

环境

生化检验

王瑞芬 编

HUANJING
SHENGHUA
JIANYAN

冶金工业出版社



环境生化检验

王瑞芬 编

北 京

冶金工业出版社

2001

内 容 简 介

本书以国家、行业或企业标准为依据,分别介绍了因环境因素所致的生化检验项目的检验意义、检验方法要点、仪器、试剂、测定步骤、注意事项,并详细讨论了检验原理。

全书共分六章,内容包括:绪论,生物样品的采集、制备、保存和预处理,生物样品中污染物残留的检验,生物样品中污染物代谢产物的检验,生物污染所致血液细胞学改变的检验,酶法检验等。

本书可作为中等专业学校化工分析专业和环境类专业选修教材,也可作为其他大、中专院校相关专业和已从事石油、化工、食品、医药、卫生、冶金、海洋、环保等各行业分析工作者的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

环境生化检验/王瑞芬编. —北京:冶金工业出版社,
2001.5
ISBN 7-5024-2732-5

I. 环… II. 王… III. 生物样品分析 IV. X132

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2001) 第 14781 号

出版人 卿启云 (北京沙滩嵩祝院北巷 39 号, 邮编 100009)

责任编辑 王之光 美术编辑 王耀忠 责任校对 杨 力 责任印制 李玉山

北京市顺义兴华印刷厂印刷; 冶金工业出版社发行; 各地新华书店经销

2001 年 5 月第 1 版, 2001 年 5 月第 1 次印刷

850mm×1168mm 1/32; 6.625 印张; 178 千字; 204 页; 1-3000 册

14.80 元

冶金工业出版社发行部 电话: (010) 64044283 传真: (010) 64027893

冶金书店 地址: 北京东四西大街 46 号 (100711) 电话: (010) 65289081

(本社图书如有印装质量问题, 本社发行部负责退换)

前 言

目前，环境污染和生态环境破坏已引起全球的关注。无论是发达国家，还是发展中国家都在为保护地球这个人类共有的家园而努力，保护生态环境已成为世界许多国家指导经济发展的总体战略。

我国高度重视治理环境污染和保护生态环境。1996年7月召开了第四次全国环境保护会议，将保护生态环境作为全党和全国人民必须长期坚持的基本国策，并提出“动员全社会力量向环境污染发起总攻”的号召，决心将我国环境保护工作提高到一个新水平。

本书所介绍的检验方法是继环境理化检验、环境生物检验的又一检验环境质量的新方法。它是人们利用生物的组织、器官、体液和毛发等作为检样来测定与生存环境密切相关的生化数据的方法，具备化学、物理、分析化学和广泛使用的仪器分析知识就可学会和掌握这些方法。测得的环境生化数据比环境理化数据能更准确的反映生物，特别是人类生存的环境质量，而又不像环境生物检验那样要求分析者必须懂得很多生物学和更高深的生物化学知识，非专业队伍不能进行。随着可持续健康发展的深入进行和人们对保护生存环境重要性认识的不断提高，相信本书会成为广大分析工作者们十分喜爱的一本书。

本书是在1991年我编写的山东省化工学校内部教材的基础上，经过几年的教学实践及与兄弟学校交流之后，根据1996年5月全国化工中专教学指导委员会下达的“环境生化检验教学大纲”的要求编写的，可作为中等专业学校化工分析和环境类专业选修教材，也可作为其他大、中专院校相关专业和已从事石油、化

工、食品、医药、卫生、冶金、海洋、环保等各行业分析工作者的参考书。

本书承蒙全国化工中专教学指导委员会分析学科组原组长、新疆化工学校高级讲师刘德生主审。刘德生同志提出了一些宝贵意见和建议，在此表示诚挚的感谢。同时也对曾给予大力支持的山东省化工学校和兄弟学校各级领导及专家们表示深深的感谢。

由于本人学识水平有限和经验不足，书中不妥之处，恳请广大读者和专家给予批评指正。

编 者

2000 年 6 月

目 录

第一章 绪论.....	1
第一节 环境检验的生化指示器系统.....	1
一、环境生化指示器系统的第一类.....	2
二、环境生化指示器系统的第二类.....	3
三、环境生化指示器系统的第三类.....	7
四、环境生化指示器系统的第四类.....	8
第二节 污染物在生物体内的积累和分布	11
一、污染物在生物体内的积累	11
二、污染物在生物体内的分布	12
第二章 生物样品的采集、制备、保存和预处理	14
第一节 生物样品的采集、制备和保存	14
一、人类血、尿、头发和其他组织样品的采集、 制备和保存	14
二、动物样品的采集、制备和保存	19
三、人和动物待检样品的取样	24
四、植物样品的采集、制备和保存	25
第二节 生物样品的预处理	29
一、消解和灰化	29
二、提取、分离和浓缩	30
三、适用于酶法检验的生物样品的处理	33

第三章 生物样品中污染物残留的检验 37

第一节 汞的检验 37

一、粮食、蔬菜、水果、鱼类、肉类等生物样品中

汞的检验 37

二、尿中汞的检验 41

第二节 铅的检验 48

一、粮食、蔬菜、水果、鱼类、肉类等生物样品中

铅的检验 48

二、尿中铅的检验 57

三、血中铅的检验 65

第三节 镉的检验 69

一、粮食、蔬菜、水果、鱼类、肉类等生物样品中

镉的检验 69

二、尿中镉的检验 76

三、血中镉的检验 82

第四节 铬的检验 85

一、粮食、蔬菜、水果、鱼类、肉类等生物样品中

铬的检验 85

二、尿中铬的检验 88

三、血中铬的检验 93

第五节 砷的检验 96

一、粮食、蔬菜、水果、茶叶、水产品等生物样

品中砷的检验 96

二、尿中砷的检验 106

三、头发中砷的检验 113

第四章 生物样品中污染物代谢产物的检验 117

第一节 酚的检验 117

一、尿中苯酚（及对、邻、间位甲酚）的检验 117

二、尿中酚的检验·····	120
三、尿中对硝基酚的检验·····	123
四、尿中对氨基酚的检验·····	127
第二节 马尿酸、甲基马尿酸的检验·····	131
一、尿中马尿酸的检验·····	131
二、尿中马尿酸或甲基马尿酸的检验·····	135
第三节 其他污染物代谢产物的检验·····	138
一、尿中 δ -氨基乙酰丙酸的检验·····	138
二、尿中硫氰酸盐的检验·····	142
三、尿中粪卟啉(尿棕色素)的检验·····	146
四、血清总胆固醇的检验·····	147
第五章 生物污染物所致血液细胞学改变的检验·····	152
第一节 苯的氨基、硝基化合物所致血液细胞学改变的检验·····	152
一、血中赫恩滋小体的检验·····	152
二、血中高铁血红蛋白的检验·····	153
第二节 一氧化碳和铅所致血液细胞学改变的检验·····	156
一、血中碳氧血红蛋白的检验·····	156
二、血中游离原卟啉的检验·····	159
第六章 酶法检验·····	163
第一节 基本知识·····	163
一、酶·····	163
二、酶的命名·····	163
三、酶的分类·····	164
四、酶的抑制剂和激活剂·····	165
五、酶催化反应的特点·····	166
六、酶的活性·····	167
七、酶活性的国际单位·····	167

八、酶活性的计算.....	168
九、酶法检验方法的分类.....	169
第二节 血清磷酸酶活性的检验.....	170
一、血清碱性磷酸酶活性的检验.....	170
二、血清酸性磷酸酶活性的检验.....	174
第三节 胆碱酯酶活性及无蛋白血清中尿素的检验.....	178
一、全血胆碱酯酶活性的检验.....	178
二、血清胆碱酯酶活性的检验.....	184
三、无蛋白血清中尿素的检验.....	187
第四节 空气中有机磷农药的检验.....	191
一、空气中对硫磷（1605）的检验.....	191
二、空气中敌敌畏（DDVP）的检验.....	196
三、空气中有机磷总量（以1059计）的检验.....	198
附录有关检验操作时的注意事项及说明.....	201
参考文献.....	203

第一章 绪 论

第一节 环境检验的生化指示器系统

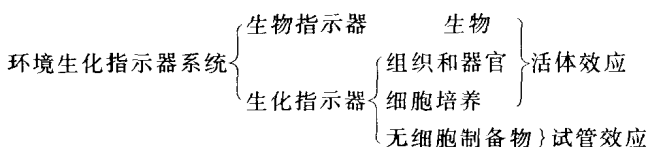
人类赖以生存的自然环境是由大气、水、土壤、生物等因素组成的。随着我国经济的高速发展和人民生活水平的不断提高,污染物排放量迅速增加,环境的组成或状态发生了变化,扰乱和破坏了生态系统及人们正常的生活条件,环境已成为一个非常复杂的体系,污染物种类繁多,各种污染因素之间存在着拮抗和加成作用,影响着环境的质量,使环境的毒性和单一毒物的毒性相比有较大的不同。单凭理化数据很难对环境质量作出准确的评价,而利用生物在该环境中的反映来确定环境的综合质量,无疑是最理想和最重要的手段。

环境生物检验是 20 世纪初在一些国家开展起来的,70 年代以来水污染的生物检验成了活跃的研究领域。1977 年以后,国外对于植物与大气污染的关系做了很多调查研究,选出了一些敏感的指示植物和抗性强的耐污染植物。我国近些年来在环境污染调查中也开展了生物检验工作,在利用植物检验大气污染方面也进行了大量研究。

利用指示生物检验环境质量的优点是指示生物直接测定环境的性质,可以直接指示出水和空气中是否存在一些危害生命的物质。

环境生化检验也是检验环境质量的重要方法。

有用的环境生化指示物的种类和数量确实很多,为了方便起见,也是为了减少生化指示物的复杂性,可将他们分为四类,即活体生物、组织和器官、细胞培养、无细胞制备物。环境生化指示器系统如下:



前三类的意义是清楚的，是活的有机系统，任何活动可在活体受作用的情况下合理地观察到。而最后一类是无细胞制备物，它包括着从非常复杂的混合物中全部可溶性成分到最简单的单一酶溶液的每一种物质，这些物质在试管内进行测定。

一、环境生化指示器系统的第一类

指示器是一种活生物体。这种活生物体是环境生物指示器。利用指示生物进行环境检验称为环境生物检验。生物也是环境生化指示器，可观测活体效应。

环境生物检验的主要内容是大气污染的生物检验和水体污染的生物检验。对土壤污染进行生物检验也是一种可行的途径，但目前国内外所做的工作还不多。

大气污染的生物检验手段主要有以下几个方面：

(1) 利用指示植物检验大气污染，主要是根据各种植物在大气污染的环境中叶片上出现的伤害症状，对大气污染作出定性和定量的判断。

(2) 利用某些敏感植物，例如，地衣、苔藓等，制成大气污染植物检验器，进行定点观测。

(3) 检验植物体内污染物的含量，估测大气污染状况。

(4) 观察植物的生理生化反应，例如，酶系统的变化、发芽率的降低等，对大气污染的长期效应作出判断。

(5) 检验树木的生长量和年轮等，估测大气污染的现状和历史。

从上述检验手段可以看出一个问题，那就是大气污染的生物检验主要是大气污染的植物检验。这是因为植物生长受到大气污染物的危害程度要比动物严重得多。人和其他动物吸入氧气进行

气体代谢，氧气在空气中所含的体积分数为 21%。绿色植物吸入二氧化碳，而二氧化碳在空气中的含量却低得多，仅有 0.03%，因而植物与空气中有害物质的接触更加密切，所有能够刺激叶片气孔张开从而增强植物呼吸活动的环境条件，如光照、温度、热均增大了污染物的毒害作用。相比之下，动物对大气污染的敏感性一般比植物低，而且动物的活动性大，在环境质量恶化时，会迁移回避，所以通常情况下不多用动物来做大气污染指示物。但是有一些小动物对一氧化碳的反应比人和植物灵敏得多，例如，狗的嗅觉特别灵敏，经过训练可以用来检验煤气管道漏气和一氧化碳污染源。

水体污染的生物检验手段主要有以下几个方面：

(1) 利用指示生物检验。例如，根据颤蚓、蛭等大型底栖无脊椎动物和摇蚊幼虫、以及某些浮游生物在水体中的出现和消失、数量的多少等来检验水体的污染状况。利用污水生物系统检验水体污染也是一种常用的手段。

(2) 利用水生生物群落结构的变化来检验。水质状况发生变化，水生生物群落结构也会发生相应的改变。在有机物污染严重，溶解氧很低的水体中，水生生物群落的优势种只能由抗低溶解氧的种类组成；未受污染的水体，水生生物群落的优势种则必然是一些清水种类。在利用指示生物和群落结构检验水体污染时，还引用了生物指数和生物种的多样性指数等数学手段来简化检验的方法。

(3) 水污染的生物测试，即利用水生生物受到污染物的毒害所产生的生理机能的变化，检验水质污染的状况，这种方法可以检验水体的单因素污染。对检验复合污染也能收到良好的效果。测试方法分为静水式生物测试和流水式生物测试。

二、环境生化指示器系统的第二类

指示器是生物的组织 and 器官以及体液等，即生物材料。例如，鱼脑、兔肝、鼠肝和动物的肺、脾、胃、肾以及血液、尿液、指

甲、毛发等；作物的根、茎、叶和果实等，这些均是环境生化指示器。应该指出，人的血液、尿液、头发和指甲等很容易取样，又不需要牺牲任何生物，因此，人类是最终的环境生化指示器。

利用生物组织和器官可以观察生物学的影响（如生长和死亡）或生物化学的影响（如酶或化学变化）。按照环境中的毒物对机体的作用以及它在体内吸收、分布、代谢和排泄情况，生物材料检验的内容可以分为以下三类：

（1）检验生物材料中有害物质的含量。例如，尿、血和头发中铅、汞、砷等的含量。

（2）检验生物材料中有害物质在体内的代谢产物的含量。例如，苯作业工人尿中酚的含量。

（3）检验生物材料中，因有毒物质的危害引起的生物化学变化或血液细胞学的改变。例如，铅作业工人红细胞游离原卟啉含量、尿中 δ -氨基乙酰丙酸含量的检验；苯作业工人血中高铁血红蛋白含量及赫恩滋（又称赫恩氏）小体的检验等。由于环境污染使生物被污染，所以生物材料的检验是环境生化检验的重要组成部分。

用植物组织进行的环境生化检验工作较少。有人观察了接触过氧乙酰硝酸酯（PAN）、臭氧和氟化物影响后被分离的燕麦细胞壁部分的纤维素的生物合成，观察到的一切情况都受抑制，抑制的原因是由于在试管中葡萄糖磷酸变位酶和纤维合成酶受PAN作用而失去活性。虽然这些特殊试验在常规应用中很不方便，但是，它说明了分离的植物组织作为环境检验的可能性，反映出几种不同的污染物质和经过一个时期的积累作用。

用动物组织做了相当大量的工作。许多人用当地鱼脑乙酰胆碱酯酶的活性测定天然水域的农药。有机磷酸盐和氨基苯甲酸化合物能抑制胆碱酯酶的活性，鱼类和这些化合物接触会降低鱼脑胆碱酯酶的活性，当其活性水平降低到未接触这些毒物的鱼脑胆碱酯酶活性的30%~60%时，鱼就会发生死亡。一些有机磷农药对不同鱼类的鱼脑胆碱酯酶活性的影响见表1-1。

表 1-1 农药对鱼脑胆碱酯酶的影响

鱼 类	农 药	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	接触时间	胆碱酯酶活性 (正常的) / %
鲦鱼	对硫磷	0.1	7h	85
金鱼	对硫磷	0.1	7h	75
蓝鳃鱼	对硫磷	0.1	7h	15
蓝鳃鱼	对硫磷	0.001	15d	30
蓝鳃鱼	马拉硫磷	0.001	15d	80

表 1-1 前三行的数据表明鲦鱼、金鱼和蓝鳃鱼用 $0.1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对硫磷接触 7h 胆碱酯酶的活性受到抑制, 仍然存活的鱼的残留胆碱酯酶的活性分别顺次为 85%、75% 和 15%。很明显, 对于敏感鱼类, 如蓝鳃鱼, $0.1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对硫磷是一个有毒的剂量。

表 1-1 中后两行的数据表明蓝鳃鱼对于 $0.001\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对硫磷、马拉硫磷接触 15d, 对蓝鳃鱼胆碱酯酶活性的影响, 仍然存活的鱼的残留胆碱酯酶的活性分别是 30%、80%。这是慢性的、亚(次)致死的接触。

从表 1-1 的数据得出的结论是: 这类农药的含量低于 $0.0001\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 用一种适当敏感鱼类接触 30d 就能检验出来。使用鱼脑胆碱酯酶来检验农药已成功地在实际中应用, 并且把在该水体中土生的鱼脑胆碱酯酶的活性最多降低 10% 作为一种水质指标。

除鱼脑以外, 其他动物的组织也已被用来或者能够用来作环境生化指示器。这方面的例子见表 1-2。

表 1-2 作为环境生化指示器的动物组织

组 织	污染物、剂量和接触时间	观察到的影响
鱼肝	6 种金属 (Ag、Cd、Be、Hg、Cu、Pb), $0.04 \sim 188\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 4d	碱性磷酸酶、酸性磷酸酶、过氧化氢酶和黄质氧化酶的活性降低
鼠肝	DDT, $5 \sim 10\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 28d	6-磷酸葡萄糖脱氢酶活性降低
豚鼠的肺、肝、脾和肾	NO_2 , $15\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 70d	乳酸脱氢酶和醛缩酶的活性在大部分组织中均升高

表 1-2 中第一例, 鱼类接触 6 种有毒金属 4d 后检验几种肝脏酶的活性并且和未接触这些毒性金属的鱼类进行对照比较, 结果是碱性磷酸酶、酸性磷酸酶、过氧化氢酶和黄质氧化酶的活性均降低, 特别是过氧化氢酶在所有的这些金属试验中活性均降低。这个试验是研究确定肝脏酶的活性是否能够用来作为毒性金属对于鱼类亚 (次) 致死剂量接触的生化指示器。

表 1-2 中第二例, 是在 28d 以内给鼠喂含有不同数量的 DDT 的食物。然后检验鼠肝的 6-磷酸葡萄糖脱氢酶的活性。检验结果可以看到仅含 $5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 DDT 就能充分引起 6-磷酸葡萄糖脱氢酶的活性严重降低。虽然在检验慢性中毒接触毒物时, $5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ DDT 含量太高, 但是通过这个试验可以找到评价 DDT 和其他氯代烃类的慢性中毒所产生的生化影响, 肝脏酶的活性可以作为生化指示器。

表 1-2 中最后一例, 是使豚鼠, 即荷兰猪连续 70d 接触 $15\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NO_2 , 然后检验肺、肝、脾和肾组织, 结果是大多数组织中乳酸脱氢酶和醛缩酶的活性均升高。这个试验说明了吸入空气中污染物的慢性中毒能够引起组织中酶的活性的变化, 这种变化能够检验并且可以用来作为敏感的环境生化指示器。

用血液这种人或其他动物的体液作为环境检验生化指示器的例子也有一些, 下面举几例来说明人类在环境生化检验中是怎样使用血液化学的, 见表 1-3。

表 1-3 用血液作环境生化指示器

血液来源	污 染 物	观察到的影响
人血	有机磷和氨基甲酸酯农药	血液中胆碱酯酶的活性降低
人血	铅, $5 \sim 50\mu\text{g} \cdot (100\text{mL})^{-1}$	δ -氨基乙酰丙酸脱水酶的活性降低
海鱼血	艾氏剂, $0.001\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 4d	血清中的 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 离子和胆固醇的含量升高

表 1-3 中第一例，是测量人的血浆和红血球的胆碱酯酶的活性，作为有机磷和氨基甲酸酯农药接触的环境生化指示器，以此来控制职业接触。这是个使用多年的试验，已被认为如果个体红血球的胆碱酯酶的活性低于平均人的 20%，或者血浆胆碱酯酶的活性低于平均人的 30% 时，就被认为可能是接触了胆碱酯酶的抑制剂。

表 1-3 中第二例，也是用人的血液的试验，是一个很早就被用来评价长期接触铅而对人体潜在影响的试验。

由于人和铅接触使人体吸进了铅，产生了生化效应，使 δ -氨基乙酰丙酸脱水酶的活性降低，已经证实血液中的铅浓度在 100mL 血中含 5~25 μ g 的低含量下， δ -氨基乙酰丙酸脱水酶的活性就可以被抑制。正好，这个血铅浓度值就是没有过职业接触铅的普通人体中的血铅含量值。这不仅提供了一个很好的接触铅的生化指示器，还表明了环境中存在铅污染时，对人所产生的可以检验的生化影响，这样的生化数据是非常有用的。

表 1-3 中的最后一例，是一种海鱼，即北方河豚接触 0.001mg $\cdot$ L⁻¹ 的艾氏剂（一种氯化烃农药）而引起的血液化学的变化。受试验的海鱼血液中的 K⁺、Na⁺、Ca²⁺ 及胆固醇的含量比没有接触艾氏剂的鱼高，这说明了艾氏剂所引起的肝损害。虽然我们对于鱼类的正常血液化学值了解得很少，但是以比较为目的，它的对照鱼群很容易确定，这样可将鱼类血液试验用于海洋环境生化检验，从而监测海洋环境。

三、环境生化指示器系统的第三类

指示器是生物的细胞培养，也可以观察生物学的影响（如生长或死亡）或生物化学的影响，例如，酶或化学变化。作为环境生化指示器的细胞培养，见表 1-4。

表 1-4 作为环境生化指示器的细胞培养

污染物	细胞培养	观察到的影响
NO ₂	小鼠肝、兔子和大鼠的肺	细胞死亡或降低耗氧量
SO ₂	小鼠肝、人淋巴球	生长受抑制，淋巴球受损害
臭氧	人品系 L 细胞	生长受抑制
农药	人的肝、HeLa 细胞，小鼠的肝、结缔组织细胞	生长受抑制
锌	鲑鱼的表皮细胞	降低细胞分裂指数

应该指出，细胞培养方面已做的工作很少，虽然它作为环境生化指示器对许多环境污染物表明有反应，但是它们并没有真正被当作环境生化指示器来使用，因为一般情况下，总是把它们看成是生物学上的效应。所以在环境生化检验中基本上没有涉及到这方面的内容。

四、环境生化指示器系统的第四类

指示器是无细胞制备物。无细胞制备物是在试管内进行的生物测试，与用整体生物试验相比较，试管内的生物测试特别容易做。通过检查对于某种酶的活性的影响程度就可以知道环境污染到了什么程度。例如，在农业上长期使用农药对硫磷（或马拉硫磷），这种农药是胆碱酯酶的非竞争性的抑制剂，因此以乙酰胆碱为底物与胆碱酯酶进行反应时，如果有对硫磷存在，则胆碱酯酶的活性就会下降，根据其活性下降的程度可以进行对硫磷的定量。利用这种方法已进行土壤被对硫磷污染情况的调查。

无细胞制备物的酶法检验是环境生化检验的重要组成部分。下面介绍几例酶法检验在环境生物测试、环境生化检验方面的应用。

例如，酵母酒精脱氢酶可作为水中 Ag⁺ 和 Hg²⁺ 的指示器，而且不必担心其他元素在正常浓度 c (mol · L⁻¹) 下的干扰问题，见表 1-5。