 等. 基于斑马鱼和发光细菌评估制革废水毒性及其削减效率[J]. 生态毒理学报, 2014, 9(2): 358-366

Chen W Y, Zhao Y, Zheng G J, et al. Evaluation of tannery wastewater toxicity and reduction effect based on zebrafish and luminescent bacteria [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(2): 358-366 (in Chinese)

基于斑马鱼和发光细菌评估制革废水毒性及其削减效率

陈文艳^{1,2}, 赵远¹, 郑国娟², 马勇³, 雷春生¹, 蔡强^{2,*}

1. 常州大学环境与安全工程学院, 常州 213164

2. 浙江清华长三角研究院, 嘉兴 314006

3. 浙江省环境监测中心, 杭州 310012

收稿日期: 2013-11-20 录用日期: 2014-01-10

摘要: 随着制革工业在我国的迅速发展, 其导致的环境污染问题也逐渐受到人们的广泛关注。为评价制革废水的生物毒性以及处理工艺对毒性的削减效率, 选择费氏弧菌、明亮发光杆菌、斑马鱼幼鱼及其胚胎作为受试生物, 分析了制革废水的急性毒性和发育毒性, 比较了不同受试生物对制革废水毒性的敏感性, 并结合理化指标对废水的毒性削减进行了评估。结果表明: 不同受试生物的敏感性大小为斑马鱼胚胎 > 明亮发光杆菌 > 斑马鱼幼鱼 > 费氏弧菌明亮发光杆菌 > 斑马鱼胚胎 > 斑马鱼幼鱼 > 费氏弧菌; 发光菌及斑马鱼幼鱼急性毒性实验结果表明, 制革废水经过整个工艺处理后, 废水的急性毒性已降至检测线以下, 即 0 TU_a; 斑马鱼胚胎毒性实验结果表明, 经过处理的制革废水仍存在急性毒性, 基础毒性当量为 0.5 TU_a, 同时还对胚胎的发育存在一定影响, 对胚胎孵化及畸形的毒性当量分别为 0.7 TU_a 和 0.13 TU_a。综上可知, 处理后的制革废水对环境的影响已得到初步的有效控制, 但仍需进一步处理以达到更大程度削减毒性的目的。

关键词: 斑马鱼; 发光菌; 制革废水; 毒性评价

文章编号: 1673-5897(2014)2-358-09 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Evaluation of Tannery Wastewater Toxicity and Its Reduction Based on Zebrafish and Luminescent Bacteria

Chen Wenyan^{1,2}, Zhao Yuan¹, Zheng Guojuan², Ma Yong³, Lei Chunsheng¹, Cai Qiang^{2,*}

1. Environment & Safety Engineering Institute, Changzhou University, Changzhou 213164, China

2. Yangtze Delta Region Institute of Tsinghua University, Jiaxing 314006, China

3. Zhejiang Province Environmental Monitoring Center, Hangzhou 310012, China

Received 20 November 2013 accepted 10 January 2014

Abstract: The environmental problems caused by the rapid development of leather industry in China, are receiving more and more attention. In the present study, several organisms of *Vibrio fischeri*, *Vibrio phosphoreum*, zebrafish larvae and embryo were applied to evaluate the acute and developmental toxicity of tannery wastewater, the removal rate of toxicity by treatment process and the sensitivity of different organisms to the toxicity of tannery wastewater. The results showed that the sensitivities followed the sequence of zebrafish embryo > *Vibrio phosphoreum* > zebrafish larvae > *Vibrio fischeri*. The acute toxicity of tannery wastewater was completely removed after the treatment of whole

基金项目: 国家科技支撑计划课题(2011BAF02B06); 嘉兴市科技计划课题(2012AE1012); 国家自然科学基金(51208068)

作者简介: 陈文艳(1989-), 女, 硕士, 研究方向为生态毒理学, E-mail: chen13812823711@163.com;

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: Caiqfox@163.com

process according to the acute toxicity test of luminescent bacteria and zebrafish larvae (0 TUa). However, the results from the toxicity study with zebrafish embryos showed that the final effluent of tannery wastewater after treatment still had acute toxicity (0.5 TUa) and developmental toxicity (0.7 TUa to hatching rate, 0.13 TUa to malformation rate). It is indicated that the toxicity of tannery wastewater was roughly removed by the present treatment process, but further treatment was still needed for complete toxicity reduction.

Keywords: zebrafish; luminescent bacteria; tannery wastewater; toxicity evaluation

自 20 世纪末开始,随着皮革工业由发达国家向发展中国家转移,由此造成的水环境污染问题也日益严重。据中国皮革协会报告,截至 2007 年底,中国皮革加工年产量为 7.2 亿 m³,每年可向环境排放废水约 1.5 亿 t^[1],并且废水中成分复杂,含有大量的无机盐类、悬浮物、硫化物、铬及植物鞣剂等有毒有害物质^[2]。虽然部分制革废水已经得到一定程度的净化处理,出水的理化指标也达到了《污水综合排放标准》(GB8978—1996) 一级标准,但其仍然存在着毒性和生态风险。为了评估其毒性和环境风险,有研究者利用发光菌^[3]、藻类^[4]、大型蚤^[3,5]以及 Ames 试验^[3]分析制革废水的急性毒性、遗传毒性。

另一方面,以鱼类作为受试生物的毒性评估方法日益成熟,也逐渐在环境风险评估中得到应用。如肖雨堂等^[6]以斑马鱼为受试生物对深度脱色处理后的印染废水进行了急性毒性研究。王子健等^[7]利用日本青鳉评估印染废水的毒性效应。但采用生物毒性测试方法检测制革废水毒性的研究尚不多见,尤其是利用模式生物斑马鱼来评价制革废水毒性的研究尚无记载。而斑马鱼作为一种模式生物,其胚胎具有易观察、可在母体外生长等优点。

因此,本文拟采用斑马鱼幼鱼急性毒性及其胚胎发育毒性试验,以制革废水为研究对象,并结合发光菌(费氏弧菌及明亮发光杆菌)急性毒性、物理化学指标(化学需氧量 COD、氨氮、重金属含量等)分析制革废水的生物毒性、主要的致毒物质以及评价不同工艺对废水毒性削减程度,旨在为进一步制定排放标准和最终达标排放提供依据。

1 材料与方**法**(Materials and methods)

1.1 主要仪器

Cary100 紫外分光光度计(Agilent 公司)、Glomax Multi 微孔板型多功能检测仪(Promega 公司)、TS100-F 倒置显微镜(Nikon 公司)、火焰原子吸收光谱仪(Agilent 公司)。

1.2 试验材料

供试生物:费氏弧菌(NRRL B-41177,采用实验室制作的发光细菌冻干粉,初始发光强度高于 200 万光子数)、明亮发光杆菌(T3 小种,采用实验室制作的发光细菌冻干粉,初始发光强度高于 200 万光子数)、斑马鱼(AB 纯系,采用实验室长期稳定培养并达到性成熟的斑马鱼,水温为(28±0.5)℃,光暗比为 16 h: 8 h,且 7 d 内自然死亡率不超过 5%)。

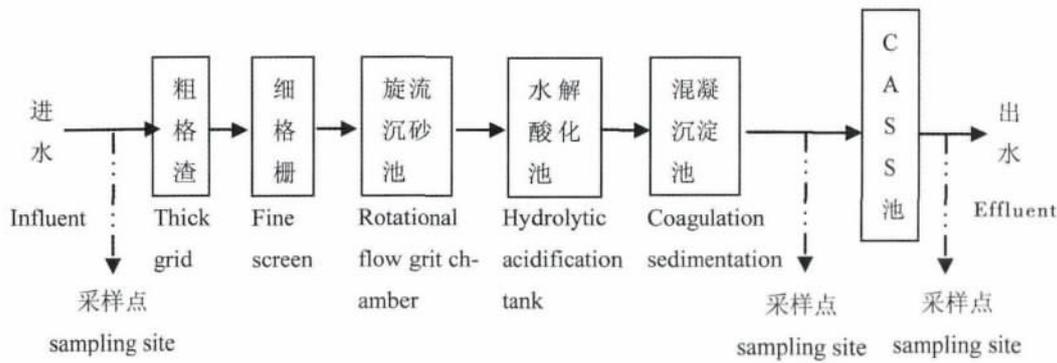


图 1 制革废水处理工艺流程及采样点

注: CASS 工艺为周期循环活性污泥法。

Fig. 1 Tannery wastewater treatment process and the sampling sites

Note: CASS is cyclic activated sludge system.

供试污水: 污水来自桐乡市 A 制革污水处理厂的进水、混凝沉淀池出水以及 CASS(周期循环活性污泥法) 池出水(见图 1)。水样采集后, 测定水质常规指标(见表 1 和表 2), 并置于 4 °C 冷库中冷藏。试验前取出, 自然升温至 24 °C ~ 26 °C 后使用。

试验用水: 其中发光菌急性毒性试验中样品的稀释采用去离子水; 斑马鱼毒性试验中样品稀释采用配制的标准稀释水(GB/T 13267—1991) [8]。

1.3 斑马鱼胚胎的获得

运用实验室长期稳定培养的性成熟斑马鱼, 按照雌雄比 1: 2 的比例置于孵化盒中, 并置于黑暗条件下。在形成受精卵后, 防止成鱼掠食鱼卵, 立即收集鱼卵, 并用标准稀释水冲洗 2 ~ 3 次, 取出残留物后, 用显微镜挑出分裂正常的受精卵, 用于斑马鱼胚胎发育毒性试验。另外, 挑出分裂正常的受精卵, 经过 72 h 孵化后形成幼鱼, 显微镜下观察并挑出正常发育的幼鱼用于急性毒性试验。

1.4 发光菌急性毒性试验

按照 5 个稀释度(分别为 6.25%、12.5%、25%、50% 及 100%) 用去离子水稀释待测废水。将发光细菌冻干粉复苏后进行试验, 选用 96 孔细胞培养板作为染毒载体, 通过微孔板型多功能检测仪进行发光检测。向每孔中加入 100 μL 去离子水(作为空白对照) 或受试废水, 再加入同体积的菌液, 反应 15 min 后进行测定, 每个浓度进行 3 次平行试验。实验结果分别以废水相对发光度和 15 min 半数效应浓度(EC_{50}) 表示 [9]。

1.5 斑马鱼幼鱼 96 h 急性毒性试验

按照 5 个稀释度, 进水(分别为 30%、35%、40%、45% 及 50%)、混凝沉淀池出水(分别为 40%、55%、70%、85% 及 100%) 及 CASS 池工艺出水(分别为 6.25%、12.5%、25%、50% 及 100%) 用标准稀释水稀释受试废水。将标准稀释液作为对照, 每个浓度梯度设 3 个平行。实验用鱼为孵化后 1 h 的正常斑马鱼幼鱼。向每个培养皿中加入 15 mL 测试溶液和 10 条幼鱼。每 24 h 观察并记录死亡情况, 及时清除死亡的幼鱼和代谢物。最终废水毒性以 96 h 死亡率和 96 h 半数致死浓度(LC_{50}) 来表示 [10]。

1.6 斑马鱼胚胎毒性试验

按照 5 个稀释度(分别为 30%、35%、40%、45% 及 50%) 稀释制革废水, 标准稀释水为对照组, 每个浓度梯度设 3 个平行。并选用 24 孔细胞培养板进行试验, 每个培养板的第一列 4 个孔加入 1 mL 标准

稀释水作为空白对照, 其余 20 个孔加入 1 mL 受试溶液, 然后放入 1 枚正常发育的受精卵(1 hpf, 受精后 1 h), 并置于(28 ± 0.5) °C 的培养箱中。每 24 h 观察并记录胚胎的胚胎损伤、发育、死亡情况, 并及时清除死亡的胚胎。到 72 hpf 时, 记录孵化数, 直到所有能孵出的胚胎全部孵出, 观察并记录畸形率 [11]。

1.7 毒性及其削减评价方法

制革废水对发光菌、斑马鱼幼鱼急性毒性及胚胎发育毒性的评价分别采用 15 min- EC_{50} 、96 h- LC_{50} 及 72 h- ELC_{50} 、72 h- HEC_{50} 和 72 h- MEC_{50} 。在这里 ELC_{50} 、 HEC_{50} 和 MEC_{50} 分别表示制革废水使斑马鱼胚胎死亡率、孵化率及畸形率都达到 50% 时所对应的浓度。毒性的削减根据毒性单位(TU, toxicity unit) 计算得到, 计算公式如下 [7]:

$$TU = \frac{100\%}{LC_{50}(EC_{50})}$$

若当受试生物暴露于体积百分比为 100% 的废水中时, 所导致的剂量效应未达到 50%, 从而无法得到 LC_{50} (或 EC_{50}), TU 可通过以下公式计算得到 [7]:

$$TU = RE \times 100 \times 0.02$$

RE 是经受试废水染毒后, 发光菌相对抑制发光强度及斑马鱼幼鱼和胚胎的死亡率(%)。

去除率可通过下列公式计算得到:

$$\text{去除率}(\%) = \frac{TU_{\text{进水}} - TU_{\text{工艺段}}}{TU_{\text{进水}}} \times 100$$

1.8 数据处理

LC_{50} 与 EC_{50} 值采用 Origin8.0 进行计算处理。发光菌急性毒性试验结果采用平均值 ± 标准差来表示, 对发光菌、斑马鱼幼鱼、斑马鱼胚胎急性毒性及斑马鱼胚胎发育毒性试验的每个染毒组与对照组的显著性差异采用 SPSS 16.0 进行分析比较($p < 0.05$)。

2 结果(Results)

2.1 制革废水的理化指标

制革废水的理化参数测定结果可见表 1 和表 2。由表 1 可以看出进水及混凝沉淀池出水, 主要指标如 COD 及氨氮含量较高, 而经过 CASS 工艺处理后, 理化指标基本都达到了《污水综合排放标准》(GB 8978—1996) 的排放要求, 可直接排放, 且可得到 COD、氨氮及总磷的去除率分别为 84.8%、92.0% 和 83.2%。从表 2 中, 可以看出 Cr、Zn 和 Cu 含量较高, 但经过 CASS 工艺处理后出水中重金属含量已经达到排放标准。

表 1 制革废水进水及各工艺段出水的常规理化指标

Table 1 Physiological parameters of tannery wastewater influent and effluents from different treatment units

废水来源 Wastewater source	pH	电导率 Conductivity /($\text{ms}\cdot\text{cm}^{-1}$)	化学需氧量 Chemical oxygen demand /($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	氨氮 Ammonia /($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	总磷 Total phosphorus /($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
进水 Influent	6.94	10.17	436.4	28.234	0.409
混凝沉淀池出水 Coagulation sedimentation effluent	6.77	8.30	586.1	21.297	1.659
CASS 池出水 CASS treatment effluent	6.80	8.06	89.0	1.697	0.278

表 2 制革废水进水及各工艺段出水的重金属含量

Table 2 Concentrations of heavy metals in tannery wastewater influent and effluents from different treatment units

废水来源 Wastewater source	($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)				
	Cr	Zn ²⁺	Cu ²⁺	Cd ²⁺	Pb ²⁺
进水 Influent	1.895	0.994	0.163	0.008	0.034
混凝沉淀池出水 Coagulation sedimentation effluent	1.624	0.740	0.142	0.008	0.021
CASS 池出水 CASS treatment effluent	0.526	0.237	0.022	0.001	0.010

2.2 制革废水对发光菌的急性毒性

表 3 是制革废水的原水及经不同工艺段处理后的废水对 2 种发光菌的 15 min-EC₅₀ 及相对发光强

度 表 4 是相应计算得到的毒性单位。由表 3 可以看出原水及混凝沉淀池出水对发光菌都有较高抑制作用,原水对费氏弧菌和明亮发光杆菌相对发光强度分别为 45.4% 和 6.6%,同样混凝沉淀池出水对费氏弧菌和明亮发光杆菌的相对发光强度分别为 59.7% 和 24.0%,说明混凝沉淀池出水之前的处理工艺削减了废水毒性,但仍然存在一定程度的毒性;而相反,CASS 工艺出水对发光菌的发光具有促进作用,与理化特性相对照,其可能的原因是废水经 CASS 工艺处理后,大部分的有毒污染物得到了净化处理,而其出水中又含有易于发光菌发光的营养物质,如营养盐等,从而可促进发光菌发光;从发光菌 15 min-EC₅₀ 结果及毒性单位值(见表 4)来看,明亮发光杆菌的敏感性要高于费氏弧菌,且经过混凝沉淀池出水之前的工艺处理后,毒性削减了 70.2%。此外,经 CASS 工艺处理后,毒性已降至检测限以下,这表明经过整个工艺处理后,进水对 2 种发光菌的急性毒性被完全去除。

表 3 制革废水进水及不同工艺段废水对发光菌的急性毒性效应

Table 3 Acute toxic effect on luminescent bacteria exposed to tannery wastewater influent and effluents from different treatment units

废水来源 Wastewater source	相对发光强度 Relative luminescence intensity (95% 置信区间) /%		15 min-EC ₅₀ (95% 置信区间) /%	
	费氏弧菌 <i>Vibrio fischeri</i>	明亮发光杆菌 <i>Vibrio phosphoreum</i>	费氏弧菌 <i>Vibrio fischeri</i>	明亮发光杆菌 <i>Vibrio phosphoreum</i>
	进水 Influent	45.4(40.2~50.6)	6.6(3.7~9.5)	85.7(73.5~97.9)
混凝沉淀池出水 Coagulation sedimentation effluent	59.7(55.5~63.9)	24.0(20.1~27.9)	--	57.9(54.0~61.8)
CASS 池 CASS treatment effluent	106.0(101.0~112.0)	108.0(102.0~114.0)	--	--

2.3 制革废水对斑马鱼幼鱼急性毒性及胚胎发育毒性

2.3.1 制革废水对斑马鱼幼鱼急性毒性

受试废水对斑马鱼幼鱼的急性毒性结果见表5。可以看出,当刚孵化出的幼鱼暴露在进水、混凝沉淀池出水中96 h后,致死率均达到100%,且可通过计算得到相应的LC₅₀,分别为43.3%及77.6%;而出水对斑马鱼幼鱼不存在急性毒性。通过斑马鱼幼鱼急性毒性试验,可得到混凝沉淀工艺前的毒性去除效率为44.2%,且经CASS工艺处理后,毒性已降至检测限以下,这表明经过物理、化学、生物等工艺处理后,进水对斑马鱼幼鱼的急性毒性被完全削减。而将幼鱼暴露在标准稀释水中96 h后,幼鱼死亡率为0%。

表4 制革废水进水及不同工艺段出水对发光菌的毒性当量

Table 4 Toxicity unit of tannery wastewater influent and effluents from different treatment units in luminescent bacteria assay

废水来源 Wastewater source	毒性单位 Toxic Unit (TUa)	
	费氏弧菌 <i>Vibrio fischeri</i>	明亮发光杆菌 <i>Vibrio phosphoreum</i>
进水 Influent	1.17	5.81
混凝沉淀池出水 Coagulation sedimentation effluent	0.81	1.73
CASS池出水 CASS treatment effluent	0	0

表5 制革废水进水及不同工艺段出水对斑马鱼幼鱼的急性毒性

Table 5 Acute toxic effect on zebrafish larvae exposed to tannery wastewater influent and effluents from different treatment units

废水来源 Wastewater source	致死率 Mortality /%		TUa
	96 h- LC_{50} /%	96 h- LC_{50} /%	
进水 Influent	100	43.3	2.31
混凝沉淀池出水 Coagulation sedimentation effluent	100	77.6	1.29
CASS池出水 CASS treatment effluent	0	--	0

2.3.2 制革废水对斑马鱼胚胎的发育毒性

在各工艺段出水中的短期暴露对斑马鱼胚胎的发育、死亡率、孵化率及畸形率都产生了一定程度的

影响(见表6和表7,图2和图3)。可以看出,进水及混凝沉淀池出水对胚胎致死率的LC₅₀(ELC₅₀)分别为

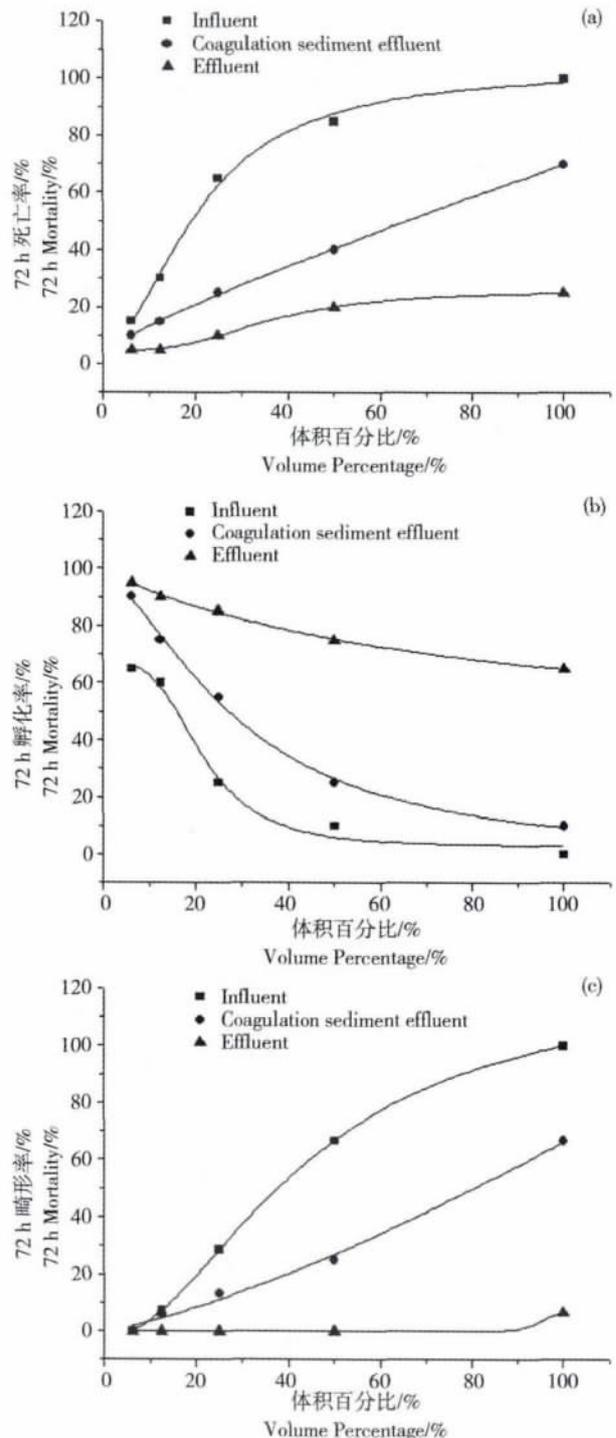


图2 制革废水进水及不同工艺段出水对斑马鱼胚胎早期发育的影响

Fig. 2 Effect on the early development of zebrafish embryo exposed to tannery wastewater influent and effluents from different treatment units

19.31% 和 65.91% ,而 CASS 工艺出水对胚胎的致死率低于 50% ,因此无法得到 LC_{50} 无抑制作用; 进水及混凝沉淀池出水对胚胎孵化率的 EC_{50} (HEC_{50}) 分别为 15.72% 和 27.08% ,CASS 工艺出水对其同样无影响; 进水及混凝沉淀池出水对胚胎畸形率的 EC_{50} (MEC_{50}) 分别为 37.5% 和 80.11% ,CASS 工艺出水对胚胎的畸形率低于 50% ,因此无法计算 EC_{50} 。此外 ,可以看出制革废水最终出水对斑马鱼胚胎仍存在一定的影响 ,对致死、孵化及致畸的毒性当量分别为 0.5 TUa、0.7 TUa 及 0.13 TUa。通过以上结果 ,可发现对于进水及混凝沉淀池出水 , $HEC_{50} < ELC_{50} < MEC_{50}$ 这一结论均成立 ,即表明在 3 种毒性终点中 ,胚胎孵化率是最敏感的指标 ,其次为死亡率 ,最后为畸形率。除此之外 ,通过 TUa 值 ,可得到 CASS 工艺对毒性的去除率为 67.1% ,并且最终出水与进水相比毒性被削减了 90.3% ,其中混凝沉淀削减的毒性占总毒性削减的 78.3% 。

同时 ,还观察了经 CASS 工艺出水染毒后 ,斑马鱼胚胎的发育、孵化及畸形情况。主要包括 24 h 的 20 s 内主动活动、24 h 尾部延展、24 h 眼点发育、48 h 心律不齐、48 h 色素沉积、48 h 心包水肿、72 h 孵化率及 72 h 畸形率。而在这些毒性终点中比较敏感的主要是 24 h 尾部延展、48 h 心包水肿、72 h 孵化率及 72 h 畸形率(见图 3)。

表 6 制革废水进水及不同工艺段出水对斑马鱼胚胎急性毒性和发育毒性

Table 6 Acute and developmental toxicity to zebrafish embryo exposed to tannery wastewater influent and effluents from different treatment units

废水来源	$ELC_{50}/\%$	$HEC_{50}/\%$	$MEC_{50}/\%$
Wastewater source			
进水 Influent	19.31	15.72	37.50
混凝沉淀池出水	65.91	27.08	80.11
Coagulation sedimentation effluent			
CASS 池出水	--	--	--
CASS treatment effluent			

注: ELC_{50} 、 HEC_{50} 及 MEC_{50} 分别表示斑马鱼胚胎暴露于废水中 ,达到 50% 死亡、孵化及畸形所对应的废水浓度。

Note: ELC_{50} , HEC_{50} and MEC_{50} respectively represent the concentration of wastewater for 50% of embryonic mortality ,hatching and malformation.

表 7 制革废水进水及不同工艺段出水对斑马鱼胚胎急性毒性和发育毒性的毒性当量

Table 7 Toxicity unit of tannery wastewater influent and effluents from different treatment units in acute and developmental toxicity test with zebrafish embryos

废水来源	致死	孵化	畸形
Wastewater source			
进水 Influent	5.18	6.36	2.67
混凝沉淀池	1.52	3.69	1.25
Coagulation sedimentation effluent			
CASS 池	0.50	0.70	0.13
CASS treatment effluent			

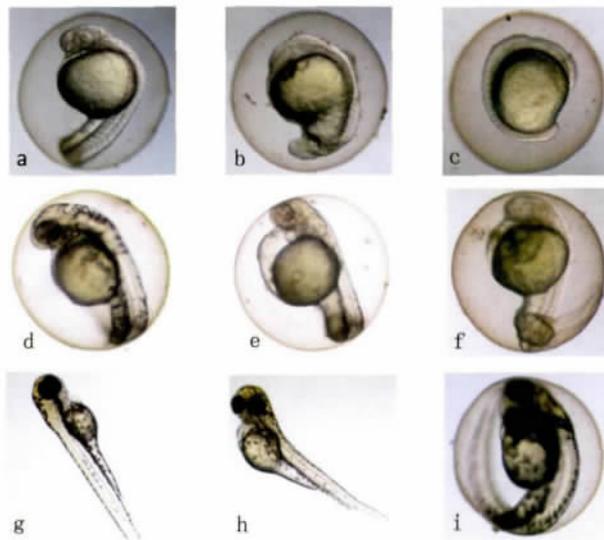


图 3 CASS 工艺出水对斑马鱼胚胎早期发育的影响

注: a、d、g 分别为 24 h、48 h 和 72 h 正常发育的胚胎或孵化的幼鱼; b 染毒后 24 h 眼点未发育的胚胎; c 染毒后 24 h 尾巴未延展的胚胎; e 染毒后 48 h 心包水肿的胚胎; f 染毒后 48 h 尾巴弯曲的胚胎; h 染毒后 72 h 脊椎弯曲的胚胎; i 染毒后 72 h 未孵化的胚胎。

Fig. 3 Effect on the early development of zebrafish embryo exposed to effluent after treatment by CASS

Note: (a , d , g) 24 48 72 h-normal development; (b) 24 h-no development of the embryonic eyespot; (c) 24 h-no extension of the embryonic tail; (e) 48 h-pericardial edema; (f) 48 h-tail curving; (h) 72h-malformed larvae treated with wastewater ; (i) 72h-unhatched embryos

3 讨论(Discussion)

3.1 斑马鱼对制革废水的敏感性

本研究选择了斑马鱼幼鱼及其胚胎为受试生物,对制革废水的毒性进行了评价,并与发光菌测试结果进行比较,结果表明,斑马鱼胚胎具有较高的敏感性,敏感性从大到小分别为斑马鱼胚胎>明亮发光杆菌>斑马鱼幼鱼>费氏弧菌。可看出斑马鱼幼鱼对制革废水的敏感性要弱于胚胎,但这与原居林等^[12]的研究结果正好相反。

有研究表明发光菌在 pH 为 5.0~9.0 时,其发光强度不受 pH 的影响,通过表 1 可看出待测废水的 pH 值在 7.0 左右,因此发光菌的发光强度几乎不受 pH 的影响^[13]。此外,吴寅等^[14]发现当 pH 为 6.0~8.0 时,斑马鱼胚胎的致死率及孵化率无显著变化。通过以上分析可推断待测废水的 pH 值对发光菌及斑马鱼的毒性几乎无影响。

Cabral 等^[15]和 Lue-Kim^[16]等研究发现,存在于废水中的金属会破坏细胞膜结构,使非极性有机物更容易穿过细胞膜而造成毒性。除此之外,该制革废水氨氮含量比较低,而有研究表明,氨氮对幼鱼生长存在着抑制作用^[17]。这表明当氨氮含量较低时,会削弱废水对幼鱼的毒性作用。本文的结果结合之前的研究可知,造成斑马鱼胚胎敏感性高于幼鱼的主要原因可能是本研究中采集的制革废水的电导率较高,且重金属 Cr、Zn 及 Cu 含量也比较高以及氨氮含量低所致。有研究表明当 pH 值为 7.0 时, Cu^{2+} 对斑马鱼胚胎的 96 h- EC_{50} 为 $0.096 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[14],而本研究待测废水的进水、混凝沉淀池出水及最终出水的重金属 Cu 含量分别为 0.163、0.142 及 $0.022 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,所以推断 Cu^{2+} 会对斑马鱼胚胎的发育、死亡及孵化产生较大的影响。

有研究表明,废水中的联苯胺类^[18]、烷基酚类^[19]和壬基酚^[20]等有机污染物会对斑马鱼胚胎的早期阶段产生一定的毒害作用,因此推断可能制革废水中也含有一定量的这类有机污染物,这可能是造成对胚胎毒性高于幼鱼的原因之一,这个问题需要进一步的研究证实。

3.2 制革废水的毒性评价及削减评估

制革废水进水及不同工艺段出水除了对发光菌、斑马鱼幼鱼及胚胎产生急性毒性,还对斑马鱼胚胎的发育具有抑制作用,主要体现在对各发育阶段毒性终点的影响,如 24 h 尾巴未延展、48 h 心包水肿、72 h 脊椎弯曲等。Lin 等^[21]评价了西维因对斑

马鱼胚胎早期发育的影响,观察到心包水肿的现象。同时 Zhang 等^[22]通过将斑马鱼胚胎暴露于巯基丙酸修饰的 CdSe 量子点溶液中,观察到染毒后 24 h 尾巴未延展及 72 h 脊椎弯曲等现象。目前尚未有机制能够解释胚胎产生畸形的原因,但 Cheng 等^[23]提出假设,产生脊柱弯曲可能是由于肌球蛋白和肌节合成减少引起的,这个假设仍需要得到进一步的实验证实。

本研究还对制革废水处理工艺的毒性削减进行了评估。进水、混凝沉淀池出水、CASS 工艺出水对斑马鱼胚胎致死率的毒性当量分别为 5.18 TUa、1.52 TUa 和 0.5 TUa,通过此结果可得到污水处理工艺对毒性的总去除率为 90.3%,其中从粗格栅到混凝沉淀工艺的去除率为 70.7%,CASS 工艺对毒性的去除率达到 67.1%。由表 1 和表 2 可以看出,经过混凝沉淀池出水之前的工艺处理,COD、总磷及重金属并未得到去除,但由斑马鱼胚胎毒性试验来看,毒性得到了很大削减。这是因为水解酸化池将高毒性的大分子化合物转化成了低毒性的小分子化合物,而且混凝沉淀工艺也会使重金属进入污泥而被转移,从而大大降低了废水的毒性。而斑马鱼幼鱼 96 h 急性毒性试验,反映出 CASS 工艺对毒性的去除率达到了 100%;通过发光菌急性毒性试验,可发现 CASS 工艺的毒性去除率也达到了 100%,这说明经过 CASS 工艺处理后,废水中能对费氏弧菌及明亮发光杆菌的发光作用产生抑制效应的有毒物质都被去除。

因而,仅依靠单一生物毒性试验不能全面而准确地评价废水的毒性,而利用由处于不同营养级的生物组成的成组生物毒性试验可更直观地反映出废水的综合毒性^[24]。本研究中制革废水的最终出水的常规理化指标均达到了《污水综合排放标准》(GB 8978—1996)的排放要求;且通过发光菌及斑马鱼幼鱼急性毒性试验也发现经过处理的制革废水毒性已降至检测限以下,即 0 TUa。但斑马鱼胚胎发育毒性试验结果显示,经过处理的制革废水不仅存在急性毒性,基础毒性当量为 0.5 TUa,同时还对胚胎的发育存在一定影响,对胚胎孵化及致畸的毒性当量分别为 0.7 TUa 和 0.13 TUa。按照美国国家环境保护局(USEPA)标准,当急性毒性 TUa < 0.3 时为安全浓度^[25]。因而,制革废水综合毒性基本达到 USEPA 的排放标准,对环境的影响已得到初步有效控制,但仍需要进一步处理以达到更大程度削减毒性的目

的。

综上所述,斑马鱼及其胚胎是较好的毒性评价的模式生物,可应用于制革废水的综合毒性评价及不同处理工艺段出水的毒性削减评估。基于毒性单位的评估技术,可为决策机构制定更完善的污染源控制策略,为污染源企业改进处理工艺提供可靠的数据支持,同时也为基于生物毒性的制革废水综合达标排放提供参考。

通讯作者简介:蔡强(1972—),男,环境科学与工程博士,研究员,主要研究方向现代环境监测技术,尤其侧重于基于生物化学原理的环境风险检测与分析。

参考文献:

- [1] 牛艳芳,马兴元,吕凌云,等. 制革废水处理新技术存在的问题和解决方法[J]. 中国皮革,2009,11(38): 37-41
Niu Y F, Ma X Y, Lv L Y, et al. Problem and solution of new processes of tannery effluent [J]. China Leather, 2009, 11(38): 37-41 (in Chinese)
- [2] 李晓星,俞从正,马兴元. 制革废水处理的研究进展[J]. 中国皮革,2003,32(19): 26-31
Li X X, Yu C Z, Ma X Y. Progress of study on treatment of effluent from tannery [J]. China Leather, 2003, 32(19): 26-31 (in Chinese)
- [3] Tigini V, Giansanti P, Mangiavillano A, et al. Evaluation of toxicity, genotoxicity and environmental risk of simulated textile and tannery wastewaters with a battery of biotests [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2011, 74(4): 866-873
- [4] Meric S, De Nicola E, Iaccarino M, et al. Toxicity of leather tanning wastewater effluents in sea urchin early development and in marine microalgae [J]. Chemosphere, 2005, 61(2): 208-217
- [5] Oral R, Meric S, Nicola E D, et al. Multi-species toxicity evaluation of a chromium-based leather tannery wastewater [J]. Desalination, 2007, 211(1): 48-57
- [6] 肖羽堂,陈昌振. 印染废水深度脱色处理及其出水急性毒性研究[C]. 武汉,中国水处理技术研讨会暨第31届年会,2011
- [7] 高磊,李兆利,陈辉辉,等. 染织排水对日本青鳉鱼和胚胎的毒性效应[J]. 生态毒理学报,2011,6(3): 303-309
Gao L, Li Z L, Chen H H, et al. Toxicity of dye effluent on Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) embryo and larva [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2011, 6(3): 303-309 (in Chinese)
- [8] 国家环境保护总局. GB/T 13267—1991 水质: 物质对淡水鱼(斑马鱼)急性毒性测定方法[S]. 北京: 中国标准出版社,1991
- [9] 刘保奇,葛会林,刘树深. 测定环境污染物对青海弧菌发光强度抑制的微板发光法研究[J]. 生态毒理学报,2006,1(2): 186-191
Liu B Q, Ge H L, Liu S S. Microplate luminometry for toxicity bioassay of environmental pollutant on a new type of fresh water luminescent bacterium (*Vibrio-qinghaiensis* sp.-Q67) [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2006, 1(2): 186-191 (in Chinese)
- [10] ISO. 1996. Water Quality—Determination of the Acute Lethal Toxicity of Substances to a Freshwater Fish [*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)]—Part 1: Static Method. ISO7346-1. [S]. Geneva: ISO, 1996
- [11] 孔志明,杨柳燕,尹大强,等. 现代环境生物学实验技术与方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社,2005: 2-6
- [12] 原居林,顾志敏,叶金云,等. 纺织印染废水及其底泥对太湖花早期发育的毒性研究[J]. 环境科学学报,2012,32(3): 762-768
Yuan J L, Gu Z M, Ye J Y, et al. Toxicity of printing and dyeing wastewater and sediment on the early development stages of the *Hemibarbus maculatus* in the Taihu Lake [J]. Acta Science Circumstantiae, 2012, 32(3): 762-768 (in Chinese)
- [13] 于瑞莲,胡恭任. 不同pH值下对发光菌的毒性及QSAR研究[J]. 环境科学与技术,2005,28(4): 20-22
- [14] 吴寅,吴永贵,马岚,等. 水体酸化条件下Cu(II)对斑马鱼胚胎的毒性效应[J]. 生态毒理学报,2013,8(3): 389-394.
Wu Y, Wu Y G, Ma L, et al. Toxic effect of Cu(II) on zebrafish embryos under water acidification condition [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2013, 8(3): 389-394 (in Chinese)
- [15] Cabral J. P. S. Cupric ions induce both an efflux of potassium and low molecular mass metabolites in *Pseudomonas syringae* [J]. FEMS Microbiology Letters, 1990, 72(1-2): 109-112
- [16] Lue-Kim H, Wozniak P C, Fletcher R A. Cadmium toxicity on synchronous populations of *Chlorella ellipsoidae* [J]. Canadian Journal of Botany, 1980, 58(16): 1780-1788
- [17] Sun H J, Yang W, Chen Y, et al. Effect of purified microcystin on oxidative stress of silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* larvae under different ammonia concentrations [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2011, 39(4-6): 536-543

- [18] 刘红玲,于红霞,姜威,等. 联苯胺类化合物对斑马鱼胚胎发育毒性的初步研究[J]. 生态毒理学报, 2007, 2(1): 94-99
Liu H L, Yu H X, Jiang W, et al. Preliminary study on zebrafish embryo-toxicity of benzidine congeners [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2007, 2(1): 94-99 (in Chinese)
- [19] 刘红玲,周宇,许妍,等. 氯代酚和烷基酚类化合物对斑马鱼胚胎发育影响的研究[J]. 安全与环境学报, 2004, 4(4): 3-6
Liu H L, Zhou Y, Xu Y, et al. Investigation of toxicity effect for chlorophenols and alkyl phenols on zebrafish embryos [J]. Journal of Safety Environment, 2004, 4(4): 3-6 (in Chinese)
- [20] 刘晓丽,汪奇,贾林芝,等. 壬基酚对斑马鱼精巢组织及性激素合成酶基因表达的影响[J]. 环境科学学报, 2011, 31(11): 2523-2529
Liu X L, Wang Q, Jia L Z, et al. Alterations in testicular histology and the mRNA of enzymes responsible for sex steroid synthesis in the zebrafish *Danio rerio* exposed to nonylphenol [J]. Acta Science Circumstantiae, 2011, 31(11): 2523-2529 (in Chinese)
- [21] Lin C C, Hui M N Y, Cheng S H. Toxicity and cardiac effects of carbaryl in early developing zebrafish (*Danio rerio*) embryos [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2007, 222(2): 159-168
- [22] Zhang W, Lin K F, Sun X, et al. Toxicological effect of MPA-CdSe QDs exposure on zebrafish embryo and larvae [J]. Chemosphere, 2012, 89(1): 52-59
- [23] Cheng S H, Wai A W K, So C H, et al. Cellular and molecular basis of cadmium-induced deformities in zebrafish embryos [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2000, 19(12): 3024-3031
- [24] 邹叶娜,蔡焕兴,薛银刚,等. 成组生物毒性测试法综合评价典型工业废水毒性[J]. 生态毒理学报, 2012, 7(4): 381-388
Zou Y N, Cai H X, Xue Y G, et al. Synthetic evaluation on toxicity of typical industrial effluents using a battery of bioassays [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2012, 7(4): 381-388 (in Chinese)
- [25] 赵俊杰,周斌,沈新强. 造纸废水排放对海洋生态环境和渔业资源的影[J]. 水道港口, 2012, 33(2): 168-172
Zhao J J, Zhou B, Shen X Q. Influence of paper mill effluent on oceanic ecological environment and fishery resources [J]. Journal of Waterway and Harbor, 2012, 33(2): 168-172 (in Chinese) ◆

丹麦重新评估四氯乙烯人类健康影响

2014年4月14日 来源: 丹麦环保署

丹麦环保署发布了一份报告,重新评估了四氯乙烯暴露的人类健康影响。该报告对一项2001年研究进行了更新,并包括了一项针对环境空气中存在的四氯乙烯的质量标准建议。

该报告评估了是否应基于关于四氯乙烯的生殖毒性和致癌作用的新数据、评定和评估,对目前基于健康的空气质量标准进行修订。它指出,目前在全国乃至世界范围内进行的争论都围绕这些作用。该研究还考虑了反复吸入暴露。不过,对于其他毒性终点,包括急性毒性、刺激性、致敏性和生殖毒性,仅进行了简要介绍。

引自《化学品安全信息周报》2014年第17期总第281期(中国检验检疫科学研究院化学品安全研究所编译)