

应用梨形四膜虫快速监测水质初探

王 子 昕

(上海石化总厂水质净化厂)

梨形四膜虫 (*T. pyriformis*) 是一种分布广泛、取材容易、培养方法简单的单细胞原生动物。应用其急性或慢性毒性试验的原理来快速监测水质,不但方法简便,而且成本低廉,因此很有希望成为一种理想的水质监测生物。

已有文章报道过重金属对四膜虫的半致死的毒性作用^[1],对四膜虫细胞分裂的影响^[2]。本试验以纯培养的梨形四膜虫受单一的有机或无机毒物污染后所引起的急性致死结果为依据,探讨毒物浓度与致死时间的关系,同时结合实际污水处理生产来评价梨形四膜虫运用于快速监测污水的可行性,并以毒物浓度对其生长抑制的试验为基础,探讨梨形四膜虫的生长数量与污水的有机污染指标 BOD₅ 和 COD_{Cr} 的关系。

材 料 与 方 法

梨形四膜虫取材于华东师大生物系原生动物教研室的纯系培养的虫株。培养方法可参照华东师大生物系编写的《原生动物研究技术》或其他有关文献^[1]。本试验大部分采用四膜虫的全致死为毒性效应指标,个别的试验采用虫体团缩成球形或者虫体运动停止两项敏感指标,具体方法和试验条件与步骤如下:

将置于 28℃ 恒温箱中培养了 24h 的 100 ml 四膜虫培养液取出,用移液管吸取 1ml 虫液,(虫液浓度为 1.2×10^4 个/ml 左右)注入含不同试验毒物浓度的试液中,试液的容积为 9 ml。然后迅速摇匀试管中的含虫溶液后,立刻倒入 5cm 的培养皿中,将培养皿置于

体视显微镜下,观察皿内的四膜虫全致死、团缩形变成球形或运动停止这三项敏感指标中的一项,同时用秒表计出从虫液加入试管到敏感指标的出现时间,设不加毒物的蒸馏水作为空白对照,以排除可能由于蒸馏水所引起的试验误差。试验的环境温度为 15~20℃。

毒物对四膜虫的慢性生长抑制试验的方法是:先在各支 10ml 试管内配制含不同毒物浓度的四膜虫培养基,各培养基的容积均为 10ml,然后在各支试管中加入二滴四膜虫虫液(每滴液为 0.03ml,其虫体浓度为 1.2×10^4 个/ml 左右,下同)以不含毒物的培养基为空白对照,也加入二滴上述虫液,然后将这些试管放入 28℃ 的恒温箱中培养 24h 后取出,用微吸管从试管中均匀地吸出一滴虫液,(0.02ml)置于凹玻片上,用一滴(0.04ml)罗哥氏碘液固定后,在体视显微镜下直接计数。这项工作重复三次,取平均值作为计数的结果,用下列公式:

相对生长抑制% = (有毒培养液 1 滴中虫体的平均个数/空白对照培养液 1 滴中虫体的平均个数) × 100%, 求出不同毒物浓度对梨形四膜虫的生长抑制%。

在探索污水中 BOD₅ 或 COD_{Cr} 浓度与四膜虫生长数量的关系试验中,用已知浓度的 BOD₅ 或 COD_{Cr} 的原污水稀释成不同的试验浓度后,分别加入二滴上述的四膜虫虫液,按上述方法进行培养、计数。

试验用的污水分别取自上海石化总厂水质净化厂的混合进水、处理后的出水、化工二厂的出水、曹杨污水厂的进水和淀山湖啤酒

表 1 有毒物浓度及使其梨形四膜虫出现敏感指标的时间

甲 醇	有毒物浓度 (mg/l)	280	225	165	125	110	88	65	55	40	30
	全致死时间 (min)	1	2	3	4	4.5	6	7	10	14	24
氟 化 钾	有毒物浓度 (mg/l)	600	400	300	200	150	120	100			
	全致死时间 (min)	1	1.5	3	4.5	5.5	11	25			
	有毒物浓度 (mg/l)	100	80	60	40	20					
	团缩时间 (min)	2	4	10	16	20					
硫 化 钠	有毒物浓度 (mg/l)	160	135	120	100	80	60				
	全致死时间 (min)	1	2	3	4	6	10				
丙 酮 氯 醇	有毒物浓度 (mg/l)	10	9.5	9	8.4	8	6	4			
	全致死时间 (min)	3.5	5.5	6.5	13.5	17	19.5	30			
游 离 氯	有毒物浓度 (mg/l)	44	39	30	20	16					
	制止运动时间 (min)	1	1.5	2	3.5	12					
pH	pH 值	1	2	3	4	5	6—8	9	10	12	
	全致死时间 (min)	2 秒内			0.5	1.5	不致死	2	1	2 秒内	

表 2 运用梨形四膜虫 5min 全致死指标监测氟化物 (CN⁻ 计) 和 pH 值

采 样 地 点	上海石化总厂水质净化厂污水进水口采样点														化工二厂	
	沉砂池														3 号排污口	E 排污口
采样时间	10:30	11:00	11:30	12:00	13:00	14:00	14:30	15:00	15:30	16:00	16:30	17:00	17:30	18:00	18:30	19:00
致死与否	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CN ⁻ (mg/l)	2.94	2.85	64.8	42.2	13.9	4.9	1.77	1.59	1.28	6.06	2.40	1.47	1.37	14.2	7.3	17.5
pH	9	9	8	8	7	7	8	9	7	6	6	6	6	8	2	7

注: + 表示全致死 - 表示不致死

厂的出水。

结 果 与 讨 论

表 1 列出了四膜虫在不同浓度的甲醛、氰化钾、硫化钠、丙酮氰醇、游离氯等条件下出现全致死、团缩成球形(原来为梨形)及运动停止三个指标所需要的时间。

从表 1 中可以看出,四膜虫的全致死、团缩、运动停止的出现时间与各毒物的浓度成负相关趋势,运用直线回归法处理这些指标出现的时间与其相应的试验毒物浓度便可获得如图 1 所表示出的甲醛和氰化钾使四膜虫全致死的浓度与时间的近似直线。(浓度与时间均用常用对数表示)图中 Y_1 和 t_1 是甲醛的浓度和使四膜虫全致死的时间; Y_2 和 t_2 是氰化钾的浓度和使四膜虫全致死的时间。

应用上述原理就有可能在很短时间内根据四膜虫达到敏感指标的时间快速地估计出许多毒物的浓度范围,这对于各工厂排污口的频繁监测、及时地报警工作具有现实意义。另外,在对大批水样进行化学分析前先用此法作初步的筛选,剔除低于一定指标的水样,可获得省工、省料的经济效益。

表 2 列出运用此法对上海石化总厂水质净化厂进水口、化工二厂排污口的一次氰化钾浓度和 pH 异常情况下的监测结果。方法是:同一水样取三份,每份 10ml 放入试管中,然后注入 1ml 上述四膜虫虫液,摇匀后,放置 5min 然后倒入 5cm 培养皿内在体视显微镜下观察其全致死与否,以两份以上相同的结果为最后结果。虽然受水样条件的限制无法得出从几到几百 mg/l 范围内的 CN^- 浓度与四膜虫 5min 内致死与否的数据或 pH2—10 范围内的数值与四膜虫 5min 内致死与否的数据,但根据表 2,当四膜虫在 5min 内全致死,必定是 pH 值 ≥ 9 或 ≤ 2 ; $CN^- \geq 42.2\text{mg/l}$ 。可以设想,如经常测定四膜虫的全致死时间和相应的 pH 值或 CN^- 浓度,便可获得一

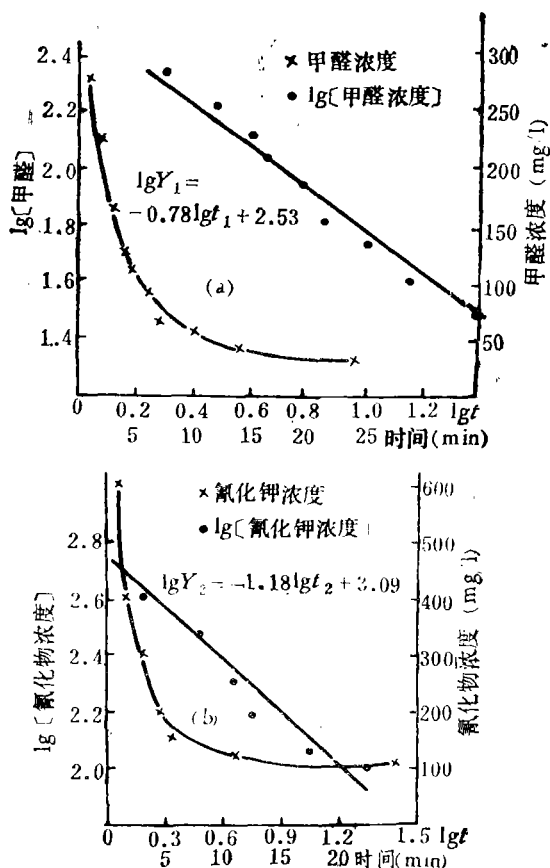


图 1 甲醛、氰化钾浓度与四膜虫全致死时间关系

定的监测范围内虫体的致死时间和相应的监测物浓度之间的关系。

目前很多水质的地面排放标准是按鱼类的 LC_{50} 值乘上 0.1、0.2 或 0.01 等应用系数而得出的结果作为评价标准^[3]。由于用鱼类 LC_{50} 监测水质除了投资大、用材昂贵外,还受材料的季节性和鱼龄、种类限制,因而寻找一种简单、廉价的生物监测方法,具有较大的实际意义。图 2 表示出甲醛、氰化钾、游离氯、硫化钠的浓度对梨形四膜虫生长抑制的情况。从图中可以清楚地看出,在 1~10mg/l 范围内,上述四种物质的浓度与梨形四膜虫相对生长抑制(%)近似于线性关系。运用插入法,即先连接靠近 50% 相对生长率附近两点,然后经纵坐标轴上的 50% 这一点向横坐标引平行线,该平行线与上述的两点之间的

表 3 四膜虫 50% 相对生长值与地面排放标准或鱼类 LC_{50}

毒物名称	四膜虫 24 个小时 50% 相对生长所 对应毒物浓度	应用系数值			地面排放标准 (mg/l)	鱼类 LC_{50} 测试的 毒物浓度 (mg/l)
		$\times 0.1$	$\times 0.2$	$\times 0.01$		
甲 醛	5.4mg/l	0.54			0.50	
氯化钾	8.8mg/l			0.09	0.10	
游离氯	8.6mg/l			0.09		96小时 LC_{50} 0.09—0.30
硫化物	5.2mg/l		0.26			24小时 LC_{50} 0.32

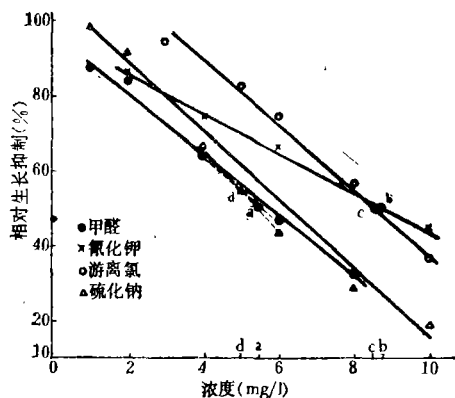


图 2 毒物浓度与四膜虫相对生长抑制(%)的关系

连线相交,分别得到 a、b、c、d 四个点,这四个点在横坐标上的投影点所示的值表示四膜虫 24 小时 50% 相对生长率,如图 2 所示.将所求得的值分别乘以 0.1、0.01、0.2 则结果接近于该毒物的地面排放标准或鱼类的 LC_{50} ,如表 3 所示.

可以看出,用四膜虫 50% 相对生长抑制浓度指标对水质进行生物监测,存在着一定的可行性.

表 4 表示出上海石化总厂水质净化厂一日内平均进、出水浓度的化学指标,虽然出水中各项指标基本上达到国家排放标准,以往该厂的鱼类 LC_{50} 试验也证实了出水符合水质的生物学指标,但这些微量毒物的综合毒性效应仍然存在,从图 3 中可以发现,100% 含量的出水对四膜虫的绝对生长抑制率达 44%,即使将该出水稀释 10 倍,仍存在 9% 的绝对抑制率.

生物需氧量 (BOD_5) 和化学需氧量

表 4 上海石化总厂水质净化厂混合进水、出水指标

水质成分	进水 (mg/l)	出水 (mg/l)	水质成分	进水 (mg/l)	出水 (mg/l)
COD_{Cr}	488	98.4	乙醛	2.05	0
BOD_5	270	26.7	丙酮	21.5	0
CN^-	0.13	0.05	乙醇	12.0	0
硫化物	1.92	0.13	油	4.37	0.41
氨氮	57.5	34.1	酚	0.15	0
硫氰根	15.6	2.78	甲醛	5.62	0
pH	7.55	7.65			

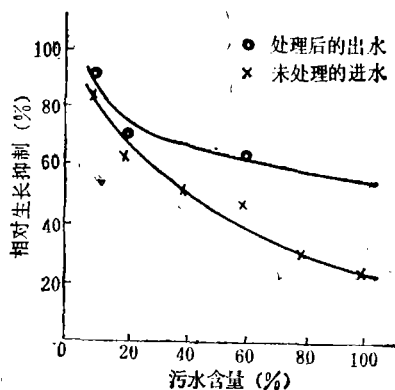


图 3 石化污水对四膜虫的生长抑制

(COD) 是目前评价水质有机污染的两项最常用的指标.四膜虫是一种既能以细菌为食又能利用有机物的原生动物,因此有可能找出其增长数量与 BOD_5 或 COD_{Cr} 的关系.图 4a 表示出上海曹杨污水厂进水中 BOD_5 浓度与四膜虫生长数量的关系.从图中可以看出,当 BOD_5 浓度为零时,经 24h 的培养后,

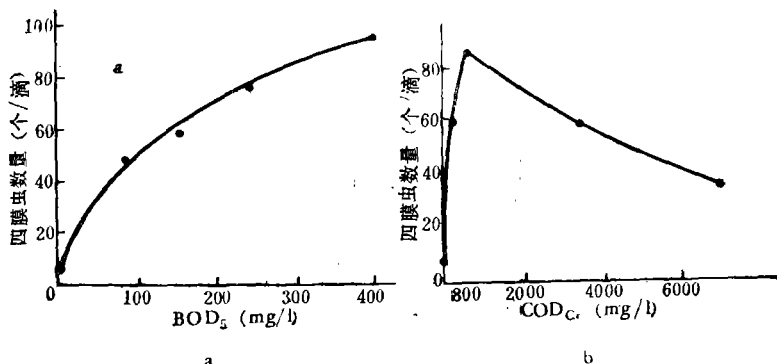


图 4 BOD_5 、 COD_{Cr} 值与梨形四膜虫生长数量的关系

虫数只有 4 个/滴(每滴为 0.02 ml, 下同), 随着 BOD_5 增加, 虫数也增加, 当 BOD_5 达 400 mg/l 时, 虫数达 94 个/滴。同样, COD_{Cr} 与四膜虫的生长量也有一定的规律, 图 4b 表示淀山湖啤酒厂废水的 COD_{Cr} 浓度与四膜虫生长量的关系, 当 COD_{Cr} 在 0~800 mg/l 范围内, 四膜虫的生长量与 COD_{Cr} 成正比关系, 而在 800~7000 mg/l 范围内却成反比关系, 这可能是由于啤酒废水中含有乙醇, 在较低浓度范围内, 乙醇可作为四膜虫或其食料菌的营养, 从而促使四膜虫的增长; 而较高浓度的啤酒废水中含乙醇浓度较高, 因而抑制了四膜虫及其食料菌的生长, 从而出现了四膜虫的生长量随 COD_{Cr} 上升而下降的趋势。

由此可见, 四膜虫的生长量与污水浓度以及成份的关系较为复杂, 因此能否用四膜虫的生长量来评价水体的有机污染, 尚需要做深入的探讨。

致谢: 华东师范大学生物系原动物教研室庞延斌教授为本试验提供许多宝贵意见, 沈锡琪老师提供试验用梨形四膜虫材料, 在此深表谢意。

参 考 文 献

- [1] Tingler, L. E., J. *Protozool*, 20, 301—304(1973).
- [2] 张志学等, 中国环境科学, 1(6), 78—80(1981).
- [3] 美国环保局编(许宗仁译), 水质评价标准, 中国建筑工业出版社, (1976).

• 环境信息 •

无废弃副产物的有毒废油再生工艺

在加利福尼亚州纽瓦克, 一座由动力学技术组设计和建造、由埃弗格林石油公司(加利福尼亚州欧文)运营的装置, 正在对有毒废油进行再加工而不产生废副产物。这种废油通过一种使用“薄膜蒸发器”的蒸馏工艺净化。回收的产品油大部分投放市场供润滑之用。污染物被脱除并转化成沥青熔体, 可用以制造防水材料。该装置的设计生产能力为 1000 万加仑/年。收入的废油含 10% 水, 这部分水被脱除

并净化。每 100 桶收入的原废油生产 70 桶润滑油, 6 桶汽油(类似于 2 号燃料油), 8 桶沥青熔体。收入的废油, 约 6% 消耗于厂内供能源之用。工厂经理说, 只向空气中排放少量水蒸气。

丁卯摘译自 *ES&T*, 21(1), 6
(1987)。