

广东省典型大中型供水水库和湖泊微囊藻毒素分布

王朝晖 林少君 韩博平 林秋奇 胡 韬
(暨南大学水生生物研究所, 广州 510632)

摘要: 为了解肝脏促癌剂微囊藻毒素(MCs)在广东省淡水水体中的污染情况, 于2003年夏、秋、冬3个季节, 采集了广东省12个典型供水水库和4个湖泊的水样; 同时于2004年2—12月对7个水库和1个湖泊进行了每隔2个月的加密调查, 用高效液相色谱(HPLC)和酶联免疫法(ELISA)测定了水体中微囊藻毒素(MCs)含量。结果显示广东省典型供水水库和淡水湖泊微囊藻毒素分布广泛, 毒素组成以MG-RR为主, 水库微囊藻毒素含量在未检出—0.919 μ g/L, 2004年毒素含量比2003年有一定程度的上升。微囊藻毒素污染较为严重的水库为汤溪、鹤地、契爷石和深圳等水库, 广州流花湖和肇庆星湖等城市景观湖泊中微囊藻毒素污染也较为严重。虽然本次调查的所有水样MCs含量均在世界卫生组织和我国饮用水卫生标准以下, 但结果说明广东省饮用水源已在一定程度上遭受MCs的污染, 需采取有效措施防止水质进一步恶化。

关键词: 微囊藻毒素; 富营养化; 供水水库

中图分类号: Q178.1; X524 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2007)03-0307-05

广东省地处热带亚热带地区, 自然湖泊甚少, 水库水资源丰富, 水库水质在广东省及港澳地区的工农业生产人民生活中起着十分重要的作用。但随着经济的发展, 广东省大部分水库已遭受不同程度的污染, 而且大中型城市附近的水库污染普遍较为严重, 优势种大都为耐有机污染的微囊藻等蓝藻类^[1,2]。

自20世纪70年代以来, 我国许多大型湖泊都发生了大规模微囊藻水华, 其中80%是产毒种类。90年代以后, 水体污染程度加剧, 水华几乎每年都有发生^[3,4]。值得注意的是, 目前我国一些供水水库也发生了有毒微囊藻水华, 并监测出微囊藻毒素(MCs), 使饮用水源受到污染^[5]。而由MCs所造成野生动物、家畜等中毒、死亡事件早已有报道^[6]。为了保证饮用水的安全, 国际卫生组织(WHO)制定了MCs饮用水标准, 推荐源水中MG-LR的标准为1 μ g/L^[7]。

为了了解广东省典型供水水库中MCs污染和分布状况, 本研究对广东省典型供水水库中的MCs进行了监测, 同时也分析了一些典型湖泊的毒素含量, 为广东省和港澳地区饮用水的安全健康提供保障。

1 材料与方法

1.1 采样点的设置及样品的采集 于2003年6—8月(夏)、9—10月(秋)和12月(冬)在广东省12座供水水库大坝或供水口及4个湖泊湖中心区采集了5—142.7L水样。水样采集后, 现场用玻璃纤维膜(Whatman, GF/C)抽滤, 收集滤膜上的样品, 待处理后用于高相液相色谱(HPLC)分析; 同时还采集了50mL水样, 用于ELISA测定。2004年的2—12月对新丰江、汤溪、流溪河、深州、契爷石、鹤地和飞来峡等7个重点水库和肇庆星湖进行了每隔2个月加密调查, 用ELISA方法测定毒素含量。所有样品置于干冰保存运输, 并于当日返回实验室, 将样品放在-20℃下保存待处理。

1.2 水样的前处理

1.2.1 HPLC分析样品前处理 样品前处理是根据Harada^[8]的方法进行。将含有样品的GF/C滤膜反复冻融3—4次, 加入100mL 5%的醋酸溶液充分抽提30min, 4000r/min离心10min, 重复3次, 收集合并上清液。上清液过经过预处理的ODS硅胶柱

收稿日期: 2005-07-01; 修订日期: 2006-10-14

基金项目: 广东省科技计划项目(2003C32902); 广东省水利厅重点项目(GSWJ-03-04)资助

作者简介: 王朝晖, (1968—), 女, 湖南长沙人; 教授; 主要从事水域生态学研究

通讯作者: 王朝晖, E-mail: twzh@jnu.edu.cn

(C18, Sep-Pak Cartridge, Waters, USA), 过完柱后, 先用水洗, 然后用 20% 甲醇冲洗, 最后用 100% 甲醇(色谱纯, Fisher 公司)洗脱、收集。收集的样品自然风干, 或用氮气吹干。残渣用 2mL 100% 甲醇溶解, 置于-20℃保存至分析。

1.2.2 ELISA 分析样品前处理 采集的 50mL 水样, 经过反复冻融和超声波处理, 使细胞破碎, 并在显微镜下检查细胞破碎的程度, 保证观察不到完整藻细胞存在。然后将水样用 GF/C 滤膜过滤, 滤过后的水样根据水体微囊藻细胞数量和污染情况稀释或浓缩一定倍数后用试剂盒检测。浓缩使用 ODS 硅胶柱, 步骤与 1.2.1 相同, 但最后得到的样品残渣用超纯水而不是用甲醇溶解。

1.3 分析测定 高压液相色谱的流动相为 MeOH/0.05M KH₂PO₄ (58: 42), 检测波长: 200—400nm, 流速: 0.5mL/min, 色谱柱为 ODS 柱(反相硅胶柱)、柱温为 40℃。标样为 Sigma 公司 MG-LR 和 RR, MG-LR 用 100% 色谱纯甲醇溶解, 配制成 10μg/mL, 同时配制 MG-LR+ RR 双标, 浓度分别为 10μg/mL。

ELISA 分析使用美国 Newark 公司的 MCs 试剂盒、芬兰 Labsystem 公司的 MK3 型酶标仪进行分析测定。

2 结 果

2.1 2003 年典型供水水库和湖泊 MCs 的分布

采集了广东省 12 个典型供水水库共 36 个样品以及淡水湖泊水体样品 12 个, 分析了水样中 MG-LR 及 RR 含量, 结果见表 1。

HPLC 测定结果显示, 广东省典型供水水库 MCs 分布广泛, 在调查的 12 个水库中, 有 8 个水库 12 个样品中检测出 MCs, 而调查的 4 个湖泊均检出 MCs。广东省淡水水体 MCs 以 MG-RR 为主, 但不同水体毒素组成不同, 深圳水库 MG-LR 含量略高于 RR。秋季, MCs 不仅分布较广泛, 而且含量较高, 6 个水库的秋季水样中均含有毒素。夏季在 4 个水库水样中检出毒素, 而冬季毒素含量偶尔分布。湖泊中 MCs 含量明显高于水库, 以流花湖含量最高, 其余 3 个湖泊的毒素含量较低。

在本调查中, MCs 含量普遍较低, 大部分样品毒素含量低于 0.1μg/L, 在这么微量的检测中, ELISA 技术检测的灵敏度比 HPLC 测定高, 许多样品用 HPLC 检测不出毒素, 用 ELISA 技术仍能检测出微量毒素(表 1)。ELISA 检测技术测定的是 MCs 总量, 而 HPLC 方法由于标样的缺乏, 只测定了 MG-LR 和 MG-RR 两种主要毒素, 理所当然 ELISA 测定的结果

较高。但由于自然水体特别是供水水库中 MCs 含量极其微量, 两种检测方法上的差异总体来说相差不大(*t* 检验, *t*=0.117, *n'*=98, *p*>>0.05)。

2.2 2004 年重点水库和湖泊 MCs 的季节分布

2004 年对 7 个重点水库和 1 个湖泊进行加密调查, 用 ELISA 方法测定了 MCs 含量, 结果见表 2。2004 年各水库或湖泊 MCs 含量明显高于 2003 年, 大部分水体毒素含量高了一个数量级。虽然 ELISA 测定值比 HPLC 为高, 但测定方法的不同不足以使 2004 年毒素含量大幅度增加。

MCs 含量最高的样品为汤溪水库春季样品, 为 0.919μg/L; 平均含量最高的为契爷石水库, 平均值为 0.385μg/L; 其次为汤溪水库, 平均值为 0.363μg/L; 深圳水库、鹤地水库毒素含量也超过了 0.1μg/L, 而水质较好的新丰江、飞来峡、流溪河水库都可检测出微量的毒素。肇庆星湖毒素各季节分布均匀, 为 0.3—0.6μg/L 之间。MCs 的季节分布不明显, 2003 年阳性样品主要分布在夏季和秋季(表 1); 而 2004 年水库春季(4 月)平均毒素含量最高。

3 讨 论

3.1 广东省典型水库及湖泊 MCs 的分布

关于水体 MCs 卫生标准的制订工作已做较多的工作。WTO 建议饮用水中 MG-LR 每日最大容许摄入浓度为 1μg/L, 若考虑促肿瘤作用, 则最高允许含量为 0.3μg/L^[7], 而这一标准已经被认为是饮用水的安全浓度^[9]。我国也制订了饮用水中 MCs 含量标准, 在已颁布的生活饮用水规范中已将 MG-LR 的标准值列入, 参照 WHO 标准, 定为 1μg/L。

在 2003—2004 年调查的水库中, 只有汤溪水库 2004 年春季样品 MCs 总量接近 1μg/L, 鹤地水库、深圳水库和契爷石水库的最高检测值为 0.5μg/L 左右, 其他水库含量都较低。研究表明 MG-LR 毒性较高^[10], WHO 和我国饮用水卫生标准都是以 MG-LR 来制订的。广东省供水水库 MCs 以 MG-RR 为主, 而且没有超出饮用水标准, 因此, 广东省供水水库的 MCs 污染尚未能对公众健康造成威胁, 但并不排除在总毒素浓度较高的几个水库具有潜在促肿瘤的风险。广东省地处热带亚热带地区, 气候温和, 适合藻类生长, 微囊藻水华一年四季都可发生^[2]。水库是广东省居民的主要饮用水源, 水库水质关系到广东省及港澳地区供水, 虽然本调查结果显示广东省主要供水水库 MCs 的危害尚不严重, 但都普遍监测出 MCs, 因此应该引起充分重视。

表 1 2003 年广东省典型供水水库及淡水湖泊 MC-RR 和 LR (μg/L) 在典型水供应水库和湖泊中的含量 (μg/L)

Tab. 1 Concentrations of MC-RR and LR (μg/L) in typical water supply reservoirs and lakes in Guangdong Province in 2003

水域区 Water area	水库名称 Reservoir	季节 Season	HPLC			ELISA	水域区 Water area	水库名称 Reservoir	季节 Season	HPLC			ELISA
			RR	LR	RR + LR					RR	LR	RR + LR	
东江流域 Dongjiang Area	新丰江 Xifengjiang	夏 Summer	0.001	0	0.001	0	北江流域 Beijiang Area	赤石径 Chishijing	夏 Summer	0.01	0	0.01	0.031
		秋 Autumn	0	0	0	0		秋 Autumn	0.021	0	0.021	0	0
		冬 Winter	0	0	0	0		冬 Winter	0	0	0	0	0
		夏 Summer	0	0	0	0		飞来峡 Feilaxia	夏 Summer	0	0	0	0
	沙田 Shatian	秋 Autumn	0	0	0	0		秋 Autumn	0	0.002	0.002	0	0
		冬 Winter	0	0	0	0		冬 Winter	0	0	0	0	0
		夏 Summer	0.078	0.026	0.104	0.091	粤西沿海地区 Yuexi Coastal Area	鹤地 Hezi	夏 Summer	0	0	0	0
		秋 Autumn	0.041	0	0.041	0.01		秋 Autumn	0.283	0.083	0.366	0.365	0
珠江三角洲地区 Pearl River Delta Area	汤溪 Tangxi	冬 Winter	0	0	0	0.07		高州 Gaogao	冬 Winter	0	0	0	0.130
		夏 Summer	0	0	0	—		夏 Summer	0	0	0	0	0
		秋 Autumn	0.019	0.006	0.025	—		秋 Autumn	0	0	0	0	0.031
		冬 Winter	0	0	0	0		冬 Winter	0	0	0	0	0.003
	流溪河 Luxihe	夏 Summer	0	0	0	0.023	湖泊 Lake	广州流花湖 Liuahuahu,	夏 Summer	0.244	0.396	0.64	1.062
		秋 Autumn	0.009	0.015	0.024	0.075		广州鹿湖 Guangzhou	秋 Autumn	0.291	0.075	0.366	0.255
		冬 Winter	0	0	0	0		广州鹿湖 Guangzhou	冬 Winter	0	0	0	0.038
		夏 Summer	0	0	0	0.047		夏 Summer	0.014	0.01	0.024	0	0
大镜子山 Dajiangshan	大镜子山 Dajiangshan	秋 Autumn	0	0	0	0.073	肇庆星湖 Zhaqing	肇庆星湖 Lulu,	秋 Autumn	0.05	0	0.05	0.052
		夏 Summer	0	0	0	0.003		肇庆星湖 Lulu,	冬 Winter	0	0	0	0
		冬 Winter	0	0	0	0.047		肇庆星湖 Lulu,	夏 Summer	0	0.06	0.06	0.012
		夏 Summer	0.009	0.009	0.018	0.038		肇庆星湖 Lulu,	秋 Autumn	0.048	0.006	0.054	0.016
	大沙河 Dashuhe	秋 Autumn	0.078	0	0.078	0.020		惠州西湖 Xinghu,	夏 Summer	—	—	0	0
		冬 Winter	0.038	0	0.038	0.100		惠州西湖 Xinghu,	秋 Autumn	0.012	0	0.012	0.051
		夏 Summer	0	0	0	—		惠州西湖 Xinghu,	冬 Winter	0	0	0	0
		秋 Autumn	0	0	0	0.084		惠州西湖 Xinghu,	夏 Summer	—	—	0	0
契爷石 Qiyeshi	契爷石 Qiyeshi	冬 Winter	0	0	0	0		惠州西湖 Xinghu,	秋 Autumn	0.012	0	0.012	0.051
		夏 Summer	0	0	0	0		惠州西湖 Xinghu,	冬 Winter	0	0	0	0

“—”表示未进行 ELISA 监测，“—”表示未进行 ELISA 分析

表 2 2004 年广东省典型供水水库及淡水湖泊微囊藻毒素浓度($\mu\text{g/L}$)
Tab. 2 Concentration of MCs ($\mu\text{g/L}$) in the reservoirs and lakes in Guangdong province in 2004

水域区 Water area	水库名称 Reservoir	月份 Month	MC 含量 Concentration of MCs	水域区 Water area	水库名称 Reservoir	月份 Month	MC 含量 Concentration of MCs
粤东沿海地区 Yuedong Coastal Area	汤溪 Tangxi	3	0.04	粤西沿海地区 Yuexi Coastal Area	鹤地 Hedi	3*	0
		5	0.919			5	0
		7	0			7	0.429
		9	0			9	0.082
		12	0.515			12	0
珠江三角洲地区 Pearl River Delta Area	流溪河 Liuxihe	2	0	东江流域 Dongjiang Area	新丰江 Xifengjiang	2	0
		4	0.037			4	0.005
		6	0.02			6	0.013
		8	0.148			8	0.014
		10	0.017			10	0.013
		12	0.08			12	—
深圳 Shen- zhen	2*	0		北江流域 Beijiang Area	飞来峡 Feilai- ia	2	0
	4	0.188				4	0.014
	6	0.641				6	0.028
	8	0.226				8	0.036
	10	0				10	0.021
	12	0.095				12	0.021
契爷石 Qiyeshi	2*	0		湖泊 Lake	星湖 Xihu	2*	0.012
	4	0.511				4	0.356
	6	0.297				6	0.522
	8	0.478				8	0.471
	10	0.255				10	0.306
	12	—				12	0.559

“*”表示水样经过 Sep park 小柱浓缩后, 测定毒素含量; “—”表示未监测 “*”: Analyzed after treated by Sep park cartridge; “—”: Not analyzed

3.2 MCs 检测技术探讨

MCs 研究目前在国内已经开始受到重视, 多年以来, 人们一直致力于建立高敏感度的 MCs 检测方法。国外现在多采用的是 ELISA 法和 HPLC 法, 前者所需样品量小, 具较高检测灵敏度, 但特异性不强, 只能检测毒素的总含量, 不能对毒素的类型进行鉴定; 后者不仅可以分析水体中痕量的 MCs, 还可对毒素类型进行鉴定。本研究对 Harada^[8] 的方法进行了合理的改进, 即用醋酸溶液提取后, 过 ODS 小柱, 上柱前样品都经过 $0.45\mu\text{m}$ 膜过滤, 这样既可减少样品的杂质, 也可保护分析柱, 使 HPLC 分析过程中的基线更加稳定。

由于 MCs 是一种细胞内毒素, 只有当蓝藻细胞死亡或破裂时, 才会释放到水中。一般来说, 藻细胞体内的毒素含量占总毒素含量的 80% 以上。本研

究的样品大部分来自供水水库, 微囊藻细胞密度低, 释放在水体中的 MCs 相对较低。因此, 在本研究中, 用 GF/C 滤膜抽滤大量的水库水样, 收集滤膜上的藻细胞样品, 分析藻体内的毒素含量。ELISA 测定结果发现, 虽然在一部分样品中结果高于用 HPLC 测定, 但由于水体中毒素含量本来就很低, 两种方法测定的误差仍在可信范围内。因此, 作者认为我们所建立的 HPLC 测定方法, 不仅节约了检测成本, 而且减少了一半以上的工作量, 本研究为水体中痕量 MCs 的 HPLC 分析提供了一种有效方法。

MCs 含有 60 多种同分异构体, 利用 HPLC 方法分析测定需要每一种毒素的标准样品, 本研究只分析了其中两种异构体 MG-LR 和 MG-RR, 根据 HPLC 检测结果来看, 除 MG-RR 和 MG-LR 的峰出现外, 还出现其他峰, 这表明水库中也许还存在其他 MCs 毒

素。在广东省淡水水体出现频率和含量较高的毒素是 MG-RR, 目前世界各国尚无 MG-RR 的饮水卫生标准。虽然 MG-RR 的毒性较 MG-LR 小, 但鉴于广东省水库和湖泊中 MG-RR 含量较高, 故值得进一步深入研究其对人群的潜在危害。

参考文献:

- [1] Lin Q Q, Hu R, Duan S S, et al. Reservoir trophic states and the response of plankton in Guangdong Province [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23(6): 1101—1108 [林秋奇, 胡韧, 段舜山, 等. 广东省大中型水库水质现状及浮游生物的响应. 生态学报, 2003, 23(6): 1101—1108]
- [2] Wang Z H, Lin Q Q, Hu R, et al. Pollution by blue-green algae (Cyanophyta) in reservoirs of Guangdong and water quality evaluation [J]. *J of Tropical and Subtropical Botany*, 2004, 12(2): 117—123 [王朝晖, 林秋奇, 胡韧, 等. 广东省水库的蓝藻污染状况与水质评价. 热带亚热带植物学报, 2004, 12(2): 117—123]
- [3] Sui H X, Chen Y, Yan W X, et al. Pollution of microcystin in fresh water lakes [J]. *Chinese J of Foal Hygiene*, 2004, 16(2): 112—114 [隋海霞, 陈艳, 严卫星, 等. 淡水湖泊中微囊藻毒素的污染. 中国食品卫生杂志, 2004, 16(2): 112—114]
- [4] Yan H, Pan G, Zhang M M. Advances in the study of microcystin toxin [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(11): 1968—1975 [闫

海, 潘纲, 张明明. 微囊藻毒素研究进展. 生态学报, 2002, 22(11): 1968—1975]

- [5] Dong C H, Yu S Z, Chen G, et al. Detection of microcystins in source and tap water from a lake [J]. *J. Hygiene Res.*, 1998, 27(2): 100—102 [董传辉, 俞顺章, 陈刚, 等. 某湖周围水厂源水及出厂水微囊藻毒素调查. 卫生研究, 1998, 27(2): 100—102]
- [6] Qiao M Y, He Z R, Shen Z, et al. Damage of *Anabaena* bloom on cows and sheep in Dalai Lake and the separation of the toxins [J]. *Inner Mongolia Envir Prot*, 1996, 8(1): 19—20 [乔明彦, 何振荣, 沈智, 等. 达赉湖鱼腥藻水华对羊的毒害作用及毒素分离. 内蒙古环境保护, 1996, 8(1): 19—20]
- [7] WHO. Guidelines for drinking-water quality [M]. Addendum to Vol. 2. Geneva: World Health Organization, 1998
- [8] Harada K I, Suzuki M, Dahlem A M, et al. Improved method for purification of toxic peptides produced by cyanobacteria [J]. *Toxicicon*, 1988, 26(5): 433—442
- [9] Falconer I R, Bartram J, Chorus I, et al. Safe levels and safe practice [A]. In: Chorus I, Bartram J (Eds.), *Toxic cyanobacteria in water, a guide of their public health consequences, monitoring and Management* [M]. R&FN Spon, WHO, London. 1999, 155—176
- [10] Fawell J K, James C P, James H A. Toxins from blue-green algae: toxicological assessment of microcystin-LR and a method for its determination in water [M]. Medmenham, Marlow, Bucks, Water Research Centre. 1994, 1—46

DISTRIBUTION OF MICROCYTINS IN TYPICAL WATER SUPPLY RESERVOIRS AND LAKES IN GUANGDONG PROVINCE

WANG Zhao-Hui, LIN Sha-Jun, HAN Bo-Ping, LIN Qiu-Qi and HU Ren

(Institute of Hydrobiology, Jinan University, Guangzhou 510632)

Abstract: In order to study the pollution of potent liver cancer promoter, microcystins (MCs), in water supply reservoirs and some typical lakes in Guangdong province, water samples from 12 reservoirs and 4 lakes were collected in summer, autumn and winter in 2003, and in 7 reservoirs and 1 lake bi-monthly in 2004 to analyze MCs by the method of high performance liquid chromatography (HPLC) and enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA). The results showed that MCs distributed widely in freshwaters in Guangdong province, and were detected almost in all water bodies. MG-RR was the main type of MCs in freshwaters of Guangdong Province. Concentrations of MCs ranged from ND to 0.919 $\mu\text{g}/\text{L}$ in reservoir water samples, and high contents of MCs were observed in water samples from Tangxi reservoir, Hedi reservoir, Qiyeshi reservoir and Shenzhen reservoir. The city park lakes such as Liuhua Lake in Guangzhou city and Xihu Lake in Zhaoqing city were polluted by MCs as well, and the highest concentrations were 0.640 $\mu\text{g}/\text{L}$ and 0.559 $\mu\text{g}/\text{L}$, respectively. MCs concentrations increased a lot during 2004 survey compared to 2003 survey. The result suggested that the water supply reservoirs in Guangdong province have been contaminated by MCs to some extent, and efficient ways should be taken to prevent the further deterioration of water quality from water supply resource.

Key words: Microcystins; Water bloom; Eutrophication; Reservoir