

网络出版时间:2012-03-21 17:26

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20120321.1726.014.html>

间苯二酚与邻苯二酚对泥鳅的急性毒性效应

雷 忻, 陈 超, 王文强, 延志莲, 董腊梅

(延安大学 生命科学学院, 陕西 延安 716000)

【摘要】 **【目的】** 探讨间苯二酚(m-dihydroxybenzene)和邻苯二酚(o-dihydroxybenzene)对泥鳅(*Misgurnus anguillicadatus*)的毒性效应, 为评价酚类化合物对水生生物的毒害作用提供理论依据。**【方法】** 采用单因子急性毒性试验, 分别检测不同质量浓度间苯二酚(10.00, 12.10, 14.50, 17.40, 20.90, 25.20 和 30.20 mg/L)和邻苯二酚(20.00, 28.05, 39.45, 55.46, 77.98, 109.60 和 154.20 mg/L)对泥鳅的急性毒性效应, 观察泥鳅的中毒症状, 统计死亡率, 建立死亡几率与药物质量浓度常用对数值的回归方程, 计算 2 种化合物对泥鳅的半致死浓度(LC₅₀)和安全浓度(SC)。**【结果】** 泥鳅在高质量浓度(25.20, 30.20 mg/L)间苯二酚中 8 h 开始出现死亡, 在高质量浓度邻苯二酚(109.60, 154.20 mg/L)中 16 h 开始出现死亡; 2 种化合物对泥鳅的毒性作用随其在体内积累质量浓度的增大、作用时间的延长而增强; 间苯二酚对泥鳅 24, 48, 72 和 96 h 的 LC₅₀ 分别为 27.04, 23.44, 20.91 和 17.40 mg/L, SC 为 5.29 mg/L; 邻苯二酚对泥鳅 24, 48, 72 和 96 h 的 LC₅₀ 分别为 127.50, 96.74, 75.53 和 50.53 mg/L, SC 为 16.71 mg/L。**【结论】** 间苯二酚与邻苯二酚均为高毒性污染物, 且前者比后者的毒性更大; 泥鳅群体对间苯二酚反应的同质性较高; 生产中对这 2 种化合物的毒性应引起高度重视。

【关键词】 间苯二酚; 邻苯二酚; 泥鳅; 半致死浓度; 安全浓度

【中图分类号】 X171.5

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2012)04-0175-05

Acute toxicity effects of m-dihydroxybenzene and o-dihydroxybenzene on *Misgurnus anguillicadatus*

LEI Xin, CHEN Chao, WANG Wen-qiang, YAN Zhi-lian, DONG La-mei

(College of Life Science, Yan'an University, Yan'an, Shaanxi 716000, China)

Abstract: **【Objective】** This paper studied the acute toxicity of m-dihydroxybenzene and o-dihydroxybenzene to *Misgurnus anguillicadatus*, which can offer reference to evaluate acute toxicity of phenolic compound to hydrobiont. **【Method】** We used the methods of single factor toxicity test to detect the acute toxicity effects of m-dihydroxybenzene (10.00, 12.10, 14.50, 17.40, 20.90, 25.20, 30.20 mg/L) and o-dihydroxybenzene (20.00, 28.05, 39.45, 55.46, 77.98, 109.60, 154.20 mg/L) on *Misgurnus anguillicadatus*, observed their toxic symptoms, counted the death ratios, deduced the regression equations and computed the median lethal concentrations (LD₅₀) and the safety concentrations (SC) under seven concentration grads. **【Result】** The loaches begin to die after 8 hours in the m-dihydroxybenzene with high concentration (25.20, 30.20 mg/L) and after 16 hours in the o-dihydroxybenzene with high concentration (109.60, 154.20 mg/L). With the increasing concentration and exposure time of two compounds, their toxicity effects to *M. anguillicadatus* increased. The LC₅₀ of m-dihydroxybenzene for 24, 48, 72, and 96 hours were 27.04, 23.44, 20.91 and 17.40 mg/L, respectively, and the SC was 5.29 mg/L; while the mean LC₅₀ values

* [收稿日期] 2011-10-19

[基金项目] 教育部科学技术研究重点项目(206148); 陕西省教育厅专项(2010JK909); 延安市科技局专项(YAKY200701); 生态学陕西省重点学科专项

[作者简介] 雷 忻(1972—), 女, 陕西延安人, 副教授, 博士, 主要从事环境毒理学及生态学研究。E-mail: leizz66@126.com

of o-dihydroxybenzene for 24,48,72,and 96 hours were 127.50,96.74,75.53 and 50.53 mg/L,respectively,and the SC was 16.71 mg/L.【Conclusion】Both m-dihydroxybenzene and o-dihydroxybenzene had high toxicity to *M. anguillicadatus*,and m-dihydroxybenzene had higher toxicity than o-dihydroxybenzene. The groups of *M. anguillicadatus* have a higher homogeneity reacting to m-dihydroxybenzene than o-dihydroxybenzene. The toxicity of two compounds should be paid much attention to.

Key words: m-dihydroxybenzene; o-dihydroxybenzene; *Misgurnus anguillicadatus*; median lethal concentration; safe concentration

间苯二酚与邻苯二酚作为重要的精细化工中间体,被广泛应用于塑料、农药、抗氧化剂、染料、涂料等精细化工产品的生产中。它们具有易富集、难降解等特点,其引发的毒性可以通过食物链传递和放大,除可对水生生物产生毒害作用外,还可危及陆生动物、鸟类和人类的健康^[1-5],已成为当今环境中重要的污染物,特别是含酚废水已对水生生态环境造成了严重的污染^[6-8]。

泥鳅(*Misgurnus anguillicadatus*)隶属鲤形目(Cypriniformes) 鳅科(Cobitidae) 泥鳅属(*Misgurnus*)^[9],系一种小型淡水鱼,适应于淤泥、水体 2 种栖息环境,抗病能力较强,食性广,易于驯养,是一种良好的可用于监测土壤与水域环境污染的动物^[10]。近年来,关于间苯二酚和邻苯二酚对低等水生生物的毒性作用已有报道^[11],但对泥鳅的毒理学研究多集中于农药^[12]、重金属^[13]及双酚 A 等^[14]方面,而有关间苯二酚和邻苯二酚对泥鳅毒性作用的研究报道较少^[15]。为此,本研究以泥鳅为试验动物,分析了间苯二酚与邻苯二酚对泥鳅的急性毒性效应,以期酚类化合物对水生生物的毒害作用研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用泥鳅购自延安市农贸市场,在室温下,用经过 3 d 自然脱氯的自来水驯养 2 周后,挑选健康、强壮者用于试验,试验前 1 d 和试验期间停止喂食。受试泥鳅平均体质量为(12.6±3.5) g/尾,平均体长为(11.4±2.5) cm。

间苯二酚,分析纯,购自天津市天大化学试剂厂。邻苯二酚,分析纯,购自北京化工厂。

1.2 急性毒性试验

在正式试验前先进行 2 次预试验,确定泥鳅对间苯二酚和邻苯二酚的最大耐受质量浓度分别为:8.32 和 14.23 mg/L,最小全致死质量浓度分别为 35.48 和 190.10 mg/L。根据预试验结果,按等对

数(常用对数)间距,将间苯二酚与邻苯二酚分别设置 7 个质量浓度处理组(间苯二酚:10.00,12.10,14.50,17.40,20.90,25.20,30.20 mg/L;邻苯二酚:20.00,28.05,39.45,55.46,77.98,109.60,154.20 mg/L),同时设空白对照组(加蒸馏水),每个处理设 3 个重复,每重复 10 条泥鳅。将供试泥鳅饲养于不同质量浓度的间苯二酚和邻苯二酚药液中,观察其活动、中毒情况及体色变化,每 24 h 统计 1 次泥鳅的死亡数,并更换受试药液,以保证药液溶氧量、pH、水温及其他理化指标的稳定^[16],及时捞出死亡泥鳅,计算死亡率。试验共进行 96 h。对照处理泥鳅在试验期间未出现死亡。

1.3 数据处理

采用 SPSS18.0 软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),比较 2 种化合物最大质量浓度和最小质量浓度泥鳅的死亡率, $P<0.01$ 表示差异极显著。运用 SPSS18.0 软件对药液的质量浓度常用对数值(x)与泥鳅死亡几率(y)的关系进行回归分析,得到回归方程 $y=ax+b$,其中 a 为直线的斜率,表示当药物质量浓度常用对数每增加一个单位,泥鳅死亡几率平均增加 a 个单位,因此, a 值可以表示泥鳅群体同质性的大小, a 值越大,群体的同质性越大,反之则群体的同质性越小。由回归方程分别计算出 24,48,72 和 96 h 的半致死浓度(Median lethal concentration,LC₅₀)和 95%置信区间,由 LC₅₀ 计算出药物的安全浓度(Safe concentration,SC)^[17]:

$$SC=A\times 0.3/(B/A)^2。$$

式中: A 为 48 h 时的 LC₅₀, B 为 24 h 时的 LC₅₀。

2 结果与分析

2.1 泥鳅在间苯二酚、邻苯二酚中的急性中毒症状

在试验最初的 6 h 内,对照处理和 2 种药物的低质量浓度(间苯二酚:10.00,12.10 mg/L;邻苯二酚:20.00,28.05 mg/L)处理,泥鳅没有明显的中毒症状。间苯二酚高质量浓度(25.20,30.20

mg/L)处理,泥鳅放入缸内 4 h 开始出现中毒症状,游动急速,四处乱窜;6 h 后游泳失衡,出现抽搐,跃出水面,碰撞桶壁,逐渐侧翻在水中;8 h 时开始出现死亡,体表黏液显著增多;另外高质量浓度间苯二酚处理泥鳅的活动能力较低质量浓度处理明显降低,活动空间偏向于浅水。邻苯二酚高质量浓度(109.60,154.20 mg/L)处理,8 h 泥鳅开始出现中毒症状,游动缓慢,反应迟钝,多聚集于桶壁,并在浅水区活动;12 h 出现侧翻,打转,平衡能力下降,逐渐丧失运动能力;16 h 时开始出现死亡,体表黏液显著增多。

表 1 不同质量浓度间苯二酚处理泥鳅的死亡率

Table 1 Death ratio of <i>M. anguillicadatus</i> exposed in m-dihydroxybenzene								%
处理时间/h Time	间苯二酚质量浓度/(mg·L ⁻¹) Mass concentration of m-dihydroxybenzene							对照 Control
	10.00	12.10	14.50	17.40	20.90	25.20	30.20	
24	0	0	13.33±3.33	20.00±0.00	26.67±3.33	36.67±3.33	66.67±3.33**	0
48	0	6.67±3.33	16.67±3.33	23.33±3.33	33.33±3.33	53.33±3.33	76.67±3.33**	0
72	6.67±3.33	16.67±3.33	23.33±3.33	30.00±5.77	50.00±0.00	66.67±3.33	90.00±0.00**	0
96	16.67±3.33	20.00±5.77	26.67±3.33	43.33±3.33	66.67±3.33	83.33±3.33	96.67±3.33**	0

注: ** 表示相同时间,最大质量浓度与最小质量浓度中泥鳅的死亡率差异极显著($P<0.01$)。表 2 同。
Note: ** Represents there are remarkably significant differences between maximal mass concentration and minimal mass concentration at same time($P<0.01$). As same as table 2.

表 2 不同质量浓度邻苯二酚处理泥鳅的死亡率

Table 2 Death ratio of <i>M. anguillicadatus</i> exposed in o-dihydroxybenzene								%
处理时间/h Time	邻苯二酚质量浓度/(mg·L ⁻¹) Mass concentration of o-dihydroxybenzene							对照 Control
	20.00	28.05	39.45	55.46	77.98	109.60	154.20	
24	0	3.33±3.33	13.33±3.33	16.67±3.33	23.33±3.33	40.00±5.77	63.33±3.33**	0
48	0	13.33±3.33	16.67±3.33	23.33±3.33	30.00±5.77	50.00±5.77	80.00±0.00**	0
72	10.00±0.00	16.67±3.33	30.0±5.77	43.33±3.33	50.00±5.77	63.33±3.33	93.33±3.33**	0
96	16.67±3.33	30.00±0.00	43.33±3.33	53.33±3.33	63.33±3.33	76.67±3.33	100.00±0.00**	0

2.3 间苯二酚和邻苯二酚对泥鳅的 LC₅₀ 与 SC

对表 1,2 数据进行回归分析,结果见表 3。由表 3 可见,泥鳅在不同质量浓度 2 种化合物中的死亡率与其质量浓度具有极显著的线性相关性;对于

2.2 间苯二酚、邻苯二酚中泥鳅的死亡率

由表 1,2 可见,随着染毒时间的延长,2 种酚类化合物中的泥鳅开始出现死亡的药物质量浓度逐渐降低。在相同处理时间下,泥鳅死亡率随着药物质量浓度的增大而提高,高质量浓度(间苯二酚 30.20 mg/L,邻苯二酚 154.20 mg/L)组死亡率极显著高于低质量浓度(间苯二酚 10.00 mg/L,邻苯二酚 20.00 mg/L)组。泥鳅开始出现死亡的间苯二酚最低质量浓度(10.00 mg/L)和最高质量浓度(30.20 mg/L) 均低于邻苯二酚(分别为 20.00 和 154.20 mg/L)。

同一种酚类化合物而言,随着染毒时间的延长,半致死浓度显著降低,且不同处理时间间苯二酚的半致死浓度和安全浓度均低于邻苯二酚,说明间苯二酚对泥鳅的毒性较邻苯二酚大。

表 3 间苯二酚与邻苯二酚对泥鳅的 LC₅₀ 和 SC

Table 3 LC ₅₀ and SC of <i>M. anguillicadatus</i> in m-dihydroxybenzene and o-dihydroxybenzene						
药物 Compound	处理时间/h Time	回归方程 Regression equation	相关系数(R^2) Correlation coefficient	LC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)	95%置信区间/ (mg·L ⁻¹) 95% credibility range	SC/(mg·L ⁻¹)
间苯二酚 m-dihydroxybenzene	24	$y=4.454x-1.378$	0.923**	27.04 a	19.36~37.75	5.29
	48	$y=5.217x-2.148$	0.956**	23.44 b	16.54~33.21	
	72	$y=4.465x-0.897$	0.969**	20.91 c	14.55~29.92	
	96	$y=4.935x-1.123$	0.944**	17.40 d	12.67~23.82	
邻苯二酚 o-dihydroxybenzene	24	$y=2.656x-0.593$	0.961**	127.50 a	43.73~136.80	16.71
	48	$y=2.932x-0.822$	0.914**	96.74 b	40.20~135.50	
	72	$y=2.122x+1.040$	0.981**	75.53 c	34.43~89.35	
	96	$y=2.178x+1.290$	0.991**	50.53 d	26.68~81.98	

注: ** 表示相关性极显著($P<0.01$);同一药物,同列数据后标不同小写字母者表示差异显著($P<0.05$)。
Note: ** Represents remarkably significant difference($P<0.01$). The values sharing the different letters mean different at $P<0.05$.

3 讨 论

急性毒性试验结果表明,在同一时间内,泥鳅的死亡率随间苯二酚和邻苯二酚质量浓度的增大而呈上升趋势,说明在一定质量浓度范围内,2 种化合物对泥鳅存在明显的急性毒性效应。在同一质量浓度下,泥鳅死亡率均随染毒时间的延长而逐渐升高,说明间苯二酚和邻苯二酚在泥鳅体内具有累积效应。对回归方程的 a 值进行比较,邻苯二酚处理 24, 48, 72 和 96 h 时的 a 值分别为 2.656, 2.932, 2.122 和 2.178, 均较对应处理时间间苯二酚的 a 值小,说明泥鳅群体对间苯二酚的反应明显较均匀,群体同质性较大,提示间苯二酚达到一定浓度时,稍有增加就会引发泥鳅大量死亡,因此间苯二酚对水生生物的毒性作用更应该引起高度重视。

一般以 LC_{50} 作为环境污染物对水生生物毒性的评价指标。孔志明^[18] 依据 96 h 的 LC_{50} 大小,将化合物对鱼类的急性毒性分为 5 个等级: $LC_{50} < 1$ mg/L 为剧毒, $1 \leq LC_{50} < 100$ mg/L 为高毒, $100 \leq LC_{50} < 1\ 000$ mg/L 为中等毒性, $1\ 000 \leq LC_{50} < 10\ 000$ mg/L 为低毒, $LC_{50} \geq 10\ 000$ mg/L 为微毒。据此可知,本试验间苯二酚(96 h LC_{50} 为 17.40 mg/L)和邻苯二酚(96 h LC_{50} 为 50.53 mg/L) 均属于高毒等级的酚类污染物,且前者比后者毒性更强,其对水生生物的毒害作用非常严重,应引起高度重视。

张辰佳等^[11] 研究发现,间苯二酚和邻苯二酚对多刺裸腹蚤具有较强的毒害作用。雷忻等^[14] 在双酚 A (BPA) 与对硝基酚(p-NP) 对泥鳅的急性毒性试验中检测出, BPA 48 h LC_{50} 为 8.02 mg/L, SC 为 2.24 mg/L; p-NP 的 48 h LC_{50} 为 17.58 mg/L, SC 为 4.40 mg/L, BPA 的毒性明显高于 p-NP。本研究中,间苯二酚对泥鳅的 48 h LC_{50} 为 23.44 mg/L, SC 为 5.29 mg/L; 邻苯二酚 48 h LC_{50} 为 96.74 mg/L, SC 为 16.71 mg/L。可见,间苯二酚与邻苯二酚对泥鳅的毒性作用小于 BPA 和 p-NP, 邻苯二酚又小于间苯二酚。4 种酚类化合物对泥鳅的毒性作用由强到弱依次为 BPA > p-NP > 间苯二酚 > 邻苯二酚,提示苯酚类化合物的毒性作用与化合物分子结构,如苯环数、取代基团类型、数量、位置等有密切关系。泥鳅对 2 种酚类化合物的毒性反应过程及代谢机制可能存在差异,这有待于进一步深入探讨。

4 结 论

间苯二酚和邻苯二酚均属于高毒等级的酚类污

染物,对泥鳅存在较强的急性毒性效应,且在泥鳅体内具有累积效应。间苯二酚的毒性更强,泥鳅群体对间苯二酚反应的同质性较高,更容易引发大量死亡。因此,2 种酚类化合物对水生生物的毒性作用应该引起高度重视,尤其是间苯二酚。

[参考文献]

- [1] 陈碧娟,陈民山.汞、砷、铬、苯酚对东方对虾幼体急性致毒的实验研究[J].海洋科学,1990,14(3):51-53.
Chen B J, Chen M S. Acute toxicity of arsenic, phenol, mercury and chromium to the larvae of *Penaeus orientali* [J]. Marine Sciences, 1990, 14(3): 51-53. (in Chinese)
- [2] 魏爱泓,徐虹,朱毅.鲤对酚的积累、分配和释放研究[J].水产科学,2001,20(1):12-14.
Wei A H, Xu H, Zhu Y. Accumulation, distribution and release of phenolate in Carps (*Cyprinus carpio* Linn) [J]. Fisheries Science, 2001, 20(1): 12-14. (in Chinese)
- [3] Rudel R. Predicting health effects of exposures to compounds with estrogenic activity: Methodological issues [J]. Environmental Health Perspectives, 1997, 105: 655-663.
- [4] 杜克久,徐晓白.环境雌激素研究进展[J].科学通报,2000,45(21):2241-2251.
Du K J, Xu X B. Advances in environmental estrogens [J]. Chinese Sci Bull, 2000, 45(21): 2241-2251. (in Chinese)
- [5] 李瑞霞.环境雌激素对动物的影响与对策[J].四川动物,2006,25(3):673-675.
Li R X. Environmental estrogens effect on animals and countermeasure [J]. Sichuan Journal of Zoology, 2006, 25(3): 673-675. (in Chinese)
- [6] 吴永民,李甫,黄咸雨,等.含酚废水处理新技术及其发展前景[J].环境科学与管理,2007,3(3):150-154.
Wu Y M, Li F, Huang X Y, et al. New techniques for treatment of phenol-containing wastewater and prospect of them [J]. Environmental Science and Management, 2007, 3(3): 150-154. (in Chinese)
- [7] Sun X B, Wu G J, Chen J P, et al. Toxic effect of detergents on *Daphnia magna* [J]. Acta Hydrobiol Sin, 2000, 24(3): 296-297.
- [8] 吴海明,李斌,吴琼,等.二硝基甲苯的毒性研究[J].卫生毒理学杂志,2000,14(3):178-179.
Wu H M, Li B, Wu Q, et al. Studies on the toxicity of dinitro-toluene [J]. J Health Toxicology, 2000, 14(3): 178-179. (in Chinese)
- [9] 成庆泰,郑葆珊.中国鱼类系统检索[M].北京:科学出版社,1987.
Cheng Q T, Zheng B S. Systematic synopsis of Chinese fishes [M]. Beijing: Science Press, 1987. (in Chinese)
- [10] 王万云,丁海华,毛治彦,等.秦岭地区泥鳅生物学特性及人工繁殖技术研究[J].陕西师范大学学报:自然科学版,2003,31(增刊2):153-157.
Wang W Y, Ding H H, Mao Z Y, et al. On biological charac-

teristics and technology of artificial reproduction of loach in Qinling mountain [J]. Journal of Shaanxi Normal University: Natural Science Edition, 2003, 31(Suppl. 2): 153-157. (in Chinese)

[11] 张辰佳,王 兰,王 茜. 3 种酚类化合物对多刺裸腹蚤 GST 和 AChE 活力的影响 [J]. 生态毒理学报, 2009, 4(2): 258-264.

Zhang C J, Wang L, Wang Q. Effects of phenolic compounds on glutathione-s-transferase and acetylcholinesterase in *Moina macrocopa* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2009, 4(2): 258-264. (in Chinese)

[12] 江 辉,陈开健,刘建波,等. 4 种农药对泥鳅的急性毒性及敏感性研究 [J]. 水利渔业, 2005, 25(2): 74-75.

Jiang H, Chen K J, Liu J B, et al. Acute toxicity of 4 kinds of pesticides to *Misgurnus anguillicaulatus* and its sensitivity [J]. Reservoir Fisheries, 2005, 25(2): 74-75. (in Chinese)

[13] 高晓莉,齐凤生,罗胡英,等. 铜、汞、铬对泥鳅的急性毒性及联合毒性实验 [J]. 水利渔业, 2003, 23(2): 63-64.

Gao X L, Qi F S, Luo H Y, et al. Acute toxicity and combined toxicity of Cu, Hg, Cr to *Misgurnus anguillicaulatus* [J]. Reservoir Fisheries, 2003, 23(2): 63-64. (in Chinese)

[14] 雷 忻,李宗强,廉振民,等. 双酚 A 和对硝基酚对泥鳅的急性毒性效应 [J]. 生态学杂志, 2009, 28(11): 2257-2261.

Lei X, Li Z Q, Lian Z M, et al. Acute toxicity effects of bisphenol A and p-nitrophenol to *Misgurnus anguillicadatus* [J]. Chinese Journal of Ecology, 2009, 28(11): 2257-2261. (in Chinese)

[15] 高晓莉,齐凤生,王丽敏,等. 蒽与 5 种酚类化合物对泥鳅的联合毒性研究 [J]. 水利渔业, 2004, 24(2): 65-66.

Gao X L, Qi F S, Wang L M, et al. Combined toxicity of anthracene and five phenolic compounds to *Misgurnus anguillicaulatus* [J]. Reservoir Fisheries, 2004, 24(2): 65-66. (in Chinese)

[16] 沈洪艳,宋存义,甄芳芳,等. 对氯硝基苯对锦鲤鱼的急性毒性效应 [J]. 河北师范大学学报: 自然科学版, 2007, 31(4): 514-516.

Shen H Y, Song C Y, Zhen F F, et al. The acute toxicity effect of P-NCB on *Brocarded carp* [J]. Journal of Hebei Normal University: Natural Science Edition, 2007, 31(4): 514-516. (in Chinese)

[17] 张克杰,张维平. 环境污染生物监测与评价 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1991.

Zhang K J, Zhang W P. Biological monitoring and assessment of environmental pollution [M]. Beijing: China Environmental Science Press, 1991. (in Chinese)

[18] 孔志明. 环境毒理学 [M]. 3 版. 南京: 南京大学出版社, 2006.

Kong Z M. Environmental toxicology [M]. 3rd Edition. Nanjing: Nanjing University Press, 2006. (in Chinese)