

林丹环境安全性评价研究

刘济宁, 吴冠群, 石利利, 单正军

(环境保护总部南京环境科学研究所, 南京 210042)

摘要:为了评价林丹在环境介质中的持久性,对林丹的土壤降解、水解、光解与快速生物降解性进行了试验研究。结果表明,林丹的土壤降解半衰期为 36.9~68.6 d,水解半衰期为 8.94~2 310 d,对光反应稳定,难以快速生物降解。林丹对斑马鱼的 96 h-LC₅₀ 为 4.22 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,对环境生物具有极高的毒性;林丹在金鱼体内的生物富集系数 $BCF>1\ 000$,具有较高的生物富集性。根据试验结果推断,林丹在环境介质中具有极强的稳定性,很容易在食物链中发生生物积累。

关键词:林丹;持久性;蓄积性;评价

中图分类号:X592 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2011)09-1842-05

Environmental Safety Assessment of Lindane

LIU Ji-ning, WU Guan-qun, SHI Li-li, SHAN Zheng-jun

(Nanjing Institute of Environmental Sciences, MEP, Nanjing 210042, China)

Abstract: Soil biodegradation, hydrolysis, photolysis and rapid biodegradation were employed to assess the persistent of lindane in environmental media. The results showed that half-lives of lindane in soil and water were 36.9~68.6 d and 8.94~2 310 d respectively. Lindane was stable for photolysis and had no rapidly biodegradable. The acute toxicity 96 h-LC₅₀ value of lindane to *Brachydanio rerio* was 4.22 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and BCF value of lindane to *Carassius auratus* was $>1\ 000$, indicating that lindane had high toxicity and bioconcentration to environmental organisms. Conclusion could be made that lindane had high persistent in environmental media and was apt to bioconcentration in food chain.

Keywords: lindane; persistence; bioconcentration; assessment

林丹是六氯环己烷(HCH) γ 异构体的俗名,工业生产的 HCH 是同分异构体的混合物。 γ -HCH 是唯一具有很强杀虫活性的异构体,曾经在许多国家被大量使用。

林丹和众多有机氯农药一样,对生物具毒性^[1],如林丹对大鼠的最低可观测效应水平(NOAE)为 1.55 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 。林丹还具有遗传毒性、神经毒性和致癌效应^[2],已在环境介质中广泛检出林丹,在我国环境介质和环境生物中也有较高的检出率^[3-4]。有研究表明林丹具有持久性和生物富集性^[5];随环境条件的不同,林丹的持久性和生物富集性有所差异^[6-11]。2009 年 5 月于日内瓦召开的持久性有机污染物审查委员会第一次会议审议了将林丹列入《关于持久性有机污染物的

斯德哥尔摩公约》第四次缔约大会,认定林丹符合《公约》规定的筛选标准。我国曾广泛使用林丹,但林丹在我国环境条件下的安全性没有系统地进行评价。本文以我国环境介质为重点研究对象,结合《公约》的筛选标准,通过研究林丹的持久性与生物富集性,评价了林丹的环境安全性。

1 材料与方法

1.1 试验材料与仪器

供试农药:林丹,纯度为 99.5%,由国家标准物质研究中心提供。

供试土壤:选择江西红壤(江西鹰潭)、太湖水稻土(江苏常熟)、东北黑土(吉林海伦)3 种土壤,每个采样点选择 10 个点,采样深度为 20 cm 的耕作层;采集的土壤经风干、研碎、过 20 目筛备用,其基本理化性质见表 1。

试验鱼:斑马鱼(*Brachydanio rerio*)体长 1~3 cm,

收稿日期:2011-03-26

基金项目:公益性行业(环保)科研专项(200909086)

作者简介:刘济宁(1977—),男,河北辛集人,博士研究生,主要从事化学品生态影响评价研究。E-mail:ljn@nies.org

表 1 供试土壤的基本理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of tested soil

土壤类型	pH	有机质/g·kg ⁻¹	阳离子代换量/ cmol(+)·kg ⁻¹	质地
江西红壤	5.29	9.94	10.6	粘土
太湖水稻土	6.23	12.6	17.4	壤土
东北黑土	8.45	33.4	24.0	粘土

金鱼(*Carassius auratus*)体长 8~10 cm,由中国水产科学研究院珠江水产所提供。

接种物:采自南京市锁金村城市生活污水处理厂的二级出水,接种物采集后在实验室内曝气培养。

仪器设备:Agilent 6890N 型气相色谱仪;Agilent7683 系列自动进样器;RXZ 智能型人工气候箱(宁波江南仪器厂);HZQ-F 型全温度振荡器(苏州华美仪器厂);RS-20III 型高速离心机(Tomy Seiko,JP);N-1001 型旋转蒸发仪(EYELA,JP);MIR-253 型生化培养箱(SANYO,JP);ES-316 型全自动高压蒸汽灭菌锅(TOMY,JP)。MS-PRE 型多功能光化学反应实验装置(国家环境保护部南京环境科学研究所)。

试剂:丙酮、石油醚等均为分析纯(国药集团上海试剂厂)。

1.2 溶液配制

储备液:称取 10.0 mg 林丹于 100 mL 容量瓶中,加入 10 mL 石油醚,振荡溶解后,用石油醚定容至刻度,配制成 100 mg·L⁻¹ 的林丹储备液。分别用移液管移取 10 mL 和 1.0 mL 林丹储备液加入到 100 mL 容量瓶中,用石油醚定容至刻度,配制成 10 mg·L⁻¹ 和 1.0 mg·L⁻¹ 的林丹储备液。移取 10 mL 浓度为 1.0 mg·L⁻¹ 的林丹储备液至 100 mL 容量瓶中,用石油醚定容至刻度,配制成 0.1 mg·L⁻¹ 的林丹储备液。

标准溶液:用移液管分别移取 2.0、1.0、0.8、0.4、0.2、0.1 mL 浓度为 1.0 mg·L⁻¹ 的林丹储备液至 10 mL 具塞比色管,用石油醚定容至刻度,配制成浓度为 0.2、0.1、0.08、0.04、0.02 mg·L⁻¹ 和 0.01 mg·L⁻¹ 的标准溶液;再用移液管分别移取 2.00 mL 和 1.00 mL 0.01 mg·L⁻¹ 的标准溶液至 10 mL 具塞比色管,用石油醚定容至刻度,配制成浓度为 0.002 mg·L⁻¹ 和 0.001 mg·L⁻¹ 的标准溶液。

1.3 试验方法^[12-13]

1.3.1 土壤降解试验^[14]

分别称取 20.0 g 表 1 中 3 种土壤样品于口径 9 cm 的培养皿中,用 0.5 mL 移液管移取 0.2 mL 浓度为 10 mg·L⁻¹ 的林丹储备液,均匀滴加到土壤表面,与土

壤充分混匀后转入 125 mL 三角烧瓶中,调节土壤水分至饱和持水量的 60%,用棉塞将瓶口塞紧,置于 25 ℃人工气候箱中^[2-5]。土壤降解试验中林丹添加浓度为 0.1 mg·kg⁻¹,设置 3 个平行。

1.3.2 水解试验^[15]

用 0.5 mL 移液管移取 0.2 mL 浓度为 100 mg·L⁻¹ 的林丹储备液,加入到 50 mL 烧杯中,N₂ 吹干溶剂后分别用 pH5、pH7、pH9 的缓冲溶液多次溶解定容至 200 mL,再转入 250 mL 具塞棕色试剂瓶中,设置 3 个平行,分别置于 25 ℃与 50 ℃的生化培养箱中培养。

1.3.3 光解试验^[16]

试验在多功能光化学反应实验装置中进行,光源为 1 000 W 氙灯。取 0.1 mL 浓度为 10 mg·L⁻¹ 的林丹储备液于 10 mL 石英玻璃光解池中,N₂ 吹干溶剂后,用去离子水定容至 10 mL,置于光照转盘上。光照强度 3 200 lx,紫外强度 15 μW·cm⁻²,温度(25±2)℃,设置 3 个平行。光解试验期内光化学反应保持隔离其他光源,以减少对试验结果的影响。

1.3.4 快速生物降解试验^[17]

试验处理 BOD 瓶中添加 25 mL 浓度为 100 mg·L⁻¹ 林丹贮备液,用氮气吹去有机溶剂后加入试验培养基,再加入接种物 100 μL·mL⁻¹,然后用能插到瓶底的硅胶软管将已曝气的试验培养基导入 BOD 瓶中,林丹与接种物浓度分别为 10 mg·L⁻¹ 和 1 mL·L⁻¹。参比对照与毒性对照采用相同处理,参比对照中苯胺终浓度为 2 mg·L⁻¹,毒性对照中苯胺和林丹终浓度分别为 2 mg·L⁻¹ 和 10 mg·L⁻¹。将 BOD 瓶置于 20 ℃黑暗中进行培养。每个处理设置两个平行。

1.3.5 鱼类急性毒性试验^[18]

在预试验基础上,正式试验的浓度设置 0.001、0.002、0.005、0.01、0.02、0.03、0.05 mg·L⁻¹ 7 个浓度组,同时设 1 个稀释水对照组,每个浓度重复 3 次。每缸分别配制不同浓度的药液各 10 L,每缸随机放入 10 条斑马鱼,室温和水浴温度都控制在(25±1)℃,自然光照 12~16 h·d⁻¹。

1.3.6 鱼类生物富集试验^[19]

鱼缸中配制 0.01、0.005 mg·L⁻¹ 的林丹溶液,每缸放入 2 条金鱼。室温控制在(25±1)℃,光照 16 h·d⁻¹。试验时间为 28 d,每隔 5 d 喂食 1 次。定时采集水样和鱼样测定林丹残留量。

1.4 样品残留量提取方法

1.4.1 水样分析

用 30 mL×2 的重蒸石油醚萃取,合并有机相,浓

缩至近干,用石油醚溶解定容,待 GC-ECD 测定。

1.4.2 鱼样与土壤样品分析

鱼样与土壤样品分别加无水硫酸钠,碾碎放入 34 mL ASE300 提取池中,用提取液(丙酮:石油醚=1:1)、80℃、静态提取 5 min,循环两次。提取液用浓硫酸洗涤待有机相清澈后,加入 50 mL 饱和氯化钠水溶液,用 30 mL×2 的重蒸石油醚萃取,合并有机相浓缩至近干,用石油醚溶解定容,待 GC-ECD 分析。

1.5 色谱分析条件

检测器:微池-电子捕获检测器(μ -ECD)。色谱柱:HP-5MS 石英毛细管柱(HP 公司,USA)。长 30 m,内径 0.25 mm,液膜厚度 0.25 μ m。柱温 160℃保持 2 min,以 10℃·min⁻¹ 上升至 200℃保持 5 min;汽化室 250℃;检测室 310℃。气体流速:载气(N₂)2.0 mL·min⁻¹;补充气(N₂)60 mL·min⁻¹。进样量与进样模式:1 μ L,无分流。

2 结果与讨论

2.1 标准曲线制备

将林丹 0.001、0.002、0.01、0.02、0.04、0.08、0.1、0.2 mg·L⁻¹ 标准溶液在 1.4.1 所述色谱条件下分析,以样品浓度 C (mg·L⁻¹)对色谱峰面积 A (mV.S)进行线性回归。其回归方程在 0.001~0.04 mg·L⁻¹ 浓度范围时,

$$A=200\,273C-54.6 \text{ (相关系数 } R=0.998 \text{)}$$

浓度在 0.02~0.2 mg·L⁻¹ 时,

$$A=292\,814C-3\,367.1 \text{ (相关系数 } R=0.992 \text{)}$$

结果表明在 0.001~0.2 mg·L⁻¹ 浓度范围内, C 与 A 的回归方程线性良好。

2.2 回收率试验

移液管分别移取适量的 1.0 mg·L⁻¹ 的林丹储备液至 20 g 土壤、20 g 研磨好的鱼样和 20 mL 水中,进行添加回收试验。结果表明,林丹在鱼体中的添加浓度 0.05~0.20 mg·kg⁻¹ 时,回收率为 95.3%~99.9%,相对标准偏差<2.16%;在水中的添加浓度为 0.01~0.10 mg·L⁻¹ 时,回收率为 97.3%~99.4%,相对标准偏差<2.34%;在土壤中的添加浓度为 0.01~0.10 mg·kg⁻¹ 时,回收率为 87.0%~97.9%,相对标准偏差<3.90%。

仪器最小检出量为 1×10^{-14} g,林丹在水中最小检出浓度为 0.000 1 mg·L⁻¹,在土壤与鱼体中最低检出浓度均为 0.000 5 mg·kg⁻¹。

2.3 林丹土壤降解性

林丹在红壤中的降解动态见图 1。林丹在江西红壤、太湖水稻土、东北黑土中的降解半衰期分别为 68.6、40.3 d 和 36.9 d;其降解速率以从小至大的次序

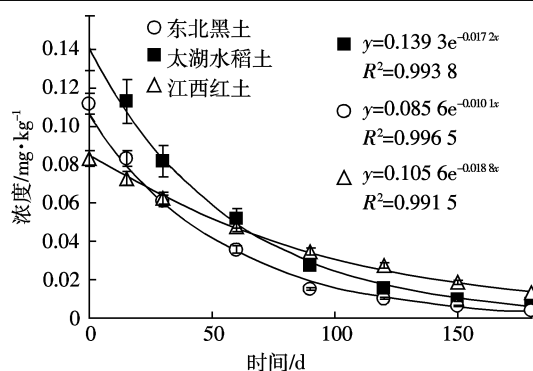


图 1 林丹土壤降解曲线

Figure 1 Degradation dynamics of lindane in soils

为江西红壤<太湖水稻土<东北黑土。

农药在土壤中的降解与土壤有机质含量有关,土壤有机质含量高,有利于土壤微生物的生存与繁殖,其对农药的生物降解作用强^[20]。3 种供试土壤的有机质含量依次为东北黑土>太湖水稻土>江西红壤。林丹在有机质含量高的东北黑土中降解快于有机质含量稍低的太湖水稻土,在江西红壤中降解最慢,说明其降解性与土壤有机质含量有明显的相关性。

2.4 林丹水解作用

由图 2 可知,25℃时 pH5 与 pH7 缓冲溶液中,林丹未发生明显的水解,其水解半衰期约为 2 310 d 和 1 386 d;而在 pH9 条件下,水解半衰期为 28.1 d。说明酸碱度对林丹的水解速率有明显影响,pH 为 5~7 时,水解很慢,当 pH 增至 9 时,水解速率快速增加。50℃时,林丹在 pH5、pH7、pH9 条件下的水解半衰期分别为 330、27.6、8.94 d。碱性条件下水解最快,酸性条件下最为稳定,林丹的水解机理与硫丹相同^[21]。温度对林丹的水解速率有显著影响,50℃时水解速率约为 25℃时的 3~52 倍,温度增加水解速率明显加快,符合阿伦尼乌斯定律^[22]。

2.5 林丹光解作用

大多数农药在水中的光解动态可用一级动力学方程描述:

$$y=c_0 e^{-kx}$$

式中: y 为农药浓度 (mg·kg⁻¹), c_0 为初始浓度 (mg·kg⁻¹), k 为光解速率 (h⁻¹), x 为降解时间 (h)。

林丹在人工光源氙灯下的光化学降解特性见图 3。将林丹的光解残留量与降解时间按照上式进行拟合,相关系数 $R=0.996$,说明林丹光解遵从一级动力学过程。林丹光解速率为 0.043 9 h⁻¹,按照 $x_{1/2}=\ln 2/k$ 计算出林丹在氙灯下的光解半衰期为 15.7 h。由林丹结构式可知,林丹并不含有能吸收光的发色团,无论

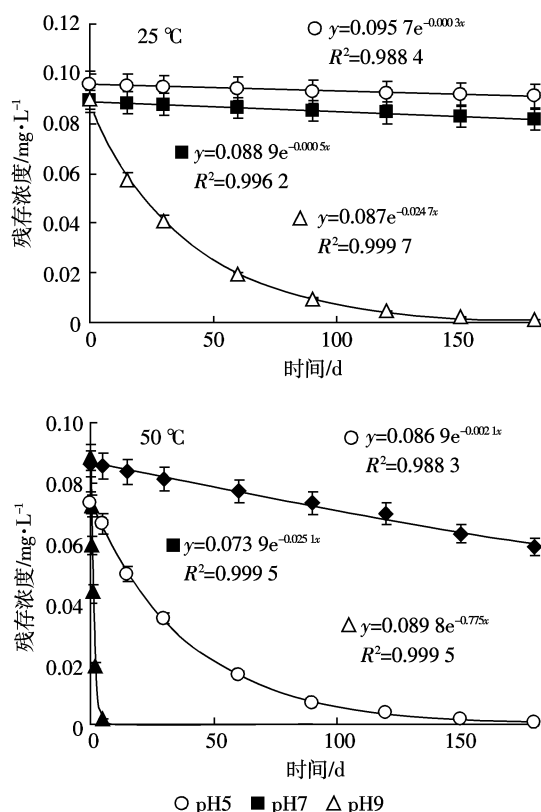


图2 林丹在不同温度与酸度下的水解曲线

Figure 2 Hydrolysis dynamics of lindane at the different temperature and acidity

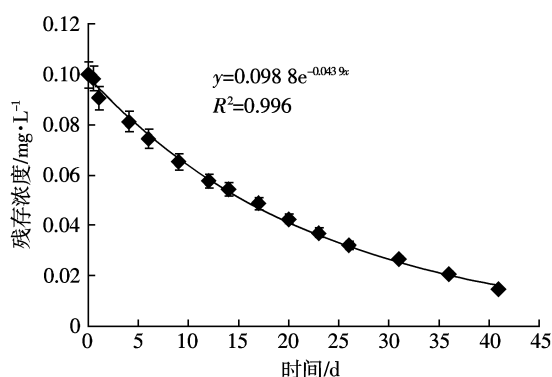


图3 林丹在水中的光解

Figure 3 Photolysis dynamics of lindane in water

是在空气中或在水中、土壤中,在无催化剂时都不会发生直接的光解,故林丹具有极强的光化学稳定性^[13]。

2.6 林丹快速生物降解性

含有林丹的试验培养基中接种少量的混合微生物,保持受试物林丹溶液完全充满密闭瓶,在黑暗恒温下28 d,生物降解性见图4。试验进行到第14 d时,林丹生物降解率为2.27%,到第28 d试验结束时,生

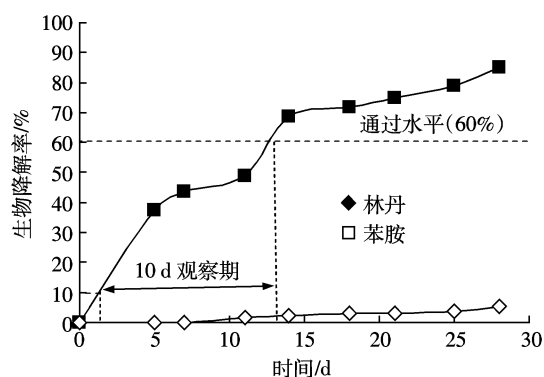


图4 林丹快速生物降解动态曲线

Figure 4 Ready biodegradation dynamics of lindane

物降解率为5.30%,说明林丹属难生物降解农药^[13]。

2.7 林丹对鱼的急性毒性

试验期间,试验溶液中溶解氧始终保持在7.7~9.0 mg·L⁻¹,pH为6.7。斑马鱼对重铬酸钾24 h的LC₅₀为258 mg·L⁻¹。斑马鱼接触林丹后,低浓度组(0.001、0.002、0.005 mg·L⁻¹)游动速度加快,2~3 h后恢复正常,高浓度组(0.01、0.02、0.03、0.05 mg·L⁻¹)拼命掉头、侧翻、腹部肿胀发白、腮部充血、1 h后有死亡发生。林丹对斑马鱼96 h-LC₅₀为4.22 μg·L⁻¹,其95%置信限为2.56~6.94 μg·L⁻¹,说明林丹对鱼类属于剧毒农药^[13]。

2.8 林丹在鱼体内的富集

试验期间,鱼体中林丹的浓度变化见图5。生物富集系数(BCF)是指受试物林丹在鱼体或其特殊组织中的浓度(C_f,以mg·kg⁻¹表示)与周围介质中受试物浓度(C_w,mg·L⁻¹)之比,即BCF=C_f/C_w。林丹在金鱼体内生物富集系数变化见图6。试验进行20~25 d时,林丹在鱼体内浓度达到稳定,即BCF为1 057;25 d后,BCF值开始下降,此时鱼体自身的代谢速率开始大于富集速率。综上可知,林丹在鱼体内的BCF>1 000,说明生物富集性较强。

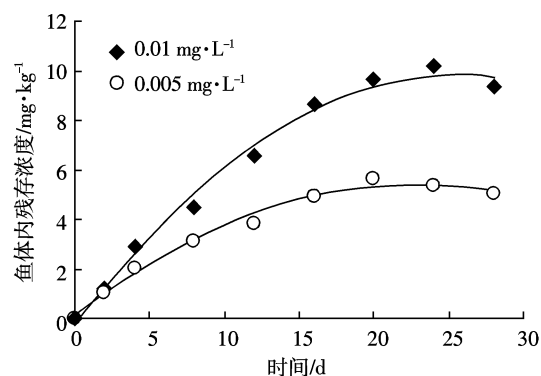


图5 林丹在金鱼体内的浓度变化

Figure 5 The concentration trends of lindane in goldfish

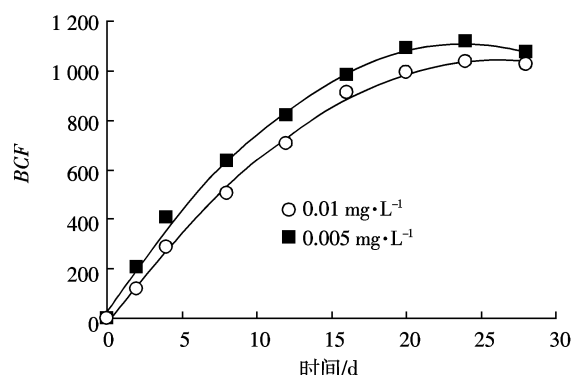


图6 金鱼对林丹的生物富集作用

Figure 6 The bioconcentration effect of lindane to goldfish

3 结论

林丹在江西红壤、太湖水稻土、东北黑土等土壤中的降解半衰期为 36.9~68.6 d,土壤有机质含量越高,降解越快。

林丹的水解半衰期为 8.94~2 310 d,对光稳定,难以快速生物降解,加热和碱性条件有助于林丹水解。

林丹对环境生物具有较高的毒性及生物富集性,其对斑马鱼的 96 h-LC₅₀ 为 4.22 μg·L⁻¹,且在金鱼体内的 BCF>1 000。

参考文献:

- [1] 张莹, 赵丹宇. 林丹的安全性毒理学评价[J]. 农药科学与管理, 1996, 60: 11-13.
ZHANG Ying, ZHAO Dan-yu. Toxicological evaluation of safety for lindane[J]. *Pesticide Science and Administration*, 1996, 60: 11-13.
- [2] FAN A M. Public health goal for lindane in drinking water[R]. Office of Environmental Health Hazard Assessment California Environmental Protection Agency, 1999.
- [3] YU Y, TAO S, LIU W. Dietary intake and human milk residues of hexachlorocyclohexane isomers in two Chinese cities[J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(13): 4830-4835.
- [4] MENG X Z, ZENG E Y, YU L P. Persistent halogenated hydrocarbons in consumer fish of China: Regional and global implications for human exposure[J]. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41(6): 1821-1827.
- [5] 岳瑞生. 《关于就某些持久性有机污染物采取国际行动斯德哥尔摩公约》及其谈判背景[J]. 世界环境, 2001(1): 24-28.
YUE Rui-sheng. The stockholm convention on implementing international action on certain persistent organic pollutants and the background of its negotiations[J]. *World Environment*, 2001(1): 24-28.
- [6] Buser H F, Müller M, Isome. Enantioselective degradation of hexachlorocyclohexane isomers in sewage sludge under anaerobic conditions[J]. *Environmental Science and Technology*, 1995, 29: 664-672.
- [7] Caquet T, Thyubaud E, Bras S L. Fate and biological effects of lindane

- and deltamethrin in freshwater mesocosms[J]. *Aquat Toxicol*, 1992, 23(3/4): 261-278.
- [8] 姚建仁, 郑永权, 赵静, 等. 林丹生物降解研究进展[J]. 农药译丛, 1990, 12(3): 20-25, 19.
YAO Jian-ren, ZHENG Yong-quan, ZHAO Jing, et al. Reach advances of biodegradation for lindane[J]. *Translated Collection of Pesticide*, 1990, 12(3): 20-25, 19.
- [9] MACKAY D, WAN Y S, MA K. Illustrated handbook of physical-chemical properties of environmental fate for organic chemicals[M]. CRC Press, 1997.
- [10] USEPA. Revised EFED RED Chapter for Lindane, Prepared by the Environmental Fate and Effects Division[R]. Office of Pesticide Programs for the Lindane Reregistration Eligibility Decision (RED) for Lindane, 2002.
- [11] 刘相梅, 彭平安, 黄伟林, 等. 酸度对林丹水解的影响[J]. 中国环境科学, 2002, 22(6): 485-489.
LIU Xiang-mei, PENG Ping-an, HUANG Wei-lin, et al. Influence of acidity on lindane hydrolysis[J]. *China Environmental Science*, 2002, 22(6): 485-489.
- [12] 国家环保总局《化学品测试方法》编委会. 化学品测试方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2003.
The Editorial Board of State Environmental Protection Administration for the Guidelines for the Testing of Chemicals. The guidelines for the testing of chemicals[M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2003.
- [13] 蔡道基. 化学农药环境安全评价试验准则[M]. 北京: 国家环境保护局, 1989.
CAI Dao-ji. The test guidelines of evaluation environmental safety for chemical pesticides[M]. Beijing: State Environmental Protection Administration, 1989.
- [14] OECD. Guidelines for testing of chemicals: 304A Inherent Biodegradability in Soil[S]. OECD, 1981.
- [15] OECD. Guidelines for testing of chemicals: 111 Hydrolysis as a function of pH[S]. OECD, 2004.
- [16] US EPA. Fate, transport and transformation test guidelines: OPPT 835. 2310 Maximum Direct Photolysis Rate in Air from UV/Visible Spectroscopy[S]. US EPA 1998.
- [17] OECD. Guidelines for testing of chemicals: 301D closed bottle test[S]. OECD, 1992.
- [18] OECD. Guidelines for testing of chemicals: 203 fish, acute toxicity test [S]. OECD, 1992.
- [19] OECD. Guidelines for testing of chemicals: 305B Bioconcentration; Semi-static fish test[S]. 1981.
- [20] Providenti M A, Lee H, Trevors J T. Selected factors limiting the microbial degradation of recalcitrant compounds[J]. *Journal of Industrial Microbiology*, 1993, 12: 379-395.
- [21] 刘济宁, 周林军, 石利利, 等. 硫丹及硫丹硫酸酯的土壤降解特性[J]. 环境科学学报, 2010, 30(12): 2484-2489.
LIU Ji-ning, ZHOU Lin-jun, SHI Li-li, et al. Degradation of endosulfan and endosulfan sulfate in soils[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2010, 30(12): 2484-2489.