

生活污水对蚕豆的氧化损伤实验研究

李亚青

(太原理工大学 环境科学与工程学院, 山西 太原 030024)

摘要: 研究了某污水处理厂不同取样点的污水对蚕豆根部和叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性及丙二醛(MDA)含量的影响。结果表明: 各取样点的污水引起蚕豆根部和叶片 SOD 活性增加和叶片中 POD 和 CAT 活性的增加; 随着各取样点 COD_{Cr} 增加, 根部的 CAT 和 POD 的活性均表现为先升后降。且除了 B 沉池外, 各取样点的污水均使得根部和叶片的 MDA 含量显著增高。由于加氯消毒, 出水的毒性高于 B 沉池污水。

关键词: 超氧化物歧化酶(SOD); 过氧化物酶(POD); 过氧化氢酶(CAT); 丙二醛(MDA); 生活污水; 蚕豆

中图分类号: S273.5

文献标识码: A

文章编号: 1672-643X(2012)04-0179-03

Experiment on oxidative damage of *Vicia faba* by domestic sewage

LI Yaqing

(Institute of Environmental Science and Engineering, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, China)

Abstract: The present study investigated toxic impacts of domestic sewage from different treatment processes on malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD) in roots and leaves of *Vicia faba*. The results showed that SOD activities were increased at all samples both in roots and leaves of *Vicia faba*; CAT and POD activities were also enhanced in leaves; In roots, CAT and POD activities were enhanced at low COD_{Cr} concentrations, and were decreased at high COD_{Cr} concentrations. Except for secondary settler, MDA were significantly increased at all samples both in roots and leaves.

Key words: superoxide dismutase (SOD); peroxidase (POD); catalase (CAT); malondialdehyde (MDA); domestic sewage; *Vicia faba*

生活污水是人类在日常生活中使用过的, 并被生活废料污染的水。这种污水中常常含有有机污染物、大量的细菌和病毒, 同时还含有部分寄生虫卵和有毒有害的化学物质^[1-2]。化学物质中的重金属、持久性有机污染物等尽管含量少, 但是毒性巨大, 基本上都具有致癌、致畸和致突变的特性^[3]。Schultz 等^[4]对污水处理厂中的持久性有机污染物全氟辛酸类物质(PFOA)及全氟辛烷磺酸类物质(PFOS)质量平衡进行研究结果显示, 经过二级处理后, PFOA 和 PFOS 的总量有所增加或者保持不变, 这说明, 传统的污水处理工艺不能有效去除这 2 种物质^[5]。城市污水的常规水质指标和对微量有毒物质的检测并不能直接反映和控制各种有毒物质的综合毒性。

近年来, 国内外研究者们已经建立了多种生物毒性检测方法和评价技术来反映污染物对生态系统的影响。本研究以蚕豆为材料检测污水厂各处理单元进出水对生物毒性。这对污水处理与回用过程中, 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 A^2O 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 个取样点分别为进水, A 沉池, B 曝气池, B 沉池, 出水池。污水处理工艺流程及取样点如图 1 所示。各取样点污水的 COD_{Cr} 值见表 1。取回的水样经滤纸、 $0.22 \mu\text{m}$ 微滤膜过滤后 4°C 保存。

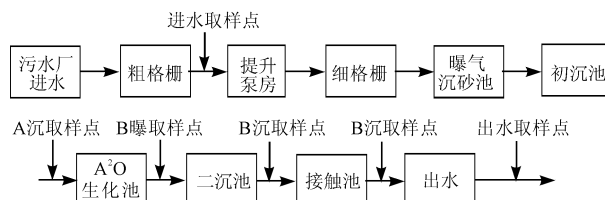


图1 污水厂处理工艺流程图及取样点

1.2 材料

将蚕豆(*Vicia faba*)用 5% 次氯酸钠清洗消毒并用蒸馏水反复冲洗后, 在 25°C 下蒸馏水浸种 24 h, 湿

纱布包裹催芽 24 h。选萌发的蚕豆放入垫有湿脱脂棉的培养皿中,于 25℃ 下培养 10 d,其间每 24 h 换水一次。选择发育整齐一致的幼苗用于毒性试验。

表 1 各取样点污水的 COD_{Cr} 值 mg/L

水样	COD _{Cr}	水样	COD _{Cr}
空白	0	B 曝	115
出水	48	A 沉	342
B 沉	49	进水	488

1.3 染毒

蚕豆幼苗随机分组,分别用各取样点的污水处理幼苗 72 h,设蒸馏水为对照组。之后在蒸馏水中恢复 24 h。

1.4 粗酶液制备

称取叶片或根系 1 g 加入 50 mmol/L 的磷酸缓冲溶液(pH = 7.6) 10 mL,于研钵中 4℃ 研磨成匀浆,过滤后以 4 000 r/min、4℃ 离心 15 min,取上清为酶提取液。

1.5 酶活测定

超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用 Giannopolitis 和 Ries^[6] 的方法。根据 SOD 抑制氮蓝四唑(NBT)的光化还原的原理,采用抑制光化还原 NBT 50% 为 1 个活性单位,酶活性以 units (U)/g · freshweight (fw) 表示;过氧化氢酶(CAT)活性测定以过氧化氢(H₂O₂)为底物,测定 240 nm 处 OD 值的变化速率,以每分钟降 1 μmol H₂O₂ 为 1 个活性单位^[7],酶活性以 μmol/(min · g) 表示;过氧化物酶(POD)活性采用 Van Huystee^[8] 的方法测定,酶活性以 ΔA₄₇₀/(min · g)。

1.6 脂质过氧化作用的测定

通过测定硫代巴比妥酸反应物(TBARS)的水平,计算脂质过氧化产物——丙二醛(MDA)的含量,以表示细胞脂质过氧化水平^[9]。

1.7 统计学分析

应用 t - 检验法检验染毒组与对照组之间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 对蚕豆根部抗氧化酶活性的影响

各取样点污水和蒸馏水对蚕豆根部 SOD, POD 和 CAT 活性的影响见表 2。各取样点污水均引起蚕豆根部 SOD 活性显著增加,除了出水外,其余各组对 SOD 的影响存在一定的剂量 - 效应关系,即随着 COD_{Cr} 的增加,SOD 活性也在增加;各取样点对蚕豆根部 POD 和 CAT 的影响相似,均表现为先升后

降。出水、B 沉和 B 曝引起 CAT 活性显著升高,而 A 沉和进水却引起 CAT 活性显著降低。而对于 POD 的影响是除了进水使 POD 显著降低外,其余各组均使得 POD 活性显著升高。表 1 数据显示虽然出水和 B 沉的 COD_{Cr} 几乎是一样的,但是出水对抗氧化酶的影响显然要大于 B 沉的水样,可能是由于出水加氯消毒后毒性增强。

表 2 各取样点污水对蚕豆根部 SOD, POD 和 CAT 活性的影响

水样	SOD (U/g)	CAT μmol/(min · g)	POD (ΔA ₄₇₀ /min · g)
空白	431.36 ± 34.34	9.06 ± 1.95	5.38 ± 1.28
出水	602.24 ± 48.11**	18.16 ± 1.87***	8.97 ± 1.52**
B 沉	511.54 ± 41.59*	11.02 ± 1.02*	7.88 ± 0.95*
B 曝	619.87 ± 30.08**	17.95 ± 1.85***	8.681 ± 0.89**
A 沉	859.24 ± 50.24***	5.96 ± 1.23*	9.34 ± 0.96***
进水	918.48 ± 64.28***	4.62 ± 1.08**	3.98 ± 0.84

* P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001

2.2 对蚕豆叶片抗氧化酶活性的影响

从表 3 可以看出,各取样点污水均引起蚕豆叶片抗氧化酶活性增加。除了 B 沉外,其余各组均引起 SOD 和 CAT 活性显著增高,而且酶活性随着 COD_{Cr} 的增加而增加。对于 POD,则只有 B 曝、A 沉和进水使得其显著增高,而 B 沉和出水虽然也使其活性增高,但是均不显著。比较表 1 和表 2 发现根系的抗氧化酶活性高于叶片,而且叶片酶活变化不如根系敏感,这可能与有害物质直接作用于根部有关。

表 3 各取样点污水对蚕豆叶片 SOD, POD 和 CAT 活性的影响

水样	SOD (U/g)	CAT (μmol/min · g)	POD ΔA ₄₇₀ /(min · g)
空白	99.65 ± 9.70	6.21 ± 1.02	5.27 ± 1.34
出水	146.56 ± 19.97*	8.57 ± 1.14*	6.82 ± 1.21
B 沉	112.35 ± 13.01	7.16 ± 0.79	6.30 ± 0.98
B 曝	165.58 ± 13.56**	9.09 ± 1.12*	8.31 ± 1.01*
A 沉	194.38 ± 21.05***	10.25 ± 1.29***	9.38 ± 0.74**
进水	198.46 ± 18.67***	12.14 ± 1.38***	9.90 ± 1.21***

* P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001

2.3 对蚕豆叶片和根部丙二醛(MDA)水平的影响

从表 4 可以看出,除了 B 沉池的污水外,其余各取样点污水均引起蚕豆根部和叶片 MDA 水平的显著升高。而且 MDA 水平随着 COD_{Cr} 的增加而增加。根部的 MDA 水平受污水作用后明显高于叶片,这同样可能是由于有害物质直接作用于根部的缘故。表 4 中数据显示,出水引起根部和叶片 MDA 的显著增加,而 B 沉对 MDA 的影响不显著,可能还是由于出水加氯消毒后毒性增强的缘故。

表 4 各取样点污水对蚕豆叶片和根部 MDA 水平的影响

水样	根	叶
空白	5.31 ± 0.79	4.59 ± 0.95
出水	8.02 ± 1.31 **	6.98 ± 1.32 **
B 沉	6.71 ± 1.10	4.99 ± 0.87.
B 曝	10.04 ± 1.07 ***	7.93 ± 0.81 **
A 沉	12.87 ± 1.16 ***	10.27 ± 1.24 ***
进水	13.58 ± 1.52 ***	12.27 ± 1.16 ***

** P < 0.01, *** P < 0.001。

3 讨 论

植物体内的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)是一类重要的抗氧化酶,在清除氧自由基和过氧化物、抑制膜脂过氧化、保护细胞免遭伤害等方面起着重要作用,抗氧化酶可以作为检测环境污染物胁迫的生物标记物^[10]。据报道,这些抗氧化酶的活性会受到那些引起自由基增加的各种环境因素的影响^[11,12]。

本实验结果表明,除了B沉对叶片的SOD影响不显著外,其余各取样点污水均引起蚕豆根部和叶片的SOD酶活性显著增加。在细胞中,SOD是抵抗活性氧的第一道防线,在抗氧化酶中处于核心地位^[13]。污水中的有害物质刺激了植物细胞内活性氧的积累,并激发了细胞的自身防御系统,表现出抗氧化酶活性增高。CAT和POD的变化与SOD不同,叶片中的CAT和POD活性均有不同程度的升高,但是根部的CAT和POD却在较高浓度的污水作用下显著降低,这可能是活性氧大量积累,并超过细胞自身的防御能力,对细胞的结构和功能造成了严重破坏,从而使酶蛋白氧化变性、酶活性明显降低,失去对细胞的保护作用。所以SOD似乎在清除活性氧过程中起着更加重要的作用。

丙二醛MDA是植物器官衰老时或者在逆境条件下发生膜脂过氧化作用的产物之一,含量越高表明受伤害程度越大^[14]。MDA含量增加到一定程度时可能对抗氧化酶活性有一定的影响。

总之,在植物正常生长时,各种抗氧化酶彼此协调,使体内活性氧维持在一个较低的平衡状态。当处于胁迫时,植物体内活性氧产生和清除的平衡遭到破坏,从而加速活性氧的积累,影响植物的正常生长。因此,对活性氧的清除能力是决定细胞胁迫抗性的关键因素。在较低浓度污染物诱导下,植物能增加抗氧化酶系的活性以提高其适应能力,抵抗逆境而得以生存;高浓度的污染物能严重影响植物体内活性氧清除系统的活力及作用平衡,促使MDA

的大量累积,导致植物受害。

出水和B沉的COD_{Cr}几乎是一样的,但是出水对抗氧化酶的影响显然要大于B沉的水样,分析可能是由于出水加氯消毒后毒性增强。提示传统的氯消毒产生的副产物可能带来生态安全方面的负面效应。

参考文献:

[1] 金泰稕. 职业卫生与职业医学[M]. (第5版). 北京:人民卫生出版社,2004:283-289.

[2] 马来记,金锡鹏,范卫,等. 噪声与化合物的联合作用[J]. 职业卫生与应急救援,1998,16(4):186-189.

[3] 马晓妍,闫志刚,刘永军,等. 污水的青海弧菌Q67生物毒性检测及影响因素分析[J]. 环境科学,2011,32(6):1632-1637.

[4] Schultz M M,Higgins C P,Huset C A,et al. Fluorochemical mass flows in a municipal wastewater treatment facility[J]. Environmental Science and Technology, 2006, 40(23):7350-7357.

[5] 曹金玲,席北斗,许其功,等. 水环境中PFOA和PFOS的质量浓度分布及其生态毒性[J]. 环境科学,2011,32(10):2817-2826.

[6] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase II. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings[J]. Plant Physiol., 1997(b) 59: 315-318.

[7] Aebi H. Catalase in vitro. Method Enzymol, 1984,105: 121-126.

[8] Zheng X, Van Huystee R B. Peroxidase-regulated elongation of segments from peanut hypocotyls[J]. Plant Sci, 1992,81:47-56.

[9] Aravind P, Prasad M N V. Zinc alleviates cadmium-induced oxidative stress in Ceratophyllum demersum L.: a free floating freshwater macrophyte[J]. Plant Physiol. Biochem,2003,41:391-397.

[10] 郑世英,张秀玲,王丽燕,等. Cd²⁺胁迫对蚕豆抗氧化酶活性及丙二醛含量的影响[J]. 河南农业科学,2007(2): 35-37

[11] Bowler C, Van Montagu M, InzeD. Superoxide dismutase and stress tolerance. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol, 1992,43:83-116.

[12] Foyer C H, Descourvieres P, Kunert K J. Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants[J]. Plant Cell Environ,1994, 17:507-23.

[13] 康敏明,陈红跃. 几种鉴定植物抗大气污染能力指标的介绍[J]. 植物生理学通讯. 2006,42(2):349-353.

[14] 时丽冉. 盐胁迫下蚕豆幼苗抗氧化酶动态变化研究[J]. 农业科技通讯,2009(3):35-37.