

淀山湖地区藻类细胞计数及微囊藻毒素污染现状调查

郁晞^{1,2} 姚新民¹ 黎桂福¹ 王霞² 高红梅¹

摘要:目的 了解淀山湖水体中的藻类毒素随季节和地点变化规律。方法 于2013年3—9月在淀山湖环湖5个监测点开展每月一次的连续监测,高效液相—质谱联合检测微囊藻毒素-LR,了解淀山湖藻类细胞计数和藻毒素浓度变化规律。结果 淀山湖水中藻类细胞计数从3月起逐步升高,6月湖中心细胞计数最高,为 49.20×10^5 个/L;7月明显下降,8月湖中心监测值为 1.65×10^5 个/L,监测期均值为 2.51×10^5 个/L。6月淀山湖中蓝藻计数达到峰值。微囊藻毒素-LR 3月在湖中心监测不到,而在7月水上运动场监测点达到峰值72.0 ng/L,随后呈现下降趋势。结论 夏秋季淀山湖水体中优势藻类为蓝藻,有游离微囊藻毒素存在,峰值在藻细胞计数峰值后1个月。湖中心微囊藻毒素水平较低。

关键词:蓝藻;微囊藻毒素;藻类细胞计数;游离藻毒素

DOI:10.13421/j.cnki.hjwsxzz.2016.01.017

Algae Toxins Contamination in Dianshan Lake

YU Xi^{1,2}, YAO Xinmin¹, LI Guifu¹, WANG Xia², GAO Hongmei¹

Abstract: Objectives To find out the rule and distribution of algae toxins in Dianshan lake. **Methods** Microcystin (MC) - LR in water samples from 5 points in Dianshan lake were examined monthly by LC-MS/MS during March to September in 2013, and the counts of algae cell were also monitored. **Results** The counts of algae cell had begun to raise since March, and got peak in June (49.20×10^5 /L), then fallen down in July; the counts of algae cell in August was 1.65×10^5 /L in the center of the lake, the average count was 2.51×10^5 /L; The toxic MC-LR could not be detected in March in the center of the lake, which was 72 ng/L in the sports pool in July, and then the toxin began to fall down. **Conclusions** Blue algae was the dominant algae in Dianshan lake, free MC-LR could be examined, and the peak of MC-LR was emerged a month later of the peak of algae cells counts. The relatively low levels of MC-LR were found in the center of the lake.

Keywords: blue algae; Microcystin (MC) - LR; algae cell count; free algae toxin

微囊藻毒素是淡水湖泊中发生水华常见的藻毒素,近年来在我国主要的淡水湖泊和水库水体中不断有报道发现有微囊藻毒素。国内外学者研究发现,微囊藻毒素是中国地区原发性肝癌高发的重要影响因素。微囊藻毒素不仅具有肝毒性,同时还具有肾脏毒性、神经毒性、生殖毒性等,是一种严重威胁人类健康的环境毒素。微囊藻毒素可通过饮

水和饮食进入人体,从而影响健康,对湖泊尤其是水源地开展微囊藻毒素监测,对保障群众饮水安全有重要意义。

淀山湖位于太湖流域,处于太湖下游,黄浦江上游,横跨上海市青浦区和江苏省昆山市,面积62 km²。2014年上海市确定在太湖流域下游建立战略储备水库,在太浦河流域建立水库,以供给上

基金项目:上海市卫计委科研资助项目(2012-4376);上海中美合作现场流行病学培训项目

作者简介:郁晞,副主任医师,从事环境与健康的研究

作者单位:1上海市青浦区疾病预防控制中心;2复旦大学公共卫生学院

联系方式:上海市青浦区华科路550弄8号楼;邮编:201799 Email:yuxi770225@126.com

通信作者:高红梅,主管医师,主要从事环境卫生监测研究;Email:ghm_qp@126.com

海市西南地区供水,而淀山湖地区正位于战略水库上游,直接向水库提供原水,故淀山湖地区水质直接影响上海市西南地区居民饮水健康。

本研究在2013年3—10月,对淀山湖地区原水开展每月一次的连续监测,以了解淀山湖地区的藻类毒素污染现状。同时,对淀山湖地区藻类细胞进行分类计数,掌握淀山湖中优势藻类情况和产毒藻类分布情况,藻细胞计数和藻毒素污染之间的关系。

1 材料与方法

1.1 试剂

微囊藻毒素标准品 MC-LR/RR/YR、三氟乙酸(TFA)、乙二胺四乙酸(EDTA)、焦磷酸钠($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$),美国 Sigma-Aldrich 公司;HLB 3cc 固相萃取小柱:中国金欧亚科技发展有限公司;甲醇、乙腈,美国 Merck 公司;二氯甲烷,迪马公司;GF/C 滤膜,美国 Whatman 公司。

1.2 仪器

色谱仪,采用 Waters Acquity UPLC 液相色谱系统和 Quattro Premier 质谱仪(LC/MS/MS)(美国安捷伦公司(6490));Milli-Q 超纯水仪,(Milli-Q Academic,美国 Millipore 公司);高速离心机(J2-HS,美国 Beckman 公司);冷冻干燥机(77530-30,美国 Labconco 公司);藻细胞计数框(中国科学院水生所)。

1.3 采样点的分布和水样的采集

根据淀山湖不同功能区的分布,湖水的入水口、出水口、生活区、湖中心、旅游观赏区等,选择青浦区内常用的监测点,包括东西南北和湖中心 5 个监测点,选择湖周围距离岸边 50 m 4 个监测点作为采样点,湖中心监测点选择航标所示湖中心位置。采样点具有代表性,可评估入水口、出水口和功能区的藻类毒素水平,并且可推断湖区总体藻类毒素污染水平。在 3—9 月,天气晴朗,无台风、降雨条件下,根据环境水体采样标准,用机动船到各监测点用水样采样器采集水面下 0.5 m 处水样,各监测点分别使用硬质玻璃瓶采集 2 L 水样,添加 0.5 mL 浓硫酸后,2℃~8℃ 保存,24 h 内水样周围加放冰袋,及时送上海市疾病预防控制中心理化实验室检测。

1.4 实验室检测

1.4.1 藻类毒素检测 采用 Waters Acquity UPLC 液相色谱系统和 Quattro Premier 质谱仪(LC/MS/MS),使用高压液相色谱联合质谱检测方法进行水

体中游离藻类毒素和生物样本中藻类毒素检测,藻毒素加标回收率 99.1%。

水样的预处理:准确量取经 0.45 μm 滤膜过滤的水样 100 mL,将全部样品过 Waters Oasis HLB 3 cc 固相萃取小柱(上样前先用 3 mL 甲醇和 6 mL 水活化)。先后用 3 mL 水和 3 mL 20% 甲醇溶液洗涤 HLB 柱,抽干 1 min,用 5 mL 甲醇洗脱,收集洗脱液,50℃ 氮气吹干,用含内标脑啡肽 10 ng/mL 的 50% 甲醇水溶液定容至 1.0 mL,15 000 rpm/min 离心 10 min 后上清液进样分析。

1.4.2 藻类细胞分类计数 在各监测点用玻璃采样瓶采集水面以下 0.5 m 的水样 1 L,使用鲁格氏液固定后,经高倍显微镜镜检,检测 10 个视野下藻类细胞计数。求其分类均值。

1.5 质量控制

由上海市疾病预防控制中心理化实验室用藻毒素标准品制作标准曲线,设置检测平行样品,根据检测限设置参考值,对偏离标准曲线 2 个标准差的数据进行复核;制作质量控制图,设置警戒线,对检测结果在质量控制图警戒线附近的数据进行复测,留置少量检测样品,进行平行复测;保障检测数据的可靠性。

1.6 评价方法

水样中游离 MC-LR 浓度的检测结果按照《地表水环境质量标准》(GB 3838-2002)^[1] 进行评价,其规定限值为 1 ng/mL。

1.7 数据录入和统计描述

使用 Excel 2007 进行数据录入。统计数据以 $\bar{x} \pm s$ 进行表示。采用 SPSS 17.0 进行统计分析。对检测结果计算均值,使用非参数检验对不同监测点之间的数据进行均值比较。

2 结果

2.1 淀山湖各监测点不同时期藻类细胞计数情况

淀山湖中湖中心藻类细胞计数水平较其他监测点高,6 月份监测到全年峰值 49.20×10^5 个/L。随后呈现急速下降,而从 3 月份起,各监测点藻类细胞计数呈现上升的趋势,7 月份后,藻类细胞计数开始有明显的下降(表 1)。

2.2 淀山湖各监测点不同时期蓝藻细胞计数情况

蓝藻细胞在淀山湖中为优势藻类,其繁殖生长高峰为 5—6 月,而在 7 月起蓝藻细胞计数呈现一定的下降水平,但是较 3 月份仍显著升高。9 月份后

蓝藻细胞计数有明显下降(表2)。

表1 2013年3—9月份淀山湖不同监测点

采样点	藻类细胞计数水平							×10 ⁵ 个/L
	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	
淀峰	1.55	1.72	2.10	2.45	2.70	2.85	3.25	
水上运动场	12.60	13.00	15.00	17.60	19.10	1.20	1.55	
湖中心	39.00	42.10	45.50	49.20	5.40	1.65	2.15	
急水港	5.59	3.89	4.50	5.15	4.20	0.90	1.75	
大观园	4.20	4.58	5.10	5.80	4.80	3.90	3.85	
地点平均	12.60	13.10	14.40	16.00	7.23	2.10	2.51	

表2 2013年3—9月份淀山湖中不同监测点

采样点	蓝藻细胞计数水平							×10 ⁴ 个/L
	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	
淀峰	6.00	6.50	9.00	10.50	12.00	10.50	12.00	
水上运动场	11.00	12.00	15.00	17.00	12.00	4.50	6.50	
湖中心	8.00	8.60	12.00	14.00	7.50	9.00	11.50	
急水港	11.00	12.50	15.00	17.00	15.00	11.00	7.50	
大观园	17.00	18.25	21.00	26.50	21.00	25.50	26.00	
地点平均	10.60	11.57	14.40	17.00	13.50	12.10	12.70	

2.3 淀山湖各监测点不同时期微囊藻毒素-LR浓度变化

监测结果可知,在本次监测过程中,淀山湖中游离藻类毒素水平3月为监测期低点,在水上运动场和大观园监测不到相应的藻类毒素,从6月份开始呈现明显的上升趋势,7月份各监测点达到监测时期峰值,水上运动场监测到72.0 ng/L,其他监测点藻类毒素浓度也较高。而在8月份后呈现逐步下降的趋势,9月份虽有所下降,但是较3月份仍显著升高(表3)。

表3 2013年3—9月份淀山湖不同监测点藻类

采样点	毒素-LR分布情况							ng/L
	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	
淀峰	0.72	2.20	/	8.80	11.00	56.00	32.00	
水上运动场	/	0.76	1.20	8.80	72.00	38.00	29.00	
湖中心	0.40	0.92	1.70	18.00	28.00	11.00	7.00	
急水港	1.40	1.89	0.68	10.00	30.00	22.00	17.00	
大观园	/	/	1.00	16.00	11.00	28.00	23.00	

注:“/”表示未检出

3 讨论

淀山湖中藻类细胞计数在一个较高的水平,3月起藻细胞监测数据开始升高,湖中心监测数据显著高于其他监测点。考虑湖中心水流充分,光照

充足、水温稳定、适合藻类细胞繁殖,且湖中心优势藻类为绿藻而非产毒蓝藻^[2-3]。5—6月淀山湖中藻细胞计数呈现明显上升,考虑为季节更替、水温、光照、溶解氧、营养条件均适合藻类细胞繁殖。此时淀山湖中藻类细胞计数发现,优势藻类已经为蓝藻^[4-5]。7月后藻类细胞计数呈现明显下降,此时淀山湖中优势藻类仍为蓝藻,考虑可能因为7—8月上海地区达到一年中的高温季节,温度极度升高,环境温度超过33℃,水温超过30℃,水体溶解氧减少,而前期过量繁殖的藻类细胞缺少氧气,故水体中藻类细胞由于高温和缺氧、缺少相应的营养物质而出现大量死亡^[6]。

淀山湖中监测期各监测点均能发现藻类毒素,3月为本次监测的最低值,除水上运动场和大观园,其他监测点均能监测到藻类毒素,而在7月达到本次监测的峰值,考虑3月温度较低,藻类细胞尚未开始大量繁殖,且无藻类大量死亡,藻体破裂释放毒素^[7]。而从6月起藻类毒素水平呈现明显的上升趋势,7月份起呈现明显的升高,晚于藻类细胞繁殖高峰,而与藻类细胞计数明显下降高度一致,考虑可能因为7月由于气温和水温超过30℃,水体中的溶解氧等大量消耗,导致大量蓝藻细胞由于高温和缺氧而死亡^[8]。产毒藻细胞死亡后,藻体内藻细胞毒素释放入水体,由细胞内藻毒素转变为游离藻毒素,而使水体中藻毒素水平明显升高^[9-10]。随着9月天气条件的逐渐改善,气温和环境水温低于30℃,蓝藻细胞死亡率降低,藻细胞破裂减少,藻类毒素释放水平下降,而使环境水体中的藻类游离毒素水平呈现下降的趋势^[11]。

淀山湖水体中游离微囊藻毒素水平呈现明显的季节变化趋势,冬春季水体藻类毒素水平较低,而在夏秋季藻类毒素水平较高,提示环境温度对水体中的藻类细胞毒素的产生和释放有重要的作用。加强环境监测,及时提供预警信息,对控制藻类毒素水平,保障饮用水安全有重要意义。

参考文献

- [1] 原中华人民共和国卫生部. GB 3838-2002 地表水环境质量标准[S]. 北京:中国标准出版社,2002.
- [2] Falconer IR. Toxic cyanobacterial bloom problem in Australia waters: risks and impacts on human health [J]. *Physiological*, 2001, 40: 228-233.
- [3] 田大军,郑唯韡,韦霄,等. 淮河流域某县水体富营养化及水体、底泥微囊藻毒素污染状况研究[J]. *卫生研究*, 2011, 40(2): 25-29.

(下转第81页)

农牧民的饮水供给情况绝大多数都能满足需要,但仍有少数地区的牧民存在饮水困难,特别季节性缺水较为典型;虽然国家投入大量资金用于西藏地区农牧民的饮水工程改善,但由于该地区农牧民,特别是牧民的游牧习惯,仍有少数牧区没实现自来水工程;另外由于拉萨河谷地区属于高寒地区,冬季长气温低、降水少、冻土深,现有的一些饮水工程受到气温等的影响较大,因气候原因使自来水水管冰冻而导致季节性缺水、停水等现象,出现不能正常供水情况。

人畜共饮现象在拉萨河谷农牧地区仍是饮水安全的一个主要问题,牧业是该地区农牧民的一个主要支撑产业,但由于农牧民放牧习惯,经常人畜共同居住(通常一楼为牲畜间,二楼为人居住),牲畜以放养为主。与其他学者得出的结果类似^[1-2],调查发现该地区自来水水源为开放式的地表水,水源地内放牧现象非常普遍,有些水源地紧挨民宅,各水源地管理意识较淡薄,不规范,管理制度不完善。因此形成了牲畜与人共饮同一个水源的情况,牲畜的排泄物等经常会进入水体而污染饮用水水源,而当地的农村饮水工程大多没有过滤、消毒等处理措施,因此水中的微生物指标将经常

超过国家饮用水卫生标准。

针对拉萨河谷典型地区农牧民季节性缺水以及微生物污染等现状,建议在该地区:①加强水源防护措施,建立、健全水源地管理机构及制度,在各个水源点及地下水出水口处,设置隔离带,隔离带内不允许牲畜进入和丢弃废物,在出水口50 m内不允许建立厕所;②在定居点处,村里修建的水管要采取一定的防冻措施,防止冬季水管受冻导致停水;③在农牧民定居点集中供水处,可配置简单的消毒设备消毒饮用水,防止相关水源性疾病,特别是肠道传染病的发生或流行。

参考文献

- [1] 乔明,黄川友. 西藏自治区城镇饮用水水源地存在的问题及对策研究[J]. 西藏科技,2011,217(4):19-20.
- [2] 张潇潇,冀磊,阿琼. 拉萨市饮用水源地环境保护工程分析[J]. 水利科技与经济,2013,19(6):43-44.
- [3] 达瓦卓嘎,扎永,次旺. 拉萨市农村生活饮用水卫生学调查[J]. 西藏科技,2011,216(3):36-37.
- [4] 普珍. 浅谈西藏农牧民饮水困难与安全问题[J]. 西藏科技,2013,249(12):17.
- [5] 赵瑜. 西藏农村生活饮用水微生物污染状况调查分析[J]. 西藏科技,2009,199(10):26-28.
- [6] 师红霞,王姝,黄川友,等. 西藏自治区河流型饮用水水源地安全评价指标体系研究[J]. 水利科技与经济,2014,20(3):5-8.
- [4] 张娟,梁前进,周云龙,等. 官厅水库水体中微囊藻毒素及其与微囊藻细胞密度相关性研究[J]. 安全与环境学报,2006,6(5):53-55.
- [5] 张志红,刘海芳,金雪龙,等. 太原市引黄供水体系水体富营养化调查[J]. 中国公共卫生,2008,24(9):1076-1077.
- [6] 徐清,杨天行,刘晓端,等. 密云水库的总磷的富营养化分析与预测[J]. 吉林大学学报,2003,33(3):315-340.
- [7] 朱广伟. 太湖富营养化现状及原因分析[J]. 湖泊科学,2008,20(1):21-26.
- [8] 王军霞,张亚娟,刘存歧,等. 水生植物在富营养化湖泊中的修复作用[J]. 安徽农业科学,2011,29(10):6055-6057.
- [9] 黄明. 巢湖水质富营养化综合评价方法探讨[J]. 皖西学院学报,2012,28(5):23-25.
- [10] 杨希存,王素凤,鄂学礼,等. 洋河水库微囊藻毒素含量与水污染指标的相关性研究[J]. 环境与健康杂志,2009,26(2):137-138.
- [11] 蔡金榜,李文奇,逢勇,等. 水库微囊藻毒素-LR含量与环境因子的相关性研究[J]. 重庆建筑大学学报,2007,29(5):130-134.

(上接第78页)