

水中藻源神经毒素的检测及其去除方法的研究进展

欧桦瑟, 高乃云, 庞维海, 张可佳, 黎雷
(同济大学 污染控制与资源化研究重点实验室, 上海 200092)

摘要: 随着近年来水体中藻类频繁暴发,藻类产生的毒素逐渐成为关注的热点。其中藻源神经毒素的毒性大、作用快,对人类、牲畜都有严重危害。就目前国内外有关藻源神经毒素及其去除方法的相关研究进展进行了综述。

关键词: 藻类; 蓝藻; 微囊藻毒素; 神经毒素; 研究进展

中图分类号: TU991 **文献标识码:** B **文章编号:** 1000 - 4602(2008)20 - 0010 - 05

Study on Detection of Neurotoxin Produced by Algae in Water and Its Removal Methods

OU Hua-se, GAO Nai-yun, PANG Wei-hai, ZHANG Ke-jia, LI Lei
(State Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract: With frequent algae blooms in waters in recent years, the toxins produced by algae are becoming a hot issue. The neurotoxin produced by algae does serious harm to human and livestock due to its high toxicity and rapid effect. The recent progress in study on the neurotoxin and its removal methods at home and abroad is reviewed.

Key words: algae; cyanobacteria; microcystin; neurotoxins; study progress

近年来,对藻毒素的研究主要侧重于微囊藻毒素(Microcystin, MC),其作用机理逐步明确^[1,2],而对藻类产生的神经毒素的研究则比较少。尽管神经毒素不是最常见的藻毒素,但其毒性强,对水生和陆生生物的威胁不容忽视,特别是最近有研究表明人体易受神经毒素影响,因此受到越来越多的关注^[3,4]。

1 藻源神经毒素的分类

淡水中藻类产生的神经毒素可以分为两大类,即鱼腥藻毒素和贝类毒素。

1.1 鱼腥藻毒素

鱼腥藻毒素主要有鱼腥藻毒素-a(anatoxin-a)及其同系物,以及鱼腥藻毒素-a(S)。

鱼腥藻毒素-a及其同系物

鱼腥藻毒素-a,简称ANTX-a,是一种低分子生物碱,也是一种危害极大的天然神经毒剂^[3,5]。

1977年首先从水华鱼腥藻(*Anabaena flos-aquae* NRC244-1)中分离出了ANTX-a,并证明它是一种神经毒碱。近年来,在鱼腥藻的其他品系(如卷曲鱼腥藻)中也发现了此毒素。另外,从水华束丝藻(*Aphanizomenon flos-aquae*)、清静颤藻(*Oscillatoria sancta*)中也提取出该毒素。海洋中有些蓝藻如铁氏束毛藻(*Trichodesmium thiebautii*)也可产生一种与ANTX-a非常相似的神经毒素。上述鱼腥藻在美国、加拿大、芬兰、挪威、瑞典分布较多,束丝藻在丹麦、芬兰、挪威较多,颤藻在苏格兰较多。我国一

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAJ08B06; 2006BAJ08B02)

些淡水湖泊也检测到这三种藻类。

在天然条件下通过稀释、吸附、光降解和非光化学降解等途径,ANTX - a 能够被降解为多种无毒物质^[3]。

高鱼腥藻毒素 - a (homoanatoxin - a) 是 ANTX - a 的同系物,属于一种生物碱,毒性比 ANTX - a 稍低,在颤藻中可分离得到^[6],一般水体中比较少见。

鱼腥藻毒素 - a(S)

鱼腥藻毒素 - a(S)简称 ANTX - a(S),也是一种低分子生物碱,比 ANTX - a 的致死作用约强 10 倍,危害更大^[6]。

ANTX - a(S)最早是从水华鱼腥藻 (*Anabaena flos-aquae* NRC - 525 - 17)中分离到,该藻类主要分布在北美。累氏鱼腥藻 (*Anabaena lemmermanni*)和卷曲鱼腥藻 (*Anabaena circinalis*)均可产生 ANTX - a(S),它们各自主要分布在丹麦和苏格兰^[7]。

1.2 麻痹性贝类毒素

贝类毒素包括很多种类,但藻类能产生的主要是麻痹性贝类毒素 (paralytic shellfish toxins, PSTs),一般以混合物形式存在,主要有非硫酸型,如石房蛤毒素 (saxitoxins, STX)、新石房蛤毒素 (neo saxitoxin, neoSTX);硫酸型,如膝沟藻毒素 (gonyautoxins, GTXs)、C 毒素 (C-toxins, Cs);另外还有上述两类的衍生物,如脱甲氨酰石房蛤毒素 (decarbamoyl STX, dcSTX)、脱甲氨酰膝沟藻毒素 (decarbamoyl GTXs, dcGTXs)等^[8]。

此类毒素主要为海水藻类产生,但调查表明淡水中的蓝藻也可以产生该毒素,目前发现的淡水中产生 PSTs 的有水华束丝藻 (*Aphanizomenon flos-aquae*)、鞘丝藻 (*Lyngbya wollei*)、卷曲鱼腥藻 (*Anabaena circinalis*)、柱孢藻 (*Cylindrocapsa raciborskii*)、*Lanktothrix* SP. FP1 和惠氏鞘丝藻 (*Lyngbya willeyi*)等。当前,国内对淡水中有关麻痹性贝类毒素的调查工作基本上是空白,已发现产 PSTs 的淡水蓝藻主要是水华束丝藻^[7]。国内淡水水体中 PSTs 的存在状况还需进一步调查研究,但贝类毒素对饮用水存在潜在的威胁不容忽视。PSTs 引起的中毒报道有很多,详见参考文献 [9]。

2 检测方法

水体中含有的藻源神经毒素具有严重的危害性,为了确保饮用水安全和人体健康,必须对水体中

的毒素进行监测和危险评估,高效、灵敏、经济的监测技术是普及毒性常规监测方法的关键。现在用于神经毒素的检测方法主要有生物法、仪器检测法、免疫法等,检测对象主要是作为饮用水水源的水库水和湖泊水。

2.1 生物检测

生物法是直观、经济的方法,通常有小鼠测试法、蛋白磷酸酶抑制试验法 (PPA)、蛋白磷酸酶竞争性结合试验法 (PPCBA)、PCR 法、组织培养细胞毒性分析法等,这类方法在确定有毒物质的存在以及概括样品毒性方面相当有效,但却不能确定样品中单个毒素结构,而且毒素分子与受体亲和的错误率高,要用到比较多的毒素和活体动物^[10]。

2.2 仪器检测

样品预处理

由于藻源神经毒素在水样中的浓度很低,为了得到可靠的分析数据以及增强色谱分析的效果,需要对水样进行仔细的预处理,好的预处理方法能够提高后续操作的速度,对样品进行简便、快捷的处理后能够直接进行色谱分析。某些情况下仍要进行预富集。

一般的预处理方法有提纯、萃取等,常用的提纯方法有固相萃取、固相微萃取和固相扩散等^[11]。

仪器检测

常用的有薄层色谱 (TLC)、气相色谱 (GC)、液相色谱 (LC)、高效液相色谱 (HPLC)、质谱分析 (LC/MS)及毛细管电泳 (CE)等。仪器检测法可实现对藻毒素的精确定量、构型分析以及同分异构体鉴别。其中,高效液相色谱 (HPLC)是应用最为广泛的一种检测方法,可以用于精确的定性、定量检测,也可以用于神经毒素的分离。

对藻源神经毒素的检测一般需要结合不同的预处理过程,将多种方法联合使用。

常用的方法有:

- a 带有紫外检测 (UV) 荧光检测 (FLD) 的 HPLC;
- b GC - MS 联用^[12];
- c HPLC - MS 联用等。

另外,还有采用 LC - MS/MS^[13]和核磁共振 (NMR)等方法进行检测的。

2.3 免疫法

免疫检测法是利用放射性或荧光物质标记藻毒

素抗体,以此特异性结合藻毒素类抗原,通过检测放射性或荧光强度以测定样品中毒素含量。主要有酶联免疫测定法(LISA)、放射免疫分析(RIA)和竞争性酶免疫分析(EIA)等。在具备鱼腥藻毒素单克隆抗体、标准纯毒素和有关试剂的前提下,使用ELISA法简便、高效、快速,该方法检测毒素的含量在pg级,且对象专一。但迄今为止有关鱼腥藻毒素单克隆抗体的制备尚未见报道,因此限制了该方法对鱼腥藻毒素的检测。

3 藻类神经毒素的去除

一般在水源水中,神经毒素不仅存在于藻类细胞内,而且有一部分溶解于水中,因此在水处理环节需要考虑去除以上两个部分的神经毒素。藻源神经毒素的结构和化学性质与微囊藻毒素(MC)相差甚多,因此不能简单套用针对MC的处理方法。

3.1 常规处理方法

常规处理法是当前水厂普遍采用的方法,在混凝、沉淀过程通过加入絮凝剂去除藻类而连带去除细胞内藻毒素,但对溶解在水里的藻毒素无去除作用,而且在絮凝过程中可能使藻类细胞裂解而释放出毒素,特别是采用机械搅拌絮凝的处理工艺;过滤不能有效地去除藻类细胞以及溶解性藻毒素;气浮法一般用于水库水的除藻,效果明显,但对溶解在水中的藻毒素的去除效果不佳^[14];有研究表明,加氯消毒对ANTX-a的去除效果不佳^[15]。因此,单独采用常规处理法对神经毒素的去除效果有限。

3.2 高级氧化法

高级氧化法(AOPs)中常用氧化剂包括臭氧(O₃)、二氧化氯(CD₂)、高锰酸盐、双氧水(H₂O₂)以及Fenton试剂等。AOPs有如下优点:反应时间短,常温下能完成反应,主要催化剂无毒、便宜、稳定。

研究表明,单独一种氧化剂的处理效果有限。Moman^[16]单独采用O₃只能去除水中68%的ANTX-a;贾瑞宝等^[17]单独采用CD₂处理藻毒素,对水中藻毒素的最大去除率仅为27%。而结合多种氧化剂,能够得到比较理想的处理效果,Moman^[16]采用O₃/H₂O₂或者O₃/Fe()能在180s内将ANTX-a的浓度降低到检测极限(0.2 μg/L)以下;另外,Fenton试剂氧化法能更有效地消除ANTX-a,在pH=7、H₂O₂初始浓度为0.05 mg/L、Fe()初始浓度为0.5 mg/L条件下,采用Fenton方法能在90s

内降解水中所有的ANTX-a,而且反应速度快,基本符合一级反应动力学。

在氧化反应过程中,不同的物质存在着竞争效应。根据Rositano等的研究^[18],采用O₃对含有ANTX-a和STX的水样进行处理,结果表明O₃对ANTX-a的反应优先。Onsta等^[19]的研究也表明ANTX-a在O₃氧化反应中是最优先的。因此采用AOPs处理饮用水中的神经毒素时需要考虑它们之间的竞争效应。

以上所列举的高级氧化法,在实际应用上还有以下不足:

产生氧化副产物,投药量难以控制;

如果采用带有铁离子的方法,会使处理水带有颜色;

如果原水中含有大量藻类细胞(如水库水),则在氧化的过程可能会破坏藻细胞,释放出大量藻毒素,造成更大的危害,因此在进行氧化处理前应该先经过预处理,将水中大部分藻类细胞去除掉,然后用AOPs处理溶解于水中的神经毒素;

成本偏高。

3.3 活性炭吸附法

采用活性炭吸附去除藻源神经毒素,国内外对这方面的研究还比较少,在Ort等^[20]的研究中,采用多种氧化方法处理水中的贝类毒素,效果均不理想;改用颗粒活性炭(GAC)进行处理,则去除了水中全部的STX、dc-STX和GTXs,说明活性炭能够在一定程度上去除水中的贝类毒素,而活性炭对鱼腥藻毒素的去除效果还鲜见文献报道。此外,采用活性炭方法,要考虑水中NOM与极性较弱的藻毒素的竞争吸附,会降低活性炭的吸附效果。

3.4 膜法

膜工艺(MF、UF、NF、RO)作为新兴的方法,近年来受到广泛的重视,有关膜去除水中所含污染物的研究层出不穷。

对蓝藻细胞而言,采用UF即可将其截留;而对溶解于水中的神经毒素,UF则不能发挥作用,因为神经毒素的分子质量一般都比较小,可以直接透过UF,因此需要采用NF。Gijbsbertsen等^[21]采用UF和NF分别对藻细胞和ANTX-a进行去除,去除率分别为98%和96%;Margarida等^[22]也采用截留分子质量为150u的NF对ANTX-a进行过滤,去除率为94%,并且研究了不同的原水条件下对去除效果

的影响。可见采用 NF 去除饮用水中的神经毒素是可行的。膜工艺的处理成本相对较高,而且还存在膜污染的问题,因此如果采用膜法去除神经毒素,也需要一定的预处理,比如采用双膜法,先用 UF 去除较大的藻细胞,再采用 NF 去除神经毒素。

3.5 其他处理方法

光降解

ANTX - a 受结构的影响,在一定强度的紫外灯和日光照射条件下不稳定,很容易被降解。有研究表明,光解作用和氧无关,而是取决于光照强度和 pH。Smith 和 Sutton 的研究指出,正常条件下 ANTX - a 的半衰期为 5 d。在高强度光照和高 pH 的条件下,降解速度加快。有研究表明,人工提供高光照条件,能够将 ANTX - a 的半衰期缩短到 1~2 h。

而 PSTs 对紫外光 (UV) 吸收很弱,所以不能自行光降解,只是在含有高溶解态有机碳的水体中光催化产生氧原子,可能有助于 PSTs 的氧化降解;在自然条件下 PSTs 降解耗时长,降解 90% 需 3 个月左右,且不可生物降解。

另外,光催化反应也能有效地去除藻毒素^[17],但目前的研究还仅限于对 MC 的去除。

光降解法可以克服常规物理降解去除藻毒素效率不高以及氯化处理产生有毒副产物的弊端,是一种较安全、有效的方法,目前还在不断研究中,也可以考虑将光降解和氧化方法联用。

生物降解

水体中的微生物对水华藻类及其毒素具有生物降解功能,已发现能够降解蓝藻毒素的细菌在水体中极普遍且广泛存在,如在污水沟、湖水、沉积物和河水中。生物降解是去除鱼腥藻及其他蓝藻毒素的一个重要方法。

以上列举了多种能够去除神经毒素的水处理方法,单独采用一种方法的处理效果有限,如果能采用复合的方法,如光降解/高级氧化法、气浮/高级氧化法、生物活性炭 (O₃ + GAC) 工艺等,有望得到更好的去除效果。

4 展望

对上海饮用水水源之一的淀山湖以及长江水源地陈行水库进行了调查,藻毒素的污染明显存在,ANTX - a 的浓度为 0.004~0.013 μg/L;而且国内外很多水库、湖泊都常有藻类水华发生,可见藻类产生的神经毒素存在于饮用水源中,需要引起足够重

视。当前,对微囊藻毒素的研究比较成熟,而对藻类神经毒素的研究不多,有关产生神经毒素的藻类的分布有待调查和研究,而且需要针对性强的神经毒素检测方法以及水处理方法,这些均为亟待解决的问题。

参考文献:

- [1] 盛建武,何苗,施汉昌,等. 水环境中微囊藻毒素检测技术研究进展 [J]. 环境污染与防治, 2006, 28 (2): 132 - 136
- [2] Eva R, Gretchen O, Tomas K, *et al*. Oxidative elimination of cyanotoxins: comparison of ozone, chlorine, chlorine dioxide and permanganate [J]. Water Res, 2007, 41 (15): 3381 - 3393.
- [3] Joana O, Sandra R, Ana G, *et al*. Toxicology and detection methods of the alkaloid neurotoxin produced by cyanobacteria, anatoxin-a [J]. Environ Int, 2007, 33 (8): 1070 - 1089.
- [4] Stone D, Bress W. Addressing public health risks for cyanobacteria in recreational freshwaters: the Oregon and Vermont framework [J]. Inte Environ Assess Manage, 2007, 3: 137 - 143.
- [5] Jarena A, Poling A, MacPhail C, *et al*. Effects of weekly exposure to anatoxin-a and nicotine on operant performance of rats [J]. Neurotoxicol Teratol, 2008, 2: 32 - 42.
- [6] 卫玮,肖雯. 藻毒素的类型、危害和防治 [J]. 生物学通报, 2004, 39 (8): 21 - 23.
- [7] 张志红. 三种蓝藻毒素的神经毒性研究进展 [J]. 国外医学卫生学分册, 2002, 29 (6): 244 - 263.
- [8] 龚艳,刘剑彤,肖邦定,等. 淡水水体麻痹性贝毒污染的现状 [J]. 环境污染与防治, 2006, 28 (3): 194 - 197.
- [9] Batoreua C, Dias E, Pereirab P, *et al*. Risk of human exposure to paralytic toxins of algal origin [J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2005, 19 (3): 401 - 406.
- [10] Baker J A, Entsch B, Neilan B A, *et al*. Monitoring changing toxigenicity of a cyanobacterial bloom by molecular methods [J]. Applied Environ Microbiol, 2002, 68 (12): 6070 - 6076.
- [11] Sandra R, Joana O, Vitor V. Analysis of anatoxin-a in biological samples using liquid chromatography with fluorescence detection after solid phase extraction and solid phase microextraction [J]. J Chromatography A, 2007, 1156: 134 - 140.
- [12] Alireza G, Nahid N, Ali M, *et al*. Analysis of anatoxin-a

- using polyaniline as a sorbent in solid-phase microextraction coupled to gas chromatography - mass spectrometry[J]. J Chromatography A, 2005, 1078: 120 - 127.
- [13] Sara B, Milena B, Roberta C, *et al* Simple and rapid determination of anatoxin-a in lake water and fish muscle tissue by liquid-chromatography - tandem mass spectrometry[J]. J Chromatography A, 2006, 1122: 180 - 185.
- [14] 彭海清, 谭章荣, 高乃云, 等. 给水处理中藻类的去除[J]. 中国给水排水, 2002, 18(2): 29 - 31.
- [15] Eva R, Ana S, James S M, *et al* Kinetics of the oxidation of cylindrospermopsin and anatoxin-a with chlorine, monochloramine and permanganate [J]. Water Res, 2007, 41(9): 2048 - 2056
- [16] Fares AlMomani Degradation of cyanobacteria anatoxin-a by advanced oxidation processes [J]. Sep Purif Technol, 2007, 57: 85 - 93.
- [17] 蔡俊鹏, 程璐, 吴冰. 鱼腥藻毒素及其检测、去除方法研究进展 [J]. 水利渔业, 2006, 26(3): 2 - 6
- [18] Rostitano J, Newcombe G, Nicholson B. Ozonation of NOM and algal toxins in four treated water [J]. Water Res, 2001, 35(1): 23 - 32
- [19] Gretchen O, Sabine S, Jussi M. Selective oxidation of key functional groups in cyanotoxins during drinking water ozonation [J]. Environ Sci Technol, 2007, 41(12): 4397 - 4404.
- [20] Philip O, Gary J. Removal of saxitoxins from drinking water by granular activated carbon, ozone and hydrogen peroxide - implications for compliance with the Australian drinking water guidelines [J]. Water Res, 2004, 38: 4455 - 4461.
- [21] Gijsbertsen-Abrahamse A J, Schmidt W, Chorus I, *et al* Removal of cyanotoxins by ultrafiltration and nanofiltration [J]. J Membr Sci, 2006, 276: 252 - 259.
- [22] Margarida R T, Maria J R. Neurotoxic and hepatotoxic cyanotoxins removal by nanofiltration [J]. Water Res, 2006, 40: 2837 - 2846

电话: 15802197768

E-mail: ouhuase@yahoo.com.cn

收稿日期: 2008 - 06 - 03

(上接第 9 页)

- [14] 张余霞, 张玲, 高兴, 等. 水稻 (*Oryza sativa L.*) 秸秆浸提液对铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 的抑制作用 [J]. 湖泊科学, 2007, 19(4): 479 - 484.
- [15] 鲜启鸣, 陈海东, 邹惠仙, 等. 沉水植物中挥发性物质对铜绿微囊藻的化感作用 [J]. 生态学报, 2006, 26(11): 3549 - 3554.
- [16] Nakai S, Yamada S, Hosomi M. Anti-cyanobacterial fatty acids released from *Myriophyllum spicatum* [J]. Hydrobiologia, 2005, 543: 71 - 78
- [17] 李磊, 侯文华. 荷花和睡莲种植水对铜绿微囊藻生长的抑制作用研究 [J]. 环境科学, 2007, 28(10): 2180 - 2186
- [18] 李锋民, 胡洪营. 植物化感作用控制天然水体中有害藻类的机理与应用 [J]. 中国给水排水, 2004, 20(2): 1 - 4.
- [19] 王立新, 吴国荣, 王建安, 等. 黑藻对铜绿微囊藻抑制作用 [J]. 湖泊科学, 2004, 16(4): 337 - 342

E-mail: menglh@mail.ustc.edu.cn

收稿日期: 2008 - 03 - 27

珍惜水, 保护水,
实现人与自然和谐共处