

老化对六六六在土壤中可提取态含量及其生物有效性的影响

郜红建^{1,2}, 蒋新^{2*}, 王芳², 卞永荣²

(1. 安徽农业大学资源与环境学院, 合肥 230036; 2. 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008)

摘要: 用室内模拟试验的方法研究了老化作用对六六六在土壤中可提取态含量变化及其在蚯蚓 (*Eisenia foetida*) 体内的生物富集规律。结果表明, 六六六在土壤中的可提取态含量随着时间延长逐渐降低, 下降速率呈现初始较快、而后减慢的趋势。在开始 60 d 老化时间内, α -六六六、 β -六六六、 γ -六六六和 δ -六六六在土壤中的老化减少量是其初始添加量的 57.2%、50%、52.2% 和 43.2%, 分别是其在 180 d 内老化减少量的 90.5%、87.4%、72.4% 和 84.4%。六六六在蚯蚓体内的生物富集量和生物富集系数也表现出和老化相似的规律。不同老化时间内, 六六六在蚯蚓体内的生物富集量表现为 α -六六六 > β -六六六 > δ -六六六 > γ -六六六。生物富集系数在开始的 15 d 为 γ -六六六 > α -六六六 > β -六六六 > δ -六六六; 而后呈 α -六六六 > β -六六六 > γ -六六六 > δ -六六六的规律。老化使六六六在土壤中的可提取态含量和生物有效性降低, 但仍可以在蚯蚓体内有一定的生物富集, 对土壤生态安全的威胁依然存在。

关键词: 六六六; 老化规律; 可提取性; 蚯蚓; 生物有效性

中图分类号: X592; X53 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)07-2054-04

Influence of Aging on the Extractability and Bioavailability of Hexachlorocyclohexane (HCH) in Soil

GAO Hong-jian^{1,2}, JIANG Xin², WANG Fang², BIAN Yong-rong²

(1. School of Resources and Environmental Science, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China; 2. Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract: Influence of aging on the extractability and bioavailability of HCHs (α -, β -, γ - and δ - isomers) in paddy soil were investigated in the lab under simulated circumstances. Results indicate that extractable HCHs decreased as their contact time with soil increased. The aging rate of HCHs in soil was rather high at the initial stage, and then slowed down in the rest of the time. During the first 60 days aging period, α -HCH, β -HCH, γ -HCH and δ -HCH dropped off 57.2%, 50%, 52.2% and 43.2% of the initial concentrations, about 90.5%, 87.4%, 72.4% and 84.4% of the total quantity of HCHs decreased in 180 d respectively due to high aging rate. Bioaccumulation of HCHs in earthworm displayed the same rule as aging, that is, the contents of HCHs in earthworm decreased as the incubation time extended, and so did bioaccumulation factors (BAF). The contents of HCHs accumulated in earthworm showing the order of α -HCH > β -HCH > δ -HCH > γ -HCH, while the accumulative ability expressing the rule of γ -HCH > α -HCH > β -HCH > δ -HCH in the first 15 d, and then α -HCH > β -HCH > γ -HCH > δ -HCH in the rest incubation time. Though the extractable HCHs decreased with aging, they still can be accumulated in earthworms, thus posing potential risk to soil environment.

Key words: HCHs; aging; extractability; earthworm; bioavailability

六六六的化学名称为六氯环己烷($C_6H_6Cl_6$), 是一种含有多种同分异构体的化合物, 只有 α -六六六 (53% ~ 70%)、 β -六六六 (3% ~ 14%)、 γ -六六六 (11% ~ 18%) 和 δ -六六六 (6% ~ 10%) 可稳定存在于环境介质中^[1, 2]。六六六具有杀虫效果好、价格低廉等特点, 曾是农业上广泛使用的有机氯杀虫剂。但由于具有化学稳定性、环境持久性、生物蓄积性和远距离迁移的潜力, 同时具有致癌、致畸和致突变的“三致”效应, 六六六被列为首批禁止使用的持久性有机污染物之一^[3]。我国在农业上禁用六六六已经 20 多年, 但在农田土壤^[4, 5] 和农产品中^[6] 仍有较高的检出率, 甚至在人体母乳中^[7, 8] 也有一定的检出,

对生态安全和人体健康的影响已引起重视。

进入土壤中的化学物质其可提取性和生物有效性随着时间延长而逐渐降低的现象为老化作用^[9], 原因可能是化学物质与土壤组分形成了结合态残留, 减少了化学可提取性, 降低了生物可利用性^[10~12]。但这些化学物质并未从土壤中消失, 在一

收稿日期: 2007-07-08; 修订日期: 2007-12-06

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2002CB410805); 江苏省自然科学基金重点项目(BK2005220); 安徽高校省级自然科学研究项目(2006KJ175B)

作者简介: 郜红建(1974~), 男, 博士, 副教授, 主要研究方向为土壤环境化学与污染生态, E-mail: hjgao@ahau.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: jiangxin@issas.ac.cn

定条件下可重新释放到土壤环境中,表现一定的生物有效性^[13~15].然而目前对化学物质在土壤中的老化行为及其对土壤生态安全的影响机制还缺乏深入系统的研究.

本试验模拟研究了六六六在土壤中的老化特征、化学可提取性及其在蚯蚓体内的富集规律,以期在土壤持久性有机污染物的老化行为及其对生态安全评价提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 土壤样品

土壤样品采自常熟市谢桥镇实验地(31°42'N, 120°43'E),属于潴育型水稻土亚类,黄泥土土属,发育于黄土状的湖积母质,长期稻麦轮作.土壤理化性质为:颗粒组成砂粒(> 0.02 mm)21.9%;粉粒(0.02 ~ 0.002 mm)41.1%;粘粒(< 0.002 mm)31.0%. pH 6.39(水土比 1 : 2.5);有机质 21.7 g·kg⁻¹;CEC 16.4 cmol·kg⁻¹.

1.2 六六六的老化实验与样品提取

风干土壤研磨过 1 mm 网筛,高温蒸汽灭菌 2 次以消除土壤中的微生物.把 α-六六六、β-六六六、γ-六六六和 δ-六六六按照 200.0 ng·g⁻¹ 的单一剂量浓度与灭菌土壤混匀,制成污染土壤,在室温下放置 48 h,使土壤中的有机溶剂完全挥发.将部分污染土壤转移到 50 mL 灭菌离心管中,加入无菌水,使土壤含水量达到田间最大持水量的 80%,混匀后用无菌的聚四氟乙烯带封口.离心管在无菌黑暗的环境(22 ± 1)℃中培养.同时取少量土壤用灭菌蒸馏水于超净工作台中配制成土水比为 1:10 的土壤悬液,充分混匀后,取 1.0 mL 土壤悬液,接种在琼脂糖培养基上,在 28℃黑暗中培养,以检测培养土壤中的灭菌效果.

六六六在土壤中老化到 1、7、15、30、60、90、150 和 180 d 后,从处理土壤样品中分别称取 1.0 g 土样于 50 mL 离心管中,加入 20.0 mL 正己烷/丙酮(4:1, 体积比)作为提取剂.超声波提取 2 h,每 15 min 摇动 1 次,使土壤与有机溶剂充分接触.为防止水温过高,每 h 换水 1 次.提取结束后,离心 15 min (3 000 r/min),把液相移入 50 mL 梨形瓶中,并用 10.0 mL 正己烷漂洗离心管 2 次,合并提取液,减压浓缩至约 1.0 mL.

1.3 蚯蚓的富集实验与样品提取

取老化一定时间六六六污染的土壤 25.0 g 装在 50 mL 的小烧杯中,挑选大小、年龄相近、单一质

量约为 0.20 g 的赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)10 条,加入到铝铂封口的烧杯中,保持土壤 80% 田间最大持水量,室温下培养 15 d.培养结束后,取出蚯蚓,用无菌水冲洗以除去表面附着物.将蚯蚓放入垫有湿润滤纸的培养皿中 48 h,使蚯蚓排出体内的代谢物,称重后放在 - 20℃下保存.称取一定量的蚯蚓放入研钵中,同时加入等量石英砂和 10.0 g 烘干的无水硫酸钠,充分混合和研磨.后把磨碎的样品一起转移到 50 mL 离心管中,加入 20.0 mL 正己烷/丙酮(4:1, 体积比)作为提取剂,按照和土壤样品同样的方法进行提取、浓缩、净化和测定.

1.4 样品的净化与测定

土壤和蚯蚓样品用硅胶为净化材料,10.0 mL 石油醚和二氯甲烷(9:1, 体积比)为洗脱溶剂,于 6.0 mL 的 SPE 柱中进行.洗脱液在旋转蒸发仪上浓缩后,转移到 1.0 mL 容量瓶中定容,待测.土壤和蚯蚓体内的六六六含量采用 GC-ECD 法测定. HP-5 色谱柱(30 m × 0.32 mm × 0.25 μm),进样口温度: 220℃;检测器温度: 280℃;程序升温: 初始温度为 60℃,保持 1 min;以 20℃/min 升到 140℃,保持 5 min;然后以 12℃/min 升到 280℃,保持 4 min;不分流进样;载气为高纯氮气,流速为 1.5 mL/min;柱前压为 50 kPa,进样量为 1.0 μL,外标法定量计算.

2 结果与分析

2.1 六六六在土壤中的老化规律

α-六六六、β-六六六、γ-六六六和 δ-六六六在土壤中的可提取态含量随着培养时间的延长而逐渐降低,其速率呈现先快后慢的规律(图 1).在 0 ~ 60 d,这 4 种物质的老化速率较快,而后逐渐减慢.在 60 d 时,α-六六六、β-六六六、γ-六六六和 δ-六六六在土壤中的老化减少量分别是其添加量的 57.2%、50%、52.2%和 43.2%.到 180 d 时,这 4 种物质的老化减少量分别是其添加量的 63.2%、57.2%、72.1%和 51.2%. α-六六六、β-六六六、γ-六六六和 δ-六六六在 60 d 内的老化减少量分别占其总老化减少量的 90.5%、87.4%、72.4%和 84.4%.这与 Ncibi 等^[16]和 Puglisi 等^[17]的结果一致,即多环芳烃类有机污染物在土壤中的老化过程使其可提取态含量在初始接触阶段下降速率较快,而后逐渐减缓.

δ-六六六在土壤中的老化程度最低,表现其在土壤中的可提取态含量最高.而 γ-六六六在整个培养时间内的老化程度最高,到 180 d 时,其在土壤中的可提取态含量只占其添加量的 27.9%.这可能因

为在相同的环境中 γ -六六六在土壤中降解速率较快,而 δ -六六六在土壤中较难降解的缘故^[18].

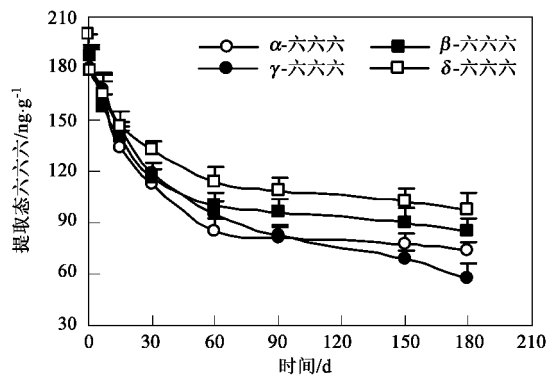


图1 六六六在土壤中可提取态含量的变化
Fig.1 Change of extractable HCHs in soil

2.2 六六六在蚯蚓体内的富集特征

随着六六六在土壤中残留时间的延长,可提取态含量减少,在蚯蚓体内的生物富集量也逐渐降低(图2).在0~30 d,六六六在蚯蚓体内的生物富集量减少的速率较快,在随后的150 d培养时间内,其生物富集量呈现缓慢降低的趋势. α -六六六、 β -六六六、 γ -六六六和 δ -六六六在蚯蚓体内的生物富集量分别在490.3~897.9、489.6~900.8、348.7~618.9和436.5~810.7 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间.老化30 d和180 d后, α -六六六、 β -六六六、 γ -六六六和 δ -六六六在蚯蚓体内的生物富集量分别是其老化1 d时生物富集量的57.0%、54.3%、58.3%、54.8%和54.6%、50.3%、56.3%、53.8%.在30~180 d,这4种物质在蚯蚓体内的生物富集量分别减少2.5%、4.0%、1.0%和2.0%,即六六六在蚯蚓体内生物富集量的减少主要发生在0~30 d内.六六六在蚯蚓体内的富集量呈现 α -六六六 $>$ β -六六六 $>$ δ -六六六 $>$ γ -六六六的规律.

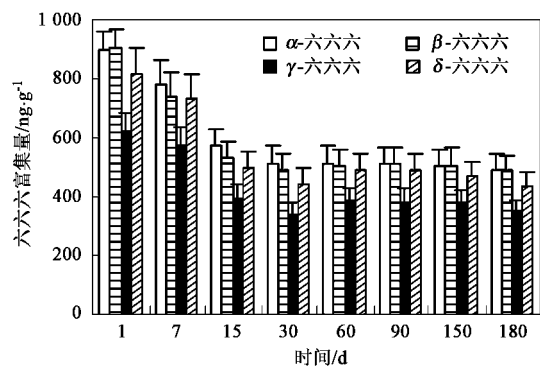


图2 六六六在蚯蚓体内的富集规律
Fig.2 Accumulation of HCHs in earthworm

2.3 六六六在蚯蚓体内的富集能力

六六六在蚯蚓体内的生物富集能力见图3.随着六六六在土壤中残留时间的延长,生物有效性降低,生物富集能力下降,表现为富集系数减小. α -六六六、 β -六六六、 γ -六六六和 δ -六六六在蚯蚓体内的生物富集系数分别在4.21~6.67、3.97~5.72、3.70~7.82和2.51~3.57之间.在开始的15 d,生物富集系数表现为 γ -六六六 $>$ α -六六六 $>$ β -六六六 $>$ δ -六六六;而后呈 α -六六六 $>$ β -六六六 $>$ γ -六六六 $>$ δ -六六六的规律.

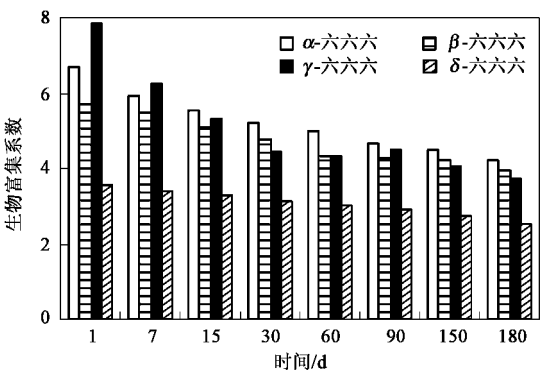


图3 六六六在蚯蚓体内的富集能力
Fig.3 Accumulative ability of HCHs in earthworm

蚯蚓可以通过皮肤的扩散渗透和吞食作用2种途径从土壤中吸收污染物^[19,20].平衡扩散作用是污染物通过皮肤进入蚯蚓体内的主要的途径^[21].扩散作用是污染物在土壤固相、土壤液相以及蚯蚓体表之间进行平衡分配的结果.平衡后污染物在蚯蚓体内含量取决于污染物的理化性质、土壤的特性以及污染物在土壤中可提取态含量^[22,23].蚯蚓以富含有机质的土壤为食物,可通过胃肠的消化作用吸收污染物.当食物经过蚯蚓胃肠时,土壤中的污染物在蚯蚓胃肠黏液的作用下经历复杂的物理、化学和生物学的变化,使土壤中结合态污染物能够与消化道的内壁接触,从而完成对物质的吸收作用^[24,25].六六六在土壤中的老化行为使其可提取态含量下降,通过皮肤扩散作用进入蚯蚓体内的六六六数量减少,生物有效性下降,在蚯蚓体内的生物富集量和生物富集系数均降低,但六六六仍可通过吞食作用而在蚯蚓体内富集,对土壤生态安全的影响依然存在.

3 结论

(1) 六六六在土壤中可提取态含量随着时间的延长逐渐降低,并呈现开始老化速率较快,而后老化

速率减慢的趋势,其在蚯蚓体内的生物富集量和生物富集能力也表现出相似的规律.

(2) 六六六土壤中的老化作用主要发生在与土壤初始接触的 60 d 内,六六六的老化减少量分别是其初始添加量的 43.2% ~ 57.2% 之间,占其在土壤中老化减少总量的 73.3% ~ 90.5% .

(3) 老化作用使六六六在土壤中可提取态含量降低,在蚯蚓体内可有一定的生物富集,仍会对土壤生态安全造成潜在威胁.

参考文献:

[1] Li Y F, Cai D J, Singh A. Technical hexachlorocyclohexane use trends in China and their impact on the environment[J]. Arch Environ Contam Toxicol, 1998, **35**: 688-697.

[2] Pereira R C, Camps-Arbestain M, Garrido B R, *et al.* Behaviour of α -, β -, γ - and δ -hexachlorocyclohexane in the soil-plant system of a contaminated site[J]. Environ Pollut, 2006, **144**: 210-217.

[3] Jones K C, Voogt P D. Persistent organic pollutants (POPs): state of the science[J]. Environ Pollut, 1999, **100**: 209-221.

[4] Wang F, Jiang X, Bian Y R, *et al.* Organochlorine pesticides in soils under different land usage in the Taihu Lake region, China[J]. J Environ Sci, 2007, **19**(5): 584-590.

[5] Gao H J, Jiang X, Wang F, *et al.* Residual level of chlorinated POPs and estimation of their new input in agricultural soils of Taihu Lake Region[J]. Pedosphere, 2005, **15**(3): 301-309.

[6] Gao H J, Jiang X, Wang F, *et al.* Residual Levels and Bioaccumulation of Chlorinated Persistent Organic Pollutants (POPs) in Vegetables from Suburb of Nanjing, China[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2005, **74**(4): 673-680.

[7] 于慧芳, 赵旭东, 张晓鸣, 等. 1982 至 2002 年北京地区人乳中有机氯农药水平监测[J]. 中华预防医学杂志, 2005, **39** (1): 22-25.

[8] Sun S J, Zhao J H, Koga M, *et al.* Persistent organic pollutants in human milk in women from urban and rural areas in northern China [J]. Environ Res, 2005, **99**: 285-293.

[9] Alexander M. Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollution[J]. Environ Sci Technol, 2000, **34**(20): 4259-4265.

[10] Tang X Y, Zhu Y G, Cui Y S, *et al.* The effect of ageing on the bioaccessibility and fractionation of cadmium in some typical soils of China[J]. Environ Intern, 2006, **32**: 682-689.

[11] Dictor M C, Berne N, Mathieu O, *et al.* Influence of ageing of polluted soils on bioavailability of phenanthrene[J]. Oil Gas Sci

Technol, 2003, **58**(4): 481-488.

[12] Hatzinger P B, Alexander M. Effect of aging of chemicals in soil on their biodegradability and extractability[J]. Environ Sci Technol, 1995, **29**(2): 537-545.

[13] Gevao B, Mordaunt C, Semple K, *et al.* Bioavailability of nonextractable (bound) pesticide residues to earthworm[J]. Environ Sci Technol, 2001, **35**: 501-507.

[14] Lanno R, Wells J, Conder J, *et al.* The bioavailability of chemicals in soil for earthworms[J]. Ecotoxicol Environ Safety, 2004, **57**: 39-47.

[15] Tang J X, Liste H H, Alexander M. Chemical assays of availability to earthworms of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil [J]. Chemosphere, 2002, **48**: 35-42.

[16] Neibi M C, Mahjoub B, Gourdon R. Effects of aging on the extractability of naphthalene and phenanthrene from Mediterranean soils[J]. J Hazard Mater, 2007, **146**: 378-384.

[17] Puglisi E, Cappa F, Fragoulis G, *et al.* Bioavailability and degradation of phenanthrene in compost amended soils [J]. Chemosphere, 2007, **67**: 548-556.

[18] Johri A K, Dua M, Tuteja D, *et al.* Degradation of α -, β -, γ - and δ -hexachlorocyclohexane by *Sphingomonas paucimobilis* [J]. Biotechnol Lett, 1998, **20**(90): 885-887.

[19] 邵红建, 蒋新, 魏俊岭, 等. 蚯蚓对污染物的生物富集与环境指示作用[J]. 中国农学通报, 2006, **22**(10): 360-363.

[20] Vijver M G, Vink J M P, Miermans C J H, *et al.* Oral sealing using glue: a new method to distinguish between intestinal and dermal uptake of metal in earthworm[J]. Soil Bio Biochem, 2003, **35**: 125-132.

[21] Conell D W, Markwell R D. Bioaccumulation in the soil to earthworm [J]. Chemosphere, 1990, **20**: 91-100.

[22] Krauss M, Wilcke W, Zech W. Availability of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) to earthworm in urban soils[J]. Environ Sci Technol, 2000, **34**: 4335-4340.

[23] Krauss M, Wilke W. Biomimetic extraction of PAHs and PCBs from soil with octadecyl-modified silica disks to predict their availability to earthworms[J]. Environ Sci Technol, 2001, **35**: 3931-3935.

[24] Barois I, Villemin G, Lavelle P, *et al.* Transformation of the soil structure through *Pontoscolex corethrurus* (Oligochaeta) intestinal tract[J]. Geodema, 1993, **56**: 57-66.

[25] Jager T, Fleuren R H L J, Hogendoorn E A, *et al.* Elucidating the routes of exposure for organic chemicals in the earthworm, *Eisenia Andrei* (oligochaeta) [J]. Environ Sci Technol, 2003, **37**: 3399-3404.