

污水的青海弧菌 Q67 生物毒性检测及影响因素分析

马晓妍, 闫志刚, 刘永军, 王晓昌*

(西安建筑科技大学环境学院, 西北水资源与环境生态教育部重点实验室, 西安 710055)

摘要:应用淡水发光细菌——青海弧菌 Q67 对氧化沟处理工艺各处理单元进出水的生物急性毒性进行检测, 对污水急性毒性检测的影响因素进行了分析。结果表明, 水样取回后立即进行发光细菌毒性实验, 水样均显示为刺激发光效应, 污水毒性被掩盖; 将水样放置 1 d 后进行毒性实验, 部分水样显现出抑制发光效应; 将污水用 0.45 μm 微滤膜过滤可以使水样的生物毒性更好地显现, 提高了毒性检测结果的真实性和准确性; 水样灭菌后, 生物毒性趋于稳定; 采用固相萃取富集污水中的有机物, 可以很好地监测污水厂各处理单元进出水中有机物的急性毒性大小。各处理单元 EC_{50} 值如下: 细格栅出水为 11.44; 氧化沟进水为 11.96; 氧化沟出水为 21.05; 二沉池出水为 16.06; UV 消毒出水为 15.17。污水厂的生物毒性主要在氧化沟工艺中去除, 但是其工艺对生物毒性的去除十分有限。

关键词:污水; 急性毒性; 青海弧菌 Q67; 影响因素; 固相萃取 (SPE)

中图分类号: X172; R123 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2011)06-1632-06

Detection of Wastewater Ecotoxicity Using *Virbrio qinghaiensis* sp. -Q67 and Its Impact Factors Analysis

MA Xiao-yan, YAN Zhi-gang, LIU Yong-jun, WANG Xiao-chang

(Key Laboratory of Northwest Water Resources, Environment and Ecology, Ministry of Education, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China)

Abstract: In this study the luminescent bacteria *Virbrio qinghaiensis* sp. -Q67 was used to assess the acute toxicity of wastewater from different treatment processes of the oxidation ditch plants. The impact factors of detection were also been analyzed. The results indicated that all samples were showed stimulating effects when the acute toxicity of wastewater samples were tested immediately. When the acute toxicity was tested after one day, some samples showed inhibiting effects. When the samples of wastewater were treated with 0.45 μm membrane filtration, the acute toxicity could be monitored authentically and accurately. After sterilization, the acute toxicity of wastewater was stable during in the days of depositing. Organic material in wastewater could be enriched with solid-phase extraction. It could be well used to monitor ecotoxicity of organic substances in wastewater treatment units. The efficient concentration (EC_{50}) values of progresses were as follows. The EC_{50} values of raw water, primary settler effluent, oxidation ditch effluent, secondary settler effluent and UV disinfection effluent were 11.44, 11.96, 21.05, 16.06 and 15.17, respectively. The ecotoxicity of wastewater in the plant was removed by the process of oxidation ditch but the removal was very limited.

Key words: wastewater; acute toxicity; *Virbrio qinghaiensis* sp. -Q67; impact factor; solid-phase extraction (SPE)

目前, 控制城市污水的常规水质指标有总氮 (TN)、总磷 (TP)、生化需氧量 (BOD)、化学需氧量 (COD)、固体悬浮物 (SS)、总有机碳 (TOC) 等。但是这些理化指标并不能很好地反映排放的污水水质。污水中含有的重金属、持久性有机污染物 (POPs) 等尽管含量少, 但是毒性巨大, 基本上都具有致癌、致畸和致突变的特性。目前对这种微量有毒物质的检测方法有原子吸收光谱、气相色谱、气质联用、高效液相色谱等^[1~3], 但是这些仪器设备价格昂贵, 技术要求苛刻, 实验周期长。在一般的实验条件下, 或者是室外很难实现对这些物质的检测。

水生生物对生态毒性的检测方法有: 鱼类急性毒性实验、水蚤类毒性实验、藻类毒性实验、微生物毒性实验^[4]。其中, 微生物毒性实验多采用发光细

菌法。由于它的检测时间短、敏感性好、重现性好、费用低, 对实验条件和实验场地要求较低^[5, 6], 因而得到广泛的应用。发光细菌法与藻类、水蚤、鱼类等生物毒性监测具有很好的相关性^[6]。

青海弧菌 Q67 是我国发现的一种广泛应用于环境污染监测的淡水发光细菌^[7]。这种细菌已经用来检测环境中的重金属、抗生素、除草剂、杀虫剂和受污染的河流等水样^[8~11]。淡水发光细菌 Q67 与海洋发光

收稿日期: 2010-07-08; 修订日期: 2010-08-23

基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (50838005); 国家水体污染控制与治理科技重大专项 (2008ZX07317-004)

作者简介: 马晓妍 (1984 ~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为污水再生水的生态毒性评价理论与技术, E-mail: maxiaoyan84@163.com

* 通讯联系人, E-mail: xcwang@xauat.edu.cn

细菌在生物毒性检测方面具有同样的有效性和可靠性^[12]。但是海洋发光细菌需要将测试水样调节成含 NaCl 2% ~ 3% 的水样。这可能改变了淡水样品中毒性物质的特性。因此海洋发光细菌对淡水样品的检测存在一定的局限性,而且大部分环境样品对青海弧菌 Q67 比对 T_3 发光菌表现出更强的毒性^[13]。

与检测单种或 2 种化学品的生物毒性相比,天然水样具有成分复杂、干扰因素多等特点。这导致了水样生物毒性检测结果的不准确性。有的研究者指出,急性毒性实验可能低估了一些物质的毒性,特别是具有特殊作用方式的物质^[14, 15]。对天然水样直接进行发光菌和藻类等毒性实验会受到共存物质刺激发光或刺激生长的影响^[16, 17]。例如对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 或 $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ 含量高的水体,由于其刺激发光或作为营养物质的作用掩盖了毒性物质对发光细菌的作用,可能会导致错误的毒性实验结论。发光

细菌毒性测试过程中的刺激发光现象主要是因为干扰因素的影响。所以对水样进行必要的前处理对提高检测结果的准确性具有重要意义。本研究的目的是采用发光细菌检测污水厂各处理单元进出水的生物急性毒性,并对污水生物毒性检测的影响因素进行了初步分析。这对污水处理与回用过程中,水体生物毒性的准确判断具有重要的实际意义。

1 材料与方法

1.1 取样点的选取及水样的预处理

污水来源于以 Orbal 氧化沟为主要处理工艺的某污水厂各处理单元的进出水。选取的 5 个取样点分别为细格栅出水、氧化沟进水、氧化沟出水、终沉池出水、UV 消毒出水。污水处理工艺流程及取样点如图 1 所示。

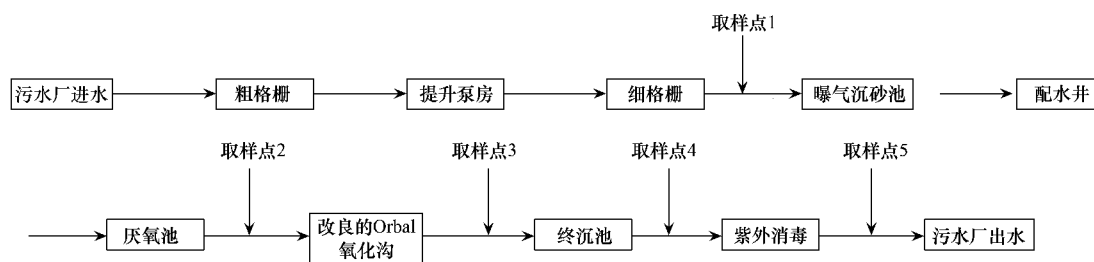


图 1 污水厂处理工艺流程图及取样点

Fig. 1 Flow diagram of crafts in sewage treatment plant and the sampling sites

水样取回后,采取如下处理方法:①用滤纸过滤后立即进行生物毒性测试;②水样经滤纸过滤后,分别放置 1 ~ 5 d,然后分别进行生物毒性测试;③水样取回后用 0.45 μm 微滤膜过滤后放置 1 d,然后进行生物毒性测试;④高压灭菌后放置 1 d,然后进行生物毒性测试;⑤采集的水样经过 0.45 μm 的微滤膜过滤后,用 C18 固相萃取小柱 (500 mg 3 mL PK54) 富集有机物,具体操作如下:依次将 7 mL 的二氯甲烷、甲醇、纯水通过固相萃取小柱进行润湿活化,中间不允许填料抽干。水样经 0.45 μm 滤膜过滤后上样,使水样连续通过 SPE 柱,调节真空泵的真空度,使液滴 1 s 左右滴一滴。水样全部过滤完后再用 5 mL 纯水洗涤,继续真空抽气干燥 15 min。将 SPE 柱放在离心机中离心 15 min,转速 4 000 r/min。最后用二氯甲烷洗脱柱子,收集洗脱液,用高纯氮气吹干,用 0.5% 的二甲基亚砷溶解后用于生物毒性测试。实验中使用的 0.45 μm 滤膜需在超纯水中煮沸然后使用,并在过滤时弃去前半部分滤样。

1.2 青海弧菌 Q67 生物毒性检测方法

青海弧菌 Q67 (购自北京滨松光子技术股份有限公司)的培养采用可以得到较高菌生物量和对菌内荧光酶含量有利的培养基。培养基成分为:胰胨 0.5%,酵母膏 0.5%;甘油 0.3%; MgCl_2 0.32%; KBr 0.02%; CaSO_4 0.01%; NaCl 0.4%; KCl 0.4%; pH 8.5 $\pm$ 0.5,培养温度为 22 $^{\circ}\text{C}$ $\pm$ 1 $^{\circ}\text{C}$ ^[18]。培养时间 10 ~ 12 h。细菌生长曲线如图 2 所示。

将 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存的青海弧菌 Q67 斜面菌种转接到 50 mL 液体培养基中,22 $^{\circ}\text{C}$ 培养 10 ~ 12 h 达到对数中后期。起始菌液浓度在 200 万 ~ 600 万 RLU 之间。在 1.5 mL 样品管中加入 500 μL 样品溶液 (每组 3 个平行,每一组样品前设一个空白),50 μL 菌悬液,每次加菌液时间间隔 20 s,15 min 后 (精确到秒)将样品管放入 ModulusTM 单管型多功能检测仪 (美国 Turner Biosystems 公司)上进行发光强度检测。计算出所有空白样的平均值 (I_0) 和每个样品 3 次测量的平均值 (I),按公式 (1) 计算出每个样品对发光菌的

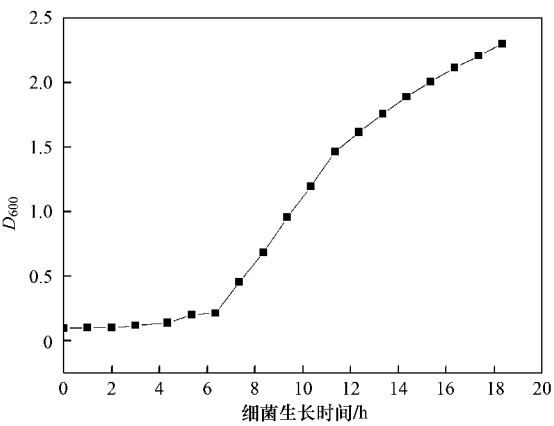


图2 青海弧菌 Q67 生长曲线

Fig.2 Growth curve of *Virbrio qinghaiensis* sp.-Q67

相对抑制率(E).当样品表现为刺激发光作用时,相对抑制率以负值表示.

$$E = \frac{I_0 - I}{I_0} \times 100\%$$

(1)

1.3 常规指标的检测方法

COD、TN、TP 的测定采用《水和废水监测分析方法》(第四版)中的标准方法. TOC 的测定使用 TOC 测定仪.

2 结果与分析

2.1 污水水质指标及其变化

各种预处理方法会在一定程度上改变样品的组成^[19~21].水样的预处理对水样的影响是不可避免的.因此,通过检测各种水样经预处理后的常规水质指标的变化来监测预处理对水样产生的影响.

各取样点污水在经过滤纸过滤、0.45 μm 微滤膜过滤、灭菌处理以及滤纸过滤后放置 4 种处理方法后,水样水质变化情况如表 1 所示.由表 1 可见,与原污水相比,水样经过 0.45 μm 微滤膜过滤后,5 个水样的各个指标都略有降低;水样经过高压蒸汽灭菌后,5 个水样的 COD 和 TOC 都略有升高.这可能是因为高温使水中部分非溶解态的有机物溶解导致水中的 COD 和 TOC 升高^[22];原污水放置 1 d 后细格栅出水和氧化沟进水的 COD 和 TN 有明显的降低,COD 分别从 338.00 mg/L、323.28 mg/L降低到 217.82 mg/L、215.16 mg/L,TN 分别从 39.87 mg/L、31.15 mg/L降低到 24.95 mg/L、18.83 mg/L;氧化沟出水、终沉池出水和 UV 消毒出水的 TP 有明显的降低,分别从 0.20 mg/L、0.20 mg/L、0.41 mg/L降低到 0.11 mg/L、0.10 mg/L、0.10

mg/L.这些变化可能是因为水中的细菌新陈代谢消耗了水中的部分有机物.

表 1 各取样点污水在经过不同处理后的水质情况/mg·L⁻¹

Table 1 Water quality of sewage from different processes after different treatments/mg·L⁻¹

水样	水样的处理方式	COD	TN	TP	TOC
细格栅出水	原污水(滤纸过滤)	338.00	39.87	2.08	107.80
	0.45 μm 膜过滤后	234.76	37.48	1.94	107.80
	灭菌后	341.37	32.84	2.04	167.90
	原污水放置 1 d 后	217.82	24.95	2.08	98.90
氧化沟进水	原污水(滤纸过滤)	323.28	31.15	2.41	107.80
	0.45 μm 膜过滤后	289.40	31.03	2.27	107.80
	灭菌后	337.95	24.48	2.36	150.10
	原污水放置 1 d 后	215.16	18.83	2.41	86.65
氧化沟出水	原污水(滤纸过滤)	49.14	13.66	0.20	17.58
	0.45 μm 膜过滤后	33.59	11.79	0.15	17.58
	灭菌后	56.18	12.91	0.08	29.71
	原污水放置 1 d 后	31.91	10.32	0.11	19.82
终沉池出水	原污水(滤纸过滤)	31.24	13.91	0.20	11.85
	0.45 μm 膜过滤后	26.17	13.06	0.12	11.85
	灭菌后	47.43	12.98	0.05	25.41
	原污水放置 1 d 后	24.96	13.99	0.10	14.04
UV 消毒出水	原污水(滤纸过滤)	38.35	16.62	0.41	18.82
	0.45 μm 膜过滤后	30.10	15.99	0.15	18.82
	灭菌后	52.47	14.59	0.08	26.29
	原污水放置 1 d 后	25.44	15.67	0.10	16.54

2.2 存放时间对污水生物毒性的影响

水样取回后倒入锥形瓶内,常温保存.每次从锥形瓶内取得水样进行实验前都先用定性滤纸过滤.进行生物毒性测试前每 100 mL 水样加入 10 g 乳糖^[23].空白对照采用 10% 的乳糖溶液.第 1 d 的生物毒性测试在取回水样的 4 h 内进行.5 个取样点 5 d 内的毒性测试结果如图 3 所示.

从图 3 中可以看出,除了细格栅出水和氧化沟进水在取回后立即进行毒性测试测得相对抑制率分别为 10.14% 和 7.65%,其它各个工艺的水样在第 1d 都没有显现出毒性.细格栅出水和氧化沟进水水样放置到第 2 d 毒性大大增强,相对抑制率分别达到 50.63% 和 39.52%,而且以后的 4 d 都显现出毒性.这可能是由于污水中的细菌消耗掉水中的可以作为营养物质的有机物.在去除了营养物质对发光细菌的刺激作用的情况下,毒性物质对发光细菌的抑制作用更为明显.而且细格栅出水和氧化沟进水的营养物质也相对较多,COD 较高,放置过程中 COD 和 TN 有明显的降低.氧化沟出水水样在第 5 d 才显现出毒性.终沉池和 UV 消毒出水始终没有显现出毒性.氧化沟出水、终沉池出水、UV 消毒出水 3 个取样点在放置过程中 TP 有较明显的降低,但生

物毒性没有发生很大变化。

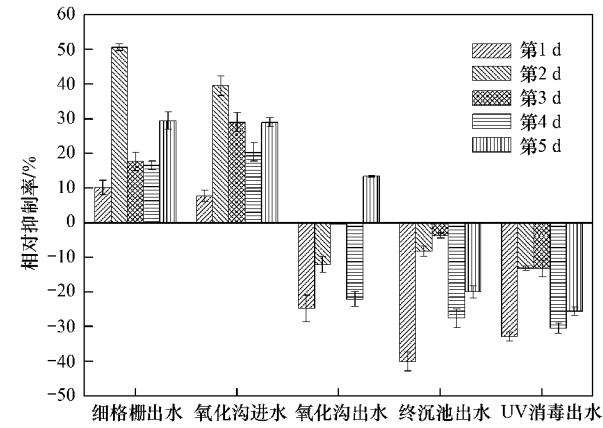


图3 存放1~5 d污水的生物毒性

Fig. 3 Ecotoxicity of wastewater after depositing 1-5 days

2.3 滤膜(φ = 0.45 μm)过滤污水对生物毒性测试的影响

水样取回后倒入锥形瓶内,常温保存.每次从锥形瓶内取得水样进行实验前都用滤纸或0.45 μm膜过滤.过滤时,弃去前50 mL水样.毒性实验以超纯水作为空白对照.根据经验水样在取回的第1 d毒性测试会刺激发光,所以采用存放1 d的水样进行毒性测试.由图4可知,用滤纸过滤5个水样后进行毒性测试都是刺激细菌发光,但是用0.45 μm膜过滤后,去除了水中非溶解态物质对生物毒性检测的干扰.细格栅出水、氧化沟进水、氧化沟出水出现抑制发光现象.因为发光细菌可能吸附在颗粒物质上,而且引起浊度的物质对光有散射和折射的作用,干扰生物毒性的检测^[24].水样经过0.45 μm膜过滤后,生物毒性检测结果更为准确,而且对水样组成改变较小.经过0.45 μm膜过滤后各项水质指标略有降低,但变化不大.

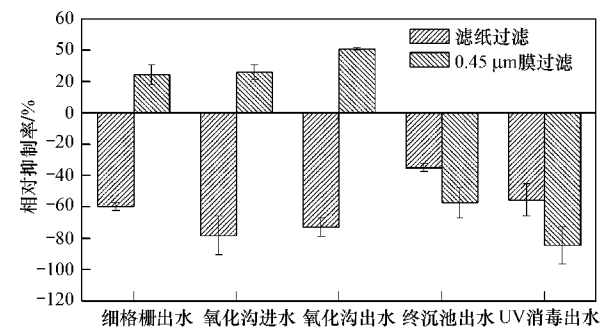


图4 污水经滤纸和0.45 μm膜过滤后的生物毒性

Fig. 4 Ecotoxicity of sewage after filtered by qualitative filter paper and 0.45 μm millipore filtration

2.4 水样高压蒸汽灭菌对生物毒性测定的影响

水样取回后倒入锥形瓶内,高压蒸汽灭菌器中

灭菌,放入超净室内保存.每次实验前都先用0.45 μm膜过滤,并弃去前50 mL水样.毒性实验以超纯水作为空白对照.第1 d的毒性测试在取回水样后4 h内进行.5个取样点2 d的毒性测试结果如图5所示.细格栅出水经过灭菌在2 d内都显现出毒性.除了细格栅出水,各个工艺段在整个测试过程中都没有显现出毒性.在放置1 d后,5个水样没有出现由刺激发光变为抑制发光的现象.这说明高压蒸汽灭菌后的水样不会因为存放而出现逆反的现象.灭菌后水样的生物急性毒性趋于稳定.

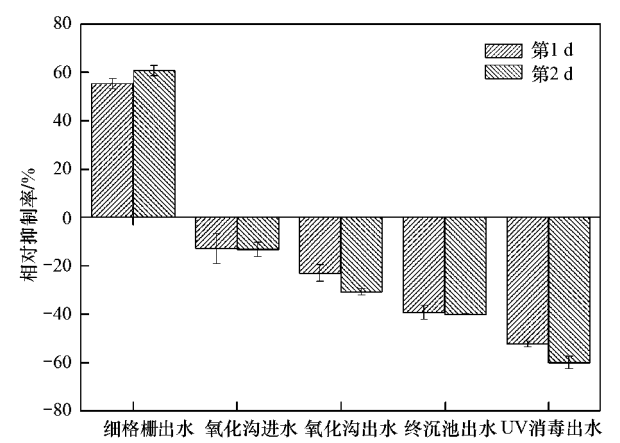


图5 污水经高压蒸汽灭菌后放置1~2 d的生物毒性

Fig. 5 Ecotoxicity of wastewater after autoclaved and deposited 1-2 days

2.5 固相萃取水中有机物的生物毒性结果

由于污水中含有的NH₄⁺-N或PO₄³⁻-P等物质影响生物毒性的测定,采用各种萃取方法去除干扰物质可使生物毒性的检测更为准确,并且更具有污染物的生物毒性的针对性^[25].根据预实验的结果,水样被浓缩成7个浓度梯度,求出相对发光率为50%时所对应的污水浓度,即半数发光抑制率浓度EC₅₀.

污水厂各工艺进出水的生物毒性结果如表2所示.可以看出,细格栅出水和氧化沟进水的生物毒性差别不大.污水经过氧化沟处理后,氧化沟出水的毒性变小,但是终沉池和UV消毒出水的毒性与氧化沟出水相比又略有升高.由于入厂水中工业污水约占50%,存在着较多的有毒有机污染物.经氧化沟工艺处理后,有毒物质得到了一定程度的去除,污水毒性减弱,但仍有一定程度的存留.这与前人的研究结果相类似^[26].这说明以活性污泥法为主体的处理工艺对生物毒性物质的去除十分有限.经过固相萃取后,污水即使在低浓缩倍数下也没有出现刺激发光的现象.固相萃取可以很好地去除干扰生物毒性测定的物质.

表 2 固相萃取后的生物毒性结果¹⁾

Table 2 Results of ecotoxicity of wastewater after solid-phase extraction

污水来源	细格栅出水	氧化沟进水	氧化沟出水	终沉池出水	UV 消毒出水
EC ₅₀	11. 44	11. 96	21. 05	16. 06	15. 17

1) 抑制细菌发光 50% 时的水样的浓缩倍数

3 结论

(1)污水经过不同的预处理后各项水质常规指标有所变化. 与原污水相比经过 0. 45 μm 微滤膜过滤后, 各项指标都略有降低; 水样经过高压蒸汽灭菌后, 5 个水样的 COD 和 TOC 都略有升高; 放置 1 d 后, 细格栅出水和氧化沟进水的 COD 和 TN 有明显的降低, 氧化沟出水、终沉池出水和 UV 消毒出水的 TP 有明显的降低.

(2)原污水直接进行生物毒性实验, 所有水样都促进细菌发光. 将污水存放 1 d 后, 毒性较大的水样可以显现出生物毒性.

(3)采用 0. 45 μm 微滤膜过滤水样, 可以消除非溶解态物质对毒性测试的影响, 使水样的生物毒性更好地显现出来, 保证了毒性试验结果的真实性和准确性.

(4)灭菌后水样的生物毒性在放置过程中变化不大, 说明灭菌后水样的生物毒性趋于稳定.

(5)采用固相萃取富集污水中的有机物, 可以很好地监测污水处理厂各处理单元进出水中有机物的生物毒性大小, 其中氧化沟出水毒性最低, 细格栅出水毒性最大. 生物毒性主要是在氧化沟工艺中去除的.

参考文献:

[1] Zhang S Y, Zhang Q, Darisaw S, *et al.* Simultaneous quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs), and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in Mississippi river water, in New Orleans, Louisiana, USA [J]. *Chemosphere*, 2007, **66**: 1057-1069.

[2] Oleszczuk P. Application of three methods used for the evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) bioaccessibility for sewage sludge composting [J]. *Bioresource Technology*, 2009, **100**:413-420.

[3] Orecchio S, Ciotti V P, Culotta L. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coffee brew samples: Analytical method by GC-MS, profile, levels and sources [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2009, **47**:819-826.

[4] 赵红宁, 王学江, 夏四清. 水生生态毒理学在废水毒性评价中的应用 [J]. *净水技术*, 2008, **27**(5):18-24.

[5] Ronco A E. Development of a bioassay reagent using photobacterium phosphoreum as a test for the detection of aquatic toxicants [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 1992, **8**:316-318.

[6] Girotti S, Ferri E N, Fumo M G, *et al.* Monitoring of environmental pollutants by bioluminescent bacteria [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2008, **608**:2-29.

[7] 朱文杰, 汪杰, 陈晓耘, 等. 发光细菌一新种——青海弧菌 [J]. *海洋与湖泊*, 1994, **25**(3):273-279.

[8] Zhao C, Deng H P, Li Y, *et al.* Photodegradation of oxytetracycline in aqueous by 5A and 13X loaded with TiO₂ under UV irradiation [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, **176**: 884-892.

[9] Liu S S, Song X Q, Liu H L, *et al.* Combined photobacterium toxicity of herbicide mixtures containing one insecticide [J]. *Chemosphere*, 2009, **75**:381-388.

[10] Zhou X F, Sang W J, Liu S S, *et al.* Modeling and prediction for the acute toxicity of pesticide mixtures to the freshwater luminescent bacterium *Vibrio qinghaiensis* sp. -Q67 [J]. *Environmental Science*, 2010, **22**(3): 433-440.

[11] Ore S, Todorovic J, Ecke H, *et al.* Toxicity of leachate from bottom ash in a road construction [J]. *Waste Management*, 2007, **27**:1626-1637.

[12] Ma M, Tong Z, Wang Z, *et al.* Acute toxicity bioassay using the freshwater luminescent bacterium *Vibrio qinghaiensis* sp. Nov. - Q67 [J]. *Bulletin of Environmental Contaminant Toxicology*, 1999, **62**(3):247-253.

[13] 马梅, 董中华, 王子健. 新型淡水发光细菌 (*Vibrio qinghaiensis* sp. -Q67) 应用于环境样品毒性测试的初步研究 [J]. *环境科学学报*, 1998, **18**(1):86-91.

[14] Zhu X W, Liu S S, Ge H L, *et al.* Comparison between the short-term and the long-term toxicity of six triazine herbicides on photobacteria Q67 [J]. *Water Research*, 2009, **43**:1731-1739.

[15] Zhang J, Liu S S, Liu H L. Effect of ionic liquid on the toxicity of pesticide to *Vibrio qinghaiensis* sp. -Q67 [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, **170**: 920-927.

[16] 马梅, 王毅, 王子健. 城市污水生物处理过程中有毒有机污染物浓度及毒性变化的规律 [J]. *工业水处理*, 1999, **19**(6): 9-12.

[17] 马梅, 王毅, 王子健. 天然水体有毒有机污染物毒性监测样品前处理 [J]. *环境科学*, 1999, **20**(6):80-83.

[18] 郑敬民, 赵曙霞, 朱文杰, 等. 环境因子对青海弧菌生长和发光的影响 [J]. *华东师范大学学报 (自然科学版)*, 1999, **18**(1):98-102.

[19] Kurama H, Poetschke J, Haseneder R, *et al.* The application of membrane filtration for the removal of ammonium ions from

- potable water[J]. Water Research, 2002, **36**: 2905-2909.
- [20] El-Bestawy E, Albrechtsen H J. Effect of nutrient amendments and sterilization on mineralization and/or biodegradation of ^{14}C -labeled MCPP by soil bacteria under aerobic conditions[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2007, **59**: 193-201.
- [21] Egli M, Mirabella A, Kägi B, *et al.* Influence of steam sterilisation on soil chemical characteristics, trace metals and clay mineralogy[J]. Geoderma, 2006, **131**: 123-142.
- [22] Shi Y M, Xu L F, Gong D Q, *et al.* Effects of sterilization treatments on the analysis of TOC in water samples[J]. Journal of Environmental Science, 2010, **22**: 789-795.
- [23] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [24] Hernand M D, Malato O, Farré M, *et al.* Application of ring study: Water toxicity determinations by bioluminescence assay with *Vibrio fischeri*[J]. Talanta, 2006, **69**: 370-376.
- [25] Amin A S, Saber A L, Mohammed T Y. Study on solid phase extraction and spectrophotometric determination of vanadium with 2,3-dichloro-6-(2,7-dihydroxy-1-naphthylazo) quinoxaline[J]. Spectrochimica Acta Part A, 2009, **73**: 195-200.
- [26] 赵俊明, 李咏梅, 周琪. 模拟城市污水在厌氧、缺氧以及好氧反应器中的毒性削减研究[J]. 环境科学, 2006, **27**(11): 2314-2317.