

污染物复合作用的研究和评价方法

郑振华¹ 周培疆¹ 吴振斌²

1. 武汉大学, 武汉市

2. 中国科学院水生生物研究所, 武汉市

摘 要

阐述与复合污染有关的重要概念, 并对复合污染进行分类; 同时论述复合污染研究中实验对象的选择、实验设计以及参考模型的选用和评价方法。

关键词: 复合污染, 参考模型, 评价方法, 综述

壹、前 言

随着工农业的发展, 越来越多的污染物同时进入环境中并共存。1939 年 Bliss 提出研究 2 种毒物联合作用的毒性并首次提出拮抗作用、加和作用、协同作用的划分, 至此污染物的复合效应才逐渐为人们所认识^[1]。本文主要是对复合污染的研究评价方法进行综述。

贰、有关概念和分类

一、有关概念

复合污染 (Combined Pollution) 概念已有阐述^[2,3]。围绕着复合污染的概念, 有些概念必须加以明确。相互作用 (Interaction) 指一种毒物改变与其共存的另一种或几种毒物毒性的作用。其机理在于改变参与其中的化合物的化学性质和影响有机体生理代谢过程。前者改变化合物的化学结构和化学物种的形成, 后者则改变了扩散、排泄、生物转化等的类型^[4]。最低毒性浓度 (Minimum Toxic Concentration), 是指混合物中某一组分低于此浓度 (或浓度比例) 将对联合毒性不产生明显的作用或影响^[5]。

二、复合污染的分类

除了按污染来源将复合污染分类或按污染物类型将复合污染分为无机复合污染、有机复合污染和无机-有机复合污染^[2]以外, 还可按污染物的作用方式将复合污染分为: 相同 (或相近) 作用方式复合污染和不相同作用方式复合污染。前者的毒性等于毒物

浓度的加和(Concentration Additive)。后者接受试生物对不同种类毒物的敏感性又可分为 3 类: 第一类是完全相关型, 此时联合毒性应等于毒性最大组分的毒性; 第二类是完全不相关型, 此时联合毒性应等于效应的加和 (Response Additive); 第三类是相互作用型, 包括拮抗 (Antagonism) 和协同 (Synergism) 2 种方式。

叁、复合污染研究方法

一、受试生物的选择

目前的复合污染实验多以水生生物作为实验材料, 主要是因为人工水生生物系统受环境干扰少、便于测定和控制, 实验周期短, 物种对污染变化敏感、易表征等。这些受试物种有藻类^[6]、蚤类^[7]、鱼类^[8]、软体动物^[5]和发光细菌^[9]等。在土壤实验中, 多以蚯蚓和土壤昆虫作为受试生物^[10], 也有以土壤微生物的生物活性作为测试终点^[11], 以高等植物为对象的研究则较少^[11]。将放射性实验等应用于复合污染实验往往会取得较好效果^[4]。

二、实验方案的选择

尽管目前复合污染的研究较多, 但仍未建立起适于测定毒性联合作用的标准实验方法^[12]。实验的设计没有统一的方法, 因而要从具体实验的毒物种数、毒物浓度水平、平行样重复数和实际实验条件出发进行设计。大致有以下 3 种方法:

1. 比例组合法。对于 2 种毒物, 常采用按浓度 1:1 和毒性 (如 LC_{50} 值) 1:1 的比例加入, 然后按照 ISO 或 GB 规定的 LC_{50} (或 EC_{50}) 实验, 观察并比较 24 h、48 h 和 96 h 的抑制结果。当然, 不同的污染物采用的比例可以不同^[10], 但必须从进行的实验类型 (短效应还是长效效应) 和各毒物的 LC_{50} 出发设置适当比例。

2. 完全组合法。此法适用于较少的毒物数量和浓度梯度。方法是依据其 LC_{50} (EC_{50}) 取一系列的等距对数浓度, 再进行完全的两两组合^[13,14,15]。

3. 回归正交 (因子分析) 法。先确定因子数目, 再选定正交方案, 最后用多元回归、方差分析法和逐步分析法得到结果。此法的优点是实验数量少, 所获信息多, 特别适用于多种污染物 (3 种或 3 种以上) 的复合污染研究^[11,16]。

浓度的选择是影响结果的最重要因素。目前, 复合污染研究主要集中于急性毒性实验和亚急性毒性实验^[13], 因而 LC_{50} (EC_{50}) 是不可不考虑的因素, 因为很多的参考模型中都会用到此值 (如 Marking 相加指数)。还有研究指出, 长效效应实验和蓄积实验也是复合污染研究的重要方向^[11], 这时本底浓度必须考虑。Ribeyre 等^[8]提出了一种选取浓度的方法。设置 5 个浓度水平从 $C_0 \sim C_4$, 用公式表示为:

$$C_i = (C_4/2) \times (x/a+1)$$

其中 $i = 0, 1, 2, 3, 4$; $a = 1.596$; $x = -1.596, -1, 0, 1, 1.596$ 。

肆、复合污染研究中的评价方法

选择适当的评价方法对复合污染的研究具有重要意义^[9]。目前已有很多的模型处理方法,但大多是基于实验数据的统计分析经验公式。

一、统计模型比较法

该法是目前采用得较为广泛的一种方法。主要有以下几种:

1.多元线性回归扩展法^[17]:该方法对联合毒性和两种污染物的毒性进行多元回归,即

$$Y = a_0 + a_1X_A + a_2X_B$$

变换为

$$Y = a_0 + a_1(X_A + a_2X_B/a_1)$$

其中 a_1 、 a_2 是回归系数; a_0 为截距; X_A 、 X_B 为 2 种毒物的毒性。Y 为联合毒性。由括号内部分进行相互作用性质的推定, $a_2/a_1 > 1$ 为协同作用, $a_2/a_1 < 1$ 为拮抗作用, $a_2/a_1 = 1$ 为加和作用。显然,此方法过于简单。

2.多元回归模型:模型^[8,18]如:

$$Y = b_0 + b_1A + b_2B + b_3A^2 + b_4B^2 + b_5AB$$

其中 $b_1 \sim b_5$ 为系数; Y 为预测值; b_0 为截距; A 为 A 物质施用率, B 为 B 物质施用率。其中 b_5 表示了 A 和 B 的交互作用。由于通常情况下并不很清楚交互作用的性质和强度,因而可用模型^[19]:

$$I\% = a[X] + b[Y] + c[XY] + d[XY^2] + e[X^2Y] + g[X^2Y^2]$$

其中 a 、 b 、 c 、 d 、 e 、 g 为系数值,用 t -检验进行检验,只有在 $p > 0.05$ 水平下明显不为 0 的值才可整合进此方程中。 c 、 d 、 e 、 g 代表了交互作用的性质和强度,其负值为拮抗作用,正值为协同作用,零值为效应加和作用。

3.其他统计模型: Hass 等^[20]从各污染物的毒性出发来预测复合污染的毒性方程:

$$H = -\frac{1}{a} \ln \left[1 + \frac{(e^{-a}x - 1)(e^{-a}y - 1)}{(e^{-a} - 1)} \right]$$

其中 x 、 y 代表各个毒物的毒性比例方程与 1 之差; H 为 x 、 y 乘积,其中 a 用以表征相互作用的性质和强度。Moreau 等^[4]还提出过一种过量功效模型 (Excess Function Model)。

二、指数评价法

用一定的指数评价复合污染的联合毒性,既简单又便于比较。目前已提出的指数有多种,但只有以下几种在近几年被广泛使用: Marking 相加指数、Abott 方程指数、TU 指数和 MIT 指数。其中 Marking 指数法常常与时间结合起来,以观察相互作用的变化^[21]。TU (Toxic Unit) 指数模型^[3],也叫相对浓度相加模型 (RCA)^[22]。此模型是基于各组分单独加入时毒性的计算值。如果实际值与此计算值存在着显著偏差,则可认定拮抗作用或协同作用的存在。TU 指数自提出后就得到广泛的应用,但过于繁琐。

Forget 等[7]提出方程:

$$xTU_A + yTU_B = TU_{(A+B)}$$

其中 x 、 y 是混合物中各自 TU 的比例, $(x+y)>1$ 、 $(x+y)<1$ 、 $(x+y)=1$ 分别对应于协同、拮抗和加和作用。Nirmalakhanda 等^[15]提出:

$$\sum (TU_i)^{1/a} = 1 \quad (i=1, 2, 3, \dots, n)$$

通过 a 值来衡量联合毒性的性质和强度, 测算出的 a 值在 0.89 到 1.23 之间。MIT 指数法中有两个重要的转折点, 即等于 0 时的独立作用和等于 1 时的浓度加和, 后者被认为是只在有相同的作用方式时才会发生。

三、作图法

通过作散点图或浓度 - 效应曲线在比较单独加入时的毒性和复合污染毒性并确定其相互作用的性质中是一种直观、有效的方法。修瑞琴等^[23]以 MST (半致死时间) 为纵坐标, 以浓度为横坐标在半数对数纸上作出单一和复合情况的若干条曲线。比较曲线的相对位置可以确定其联合作用的特点^[4]。类似的方法是用 TU 值 - 效应作图法^[22], 先作出以加和作用处理得到的预测曲线, 再作出实测曲线, 如果后者相对于前者向右偏移, 则为拮抗作用, 向左偏移则为协同作用。利用浓度 - 效应作图还可采用斜率比较法^[24], 通过比较各浓度 - 效应曲线 (效应指标一般取对数值) 斜率的变化确定相互作用的性质。此外, 还可用等浓度线法作图, 结果很大程度上取决于加合作用线的斜率^[9]。

四、生理生化指标比较法

先确定一个对毒性很敏感的指示指标, 通过比较单独加入时和复合情况下的变化, 就可以确定相互作用的性质。这种指标包括抑制指数、生物浓缩因子 (BCF)、脂酶活性、基因突变率和重要蛋白 (如甲状腺素转运蛋白) 的活性等。

此外, 其他研究方法如人工神经网络法 (Artificial Neural Networks, ANN) 等^[25]也促进了复合污染研究方法的发展。

伍、存在的问题

综上所述, 尽管复合污染研究取得了很大进展, 但其研究评价方法仍不够成熟。目前的复合污染多以急性毒性实验为主, 长效应实验和蓄积实验较少^[7]。复合污染研究尚未形成标准方法, 可供选择的研究手段还不多。许多已广泛应用的生物测试技术及人工模拟方法在目前的复合污染研究中仍很少见到。同时应寻找更为有效和适用面广的模型以进一步拓宽复合污染研究。

总之, 随着人们对复合污染了解的深入, 复合污染研究评价方法必将有一个更大的发展。

参 考 文 献

- [1] 黄平,李培军,等.Cd、Zn、菲和多效唑复合污染土壤的微生物生态毒理效应.中国环境科学,1997,17(1):58~62
- [2] 何勇田,熊先哲.复合污染研究进展.环境科学,1994,15(6):79~83
- [3] 孟昭福,薛澄泽,等.土壤中重金属复合污染的特征.农业环境保护,1999,18(2):79~91
- [4] Moreau C J, Klerks P L, Haas C N. Interaction Between Phenanthrene and Zinc in Their Toxicity to the Sheepshead Minnow (*Cyprinodon variegatus*). Environ Contam Toxicol, 1999,251~257
- [5] Hamilton S J, Buhl K J. Hazard Evaluation of Inorganics, Singly and in Mixtures, to Flannelmouth Sucker *Catostomus Latipinnis* in the San Juan River, New Mexico. Ecotoxicol Environ Safe, 1997, 38:296~308
- [6] Shehata S A, Lasheen M R, Kobbia I A. Toxic Effect of Certain Metals Mixture on Some Physiological and Morphological Characteristics of Freshwater Algae. Water, Air and Soil Pollut, 1999, 110:119~135
- [7] Forget J, Pavillon J F, Beleaef B. Joint Action of Pollutant Combinations (Pesticides and Metals) on Survival (LC_{50} Values) and Acetylcholinesterase Activity of *Tigriopus Brevicomis* (Copepoda, Harpacticoida). Environ Toxicol Chem, 1999, 18(5):912~918
- [8] Ribeyre F, Triquet C A, Boudou A. Experimental Study of Interactions between Five Trace Elements—Cu, Ag, Se, Zn and Hg — toward Their Bioaccumulation by Fish (*Brachydanio Rerio*) from the Direct Route. Ecotoxicol Environ Safe, 1995, 32:1~11
- [9] Lange J H, Thomullea K W. Use of the *Vibrio Harvegi* Toxicity Test for Evaluating Mixture Interactions of Nitrobenzene and Dinitrobenzene. Ecotoxicol Environ Safe, 1997,38:2~12
- [10] Posthuma L, Baerselman R, Veen R P M V. Single and Joint Toxic Effects Sorption of Metals in Soils. Ecotoxicol Environ Safe, 1997,38:108~121
- [11] 张纪武,梁伟,等.土壤铜铅锌复合污染对水稻的生态效应.农村生态环境.1997,13(1):16~20
- [12] 修瑞琴,许永香,等.水生毒理联合效应相加指数法.环境化学,1994,13(3):269~271
- [13] Kargin F, Cogun H Y. Metal Interactions during Accumulation and Elimination of Zinc and Cadmium in Tissues of the Freshwater Fish *Tilapia Nilotica*. Bull Environ Contam Toxicol, 1999,63:511~519
- [14] 秦天才,吴玉树,等.镉、铅及其相互作用对小白菜根系生理生态效应的研究.生态学报,1998,18(3):320~325
- [15] Nirmalakhanda N, Xu S, Trevizo C. Additivity in Microbial Toxicity of

Nonuniform Mixtures of Organic Chemicals. *Ecotoxicol Environ Safe*, 1997,37:97~102

[16] 宋菲, 郭玉文, 等. 镉、锌、铅复合污染对菠菜的影响. *农业环境保护*, 1996,15(1):9~14

[17] Qixing Z. Combined Chromium and Phenol Pollution in a Marine Prawn Fishery. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1999,62:476~482

[18] Panwar B S, Singh J P, Laura R D. Cadmium Uptake by Cowpea and Mungbean as Affected by Cd and P Application. *Water, Air and Soil Pollut*, 1999,112:163~169

[19] Bonnemain H, Dive D. Studies on Synergistic Toxic Effects of Copper and Dithiocarbamate Pesticides with the Ciliate Protozoan *Colpidium Campylum* (Stokes). *Ecotoxicol Environ Safe*, 1990,19:320~326

[20] Haas C N, Kersten S P, Wright K. Generalization of Independent Response Model for Toxic Mixtures. *Chemosphere*, 1997,34(4): 699~710

[21] 修瑞琴, 许永香, 等. 砷与镉、锌离子对斑马鱼的联合毒性实验. *中国环境科学*, 1998,18(4):349~352

[22] Weltje L. Mixture Toxicity and Tissue Interactions of Cd, Cu, Pb and Zn in Earthworms (*Oligochaeta*) in Laboratory and Field Soils: a Critical Evaluation of Data. *Chemosphere*, 1998,36(1):2643~2660

[23] 修瑞琴, 高世荣, 等. 氟与硒对鱼类联合毒性的研究. *中国环境科学*, 1995,15(5):348~350

[24] Sillanpaa M, Oikari A. Assessing the Impact of Complexation by EDTA and DTPA on Heavy Metal Toxicity Using Microtox Bioassay. *Chemosphere*. 1996,32(8):148~1497

[25] Gagne F, Blaise C. Predicting the Toxicity of Complex Mixtures Using Artificial Neural Networks. *Chemosphere*, 1997,35(6):1343~1363