

## 基于藻类荧光动力学的水体放射性核素快速监测方法研究

谭小璇<sup>1,2</sup>, 甘婷婷<sup>2\*</sup>, 周蓉卉<sup>3\*\*</sup>, 殷高方<sup>2</sup>, 赵南京<sup>1,2</sup>, 汪颖<sup>1,2</sup>, 盛若愚<sup>1,2</sup>, 叶紫琪<sup>4</sup>, 张瑞琦<sup>5</sup>, 黄旭昀<sup>3</sup><sup>1</sup>中国科学技术大学环境科学与光电技术学院, 安徽合肥 230026;<sup>2</sup>中国科学院合肥物质科学研究院安徽光学精密机械研究所, 中国科学院环境光学与技术重点实验室, 安徽合肥 230031;<sup>3</sup>珠海广睿汇利发展有限公司, 广东珠海 519000;<sup>4</sup>合肥工业大学资源与环境工程学院, 安徽合肥 230009;<sup>5</sup>四川省辐射环境管理监测中心站, 四川成都 610000

**摘要** 放射性核素进入水环境所导致的水体污染问题一直备受关注。水体放射性核素毒性的现场快速检测是当今环境领域面临的重要挑战。针对此问题,将蛋白核小球藻作为受试生物,以三种典型放射性核素铯(<sup>90</sup>Sr)、铯(<sup>137</sup>Cs)和钴(<sup>60</sup>Co)为研究对象,利用荧光动力学方法,研究了快速叶绿素荧光诱导动力学(OJIP)曲线及最大光化学量子产率( $F_v/F_m$ ,  $F_v$ 是可变荧光,  $F_m$ 是最大荧光)和光合性能参数( $PI_{Abs}$ )对<sup>90</sup>Sr、<sup>137</sup>Cs和<sup>60</sup>Co三种放射性核素在180 min短期胁迫下的响应规律与特性,从而明确了藻类荧光动力学技术应用于水体放射性核素毒性现场快速检测的可行性。此外,通过 $F_v/F_m$ 与 $PI_{Abs}$ 对三种放射性核素响应性能的对比,进一步优选出可用于放射性核素毒性灵敏检测的最佳光合荧光参数。结果表明:在暴露180 min以内,<sup>90</sup>Sr、<sup>137</sup>Cs和<sup>60</sup>Co三种放射性核素均会破坏蛋白核小球藻的光合系统,引起OJIP曲线的显著变化,表明微藻荧光动力学方法能够用于水体放射性核素毒性的快速检测; $F_v/F_m$ 和 $PI_{Abs}$ 对三种放射性核素的响应均具有活度浓度依赖性和时间依赖性,表明基于微藻荧光动力学方法所获取的 $F_v/F_m$ 和 $PI_{Abs}$ 均可作为毒性响应参数用于放射性核素毒性的检测和评估;根据基于 $F_v/F_m$ 和 $PI_{Abs}$ 所获取的三种放射性核素的20%效应浓度( $EC_{20}$ )和50%效应浓度( $EC_{50}$ )对比可知, $PI_{Abs}$ 相较于 $F_v/F_m$ 对放射性核素毒性具有更灵敏的响应特性,因此 $PI_{Abs}$ 是基于藻类荧光动力学技术实现水体放射性核素快速检测的最佳毒性响应参数。本研究为水体中放射性核素毒性的现场快速检测提供了重要的方法基础。

**关键词** 荧光动力学; 放射性核素; 微藻; 光合荧光参数; 毒性检测

中图分类号 X832 文献标志码 A

DOI: 10.3788/AOS231281

## 1 引言

随着核能的大量开发和核电技术的高速发展,世界各地有越来越多的核电站正在建设和运行。由于核电站的安全运行需要大量冷却水,因此几乎全部核电站位于沿海或内陆河流附近,这就导致周围水域受放射性污染的风险大大增加。2011年日本福岛核电站发生核事故,造成大量高活度浓度放射性核素泄漏进入海洋,严重破坏了水环境,并对水生生物及人类健康构成了严重威胁<sup>[1]</sup>。因此,水环境放射性核素检测对发现水体放射性核素污染来说具有重要作用。

目前,检测水环境中放射性核素的方法主要分为间接检测法和直接检测法。间接检测法将水样中的放射性核素富集分离后,利用 $\beta$ 计数法、 $\gamma$ 能谱法或质谱

法进行分析测定<sup>[2-4]</sup>,该法往往需要复杂的前处理过程,费时耗力。直接检测法利用NaI(Tl)、HPGe等探测器直接进行测量<sup>[5-6]</sup>,但探测器价格昂贵,检测结果受环境干扰较大。除此之外,间接检测方法和直接检测方法都无法反映出水环境中放射性核素对水生生物的毒害效应。与之相比,生物毒性检测能够更科学地评估放射性核素对水生生物的毒害影响,这对保障水生态环境安全具有十分重要的现实意义。

在水生态系统中,浮游藻类作为水环境的主要初级生产者,是水质状况、水生态系统平衡和稳定的重要指示生物<sup>[7]</sup>。光合作用作为藻类的一项重要生理过程,是藻类自身生长繁殖和为各级消费者提供氧气和有机物的重要基础。相关研究结果表明,水体污染物会对藻类的光合作用产生毒性效应<sup>[8-9]</sup>,因此可通过观

收稿日期: 2023-07-18; 修回日期: 2023-09-29; 录用日期: 2023-11-03; 网络首发日期: 2023-11-17

基金项目: 国家重点研发计划(2021YFC3200100, 2022YFC3103901)、国家自然科学基金(62375270)、安徽省科技重大专项(202003a07020007, 202203a07020002)、中国科学院仪器设备功能开发技术创新项目(Y93H3g1251)

通信作者: \*ttgan@aiofm.ac.cn; \*\*zhourhain@126.com

测藻类光合作用的抑制情况来判断水体污染物的毒性大小。藻类的光合作用过程会伴随叶绿素荧光的产生,并且叶绿素荧光的变化与植物光合作用状态密切相关,基于此发展起来的叶绿素荧光诱导动力学技术因其能够快速、无损获取表征植物光合作用状态的叶绿素荧光诱导动力学(OJIP)曲线及多种光合荧光参数<sup>[10-11]</sup>,近年来在基于藻类光合抑制效应的污染物毒性检测方面受到广泛关注,并已应用于重金属、农药、新型污染物等污染物的毒性检测<sup>[12-15]</sup>。然而,目前研究者在基于藻类荧光诱导动力学技术的水体放射性核素毒性检测方面尚未开展具体的研究工作,藻类荧光诱导动力学技术能否应用于水体放射性核素毒性的现场快速检测尚且未知。

鉴于此,本文将一种常见的淡水绿藻蛋白核小球藻作为受试生物,以三种典型放射性核素污染物铷(<sup>90</sup>Sr)、铯(<sup>137</sup>Cs)和钴(<sup>60</sup>Co)为研究对象,利用荧光诱导动力学方法,研究了OJIP曲线及毒性评估中最为常用的最大光化学量子产率( $F_v/F_m$ ,  $F_v$ 是可变荧光,  $F_m$ 是最大荧光)<sup>[16]</sup>和光系统II(PSII)的光合性能参数( $PI_{ABS}$ )<sup>[17]</sup>对<sup>90</sup>Sr、<sup>137</sup>Cs和<sup>60</sup>Co三种放射性核素在180 min短期胁迫下的响应规律与特性,以明确藻类荧光诱导动力学技术应用于水体放射性核素毒性现场快速检测的可行性。此外,通过两种光合荧光参数对三种核素毒性响应敏感性的对比,优选出了可用于水体放射性核素毒性灵敏检测的最佳毒性响应指标。该研究为水环境中放射性核素毒性的快速检测提供了方法基础,并为内陆

核电站核泄漏事故的应急监测预警提供了新思路。

## 2 实验与方法

### 2.1 实验藻种、试剂及暴露实验

所用的受试生物蛋白核小球藻(FACHB-5)采购于中国科学院水生生物研究所淡水藻种库。在无菌环境下首先在灭菌后的BG11培养基中接种藻种,再将接种后的藻液置于光照强度为 $120 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、光暗比为1:1(即一天之内光照12 h,无光照12 h)、温度为 $(25\pm 1)^\circ\text{C}$ 的恒温培养箱中进行扩大培养。最后将培养到3~4 d进入对数生长期的蛋白核小球藻用于放射性核素的毒性暴露实验。

<sup>90</sup>Sr、<sup>137</sup>Cs、<sup>60</sup>Co三种放射性核素溶液均来自中国计量科学研究院国家标准物质中心。根据其初始活度浓度和半衰期计算剩余活度浓度,再用无菌的BG11培养基将三种溶液稀释配制成具有不同活度浓度的<sup>90</sup>Sr、<sup>137</sup>Cs、<sup>60</sup>Co标准工作液。

实验中将6 mL叶绿素质量浓度为 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的藻液与2 mL不同活度浓度的放射性核素溶液混合摇匀,以获取不同活度浓度<sup>90</sup>Sr、<sup>137</sup>Cs、<sup>60</sup>Co胁迫下的待测藻液;同时在2 mL无菌BG11培养基中添加6 mL叶绿素质量浓度为 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的藻液,混合配置成空白对照液。将待测藻液放置于培养箱中继续培养,并在毒性暴露5~180 min内测量每一待测藻样的OJIP曲线和光合荧光参数 $F_v/F_m$ 与 $PI_{ABS}$ 。三种放射性核素溶液及待测藻液中核素活度浓度信息如表1所示。

表1 三种放射性核素溶液及待测藻液中核素活度浓度相关信息

Table 1 Information related to nuclide's activity concentration in three kinds of radionuclide solutions and algae solutions to be determined

Radionuclide	Initial activity concentration (reference date) / (Bq·mL <sup>-1</sup> )	Half-life / year	Tested activity concentration / (Bq·mL <sup>-1</sup> )
<sup>90</sup> Sr	8.5910 (2017-11-01)	28.600	0.10, 0.25, 0.50, 1.00, 1.50, 2.00
<sup>137</sup> Cs	22.0800 (2017-02-13)	30.170	0.10, 0.25, 0.50, 1.00, 1.50, 2.00
<sup>60</sup> Co	9.2900 (2021-05-21)	5.271	0.01, 0.05, 0.10, 0.25, 0.50, 1.00

### 2.2 OJIP曲线的测量及光合荧光参数的获取

利用手持式藻类荧光测量仪(AquaPen AP110, Photon Systems Instruments, 捷克)测量待测藻液的OJIP曲线和光合荧光参数 $F_v/F_m$ 与 $PI_{ABS}$ 。所用激发光源为455 nm蓝光光源,饱和光强为 $1800 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。测量过程中记录0.020~2.000 s的瞬时荧光强度,以1 s前所记录的360个荧光强度数据绘制出每个待测藻液的OJIP曲线。

### 2.3 光合荧光参数抑制率的计算和剂量-效应曲线的获取

放射性核素对蛋白核小球藻光合荧光参数 $F_v/F_m$ 、 $PI_{ABS}$ 的抑制率表示为

$$I_t = \frac{(p_{ct} - p_{kt})}{p_{ct}} \times 100\%, \quad (1)$$

式中: $I_t$ 是暴露时间为 $t$ 时光合荧光参数的抑制率; $p_{ct}$ 是暴露时间为 $t$ 时空白对照液的光合荧光参数值; $p_{kt}$ 是暴露时间为 $t$ 时处理液的光合荧光参数值。

本实验中三种放射性核素不同光合荧光参数的剂量-效应关系曲线均采用Origin2022中的阻滞增长模型(Logistic函数)进行非线性拟合<sup>[18]</sup>获得。根据拟合得出的剂量-效应关系曲线计算不同放射性核素在不同暴露时间下的20%效应浓度( $EC_{20}$ )值和50%效应浓度( $EC_{50}$ )值。

## 3 结果与讨论

### 3.1 三种放射性核素对蛋白核小球藻OJIP曲线的影响

图1为暴露于不同活度浓度<sup>90</sup>Sr、<sup>137</sup>Cs和<sup>60</sup>Co

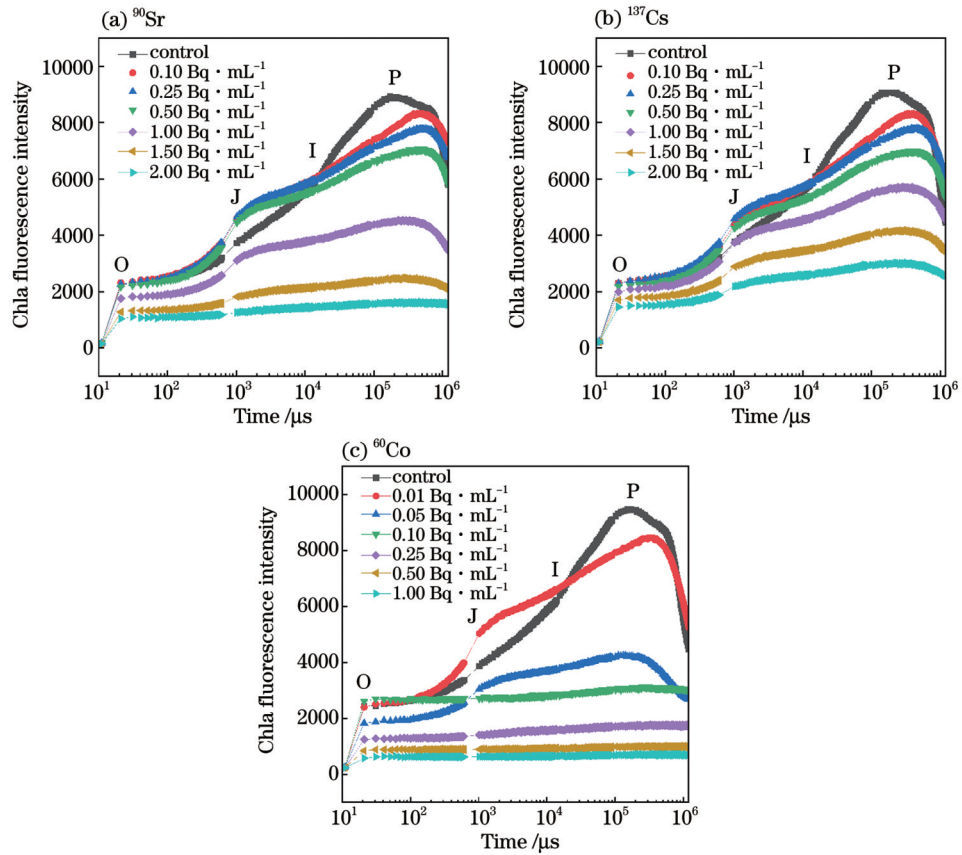


图 1 暴露于不同活度浓度放射性核素 30 min 时蛋白核小球藻的 OJIP 曲线。(a)  $^{90}\text{Sr}$ ; (b)  $^{137}\text{Cs}$ ; (c)  $^{60}\text{Co}$

Fig. 1 OJIP curves of *Chlorella pyrenoidosa* exposed to different activity concentrations of radionuclides for 30 min. (a)  $^{90}\text{Sr}$ ; (b)  $^{137}\text{Cs}$ ; (c)  $^{60}\text{Co}$

30 min 时蛋白核小球藻的 OJIP 曲线。与空白对照样相比,在这三种放射性核素胁迫下,蛋白核小球藻的 OJIP 曲线形状特征发生了明显变化,说明暴露 30 min 时,活度浓度为  $0.10\sim 2.00\text{ Bq}\cdot\text{mL}^{-1}$  的  $^{90}\text{Sr}$ 、 $0.10\sim 2.00\text{ Bq}\cdot\text{mL}^{-1}$  的  $^{137}\text{Cs}$  及  $0.01\sim 1.00\text{ Bq}\cdot\text{mL}^{-1}$  的  $^{60}\text{Co}$  已经对蛋白核小球藻的光合状态产生显著影响。在低活度浓度放射性核素胁迫下,蛋白核小球藻 OJIP 曲线中的 J 点荧光强度与空白对照样相比显著增大,而 P 点荧光强度则随核素活度浓度的增加而逐渐减小。Begović 等<sup>[19]</sup>研究发现,  $\text{Co}^{2+}$  会破坏浮萍光合系统,使被还原的初级醌电子受体( $\text{Q}_\text{A}^-$ )上的电子向次级醌电子受体( $\text{Q}_\text{B}$ )的传递受阻,从而导致 OJIP 曲线中 J 点荧光强度的增大。因此,本研究中 J 点荧光强度的增大是由于三种放射性核素抑制了电子由  $\text{Q}_\text{A}^-$  向  $\text{Q}_\text{B}$  的传递。此外,随着三种核素活度浓度的增加, OJIP 曲线整体荧光强度逐渐减小,由 O 点到 P 点曲线逐渐趋于平缓。当  $^{60}\text{Co}$  和  $^{90}\text{Sr}$  活度浓度分别达到  $0.50\text{ Bq}\cdot\text{mL}^{-1}$  和  $2.00\text{ Bq}\cdot\text{mL}^{-1}$  时, OJIP 曲线已接近于一条直线。这可能是放射性核素释放的射线破坏了类囊体膜,并降低了 PSII 的活性所导致的<sup>[20]</sup>。

综上所述,三种放射性核素  $^{90}\text{Sr}$ 、 $^{137}\text{Cs}$  和  $^{60}\text{Co}$  均会损坏蛋白核小球藻的光合系统,抑制 PSII 的活性和电子传递,从而抑制了蛋白核小球藻的光合作用,最终导

致 OJIP 曲线发生变化。因此微藻荧光动力学技术能够应用于水体放射性核素毒性的快速检测。

### 3.2 光合活性参数 $F_v/F_m$ 对三种放射性核素的响应特性

光合活性参数  $F_v/F_m$  能够综合反映植物 PSII 的最大光能转化效率,是使用最为频繁的评价植物光合作用状态及评估有毒物质和环境因素对植物光合作用影响的光合荧光参数。为了明确  $F_v/F_m$  能否用于水体放射性核素毒性的检测,分别获取了在三种放射性核素短期(5、10、30、60、90、120、150、180 min)胁迫下蛋白核小球藻的  $F_v/F_m$ ,研究了  $F_v/F_m$  对  $^{90}\text{Sr}$ 、 $^{137}\text{Cs}$  和  $^{60}\text{Co}$  三种放射性核素毒性的响应特性。不同暴露时间下  $F_v/F_m$  随三种放射性核素活度浓度的变化趋势如图 2 所示。

由图 2 可知:当暴露时间为 5 min 时,  $F_v/F_m$  的值随  $^{90}\text{Sr}$ 、 $^{137}\text{Cs}$ 、 $^{60}\text{Co}$  三种核素活度浓度的增加呈逐渐降低的变化趋势;且随着暴露时间的延长,暴露于同一活度浓度的蛋白核小球藻的  $F_v/F_m$  值均不断降低,说明在 180 min 以内,三种放射性核素对  $F_v/F_m$  的抑制程度不断增强。该研究表明,  $F_v/F_m$  对三种放射性核素的毒性响应具有活度浓度依赖性和时间依赖性。

计算三种放射性核素短期暴露所获取的光合活性

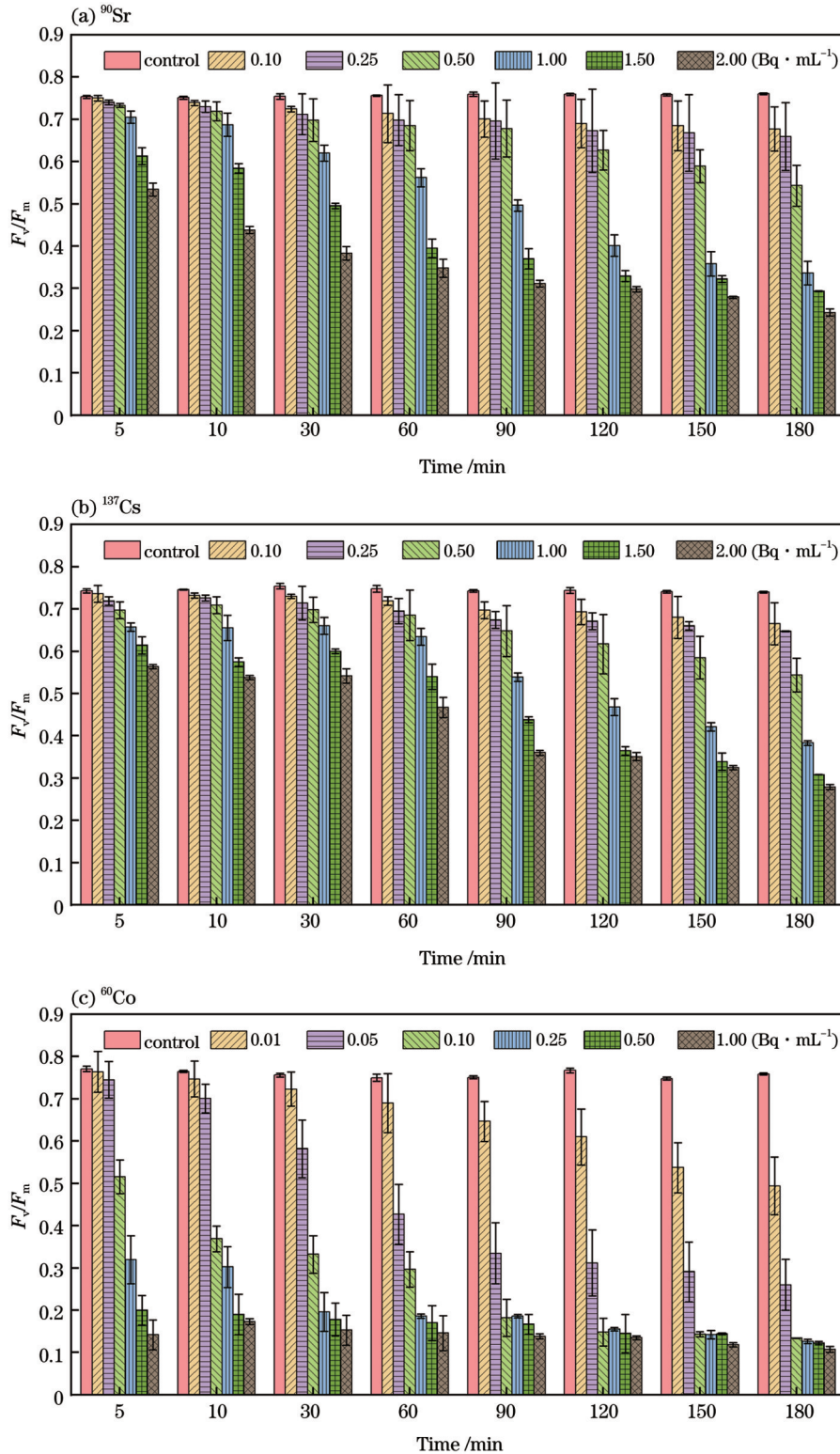


图 2 不同暴露时间下  $F_v/F_m$  随三种放射性核素活度浓度的变化趋势。(a)  $^{90}\text{Sr}$ ; (b)  $^{137}\text{Cs}$ ; (c)  $^{60}\text{Co}$

Fig. 2 Changing trends of  $F_v/F_m$  with the activity concentrations of three radionuclides under different exposure times. (a)  $^{90}\text{Sr}$ ; (b)  $^{137}\text{Cs}$ ; (c)  $^{60}\text{Co}$

参数  $F_v/F_m$  的抑制率。表 2 为暴露于最低测试活度浓度放射性核素 180 min 时  $F_v/F_m$  的抑制率。由表 2 可知: 三种放射性核素对  $F_v/F_m$  的影响程度存在差异性。活度浓度为  $0.10 \text{ Bq}\cdot\text{mL}^{-1}$  的  $^{90}\text{Sr}$  和活度浓度为  $0.10 \text{ Bq}\cdot\text{mL}^{-1}$  的  $^{137}\text{Cs}$  胁迫蛋白核小球藻 180 min 时,  $F_v/F_m$  的抑

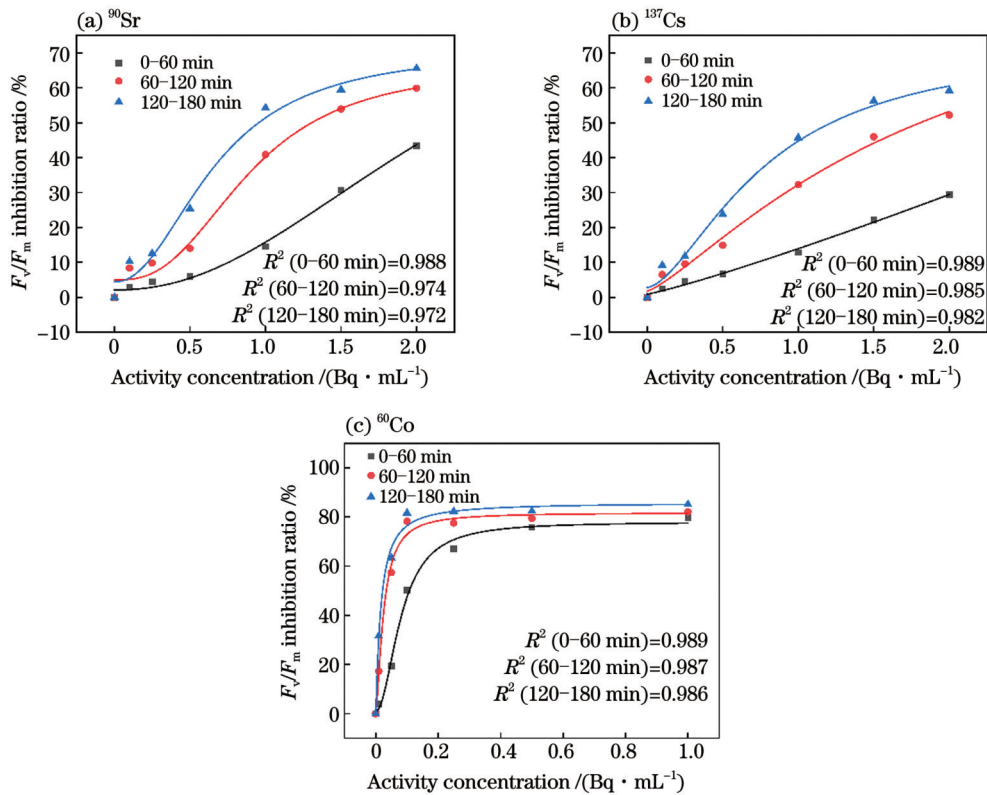
制率分别为 10.92% 和 10.14%; 而活度浓度为  $0.01 \text{ Bq}\cdot\text{mL}^{-1}$  的  $^{60}\text{Co}$  胁迫蛋白核小球藻 180 min 时,  $F_v/F_m$  的抑制率已高达 34.91%。因此  $^{90}\text{Sr}$  和  $^{137}\text{Cs}$  的毒性对  $F_v/F_m$  的影响程度比较接近, 而  $^{60}\text{Co}$  的毒性对  $F_v/F_m$  的影响更大。

表 2 暴露于最低测试活度浓度放射性核素 180 min 时  $F_v/F_m$  的抑制率Table 2 Inhibition rate of  $F_v/F_m$  exposed to the lowest tested activity concentration of radionuclides for 180 min

Radionuclide (the lowest tested activity concentration)	$F_v/F_m$ of control	$F_v/F_m$ of test	Inhibition rate of $F_v/F_m$ / %
$^{90}\text{Sr}$ (0.10 Bq·mL $^{-1}$ )	0.760	0.677	10.92
$^{137}\text{Cs}$ (0.10 Bq·mL $^{-1}$ )	0.740	0.665	10.14
$^{60}\text{Co}$ (0.01 Bq·mL $^{-1}$ )	0.759	0.494	34.91

根据三种放射性核素短期暴露(5~180 min)所获取的光合荧光参数  $F_v/F_m$  的抑制率,分别计算 0~60 min、60~120 min、120~180 min 这三个时间段内  $F_v/F_m$  抑制率的平均值,并采用 Logistic 函数模型对每个时间段内  $F_v/F_m$  的抑制率与核素活度浓度间的剂量效应关系进行拟合,结果如图 3 所示。可以发现,对于每一种核素,Logistic 函数拟合的每个时间段内  $F_v/F_m$  抑制率与核素活度浓度的调整决定系数  $\text{adj-}R^2$  均大于 0.9,说明三种放射性核素与  $F_v/F_m$  间具有很好的

Logistic 型剂量-效应关系。同时,由图 3 还可以看出:在 180 min 以内三个暴露时间段内,核素  $^{90}\text{Sr}$  和  $^{137}\text{Cs}$  与  $F_v/F_m$  间的剂量-效应关系曲线也会发生显著变化,剂量-效应关系曲线的斜率呈逐渐增大的趋势,进一步验证了 180 min 短期暴露下核素  $^{90}\text{Sr}$  和  $^{137}\text{Cs}$  对  $F_v/F_m$  的毒性影响具有时间效应。而与  $^{90}\text{Sr}$  和  $^{137}\text{Cs}$  相比, $^{60}\text{Co}$  在低活度浓度、短时间内即可对  $F_v/F_m$  产生较强的抑制效应,且在暴露时间达到 60 min 时, $^{60}\text{Co}$  对  $F_v/F_m$  的影响已趋于稳定。

图 3 不同时间段三种放射性核素与  $F_v/F_m$  的剂量-效应关系曲线。(a)  $^{90}\text{Sr}$ ; (b)  $^{137}\text{Cs}$ ; (c)  $^{60}\text{Co}$ Fig. 3 Dose-response curves of three radionuclides and  $F_v/F_m$  in different time periods. (a)  $^{90}\text{Sr}$ ; (b)  $^{137}\text{Cs}$ ; (c)  $^{60}\text{Co}$ 

综上所述,光合活性参数  $F_v/F_m$  对水体放射性核素具有很好的毒性响应特性,且毒性响应过程具有活度浓度依赖性和时间依赖性,并能反映出不同放射性核素对微藻毒性的差异性。因此, $F_v/F_m$  能够很好地被用于放射性核素毒性的检测与评估。

### 3.3 光合活性参数 $\text{PI}_{\text{ABS}}$ 对三种放射性核素的响应特性

光合活性参数  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  是以吸收光能为基础的性能指标,能灵敏地反映植物 PSII 总体光合作用活性,是

较为常用的评估环境胁迫对植物光合状态影响的光合荧光参数。为了明确  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  能否用于水体放射性核素的毒性检测,分别获取了三种放射性核素在短时期(5、10、30、60、90、120、150、180 min)胁迫下蛋白核小球藻的  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  值,从而研究  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  对  $^{90}\text{Sr}$ 、 $^{137}\text{Cs}$  和  $^{60}\text{Co}$  三种放射性核素毒性的响应特性。不同暴露时间下  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  随三种放射性核素活度浓度的变化趋势如图 4 所示。

由图 4 可知:当暴露时间相同时,光合活性参数  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  随每一种放射性核素活度浓度的增加都呈快速

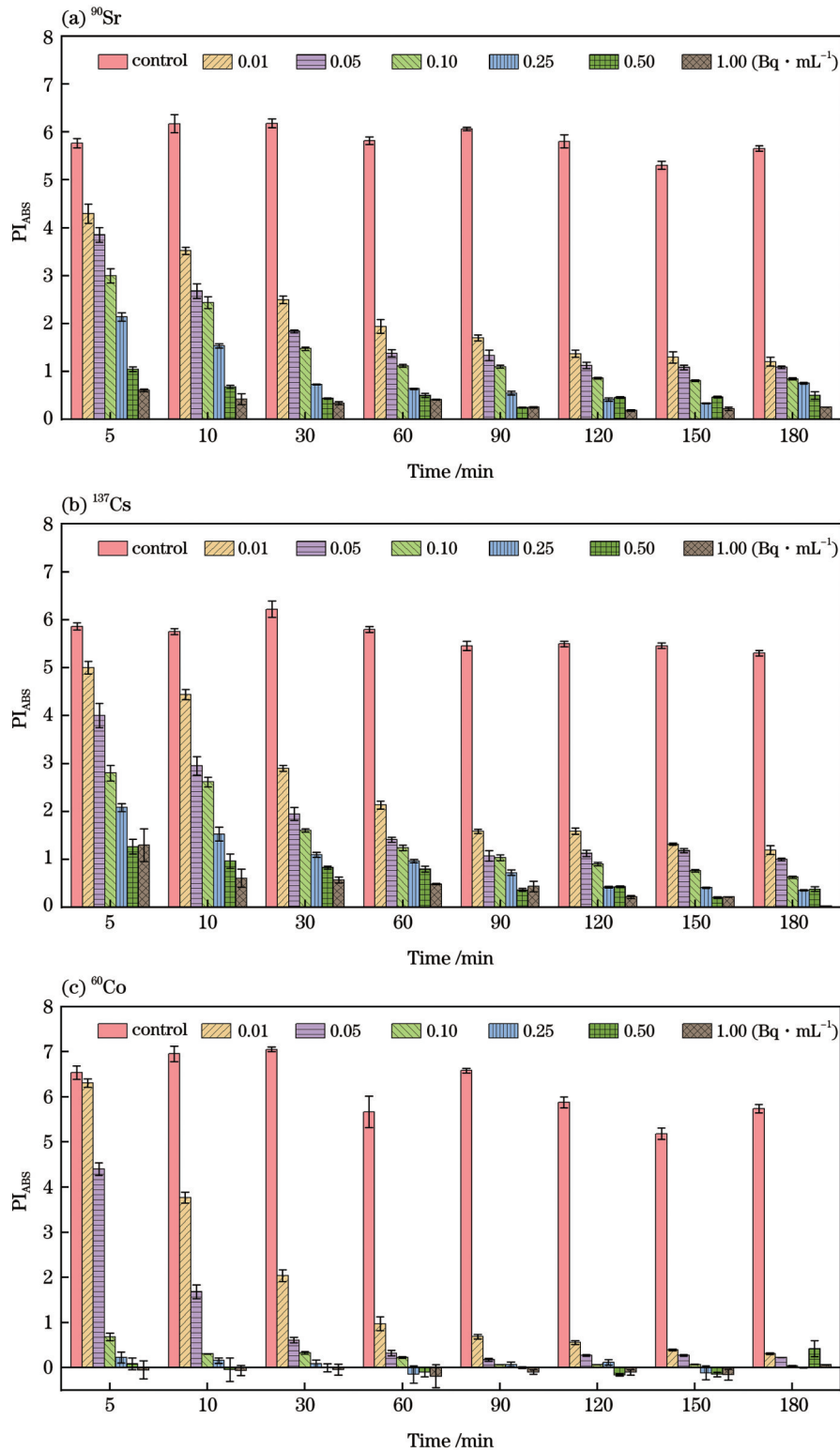


图 4 不同暴露时间下  $PI_{ABS}$  随三种放射性核素活度浓度的变化趋势。(a)  $^{90}Sr$ ; (b)  $^{137}Cs$ ; (c)  $^{60}Co$

Fig. 4 Variation trends of  $PI_{ABS}$  with the activity concentrations of three radionuclides at different times. (a)  $^{90}Sr$ ; (b)  $^{137}Cs$ ; (c)  $^{60}Co$

下降趋势;且对于同一活度浓度放射性核素胁迫下的蛋白核小球藻,随着暴露时间的延长, $PI_{ABS}$  值不断下降,说明  $PI_{ABS}$  对三种放射性核素的毒性响应同样具有活度浓度依赖性和时间依赖性。

此外,计算三种放射性核素短期暴露所获取的光合活性参数  $PI_{ABS}$  的抑制率。表 3 为暴露于最低测试

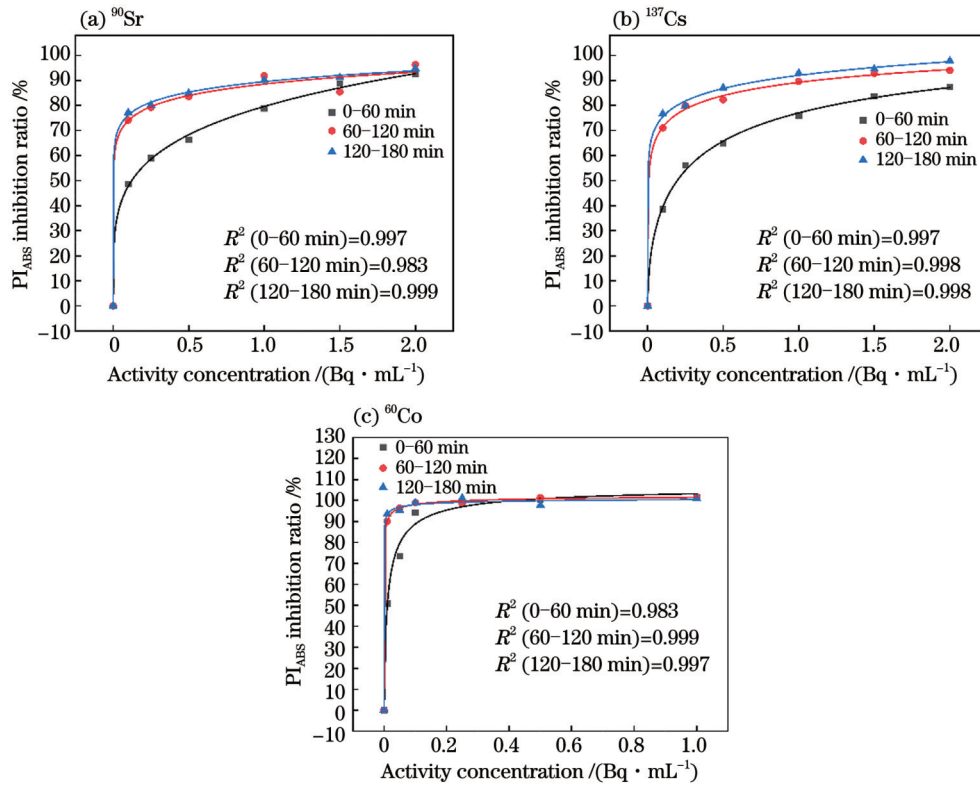
活度浓度放射性核素 180 min 时  $PI_{ABS}$  的抑制率。由表 3 可知:与  $^{90}Sr$  和  $^{137}Cs$  相比,  $^{60}Co$  的毒性对  $PI_{ABS}$  的影响更大;与空白样相比,当暴露时间为 180 min 时,在活度浓度为 0.10  $Bq \cdot mL^{-1}$  的  $^{90}Sr$  和  $^{137}Cs$  胁迫下,  $PI_{ABS}$  分别降低了 78.69% 和 77.47%,而此时在活度浓度为 0.01  $Bq \cdot mL^{-1}$  的  $^{60}Co$  胁迫下  $PI_{ABS}$  已降低了 94.58%。

表 3 暴露于最低测试活度浓度放射性核素 180 min 时  $PI_{ABS}$  的抑制率Table 3 Inhibition rates of  $PI_{ABS}$  exposed to the lowest tested activity concentration of radionuclides for 180 min

Radionuclide (the lowest tested activity concentration)	$PI_{ABS}$ of control	$PI_{ABS}$ of test	Inhibition rate of $PI_{ABS}$ / %
$^{90}\text{Sr}$ (0.10 $\text{Bq}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	5.654	1.205	78.69
$^{137}\text{Cs}$ (0.10 $\text{Bq}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	5.305	1.195	77.47
$^{60}\text{Co}$ (0.01 $\text{Bq}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	5.739	0.311	94.58

分别计算三种放射性核素短期暴露(5~180 min)内三个时间段(0~60 min、60~120 min、120~180 min)  $PI_{ABS}$  抑制率的平均值,并利用 Logistic 函数模型对每个时间段内  $PI_{ABS}$  的抑制率与核素活度浓度间的剂量效应关系进行拟合,结果如图 5 所示。由图 5 可以看出,对于每一种核素,Logistic 拟合的每个时间段内  $PI_{ABS}$  抑制率与核素活度浓度的  $\text{adj-}R^2$  均大于 0.9,说明三种放射性核素与  $PI_{ABS}$  间具有很好的 Logistic 型剂量-效应关系。同时,由图 5 还可以看出:当暴露时间由 0~60 min 增加到 60~120 min 时,三种核素与

$PI_{ABS}$  间的剂量-效应关系曲线均有较大程度的变化;当暴露时间由 60~120 min 增加到 120~180 min 时,剂量-效应关系曲线近乎一致。这表明,以  $PI_{ABS}$  作为放射性核素毒性响应指标,当暴露时间达到 60 min 时, $^{90}\text{Sr}$ 、 $^{137}\text{Cs}$  和  $^{60}\text{Co}$  对  $PI_{ABS}$  的毒性影响已趋于稳定。此外,将图 5 与图 3 进行对比也可以看出,当放射性核素在低活度浓度范围内时,与  $F_v/F_m$  相比, $PI_{ABS}$  的抑制率快速达到较大值,说明在相同暴露时间下,低活度浓度的放射性核素可对  $PI_{ABS}$  产生更大的抑制效应。

图 5 不同暴露时间下三种放射性核素与  $PI_{ABS}$  间的剂量-效应关系曲线。(a)  $^{90}\text{Sr}$ ; (b)  $^{137}\text{Cs}$ ; (c)  $^{60}\text{Co}$ Fig. 5 Dose-response curves of three radionuclides and  $PI_{ABS}$  in different time periods. (a)  $^{90}\text{Sr}$ ; (b)  $^{137}\text{Cs}$ ; (c)  $^{60}\text{Co}$ 

综上分析可得,光合活性参数  $PI_{ABS}$  对水体放射性核素同样具有很好的毒性响应特性,且毒性响应过程具有活度浓度依赖性和时间依赖性(60 min 以内),并同样能反映出不同放射性核素对微藻毒性影响的差异性。因此, $PI_{ABS}$  可用于放射性核素毒性的检测与评估,且能更灵敏地检测环境中低活度浓度的放射性核素。

**3.4  $F_v/F_m$  与  $PI_{ABS}$  对放射性核素毒性响应性能的对比**  
 分别以光合荧光参数  $F_v/F_m$  和  $PI_{ABS}$  作为毒性响应

指标,通过剂量-效应关系曲线获取三个时间段内(0~60 min、60~120 min、120~180 min)三种放射性核素的  $EC_{20}$  和  $EC_{50}$  值,对比分析  $F_v/F_m$  与  $PI_{ABS}$  对放射性核素的毒性响应性能,结果如图 6 和图 7 所示。

由图 6 和图 7 可以看出,在 0~60 min、60~120 min 和 120~180 min 三个时间段内,无论是以  $F_v/F_m$  还是  $PI_{ABS}$  作为毒性响应指标,三种放射性核素的  $EC_{20}$  和  $EC_{50}$  值由大到小的排序均为: $^{137}\text{Cs} > ^{90}\text{Sr} > ^{60}\text{Co}$ 。  $EC_{20}$

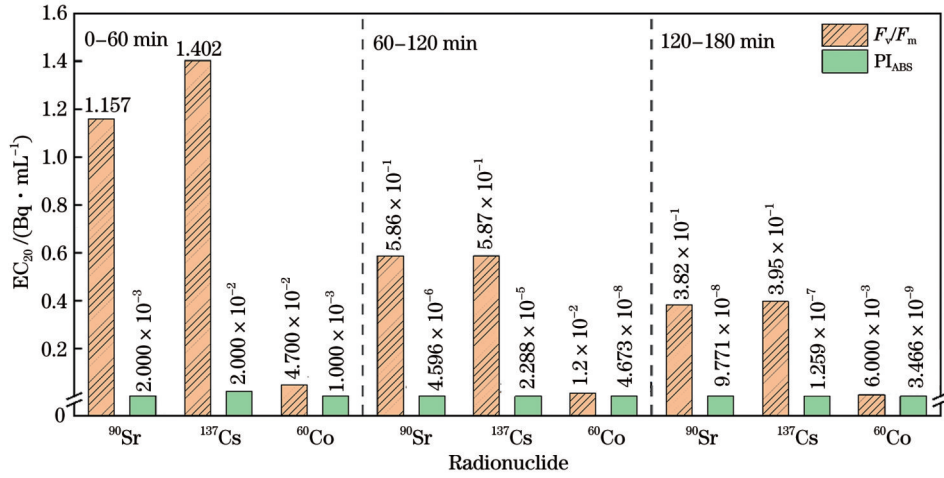


图 6 不同毒性响应指标下三种放射性核素的 EC<sub>20</sub> 值

Fig. 6 EC<sub>20</sub> values of three radionuclides under different toxicity response indexes

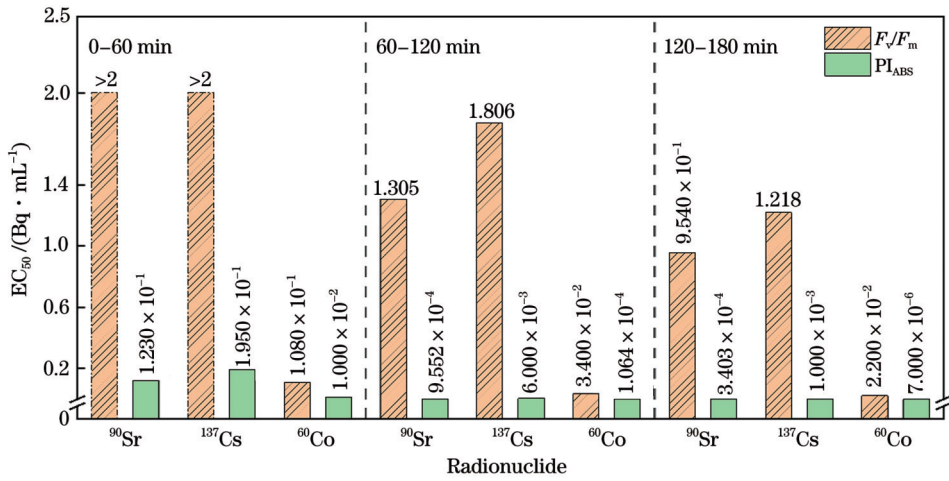


图 7 不同毒性响应指标下三种放射性核素的 EC<sub>50</sub> 值

Fig. 7 EC<sub>50</sub> values of three radionuclides under different toxicity response indexes

和 EC<sub>50</sub> 值越小,表明物质毒性越强,因此上述排序说明三种放射性核素毒性由强到弱排序为:<sup>60</sup>Co><sup>90</sup>Sr><sup>137</sup>Cs,也可说明光合荧光参数  $F_v/F_m$  与  $PI_{ABS}$  在评估三种放射性核素的毒性大小上具有一致性。同时,还可以发现,三种放射性核素基于  $F_v/F_m$  获取的 EC<sub>20</sub> 和 EC<sub>50</sub> 值均大于基于  $PI_{ABS}$  获取的 EC<sub>20</sub> 和 EC<sub>50</sub> 值。EC<sub>20</sub> 和 EC<sub>50</sub> 值越小,相应的毒性响应指标对毒性污染物具有更好的响应灵敏性。因此,光合荧光参数  $PI_{ABS}$  相较于  $F_v/F_m$  对放射性核素毒性具有更灵敏的响应特性,是基于微藻荧光诱导动力学技术实现水体放射性核素毒性灵敏检测的最佳毒性响应指标。

## 4 结 论

180 min 短期暴露下,三种典型放射性核素 <sup>90</sup>Sr、<sup>137</sup>Cs 和 <sup>60</sup>Co 对蛋白核小球藻光合作用均有显著的毒性影响,导致蛋白核小球藻 OJIP 曲线形状发生了明显变化,并显著抑制了蛋白核小球藻的光合荧光参数  $F_v/F_m$  与  $PI_{ABS}$ ,因此微藻荧光诱导动力学技术能够用

于水体放射性核素毒性的快速检测。基于荧光诱导动力学技术所获取的  $F_v/F_m$  及  $PI_{ABS}$  两个光合荧光参数与 <sup>90</sup>Sr、<sup>137</sup>Cs 和 <sup>60</sup>Co 三种放射性核素之间都具有较好的 Logistic 型剂量-效应关系,并对 <sup>90</sup>Sr、<sup>137</sup>Cs 和 <sup>60</sup>Co 的毒性响应都具有一定的时间依赖性,因此  $F_v/F_m$  与  $PI_{ABS}$  均可作为基于荧光动力学方法检测水体放射性核素毒性的毒性响应指标。通过对比,180 min 短期暴露下  $PI_{ABS}$  对三种放射性核素毒性的响应灵敏性要显著优于光合荧光参数  $F_v/F_m$ ,因此  $PI_{ABS}$  是基于微藻荧光动力学技术灵敏检测水体放射性核素毒性的最佳毒性响应指标。该研究为水体中放射性核素的现场快速毒性检测提供了重要的方法基础。

## 参 考 文 献

- [1] Brumfiel G, Cyranoski D. Fukushima deep in hot water[J]. Nature, 2011, 474(7350): 135-136.
- [2] Tomita J, Yamamoto M, Nozaki T, et al. Determination of low-level radiostromium, with emphasis on *in situ* pre-concentration of Sr from large volume of freshwater sample



- using Powdex resin[J]. *Journal of Environmental Radioactivity*, 2015, 146: 88-93.
- [3] Faraj T, Ragab A, El Alfy M. Geochemical and hydrogeological factors influencing high levels of radium contamination in groundwater in arid regions[J]. *Environmental Research*, 2020, 184: 109303.
- [4] Kołacińska K, Chajduk E, Dudek J, et al. Automation of sample processing for ICP-MS determination of  $^{90}\text{Sr}$  radionuclide at ppq level for nuclear technology and environmental purposes [J]. *Talanta*, 2017, 169: 216-226.
- [5] Casanovas R, Morant J J, Salvadó M. Implementation of gamma-ray spectrometry in two real-time water monitors using NaI(Tl) scintillation detectors[J]. *Applied Radiation and Isotopes*, 2013, 80: 49-55.
- [6] Park S Y, Hahn K I, Kang W G, et al. Detection efficiency calibration for an array of fourteen HPGe detectors[J]. *Applied Radiation and Isotopes*, 2023, 193: 110654.
- [7] Peng C, Ma Y H, Ding Y Y, et al. Influence of speciation of thorium on toxic effects to green algae *Chlorella pyrenoidosa*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(4): 795.
- [8] Ran X F, Liu R, Xu S, et al. Assessment of growth rate, chlorophyll a fluorescence, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity in *Aphanizomenon flos-aquae*, *Pediastrum simplex* and *Synedra acus* exposed to cadmium[J]. *Ecotoxicology*, 2015, 24(2): 468-477.
- [9] Wu Y M, Guo P Y, Zhang X Y, et al. Effect of microplastics exposure on the photosynthesis system of freshwater algae[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 374: 219-227.
- [10] 谷梦园, 殷高方, 甘婷婷, 等. 基于OJIP曲线差异性特征的水体综合毒性表征参数构建[J]. *光学学报*, 2022, 42(18): 1801004.
- Gu M Y, Yin G F, Gan T T, et al. Characterization parameter construction for comprehensive toxicity of water based on differential features of OJIP curve[J]. *Acta Optica Sinica*, 2022, 42(18): 1801004.
- [11] 丁志超, 殷高方, 赵南京, 等. OJIP荧光动力学曲线J,I点特征时间确定方法[J]. *光学学报*, 2022, 42(8): 0826001.
- Ding Z C, Yin G F, Zhao N J, et al. Method for determining characteristic time of J and I points of OJIP fluorescence kinetic curve[J]. *Acta Optica Sinica*, 2022, 42(8): 0826001.
- [12] Gan T T, Yin G F, Zhao N J, et al. A sensitive response index selection for rapid assessment of heavy metals toxicity to the photosynthesis of *Chlorella pyrenoidosa* based on rapid chlorophyll fluorescence induction kinetics[J]. *Toxics*, 2023, 11(5): 468.
- [13] Kumar K S, Dahms H U, Lee J S, et al. Algal photosynthetic responses to toxic metals and herbicides assessed by chlorophyll a fluorescence[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2014, 104: 51-71.
- [14] Jiang Y H, Liu Y, Zhang J. Antibiotics induced alterations in cell density, photosynthesis, microcystin synthesis and proteomic expression of *Microcystis aeruginosa* during  $\text{CuSO}_4$  treatment[J]. *Aquatic Toxicology*, 2020, 222: 105473.
- [15] 元培龙, 殷高方, 甘婷婷, 等. 藻类光合抑制法的水体综合毒性稳定测试条件研究[J]. *光学学报*, 2022, 42(12): 1217001.
- Qi P L, Yin G F, Gan T T, et al. Conditions for stably detecting comprehensive toxicity of water by algal photosynthesis inhibition method[J]. *Acta Optica Sinica*, 2022, 42(12): 1217001.
- [16] Yang W W, Tang Z P, Zhou F Q, et al. Toxicity studies of tetracycline on *Microcystis aeruginosa* and *Selenastrum capricornutum*[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2013, 35(2): 320-324.
- [17] Sun C, Xu Y F, Hu N T, et al. To evaluate the toxicity of atrazine on the freshwater microalgae *Chlorella* sp. using sensitive indices indicated by photosynthetic parameters[J]. *Chemosphere*, 2020, 244: 125514.
- [18] Hu L, Chen M, Yin G F, et al. Toxicity response parameters of Diaquilon based on photosynthetic inhibition effect of algae[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2021, 41(5): 1519-1524.
- [19] Begović L, Mlinarić S, Antunović Dunić J, et al. Response of *Lemna minor* L. to short-term cobalt exposure: the effect on photosynthetic electron transport chain and induction of oxidative damage[J]. *Aquatic Toxicology*, 2016, 175: 117-126.
- [20] Agarwal R, Rane S S, Sainis J K. Effects of  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  radiation on thylakoid membrane functions in *Anacystis nidulans*[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2008, 91(1): 9-19.

## Rapid Monitoring Method of Radionuclide in Water Based on Algae Fluorescence Kinetics

Tan Xiaoxuan<sup>1,2</sup>, Gan Tingting<sup>2\*</sup>, Zhou Ronghui<sup>3\*\*</sup>, Yin Gaofang<sup>2</sup>, Zhao Nanjing<sup>1,2</sup>, Wang Ying<sup>1,2</sup>, Sheng Ruoyu<sup>1,2</sup>, Ye Ziqi<sup>4</sup>, Zhang Ruiqi<sup>5</sup>, Huang Xuyun<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*School of Environmental Science and Optoelectronic Technology, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, Anhui, China;*

<sup>2</sup>*Key Laboratory of Environmental Optics and Technology, Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics, Hefei Institutes of Physical Science, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, Anhui, China;*

<sup>3</sup>*Zhuhai Guangrui Huili Development Co., Ltd., Zhuhai 519000, Guangdong, China;*

<sup>4</sup>*School of Resources and Environmental Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, Anhui, China;*

<sup>5</sup>*Sichuan Management and Monitoring Center Station of Radioactive Environment, Chengdu 610000, Sichuan, China*

### Abstract

**Objective** With the rapid development of nuclear energy and technology, more nuclear power plants are being built and operated worldwide. Due to the need for large amounts of cooling water, most nuclear power plants are located near

coastal or inland rivers, which increases the risk of radioactive pollution in surrounding waters. Traditional detection methods of radionuclides in water often have some problems such as tedious detection processes and high detector costs. They also cannot reflect the toxic effect of radionuclides on organisms and do not meet the needs of *in situ* rapid detection of radionuclide pollution in water. Algae fluorescence induction kinetics technology has been widely used in toxicity detection of heavy metals, pesticides, and other pollutants in water in recent years due to its simplicity, rapidity, and non-destructive characteristics. However, it is still unknown whether the algae fluorescence induction kinetic technique can be applied to the field rapid detection of radionuclide toxicity in water. Therefore, we study the response rules and characteristics of algae rapid chlorophyll fluorescence induction kinetic line and commonly used photosynthetic fluorescence parameters to the short-term toxicity stress of three common radionuclides. In this way, we determine the feasibility of the application of algae fluorescence induction kinetic technique to the field detection of radionuclide toxicity in water.

**Methods** *Chlorella pyrenoidosa*, a common freshwater green algae, is used as the test organism, and three typical radionuclide pollutants strontium ( $^{90}\text{Sr}$ ), cesium ( $^{137}\text{Cs}$ ) and cobalt ( $^{60}\text{Co}$ ) are studied. By using the fluorescence induction kinetics method, we study the toxicity response rules and characteristics of fast chlorophyll fluorescence induction kinetics (OJIP) curve, maximum photochemical quantum yield ( $F_v/F_m$ , where  $F_v$  is variable fluorescence, and  $F_m$  is maximal fluorescence) and photosystem II performance parameters ( $\text{PI}_{\text{ABS}}$ ) under 180 min short-term stress of  $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{137}\text{Cs}$  and  $^{60}\text{Co}$ . The feasibility of the application of algae fluorescence induction kinetics technique to the rapid detection of radionuclide toxicity in water is determined. By establishing two photosynthetic fluorescence parameters and three radionuclides dose-response curves, we analyze the 20% effect concentration ( $\text{EC}_{20}$ ) and 50% effect concentration ( $\text{EC}_{50}$ ) of  $F_v/F_m$  and  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  to further compare the toxicity response of  $F_v/F_m$  and  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  to three radionuclides. Finally, we select the best toxicity response index which can be used for sensitive detection of radionuclide toxicity in water.

**Results and Discussions** The three radionuclides  $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{137}\text{Cs}$ , and  $^{60}\text{Co}$  can damage the photosynthetic system of *Chlorella pyrenoidosa* and inhibit the activity of photosystem II and electron transfer, thereby inhibiting the photosynthesis of *Chlorella pyrenoidosa* and finally leading to changes in the OJIP curve (Fig. 1). Therefore, microalgae fluorescence dynamics technology can be applied to the rapid detection of radionuclide toxicity in water. By studying the response characteristics of the photosynthetic fluorescence parameter  $F_v/F_m$  to the toxicity of three radionuclides  $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{137}\text{Cs}$ , and  $^{60}\text{Co}$ , we find that the inhibition degree of the three radionuclides to  $F_v/F_m$  is continuously enhanced within 180 min, and the toxic response of  $F_v/F_m$  to three radionuclides is activity concentration- and time-dependent (Fig. 2). The adjusted coefficient of determination ( $\text{adj-}R^2$ ) obtained by Logistic fitting curves between  $F_v/F_m$  inhibition rate and nuclides activity concentration are all greater than 0.9, indicating that the three radionuclides and  $F_v/F_m$  have good Logistic dose-response relationships (Fig. 3). Therefore,  $F_v/F_m$  can be well used in the detection and evaluation of radionuclide toxicity. Within 180 min of exposure, the photosynthetic fluorescence parameter  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  has activity concentration- and time-dependent toxicity response to the three radionuclides (Fig. 4). The  $\text{adj-}R^2$  obtained by the Logistic fitting curves between  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  inhibition rate and nuclides activity concentration are all greater than 0.9, indicating that the three radionuclides and  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  also have good Logistic dose-response relationships (Fig. 5). Therefore,  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  can be used in the detection and evaluation of radionuclide toxicity. In addition, by comparing the  $\text{EC}_{20}$  and  $\text{EC}_{50}$  values obtained based on the two photosynthetic fluorescence parameters, we find that the  $\text{EC}_{20}$  (Fig. 6) and  $\text{EC}_{50}$  values (Fig. 7) obtained based on  $F_v/F_m$  of the three radionuclides are greater than those obtained based on  $\text{PI}_{\text{ABS}}$ . It shows that the photosynthetic fluorescence parameter  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  has more sensitive response characteristic to radionuclide toxicity than  $F_v/F_m$ .

**Conclusions** Under short-term exposure for 180 min, three typical radionuclides  $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{137}\text{Cs}$ , and  $^{60}\text{Co}$  have significant toxic effects on the photosynthesis of *Chlorella pyrenoidosa*, resulting in a significant change in the shape of OJIP curves and significant inhibition of photosynthetic fluorescence parameters  $F_v/F_m$  and  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  of *Chlorella pyrenoidosa*. Thus, the fluorescence induction kinetics of microalgae can be used for rapid detection of radionuclide toxicity in water. The two photosynthetic fluorescence parameters  $F_v/F_m$  and  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  obtained based on fluorescence induction kinetics have good Logistic dose-response curves with  $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{137}\text{Cs}$ , and  $^{60}\text{Co}$ . They have a certain time-dependent response to the toxicity of  $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{137}\text{Cs}$ , and  $^{60}\text{Co}$ . Therefore,  $F_v/F_m$  and  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  can be used as toxicity response indexes to detect radionuclide toxicity in water based on fluorescence kinetics. By comparison, the response sensitivity of  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  to the toxicity of three radionuclides under short-term exposure for 180 min is significantly better than that of photosynthetic fluorescence parameter  $F_v/F_m$ . This indicates that  $\text{PI}_{\text{ABS}}$  is the best toxicity response index for sensitive detection of radionuclide toxicity in water based on microalgae fluorescence kinetic technique. Our study provides a method basis for the rapid detection of radionuclide toxicity in the water environment and a new idea for emergency monitoring and early warning of nuclear leakage accidents in inland nuclear power plants. It has practical significance for ensuring the safety of water ecological environment.

**Key words** fluorescence kinetics; radionuclide; microalgae; photosynthetic fluorescence parameters; toxicity detection