

# 铜对颤蚓的快速灭活机制及其在水厂应用分析

黄廷林<sup>1</sup>, 聂小保<sup>1,2\*</sup>, 张金松<sup>3</sup>, 李伟<sup>1</sup>, 李晓钰<sup>1</sup>

(1. 西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 西安 710055; 2. 长沙理工大学水利学院, 长沙 410076; 3. 深圳水务集团, 深圳 518031)

**摘要** 采用对苯二甲酸(terephthalic acid, TA)作为羟基自由基(hydroxyl radical, ·OH)捕捉剂, 利用荧光分光光度法对铜暴露 30 min 后颤蚓体内·OH浓度进行测定, 并结合灭活率、过氧化氢酶(catalase, CAT)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)等指标测试, 研究了铜对颤蚓的灭活效果及毒性作用机制。结果表明, 铜对颤蚓具有高效快速灭活作用, 1 mg·L<sup>-1</sup>暴露条件下灭活率即可达 100%; 其主要灭活机制之一是诱导颤蚓体内·OH增加, 继而·OH对颤蚓产生氧化胁迫和脂质过氧化。0.05 mg·L<sup>-1</sup>暴露条件下, ·OH浓度即可上升 69.2%, 铜可引起颤蚓 CAT 活性显著降低, 对 CAT 活性具有抑制作用, 氧化胁迫作用明显; 0.05~0.25 mg·L<sup>-1</sup>的暴露条件下 MDA 相对浓度的增加表明铜对颤蚓产生了脂质过氧化作用。颤蚓灭活率、·OH、CAT 和 MDA 等随铜浓度的变化表明, 铜的快速灭活作用并非由·OH本身产生的氧化胁迫和脂质过氧化单独完成。铜灭活用于水厂颤蚓风险控制可行性分析表明, 反冲洗前采用 1 mg·L<sup>-1</sup>的铜溶液浸泡滤池 30 min, 引起的残留铜浓度仅为 4.3 μg·L<sup>-1</sup>, 远低于生活饮用水卫生标准规定的 1 mg·L<sup>-1</sup>。

**关键词** 颤蚓; 铜; 灭活; 羟基自由基(·OH); 过氧化氢酶(CAT); 丙二醛(MDA)

中图分类号: X174; TU991.25 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2010)02-0331-07

## Rapid Inactivation Mechanism of Copper to *Tubifex tubifex* and Its Application Analysis in Water Plant

HUANG Ting-lin<sup>1</sup>, NIE Xiao-bao<sup>1,2</sup>, ZHANG Jin-song<sup>3</sup>, LI Wei<sup>1</sup>, LI Xiao-yu<sup>1</sup>

(1. School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture & Technology, Xi'an 710055, China; 2. School of Water Conservancy, Changsha University of Science & Technology, Changsha 410076, China; 3. Shenzhen Water (Group) Co. Ltd., Shenzhen 518031, China)

**Abstract** The fluctuation of ·OH concentration in *Tubifex tubifex* exposed to copper was investigated by Fluorospectrophotometry using terephthalic acid (TA) as ·OH trapping agent. Catalase (CAT) activity in *T. tubifex* was quantified after 30 minutes contact with copper. Inactivation effect and lipid peroxidation produce malondialdehyde (MDA) of *T. tubifex* were also studied. Results showed that copper had significant inactivation effect on *T. tubifex*. 100% inactivation efficiency was obtained when copper levels was 1 mg·L<sup>-1</sup>. One of the inactivation mechanisms is inducing ·OH increase in *T. tubifex*, which results in oxidative stress and lipid peroxidation. The increment of ·OH concentration was 69.2% when copper lever was 0.05 mg·L<sup>-1</sup>. The significant decrease of CAT activity showed copper could inhibit CAT activity to increase its oxidative stress to *T. tubifex*. Between 0.05-0.25 mg·L<sup>-1</sup>, copper induced significant MDA increase, which meant lipid peroxidation. The changes of inactivation efficiency, ·OH, CAT and MDA showed that the inactivation effect of copper on *T. tubifex* did not result only from oxidative stress and lipid peroxidation induced by ·OH itself. Feasibility analysis of using copper to inactivate *T. tubifex* for water plant showed when sand filter was immersed by 1 mg·L<sup>-1</sup> copper for 30 min and then began backwashing, residual copper concentration was only 4.3 μg·L<sup>-1</sup>.

**Key words** *T. tubifex*; copper; inactivation; hydroxyl radical (·OH); catalase (CAT); malondialdehyde (MDA)

颤蚓是自然水体中一类常见的底栖类寡毛纲类动物, 在全球淡水水域内广泛分布, 由于其耐污能力较强, 往往是大多数水体中底栖动物的优势种属<sup>[1]</sup>。水体的富营养化使得颤蚓在水库、湖泊类水源水体中大量孳生繁殖, 进入水厂后, 由于其穿透能力较强, 可以穿透整个净水工艺进入供水管网<sup>[2,3]</sup>。尽管目前并没有被证实颤蚓等蠕虫会威胁到公众健康<sup>[4]</sup>, 但大多数人常常把这些生物的存在和饮用水不卫生联系起来, 引起人们对水质信心的下降。因此水厂必须采取有效的颤蚓风险控制技

术, 避免水厂颤蚓及其虫卵的泄漏。在原水化学预氧化中投加液氯、高锰酸钾、二氧化氯和臭氧等氧化剂, 利用氧化剂的强氧化性对颤蚓进行灭活, 是水厂常用的颤蚓风险控制技术之一。由于颤蚓等生物体结构复杂, 其对氧化剂的耐受能力远高于细菌等

收稿日期 2009-03-19; 修订日期 2009-08-03

基金项目: 国家重大科技专项课题(2009ZX07423-003); 国家科技支撑计划项目(2006BAJ08B08)

作者简介: 黄廷林(1962~), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为水质微污染控制与水资源保护, E-mail: huangtinglin@xauat.edu.cn

\* 通讯联系人, E-mail: niexb1871@sina.com

微生物<sup>[5]</sup>。为此有必要对其它形式的颤蚓化学灭活方法进行探索。颤蚓对铜的耐毒性研究表明<sup>[11]</sup>, 50  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  暴露条件下, 虽未见颤蚓死亡, 但已表现出明显的毒性作用, 体内过氧化氢酶(catalase, CAT)活性显著增加, 与此同时谷胱甘肽转移酶(glutathione-S-transferase, GST)的减小和谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)的增加也非常明显。因此在水厂可接受范围内适当提高铜的浓度, 对颤蚓进行灭活, 可能是颤蚓风险控制的有效方式之一。

大量研究表明<sup>[1,6-11]</sup>, 众多污染物质对颤蚓的毒性或灭活作用往往都是通过破坏颤蚓体内的自由基平衡, 产生大量具有强氧化能力的中间产物来实现。上述中间产物包括活性氧中间体、氧自由基等, 它们可与细胞中很多重要的大分子物质反应, 对颤蚓产生氧化胁迫, 造成细胞脂膜过氧化、DNA 断裂并最终导致细胞的死亡。由于含氧自由基, 特别是羟基自由基(hydroxyl radical,  $\cdot\text{OH}$ )具有很高的反应活性, 在水溶液中其半衰期甚至小于 1ns<sup>[12]</sup>, 因此鲜见关于定量测定生物体内  $\cdot\text{OH}$  的研究报道。本研究以对苯二甲酸(terephthalic acid, TA)为自由基捕捉剂, 对铜暴露条件下颤蚓体内  $\cdot\text{OH}$  浓度进行测定, 并结合颤蚓的灭活效果、CAT 活性和脂质过氧化产物丙二醛(malondialdehyde, MDA)测定结果, 进行铜对颤蚓的灭活机制研究, 并对其应用于水厂进行可行性分析。

## 1 材料与方 法

### 1.1 仪器与试剂

仪器: Avanti J-26xp 落地高速冷冻离心机, 购自美国 Beckman coulter; FP6500 荧光分光光度计, 购自日本 Jasco; DR5000 紫外可见分光光度计, 购自美国 HACH; GA 96-II 超声波细胞粉碎机, 购自无锡上佳生物科技有限公司。试剂: TA 和 Tris 购自 Sigma 公司, 其余均为分析纯。

### 1.2 试验材料

成熟颤蚓采自西安汤峪水库底泥, 实验室进行放大培养。培养箱直径 500 mm, 高 200 mm, 基质为汤峪水库表层松软底泥, 基质厚度 100 mm, 上覆水为曝气自来水, 水深 80 mm, 溶解氧浓度为 6~8  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 为 6.5。每天换水 1 次。

每次试验时, 从培养箱取出部分底泥, 平摊于装有少量蒸馏水的搪瓷托盘, 用包裹硅胶的塑料镊子挑取出大小基本一致的颤蚓, 直至所需数量, 剩

余颤蚓弃用。在 500mL 的烧杯中投加不同浓度的硫酸铜溶液, 折合铜浓度分别为 0.05、0.1、0.25、0.5、1、2 和 4  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。每个烧杯中加入 30 条颤蚓, 接触时间为 30 min。每个浓度均设 3 组, 其中 1 组用于 CAT 活性和 MDA 测定, 其余 2 组用于  $\cdot\text{OH}$  和灭活率的测定。

### 1.3 灭活率测定

接触时间结束, 将颤蚓转移至培养皿, 用蒸馏水洗净并浸泡 30 min 后, 测定灭活率。颤蚓的死亡标准为玻璃棒轻压颤蚓的尾部 3 次后不做“8”运动<sup>[13]</sup>, 同时记录颤蚓的运动及身体变化情况, 包括抱团现象、颤动剧烈程度、断尾现象及身体溶解等。

### 1.4 $\cdot\text{OH}$ 、CAT 活性和 MDA 测定

$\cdot\text{OH}$  的测定以 TA 作为自由基捕捉剂。接触时间完毕后, 用胶头吸管将颤蚓转移至 15 mL 尖头离心管, 并用预冷去离子水清洗。每个离心管中加入 5 mL 的 5  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  TA 磷酸缓冲液(0.05  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH = 7.4), 于超声波细胞粉碎机同步完成自由基捕捉和匀浆。超声波细胞粉碎机参数设置: 功率 150 W、粉碎时间 5 min。匀浆液于 4℃、10 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  下离心 10 min, 取上清液测定荧光强度。荧光光度计激发波长 326 nm, 发射波长 432 nm, 激发、发射狭缝宽度均为 5 nm。

CAT 活性和 MDA 的测定。匀浆操作: 颤蚓的清洗同  $\cdot\text{OH}$ , 清洗完毕后, 加入预冷的 5mL Tris-HCl 缓冲液(0.01  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Tris, 0.25  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖, 0.1  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDTA, pH = 7.5), 冰浴条件下超声波粉碎匀浆 3 min, 粉碎功率 100 W。取匀浆液 1 mL 用于 MDA 测定, 其余匀浆液 4℃、10 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  下离心 20 min, 上清液即为酶提取液, 用于测定 CAT 活性。MDA 测定: 在 1 mL 匀浆液中, 按顺序依次加入 8.1% SDS 溶液 1 mL、20% 醋酸缓冲溶液(pH = 3.5) 7.5 mL、1% TBA 溶液 7.5 mL 和蒸馏水 5 mL, 将上述反应液于 90℃ 水浴 60 min, 冷却后 5 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 15 min, 取上清液在 532 nm 处测吸光度值。CAT 活性测定: 按文献[14]的方法, 稍作改进, 离心完毕后, 上清液于室温(16℃ ± 2℃)放置 5 min 再进行测定, 紫外可见分光光度计扫描时间间隔 20 s, 扫描时间 3 min。

### 1.5 数据分析

除灭活率测试外, 其余试验均重复 3 次, 并设对照组。试验结果表示为平均数 ± 标准误差(mean ± SDE)。SPSS 16.0 软件进行统计分析, *t*-test 检验对照组与实验组之间的差异显著性, *p* < 0.05 表明

差异显著,  $p < 0.01$  表明差异极显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 颤蚓灭活效果

铜灭活颤蚓实验结果见图 1。铜浓度为  $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 颤蚓开始出现死亡现象, 此后灭活率随着铜浓度的增大而增大, 呈现明显的剂量效应, 并在  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时达到了 100%。铜浓度  $< 0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 颤蚓分散于烧杯底部, 并作剧烈颤动, 没有出现课题组在研究液氯灭活时的抱团现象, 说明铜对颤蚓的毒性比液氯更剧烈, 颤蚓还来不及抱团, 中毒症状就明显体现。铜浓度为  $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 部分颤蚓出现了“断尾”现象: 首先是整个身体的收缩, 然后是尾部体节开始蜷缩成球状, 数个体节串联在一起呈念珠状, 最后念珠串脱落。Bouche 等<sup>[7,8]</sup>在研究重金属对颤蚓的毒性作用时也观察到同样的现象。铜浓度为  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 大部分颤蚓死亡, “断尾”现象更加明显, 并有部分颤蚓身体开始溶解, 呈灰白色絮状。浓度超过  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  后, 颤蚓全部死亡, 大部分颤蚓身体溶解。

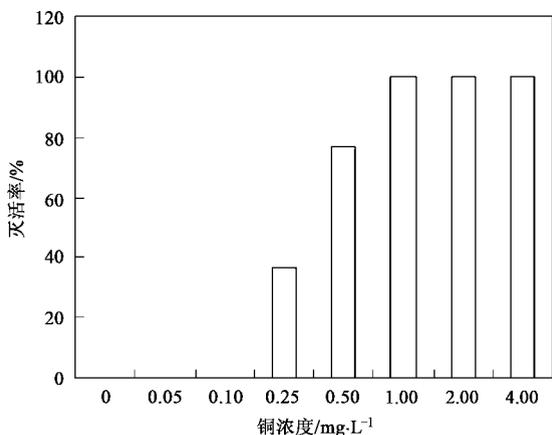


图 1 铜浓度对颤蚓灭活率的影响

Fig. 1 Effect of copper level on inactivation efficiency of *T. tubifex*

### 2.2 铜对·OH的诱导效应

·OH浓度的唯一直接测定方法是电子顺磁共振法(electron spin resonance, ESP)<sup>[15]</sup>, 本研究中采用 TA 作为自由基捕捉剂, 利用·OH与 TA 反应生成的唯一产物——2-羟基对苯二甲酸(2-OH-TA)的荧光强度来间接表示·OH浓度。由于 TA 苯环结构上的 2 个羧基位置对称, ·OH与苯环结构上其余任何一个不饱和碳反应, 其反应产物都只能是 2-OH-TA。在生物组织内不存在 TA 和 2-OH-TA, 并

且 TA 没有荧光特性, 而 2-OH-TA 具有很强的荧光特性, 上述特点使得在利用 TA 作为自由基捕捉剂测定·OH浓度时, 体系无需进行色谱分离, 可以直接进行荧光强度测定, 用于间接表示·OH浓度<sup>[16]</sup>。

由图 2 可知, 与对照组相比, 各个铜浓度下颤蚓体内的·OH浓度均有显著增加( $p < 0.05$ ), 但增加幅度随浓度变化并没有出现明显的剂量效应。0.05  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时的增幅为 69.2%, 0.1  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时增幅下降为 49.3%。之后随着铜浓度增加·OH浓度有缓慢增加, 但不明显, 甚至在 2  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  处增幅还稍有下降。上述结果说明铜在 0.05  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时对·OH已产生明显诱导作用, 而在 0.1  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 可能由于颤蚓对铜产生了一定程度的应激作用, 诱导作用受到抑制, 此后继续增加铜浓度, 诱导效应可以得到进一步发挥, 但不明显。

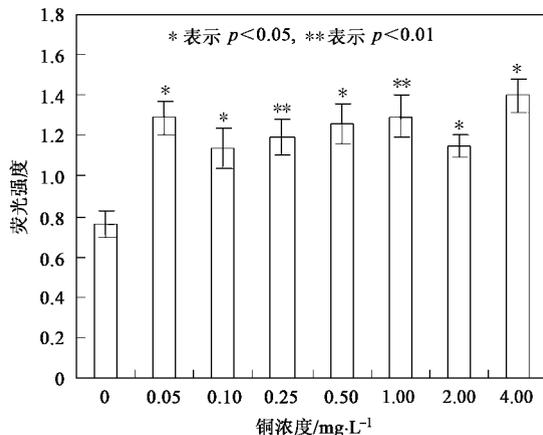


图 2 铜浓度对·OH的影响

Fig. 2 Effect of copper level on ·OH of *T. tubifex*

### 2.3 CAT 活性变化

CAT 的定义为每 min 内单位质量蛋白质所能降解  $\text{H}_2\text{O}_2$  的物质的量。由于试验中部分铜浓度下颤蚓出现了身体溶解现象, 无法准确测定颤蚓的蛋白质含量, 但各浓度下颤蚓的数量均为 30 条, 且均为同一批次, 大小基本一致, 故可用单位时间内吸光度的变化值来间接表示 CAT 活性。本研究采用单位时间内吸光度的变化值来表示 CAT 相对活性。

由图 3 可知, CAT 相对活性随铜浓度增加并无明显变化规律, 除 0.5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和 2.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  处外, 其余浓度下颤蚓 CAT 相对活性与对照组相比均有显著降低( $p < 0.05$ ), 最大降幅发生在 1.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  处, 为 27.2%, 表明铜对 CAT 活性具有明显的抑制作用。Mosleh 等<sup>[1]</sup>和 Ferreira-Cravo 等<sup>[17]</sup>

在研究低浓度长时间暴露条件下铜对颤蚓的氧化胁迫作用时发现,铜可诱导颤蚓体内 CAT 等抗氧化酶活性增加,以有效清除  $\cdot\text{OH}$  前驱物  $\text{O}_2^-$  和降解  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 增强颤蚓对铜的耐毒性,与本次试验中观察到的 CAT 活性降低结果相反. 经分析,认为这种差异主要是由于铜暴露条件不同所致,虽然低浓度长时间暴露条件下,铜可以诱导 CAT 活性增加,但本次试验进行的是高浓度短时间条件下铜对颤蚓的接触灭活,铜浓度较高时, CAT 作为一种含有丰富巯基的蛋白酶,其巯基或其他活性基团会与铜反应,从而抑制 CAT 活性<sup>[18]</sup>. 此外, Mosleh 等<sup>[1]</sup> 和 Ferreira-Cravo 等<sup>[17]</sup> 的实验中未发生颤蚓死亡现象,而本次试验中铜浓度超过  $0.25\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  后,颤蚓死亡现象明显,这也可能导致 CAT 活性的变化差异. 由于铜对 CAT 活性同时具有诱导和抑制作用,以及颤蚓死亡对 CAT 活性的影响,造成高浓度短间接接触条件下颤蚓 CAT 活性变化随铜浓度增加无明显规律.

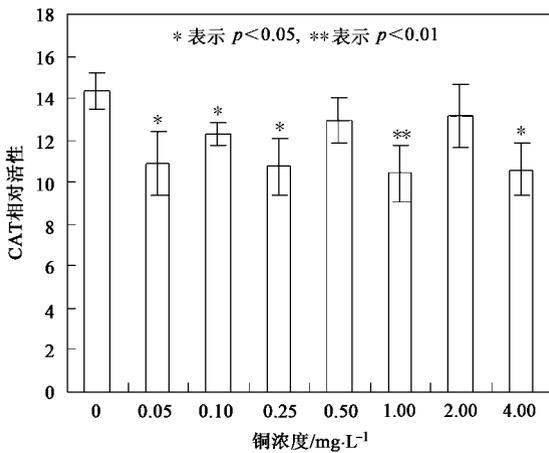


图3 铜浓度对 CAT 活性的影响

Fig. 3 Effect of copper level on CAT activity of *T. tubifex*

## 2.4 MDA 浓度变化

在自由基对生物细胞的伤害中,最容易受到攻击的部位为不饱和脂肪酸,尤其是多元不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids, PUFA)<sup>[19]</sup>. PUFA 与自由基反应,首先是脂肪酸断裂,接着生成一系列的中间产物,并最终生成 MDA 及其异构物,因此 MDA 及其异构物的总浓度可以直接反映出生物体由于自由基引起的脂质过氧化伤害程度.

图4反映了颤蚓体内 MDA 随铜浓度变化情况. 铜浓度为  $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,与对照组相比,颤蚓 MDA 相对浓度极显著增加 ( $p < 0.01$ ),增幅为

64.3%,表明此时颤蚓已受到明显的脂质过氧化伤害. 此后随着铜浓度的增加,MDA 相对浓度有所降低,但这种降低并不一定意味着脂质过氧化伤害作用减小,因为增加的 MDA 很可能发生了异构化生成  $\beta$ -hydroxyacrolein,  $\beta$ -hydroxyacrolein 可以与 DNA 碱基反应,对 DNA 造成伤害<sup>[20]</sup>,继续产生脂质过氧化作用.  $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  前 MDA 相对浓度随铜浓度增加而降低可能正是其异构化现象导致.  $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  后,MDA 相对浓度趋于稳定,与对照组相比已无显著差异 ( $p > 0.05$ ),表明此时铜已不能继续引起 MDA 浓度的增加,或即便仍能继续增加,增加量也完成了异构化,铜对颤蚓的脂质化作用基本结束.

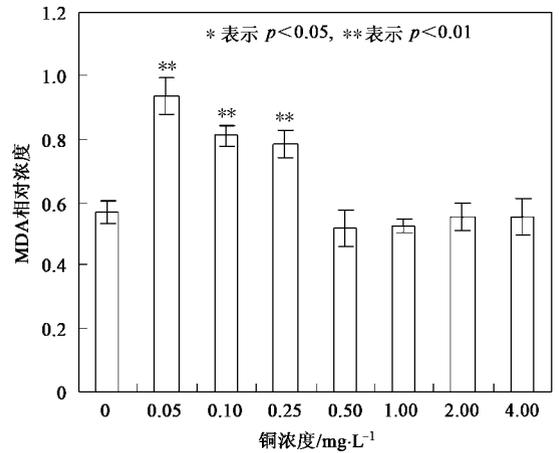


图4 铜浓度对 MDA 的影响

Fig. 4 Effect of copper level on MDA of *T. tubifex*

## 3 讨论

### 3.1 铜对颤蚓的快速灭活机制

生物体内多种自由基的产生与具有氧化还原活性的金属有关<sup>[21]</sup>. 细胞内的氧化还原电位主要由铁(或铜)氧化还原电对决定,并被稳定在一个严格的生理极限范围内. 然而在一些胁迫条件下,某些含铁(或铜)分子可能释放出自由铁(或自由铜),从而与体内的  $\text{H}_2\text{O}_2$  发生 Fenton 反应,生成  $\cdot\text{OH}$ <sup>[22-24]</sup>. 众多研究表明<sup>[1,10,11]</sup>,铜对生物组织的毒性正是通过破坏其 Fenton 反应平衡,产生过量的  $\cdot\text{OH}$  从而造成氧化胁迫和脂质过氧化来实现. 实验中观察到了 CAT 活性和 MDA 浓度随铜浓度增加的变化,说明铜对颤蚓产生了氧化胁迫和脂质过氧化,但与低浓度时 Mosleh 等<sup>[1]</sup> 观察到的 CAT 活性随铜浓度呈线性增加有所差异,高浓度短间接

触条件下颤蚓 CAT 活性有显著降低,且随铜浓度增加的变化无规律,表明浓度较高时,铜还能抑制 CAT 活性. 由于铜在引起颤蚓氧化胁迫的同时,又能抑制 CAT 活性,破坏颤蚓的抗氧化系统,导致颤蚓无法及时清除·OH的前驱物质 $O_2^-$ 和 $H_2O_2$ ,因此试验中在较低浓度下铜即可迅速完成对颤蚓体内·OH的诱导过程. 图2和图3中·OH和MDA浓度随铜浓度的变化趋势较好地验证了此观点.  $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,·OH浓度已经有了大幅增加,继续增加铜浓度,·OH并没有明显增加.·OH引起的MDA增幅也是在 $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处达到最大,之后开始降低.

综合图2~4可知,铜诱导的·OH可以直接对颤蚓产生氧化胁迫和脂质过氧化. 其中铜对·OH的诱导作用在 $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处即已基本发挥,脂质过氧化在 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时基本结束. 但由图1可知,即便在 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时灭活率也仅为76.7%,并未达到100%,据此可以推断铜对颤蚓的急性毒性作用并非由·OH直接产生的氧化胁迫和脂质过氧化单独完成. Pekarkova等<sup>[24]</sup>认为·OH的氧化胁迫作用,可以由·OH直接对生物分子的攻击产生,但更主要的氧化胁迫作用来自于·OH介导的其他形式含氧自由基对生物分子的攻击,如烷基自由基(alkyl radical,  $R\cdot$ )、烷氧基自由基(alkoxyl radical,  $RO\cdot$ )和过氧烷基自由基(alkylperoxyl radical,  $ROO\cdot$ ). 与·OH相比,上述含氧自由基在结构上更加稳定<sup>[25]</sup>,属于脂溶性物质,在生物体内的渗透性更强<sup>[26]</sup>,因此其对生物体氧化胁迫作用可能更加持久和显著. 本研究中发现尽管 $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 后·OH浓度趋于稳定,但随铜浓度增加CAT活性仍继续变化,表明氧化胁迫作用持续存在,因此可以认为铜的氧化胁迫并非单独由·OH作用所致,更主要的可能是·OH介导的其他形式含氧自由基引起. 颤蚓灭活率在 $0.25\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 后仍继续增加,也证实了·OH介导的其他形式含氧自由基对颤蚓氧化胁迫作用存在可能性.

### 3.2 铜灭活颤蚓应用于水厂的可行性分析

铜是人体必需的一种重要微量元素,在维系人体健康中发挥着重要作用. 如铜在红血球的生成中发挥重要作用<sup>[27]</sup>,作为多种酶的辅基参与新陈代谢中若干关键反应<sup>[28]</sup>,铜的氧化还原循环控制细胞电子传递等<sup>[29]</sup>. 但过量摄入铜也会对人体产生毒性作用,如饮用水中铜含量超过 $0.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 即可导致恶心、急性胃刺激等<sup>[27]</sup>. 长期摄入过量的铜

容易导致腹痛、呕吐、心悸、溶血性贫血和肝肾衰竭等<sup>[30,31]</sup>. 我国生活饮用水卫生标准《GB 5749-2006》规定其含量不得超过 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

水厂采用铜灭活颤蚓,可能导致铜残留的问题,选取恰当的铜灭活点和采用适宜的灭活操作方式是有效控制残留铜的关键. 颤蚓从沉淀池进入滤池后,大部分被滤层拦截,滤池反冲洗并不足以将全部颤蚓去除,颤蚓可能在滤池内长时间停留,而滤池拦截的颗粒污染物为其生长繁殖提供了充足的养分,因而颤蚓可以在滤池内大量生长繁殖并穿透滤池进入清水池. 在滤池进行颤蚓的铜灭活,既能有效控制颤蚓在净水工艺中的二次繁殖,又能充分利用滤池对颤蚓的拦截作用,从而最大程度地减小铜的投加量. 研究表明, $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的铜浓度下,若要到达100%颤蚓灭活,所需接触时间为30 min,因此可以考虑将颤蚓灭活与滤池反冲洗操作相结合. 在反冲洗操作之前,采用 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的铜溶液浸泡滤池30 min,之后紧接着进行反冲洗操作. 该灭活方式的优势在于:首先最大程度降低了所需铜溶液的体积,每次灭活操作所需铜溶液体积与滤池有效容积相当,也就降低了铜的投加量;其次是颤蚓灭活后失去活性,容易被反冲洗操作有效去除,无需额外增加反冲洗强度;再次,由于反冲洗操作紧接灭活,即便颤蚓未被杀灭,其运动能力也大为降低,易被反冲洗水带走,因此灭活过程中灭活率无需完全达到100%,如此铜的投加量有望进一步减小. 以某水厂为例进行说明,该厂采用V型滤池,单格面积 $63\text{ m}^2$ ,滤床厚度1.2 m,砂床上部水深1.25 m,正常滤速为 $12\text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$ ,反冲洗周期为48 h,滤池反冲洗水经处理后回用. 灭活浓度采用 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,假设每次灭活投加的铜100%残留在水中,并在反冲洗水回用时全部进入制水工艺,最终由于灭活而引起的出厂水铜含量增值为:

$$1.0 \times \frac{63 \times (1.2 + 1.25)}{63 \times 12 \times 48} \times 1000 = 4.3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$$

该值远低于生活饮用水卫生标准规定的 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,从出厂水水质安全角度看可以为水厂所接受,采用铜灭活颤蚓的方式在水厂可行.

## 4 结论

(1)铜对颤蚓具有高效快速灭活作用, $0.25\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时颤蚓灭活率可达36.7%,超过 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 后,颤蚓100%灭活. 其主要灭活机制之一是铜诱导颤蚓体内·OH的产生,铜浓度为 $0.05$

mg · L<sup>-1</sup>时, ·OH浓度即可上升 69.2%.

(2)铜诱导的 ·OH浓度增加,可以对颤蚓产生氧化胁迫和脂质过氧化作用. CAT 相对活性的显著降低表明,铜可抑制 CAT 活性,破坏颤蚓的抗氧化系统,氧化胁迫作用明显;铜浓度为 0.05 mg · L<sup>-1</sup>时,MDA 浓度即可上升 64.3%,脂质过氧化作用显著.

(3)铜对 ·OH的诱导效应在 0.05 mg · L<sup>-1</sup>时已基本发挥,浓度继续增加, ·OH浓度无明显变化,但 CAT 相对活性却继续变化,脂质过氧化作用在 0.5 mg · L<sup>-1</sup>时达到最大,颤蚓灭活率也是在 1.0 mg · L<sup>-1</sup>时才达到 100%,上述表明铜对颤蚓的快速灭活作用,并非由 ·OH本身产生的氧化胁迫和脂质过氧化作用单独完成,由 ·OH介导的其他形式含氧自由基可能也会对颤蚓产生毒性作用.

(4)选取恰当的铜灭活点和采用适宜的灭活操作方式,在水厂利用铜对颤蚓进行灭活是可行的.将颤蚓灭活与滤池反冲洗操作相结合,采用 1 mg · L<sup>-1</sup>的铜溶液浸泡滤池 30 min,之后紧接着进行反冲洗操作,此时铜灭活引起的残留铜浓度仅为 4.3 μg · L<sup>-1</sup>,低于生活饮用水卫生标准规定的 1 mg · L<sup>-1</sup>.

#### 参考文献:

- [ 1 ] Mosleh Y Y, Paris-Palacios S, Biagiante-Risbourg S. Metallothioneins induction and antioxidative response in aquatic worms *Tubifex tubifex* (Oligochaeta, Tubificidae) exposed to copper[ J ]. Chemosphere, 2006, **64**( 1 ): 121-128.
- [ 2 ] 何文杰. 安全饮用水保障技术[ M ]. 北京: 中国建筑工业出版社, 2006. 669-722.
- [ 3 ] 黄廷林, 武海霞, 陈千娇. 水中颤蚓灭活试验研究[ J ]. 西安建筑科技大学学报( 自然科学版 ), 2006, **38**( 2 ): 263-268.
- [ 4 ] Van Lieverloo J H M, Bosboom D W, Bakker G L, et al. Sampling and quantifying invertebrates from drinking water distribution mains[ J ]. Wat Res, 2004, **38**( 3 ): 1101-1112.
- [ 5 ] 武海霞. 给水处理中水生生物的生长习性与灭活实验研究[ D ]. 西安: 西安建筑科技大学, 2005. 31-32.
- [ 6 ] 李亚宁, 周启星, 胡献刚, 等. 四溴双酚-A 污染对颤蚓的氧化胁迫及毒性[ J ]. 环境科学, 2008, **29**( 7 ): 2012-2017.
- [ 7 ] Bouche M L, Habets F, Biagiante-Risbourg S, et al. Toxic effects and bioaccumulation of cadmium in the aquatic oligochaete *Tubifex tubifex*[ J ]. Ecotoxicol Environ Safety, 2000, **46**( 3 ): 246-251.
- [ 8 ] Bouche M L, Biagiante-Risbourg S, Arsac F, et al. An original decontamination process developed by the aquatic oligochaete *Tubifex tubifex* exposed to copper and lead[ J ]. Aquat Toxic, 1999, **45**( 1 ): 9-17.
- [ 9 ] Vidal D E, Horne A J. Inheritance of mercury tolerance in the aquatic oligochaete *Tubifex tubifex*[ J ]. Environ Toxic Chem, 2003, **22**( 9 ): 2130-2135.
- [ 10 ] Mosleh Y Y, Paris-palacios S, Couderchet M, et al. Metallothionein induction, antioxidative responses, glycogen and growth changes in *Tubifex tubifex* (Oligochaeta) exposed to the fungicide, fenhexamid[ J ]. Environ Pollut, 2005, **135**( 1 ): 73-82.
- [ 11 ] Mosleh Y Y, Paris-Palacios S, Ahmed M T. Effects of chitosan on oxidative stress and metallothioneins in aquatic worm *Tubifex tubifex* (Oligochaeta, Tubificidae) [ J ]. Chemosphere, 2007, **67**( 1 ): 167-175.
- [ 12 ] Pastor N, Jamison E, Brenowitz M, et al. A detailed interpretation of OH radical footprints in a TBP-DNA complex reveals the role of dynamics in the mechanism of sequence specific binding[ J ]. J Mol Biol, 2000, **304**( 1 ): 55-68.
- [ 13 ] 孙兴滨, 崔福义, 张金松, 等. 几种常见氧化剂对水中摇蚊幼虫氧化灭杀效能的试验研究[ J ]. 环境科学学报, 2005, **25**( 7 ): 930-935.
- [ 14 ] 徐镜波, 袁晓凡, 郎佩珍. 过氧化氢酶活性及活性抑制的紫外分光光度测定[ J ]. 环境化学, 1997, **16**( 1 ): 73-76.
- [ 15 ] Freinbichler W, Bianchi L, Colivicchi M A, et al. The detection of hydroxyl radicals *in vivo*[ J ]. J Inorg Biochem, 2008, **102**( 5-6 ): 1329-1333.
- [ 16 ] Yan E B, Unthank J K, Castillo-Melendez M, et al. Novel method for *in vivo* hydroxyl radical measurement by microdialysis in fetal sheep brain in utero[ J ]. J Apple Physiol, 2005, **130**( 6 ): 1586-1592.
- [ 17 ] Ferreira-Cravo M, Ventura-Lima J, Sandrini J Z, et al. Antioxidant responses in different body regions of the polychaete *Laeonereis acuta* (Nereididae) exposed to copper[ J ]. Ecotoxicol Environ Safety, 2009, **72**( 2 ): 388-393.
- [ 18 ] 曾丽璇, 吴宏海, 陈桂珠. 镉、铜污染对河蚬过氧化氢酶活性的影响[ J ]. 华南师范大学学报( 自然科学版 ), 2007, **4**: 81-84.
- [ 19 ] Pinchuk I, Schnitzer E, Lichtenberg D. Kinetic analysis of copper-induced peroxidation of LDL[ J ]. Biochim Biophys Acta, 1998, **1389**( 2 ): 155-172.
- [ 20 ] Marnett L J. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde[ J ]. Mut Res, 1999, **424**( 1-2 ): 83-95.
- [ 21 ] Valko M, Morris H, Cronin M T D. Metals, toxicity and oxidative stress[ J ]. Curr Med Chem, 2005, **12**( 10 ): 1161-1208.
- [ 22 ] Leonard S S, Harris G K, Shi X L. Metal-induced oxidative stress and signal transduction[ J ]. Free Rad Biol Med, 2004, **37**( 12 ): 1921-1942.
- [ 23 ] Stohs S J, Bagchi D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal-ions[ J ]. Free Rad Biol Med, 1995, **18**( 2 ): 321-336.
- [ 24 ] Pekarkova I, Parara S, Holecek V, et al. Does exogenous melatonin influence the free radicals metabolism and pain sensation in rat? [ J ]. Physiol Res, 2001, **50**( 6 ): 595-602.
- [ 25 ] Pryor W A, Squadrito G L, Friedman M, et al. The cascade

- mechanism to explain ozone toxicity : the role of lipid ozonation products[ J ]. *Free Rad Biol Med* ,1995 ,**19**( 6 ) :935-941.
- [ 26 ] Kafoury R M , Pryor W A , Squadrito G L , *et al.* Lipid Ozonation Products Activate Phospholipases A2 , C , and D[ J ]. *Toxicol Appl Pharmacol* ,1998 ,**150**( 2 ) :338-349.
- [ 27 ] Uriu-Adams J Y , Keen C L. Copper , oxidative stress , and human health[ J ]. *Molec Asp Med* ,2005 ,**26**( 4-5 ) :268-298.
- [ 28 ] Pena M M O , Lee J , Thiele D J. A delicate balance : homeostatic control of copper uptake and distribution[ J ]. *J Nutr* ,1999 ,**129**( 7 ) :1251-1260.
- [ 29 ] Letelier M E , Lepe A M , Faundez M , *et al.* Possible mechanisms underlying copper-induced damage in biological membranes leading to cellular toxicity[ J ]. *Chem Biol Interact* , 2005 ,**151**( 2 ) :71-82.
- [ 30 ] Davanzo F , Settimi L , Faraoni L , *et al.* Agricultural pesticide-related poisonings in Italy : cases reported to the Poison Control Centre of Milan in 2000-2001[ J ]. *Epidemiol Prev* , 2004 ,**28**( 6 ) :330-337.
- [ 31 ] Srivastava A , Peshin S S , Kaleekal T , *et al.* An epidemiological study of poisoning cases reported to the National Poisons Information Centre , All India Institute of Medical Sciences , New Delhi[ J ]. *Hum Exp Toxicol* ,2005 ,**24**( 6 ) :279-285.