

水质生物毒性检测技术研究进展

陈慧凌^{1,2*}

(1. 厦门市政水务检测有限公司, 厦门 361006; 2. 东华理工大学, 南昌 330013)

摘要: 水是人类生存必不可少的元素, 水质安全的保障是人类健康和生态发展的重要基石。传统的水质安全评价方法主要是检测各项污染物的浓度并与标准限值对比判断是否超标, 但仍存在一定不足, 不同污染物之间相互作用产生的影响无法用单独检测各项污染物浓度的方式反映。生物毒性检测可以直观、全面地展示水体所有污染物的综合毒性特征, 可作为传统理化指标检测的补充。本文通过文献调研梳理了国内外生物毒性检测技术研究发展历程, 并总结了当前水质评价中常用的生物毒性测试方法和最新应用现状, 为水质检测技术的完善和发展提供参考。

关键词: 生物毒性; 水质检测; 水污染; 生物安全

0 引言

随着社会经济发展和人类活动的扩张, 越来越多污染物的产生严重威胁到水环境的安全, 这些污染物包括各种有毒有害的有机物、无机物及氮、磷等, 还有越来越多的新兴污染物如持久性有机污染物、内分泌干扰物、抗生素、微塑料等^[1]。据美国化学文摘数据库统计, 截至2023年9月, 全球范围内登记在案的化合物数量接近2.8亿种, 每年有超过3亿吨化合物因人类活动汇入环境水体^[2]; 我国生态环境部统计, 国内现有已知化学物质4.5万余种, 都可能污染水资源^[3]。传统的水质评价主要是通过对各项具体的理化指标分别进行检测, 将样品的测定值与标准限值比对应来进行水质分级评价, 但这样存在很多局限性: ①不同污染物之间会相互反应从而产生未知毒性, 仅根据水中各类物质各自的浓度无法判断综合毒性风险; ②一些研究数据尚不充分的物质和未知污染物, 潜在风险无法确定; ③一些新兴污染物较难检出或者检测成本高昂^[4]。生物毒性检测可以弥补传统水质检测的不足, 能够直观反映所有污染物共存时产生的综合影响, 对水质的安全性提供更加直接的判断标准。本文旨在研究生物毒性检测技术的发展历程及其在水质检测中的应用现状, 为水质检测技术完善和发展研究提供参考。

1 生物毒性检测技术主要类型

生物毒性试验是以毒理学为基础发展起来的, 能够测试有毒有害污染物对生态系统中的生物所引发的不同程度

的损害。生物毒性的测试方法有很多, 按不同原则分类大致有以下几种分类方式: ①按毒性作用类型可分为慢性毒性试验、急性毒性试验、遗传毒性试验、内分泌干扰性试验和生物累积性试验等; ②按毒性特异性, 可分为特异性毒性试验(遗传毒性)和非特异性毒性试验(非遗传毒性); ③按受试生物种类的不同, 可分为发光菌、蚤类、藻类、鱼类毒性试验等; ④按受试生物是否完整, 可分为体外毒性试验和体内毒性试验^[4]。

2 国内外生物毒性检测技术发展历程

2.1 生物毒性检测技术文献关注度变化

在中国知网(CNKI)数据库中分别以“生物毒性”“急性毒性”“慢性毒性”“遗传毒性”“内分泌干扰”“生物积累”为主题搜索文献资源, 并进行中英文扩展搜索, 得到中文文献从1957年起至2023年共26370篇, 外文文献从1893年起至2023年共68379篇, 可以看出国外对生物毒性的研究起始较早, 其中国内外研究文献最早开始发表的主题均为急性毒性, 最晚开始发表的主题均为内分泌干扰。由图1和图2可看出, 国内外对生物毒性不同研究方向的关注度有较大差异。中文文献发表量最多的为急性毒性主题, 明显远超其他主题, 在2010年达到峰值, 2015年后开始呈现下降趋势; 外文文献发表量最多的为遗传毒性主题, 分别在2016年和2020年出现峰值, 2020年后呈现下降趋势。中文文献对遗传毒性、慢性毒性及内分泌干扰主题关注度最高

* 通信作者: 陈慧凌, 工程师, 研究方向为水质检测。E-mail: 306543006@qq.com

的年份为2008—2011年，随后呈现波动下降趋势，推测原因因为2008年出现的“三聚氰胺”事件引起了公众恐慌使大量专家学者关注相关毒性研究；生物积累主题的中文文献发

表量最低，且增速较为平缓。与中文文献不同的是，外文文献中生物积累主题从2013年起发表量迅速增长，最高峰发表量仅次于遗传毒性主题。

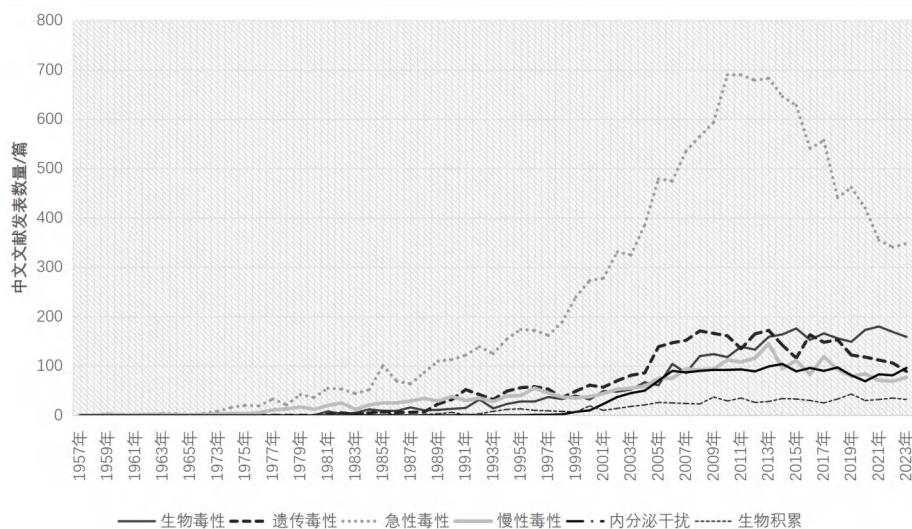


图1 中文文献发表量年度变化趋势图

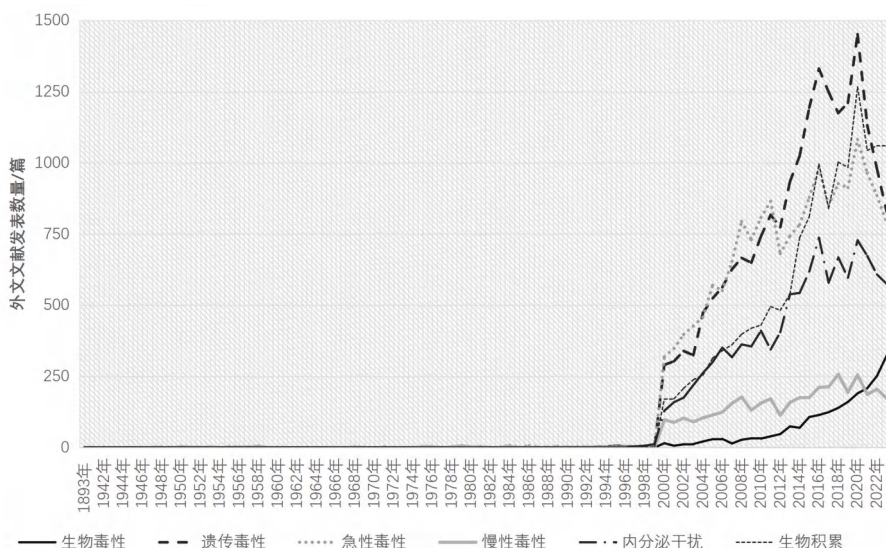


图2 外文文献发表量年度变化趋势图

2.2 水质生物毒性检测标准概况

国外科研人员于20世纪70年首次将发光细菌法应用到对废水毒性的检测中^[5]。现行发光细菌测试标准方法大部分以ISO 11348-3《水质 水样对弧菌类光发射抑制影响的测定(发光细菌试验)第3部分：冻干细菌(费氏弧菌)法》^[6]为主，最早于1998年发布，最新版本为2007年发布。国内研究起步相对较晚，从20世纪80年代开始将发光细菌发光抑制率等指标投入到工业废水的检测中^[7]。1991年国内发布了GB/T 13266—1991《水质 物质对蚤类(大型蚤)急性毒性测定方法》^[8]等两部急性毒性测定国家标准，当前国内对水质检测中生物毒性检测方面现行有

效的标准方法(国家标准)见表1。可以看出目前国内对水质急性毒性检测制定的标准较为陈旧，除HJ 1069—2019《水质 急性毒性的测定 斑马鱼卵法》^[9]外其他均为1995年及以前发布，而上海等地于2023年发布了团体标准T/JSEMA 3—2023《水质 急性毒性 高通量发光细菌测试方法》^[10]，是当前国内最新的水质急性毒性检测标准。水质遗传毒性相关国家标准均为2019年之后发布，发布时间较近，但使用程度并不高，例如用SOS/umu法测定遗传毒性时，国内外大部分学者和科研人员仍然使用国外标准ISO-13829-2000，而国标GB/T 40186—2021^[11]的运用暂时较少，且此方法并未规定毒性判定标准。

表 1 国内水质生物毒性检测现行国家标准方法

类型	标准名称	发布日期
急性毒性	GB/T 15441—1995 水质 急性毒性的测定 发光细菌法	1995-03-25
	GB/T 13267—1991 水质 物质对淡水鱼(斑马鱼)急性毒性测定方法	1991-09-14
	GB/T 13266—1991 水质 物质对蚤类(大型蚤)急性毒性测定方法	1991-09-14
	HJ 1069—2019 水质 急性毒性的测定 斑马鱼卵法	2019-12-31
遗传毒性	HJ 1016—2019 水质 致突变性的鉴别 蚕豆根尖微核试验法	2019-04-13
	GB/T 38481—2020 微生物超低频突变测定 双重测序法	2020-11-19
	GB/T 40186—2021 微生物诱变育种致遗传物质损伤强度测定 Umu 法	2021-05-21

3 生物毒性检测技术在水质检测中的应用现状

3.1 水质生物毒性检测方法

检测水质生物毒性，最常见的是利用对化学污染物敏感、生理性能稳定的水生生物(鱼类、藻类、蚤类、微生物类等)进行接触试验，观察其健康状况变化来确定待测水体的毒性。曾露雪等^[12]利用斑马鱼为受试对象，测试了稀土离子铽对斑马鱼的急性毒性及抗氧化酶活性的影响。结果表明，高浓度铽会对斑马鱼产生较大的毒性，安全浓度是 7.90 mg/L；三价铽离子对斑马鱼各部位过氧化氢酶活性均有影响。郑智轩等^[13]利用发光细菌评价寒冷地区多环芳烃衍生物(SPAHs)等新污染物的环境风险，得知表面 SPAHs 通过光化学转化可生成具有较高毒性的中间产物，且水中与冰中的光修饰毒性具有差异。孟顺龙等^[14]采用半静态水质接触急性试验法测试了灭多威对小球藻、大型蚤、斑马鱼的急性毒性，探究灭多威对食物链上处于不同生态位的水生生物的毒性效应。结果表明，灭多威对小球藻、大型蚤、斑马鱼的 96 h 半数效应浓度(EC₅₀)分别为 6.76 mg/L、12.58 μg/L、2.12 mg/L，安全浓度分别为 0.676 mg/L、1.26 μg/L、0.212 mg/L，对上述水生生物的毒性大小顺序为：蚤类 > 鱼类 > 藻类。

除急性毒性外，水污染造成的遗传毒性效应和内分泌干扰效应也是当前广受关注的问题。戚东辉等^[15]采用鼠伤寒沙门菌 TA1535/Psk1002 菌株进行 SOS/umu 遗传毒性检测，探究复合人工湿地对污染河水中遗传毒性的去除效果。赵旭等^[16]采用 SOS/umu 法和双杂交酵母体系测试了珠三角某地污水处理厂进出水等共 15 个样品的遗传毒性和雌激素效应。结果表明各样品均表现出显著遗传毒性效应，受纳水体的雌激素效应最高。肖三华^[17]使用 AMES 试验探究江苏省某地长江水源水、自来水厂净水工艺处理、长

距离管道输送对水中有机物致突变性的影响，结果表明各水样均检出了致突变性，出厂水致突变性试验阳性结果检出率高于长江水源水，管网自来水致突变性低于长江水源水。王倩等^[18]通过体内外联合试验探索全氟辛酸(PFOA)致 DNA 损伤情况，不同浓度 PFOA 灌胃给予大鼠后，采用肝脏、骨髓和外周血细胞开展中性和碱性彗星试验，利用骨髓细胞开展骨髓微核试验。结果表明 PFOA 在体外对 DNA 具有损伤作用，经口染毒未见对大鼠产生 DNA 损伤。

3.2 水质生物毒性表征评价方法

3.2.1 抑制 / 致死率评价法

测试受试对象接触水体后的抑制率、致死率是较为经典和常用的毒性表征方法。一般以半致死浓度(LC₅₀)和 EC₅₀ 为主。夏宇凡等^[19]以三角褐指藻和中肋骨条藻两种硅藻作为受试生物进行生长抑制实验，测试 9 种碳九芳烃对硅藻的 96 h 半效应浓度。袁尧等^[20]选取了 2,6-二叔丁基-4-硝基苯酚(DBNP)和重金属离子镉，测试二者单独和联合暴露的急性生物毒性，用稀有鮎鲫 96 h LC₅₀、大型蚤 48 h EC₅₀、斜生四链藻 72 h EC₅₀ 等数据进行评价。

3.2.2 浓缩 / 稀释倍数评价法

当待测水样毒性太高或太低，不能直接测定 LC₅₀ 和 EC₅₀，要通过一定倍数的稀释或浓缩处理才能准确检测，稀释倍数越大、浓缩倍数越小表明原始水样的生物毒性越强。如傅金祥等^[21]将垃圾渗滤液以人工海水按 5%、10%、20%、40%、60%、80%、100% 比例稀释设置试验组，用 10% 致死浓度 LC₁₀ 及半致死浓度 LC₅₀ 表征急性毒性效应，找到使受试生物卤虫的死亡率到达 100% 的最小稀释值和使卤虫不受影响的最大稀释度。

3.2.3 当量浓度评价法

当量浓度(TEQ)评价法指选用毒性效应明确的物质作为阳性参照物，作出浓度—效应曲线，将待测水样的毒性测试结果转换为产生相当效应的阳性参照物的当量浓度，如戴迪楠^[22]以四种生物毒性(发光菌急性毒性试验、藻细胞生长抑制毒性试验、斑马鱼幼鱼急性毒性试验、SOS/umu 遗传毒性试验)的阳性参照物质当量浓度 TEQPhenol、TEQK₂Cr₂O₇、TEQ3、4-DCA 和 TEQ4-NQO 表征毒性检测结果，将样品 TEQ 阳性对照的预测无效应浓度(PNEC)进行对比来评价污水深度处理的生物毒性削减特征。

4 结论与展望

本文系统梳理了水质生物毒性检测技术的研究进展，强调了其在弥补传统理化检测不足方面的重要性。传统水质评价方法依赖单一污染物浓度检测，难以评估复合污染的综合毒性效应及未知污染物的潜在风险。生物毒性检测

通过直接反映污染物对生物体的综合影响，为水质安全提供了更全面的评价手段。研究总结了生物毒性检测的主要类型，包括急性毒性、慢性毒性、遗传毒性等，并分析了国内外技术发展历程，国外研究起步较早，而国内近年来在遗传毒性等领域进展显著，但标准化方法仍显不足。另外通过各种应用案例展示了生物毒性检测的发展现状，如利用生物急性毒性试验、遗传毒性试验等评估多环芳烃、全氟化合物等新污染物造成的风险，能直观展现复合污染物的协同或拮抗效应。此外，研究还探讨了毒性表征方法（如抑制率、当量浓度等）的优势与局限性，提出需开发更高效、标准化的联合评价方法。研究表明，生物毒性检测技术能够弥补传统水质检测的不足，对成分复杂、污染物不明的水体能够直接高效地评估其毒性效应和对生态环境的影响，在应对新兴污染物和复杂污染场景中表现出独特价值。当前许多学者和研究人员利用生物毒性检测技术对被多种复杂化学物质污染的水环境进行水质安全性评价，但是目前国内对生物毒性检测的标准化方法仍然较少，检测步骤较为繁琐且有一定难度，较难在大部分水质检验检测机构中推广使用，建议今后开发出更全面高效、稳定可靠的标准化方法，并实现多种生物毒性联合评价、简洁明晰的水质安全评价方式。

参考文献

- [1] 生态环境部. 环境新闻速览|生态环境部：四大类污染物被定义为新污染物(海报新闻)[EB/OL]. (2022-04-01) [2025-03-01]. https://m.thepaper.cn/baijiahao_17420768.
- [2] 张硕, 韩颖楠, 李娜, 等. 水环境样品体外生物测试效应触发值的研究进展[J]. 生态毒理学报, 2024, 19(1): 17-30.
- [3] 生态环境部. 系列解读(9)|加强新污染物治理统筹推进有毒有害化学物质环境风险管理[EB/OL]. [2024-05-03]. https://www.mee.gov.cn/zcwj/zcjd/202111/t20211119_961028.shtml.
- [4] 吴晓亭. 成组生物毒性检测的污水及再生水水质安全评价[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2016.
- [5] BULICH A A, ISENBERG D L. Use of the luminescent bacterial system for the rapid assessment of aquatic toxicity[J]. ISA Transactions, 1981, 20(1): 29-33.
- [6] 国际标准化组织. 水质 水样对弧菌类光发射抑制影响的测定(发光细菌试验)第3部分: 冻干细菌(费氏弧菌)法: ISO 11348—3: 2007[S/OL]. [2024-05-03] <https://www.antpedia.com/standard/5159812.html>.
- [7] 胡莉莉. 利用发光细菌测定污染水体的生物毒性[J]. 中国环境监测, 1989, 5(3): 63-64.
- [8] 国家环境保护局. 水质 物质对蚤类(大型蚤)急性毒性测定方法: GB/T 13266—91[S]. 北京: 中国标准出版社, 1991.
- [9] 生态环境部. 水质 急性毒性的测定 斑马鱼卵法: HJ 1069—2019[S]. 北京: 中国环境出版集团, 2019.
- [10] 江苏省环境监测协会. 水质 急性毒性 高通量发光细菌测试方法: T/JSEMA 3—2023[S/OL]. (2024-05-03). <https://www.antpedia.com/standard/1489410235-9.html>.
- [11] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. 微生物诱变育种致遗传物质损伤强度测定 Umu法: GB/T 40186—2021[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021.
- [12] 曾露雪, 边子俊, 宁周神, 等. 稀土铽对斑马鱼急性毒性及抗氧化酶活性的影响[J]. 有色金属科学与工程, 2024, 15(4): 623-632.
- [13] 郑智轩, 崔芳溪, 王子宇, 等. 水中与冰中多环芳烃衍生物对发光细菌(*Vibrio fischeri*)的光修饰毒性[J]. 环境化学, 2024, 43(8): 1111-1120.
- [14] 孟顺龙, 陈锋, 陈曦, 等. 灭多威对藻-蚤-鱼典型水生食物链生物的急性毒性研究[J]. 中国农学通报, 2023, 39(23): 121-126.
- [15] 戚东辉, 马晓妍, 林雨, 等. 复合人工湿地对污染河水中新污染物及生物毒性去除特性研究[J]. 环境科学学报, 2024, 44(6): 132-140.
- [16] 赵旭, 陈希超, 党垚, 等. 珠三角工业废水与接纳水体的遗传毒性与雌激素效应[J]. 中国给水排水, 2021, 37(21): 69-74.
- [17] 肖三华, 罗兰, 乔茜, 等. 江苏某地长江水源饮用水中有机物致突变性比较[J]. 卫生研究, 2017, 46(3): 476-480.
- [18] 王倩, 徐同广, 王天威, 等. 基于脱细胞、细胞和体内彗星试验的全氟辛酸致DNA损伤研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2023, 35(7): 981-987.
- [19] 夏宇凡, 彭礼洪, 孟范平, 等. 基于海洋硅藻的碳九芳烃9种组分急性毒性测定与评价[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2023, 53(8): 44-55.
- [20] 袁尧, 张灵汉, 周楠, 等. 2,6-二叔丁基-4-硝基苯酚与镉(II)联合暴露对水生生物急性毒性的影响及生态风险评估[J]. 中国环境科学, 2023, 43(3): 1429-1437.
- [21] 傅金祥, 何祥, 谷文艺, 等. 垃圾渗滤液及膜滤浓缩液生物毒性研究[J]. 沈阳建筑大学学报(自然科学版), 2017, 33(4): 722-729.
- [22] 戴迪楠. 基于生物毒性检测的污水水质安全评价及污水深度处理生物毒性削减特性的研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2017.