DDTs 在土壤中的老化规律及生物有效性*

郜红建[1,2]　蒋　新[2†]　王　芳[2]　余贵芬[2]　卞永荣[2]
(1 安徽农业大学资源与环境学院,合肥　230036)
(2 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所),南京　210008)

摘　要　用室内模拟培养的方法研究了 DDTs 在土壤中的老化行为及其在蚯蚓体内的生物富集规律。结果表明,DDTs 在土壤中存在老化现象。此类物质在土壤中的可提取态含量随着老化时间延长逐渐降低,并呈现初始老化速率较快,而后老化速率减慢的趋势。在开始的 0～30 d,其老化的速率较快,o ,p′DDT、p ,p′DDT、o ,p′DDE、p ,p′DDE 和 p ,p′DDD 在土壤中的老化减少量分别是其添加量的 53.5 %、52.1 %、31.4 %、36.0 %和 38.3 %。DDTs 在蚯蚓体内的生物富集量和生物富集系数也表现出随时间而逐渐降低的趋势,并呈如下规律:p ,p′DDE > p ,p′DDD > o ,p′DDE > o ,p′DDT > p ,p′DDT。老化虽然可使 DDTs 的可提取态含量降低,但仍可以在蚯蚓体内有一定的生物富集,潜在的生态风险依然存在。

关键词　DDTs;老化规律;生物有效性;蚯蚓富集
中图分类号　X53　　**文献标识码**　A

老化是指进入土壤中的有机化学物质和土壤接触时间延长,其可提取性和生物有效性降低的现象[1]。老化可能是化学物质与土壤组分形成化学键或被土壤有机质或矿物晶格物理捕获的结果[2]。有关持久性有机污染物在土壤中的环境行为和去向以及生物有效性已进行了一些研究[1～3]。已有的研究表明:农药残留物与土壤的结合可使残留物暂时避免参与分解或矿化,但仍可因微生物、土壤动物的活动而释放出来,被作物吸收,形成作物体内的累积性残留而造成迟发性危害,如对后茬作物生长的危害以及可能引起农产品污染等[4]。土壤中老化残留态物质的环境行为受到污染物种类和所结合土壤组分及其他环境因素的影响,应该对其环境归趋及生态效应进行全面、客观的评价。

我国曾是 DDTs 的生产和使用大国,虽然在农业上已经禁止生产和施用 DDT 类农药,由于在 20 世纪 60～70 年代这类农药的施用量大,施用范围广,同时进入土壤中的 DDTs 部分形成的结合残留态,延缓了其在土壤中的消解,使得 DDTs 仍然可以在土壤和农产品中有较高的检出率[5,6]。由于 DDTs 具有环境持久性、半挥发性、生物富集性和生态毒性,同时被认为是环境内分泌干扰物,具有较强的生殖毒性,对人体健康的危害已越来越引起广泛的重视[7]。

本文系统研究了 DDTs 在土壤中的老化行为,其老化后在蚯蚓体内的生物富集规律和可能的生态环境效应,以期为有机污染物在土壤中的老化残留及生态风险评价提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　实验土样采集与制备

土壤采自江苏省常熟市谢桥镇实验地(N31°42′,E120°43′)的黄泥土,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,长期水旱(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);OM 21.7 g kg^{-1};CEC16.4 cmol kg^{-1}。

风干的土壤去除植物残枝和石块等杂物,研磨过 1 mm 孔径的网筛。取实验所需土样,装入袋中放在高温蒸汽下灭菌 2 次以消除土壤中的微生物,

* 国家杰出青年基金项目(40325001)、国家重点基础研究发展规划(973)项目(2002CB410805)、安徽省农产品安全重点实验室开放基金(las200505)和安徽高校省级自然科学研究项目(2006KJ175B)资助
† 通讯作者
作者简介:郜红建(1974～),男,博士,讲师,主要从事土壤环境化学与农产品质量方面的研究。E-mail: hjgao@ahau.edu.cn
收稿日期:2006-02-21;收到修改稿日期:2006-05-26

在超净工作台上摊开风干,再次磨碎过筛。把 o,p′-DDT、p,p′-DDT、o,p′-DDE、p,p′-DDE 和 p,p′-DDD 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。土壤转移到 50 ml 灭菌离心管中,加入高压灭菌纯净水,使土壤含水量达到田间最大持水量的 80 %,充分混匀后,用无菌的聚四氟乙烯生料带包裹磨口玻璃塞后,塞紧离心管口。离心管在 22 ±1 ℃温度下,在无菌黑暗的环境中培养到一定的时间取样分析。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。

1.2 DDTs 的老化实验与样品提取

DDTs 在土壤中老化到 1,7,15,30,60,90 和 180 d 后,从处理土壤样品中分别称取 1.0 g 过 2 mm 筛的风干土样于 50 ml 离心管中,加入 20.0 ml 正己烷/丙酮(v/v,4∶1)作为提取剂。超声波提取 2 h,每 15 min 摇动一次,使土壤与有机溶剂充分接触,为防止水温过高,每 1 h 换水 1 次。提取结束后,在高速离心机中离心 15 min(3 000 r min^{-1}),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,并和提取液合并,用减压旋转蒸发仪浓缩至约 1.0 ml。

1.3 蚯蚓的富集实验与样品提取

取老化一定时间 DDTs 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,分别加入到不同烧杯中。用铝铂封口,并在铝铂上打孔数个,以保持土壤中的有氧环境,调节含水量在 80 %田间持水量,室温下培养 15 d。培养结束后,将蚯蚓从土壤中取出,用无菌水冲洗除去蚯蚓表面的土壤和附着物,将蚯蚓放入底部垫有湿润滤纸的培养皿中 48 h,使蚯蚓排出体内的代谢物,并称量蚯蚓的重量,后将蚯蚓放在 - 20 ℃下保存备测。

提取时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(v/v,4∶1)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

6.0 ml 的固相萃取 SPE 柱依次加入 1.0 g 无水硫酸钠,1.0 g 的 SPE 柱填料(硅胶)和 1.0 g 的无水硫酸钠。先用 8.0 ml 石油醚淋洗 SPE 柱,后将 1.0 ml 的浓缩提取液转入 SPE 柱,最后用 10.0 ml 石油醚和二氯甲烷(v/v,9∶1)洗脱目标物。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、备测。

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^{-1} 升到 140 ℃,保持 5 min;然后以 12 ℃ min^{-1}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^{-1};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 DDTs 在土壤中的老化规律

DDTs 在土壤中的老化规律见图 1。DDTs 在土壤中的可提取态的含量随着时间的延长是逐渐降低的,并呈现开始老化速率较快,而后老化速率减慢的趋势。而且在开始的 0～30 d,其老化的速率较快,o,p′-DDT、p,p′-DDT、o,p′-DDE、p,p′-DDE 和 p,p′-DDD 在土壤中的老化减少量分别是其添加量的 53.5 %、52.12 %、31.4 %、36.0 %和 38.3 %。随着时间的延长,这 5 种物质在土壤中的老化速率逐渐减缓。o,p′-DDT、p,p′-DDT、o,p′-DDE、p,p′-DDE 和 p,p′-DDD 在 180 d 的老化减少量比 30 d 分别下降了 13.3 %、7.7 %、20.1 %、17.0 %和 6.7 %。即此 5 种 DDT 类物质在 30 d 内的老化量是其总老化量的 88.0 %、87.1 %、60.97 %、67.9 %和 85.1 %。

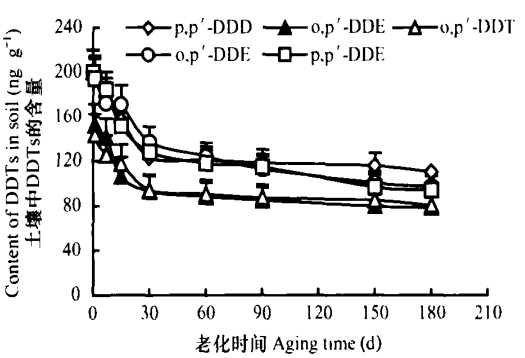

图 1 DDTs 在土壤中的老化规律

Fig. 1 Aging of DDTs in soil

在土壤中,DDT 可降解为 DDE 和 DDD。已有的实验结果表明:DDE 和 DDD 的生物毒性比其母体化合物 DDT 的毒性更高,而且很容易在生物体内富

集。而从图中可知,母体化合物 o,p′-DDT 和 p,p′-DDT 在土壤中的老化速度要高于其代谢产物 o,p′-DDE、p,p′-DDE 和 p,p′-DDD,也即代谢产物在土壤中的残留量要高于其母体化合物。在 30 d 和 180 d,o,p′-DDE 的残留量分别比 o,p′-DDT 高 22.1 %和 9.3 %,而 p,p′-DDE 和 p,p′-DDD 的残留量分别比 p,p′-DDT 高16.8 %、14.6 %和 6.8 %、14.8 %。虽然土壤中母体化合物 DDT 的老化速度很快,但是由于其代谢产物 DDE 和 DDD 在土壤中的残留量较高、残留时间和生物毒性都高于其母体化合物,所以会对生态环境和食物安全产生更加严重的影响。

2.2　老化 DDTs 在蚯蚓体内生物富集规律

生物富集又称生物浓缩(bioconcentration),是生物有机体或处于同一营养级上的许多生物种群,从周围环境中蓄积某种元素或难分解的化合物,使生物体内该物质的浓度超过环境中该物质浓度的现象[8,9],在陆生生态系统又称为生物蓄积[10]。而从生态学角度来看,蚯蚓位于陆地生态食物链的底部,以富含有机质的土壤为食物,对土壤中的有机污染物、杀虫剂和重金属都具有富集作用[11～13]。

不同时间老化 DDTs 在蚯蚓体内的生物富集规律见图 2。DDTs 在蚯蚓体内的生物富集量也表现出随时间延长而逐渐降低的趋势。在 0～30 d,这些物质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,这与 DDTs 在土壤中的老化规律一致。

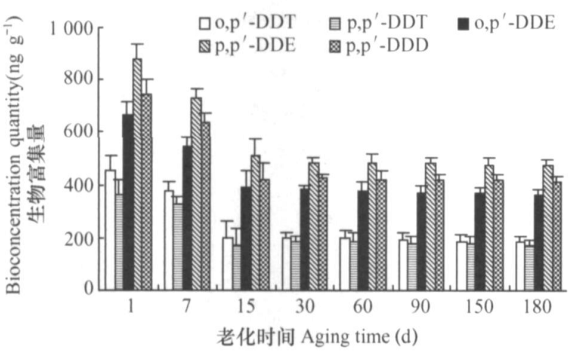

图 2　DDTs 在蚯蚓体内的生物富集规律

Fig. 2　Rule of bioconcentration of DDTs in earthworm

o,p′-DDT、p,p′-DDT、o,p′-DDE、p,p′-DDE 和 p,p′-DDD 在生物体内的生物富集量在不同老化时间内呈如下规律,即:p,p′-DDE > p,p′-DDD > o,p′-DDE > o,p′-DDT > p,p′-DDT。对于 o,p′-DDT 和 p,p′-DDT 来说,其在蚯蚓体内的生物富集量低于其代谢产物 o,p′-DDE、p,p′-DDE 和 p,p′-DDD,即 DDTs 的代谢产物比其母体化合物在蚯蚓体内生物富集量更大,而且代谢产物老化残留量高于其母体化合物,从而产生更加严重的生态毒理效应。

2.3　DDTs 在蚯蚓体内生物富集能力

生物富集系数(bioconcentration factor, BCF)是衡量化合物在水生生物体(鱼体)内富集趋势的参数,它被定义为达到平衡时化合物在鱼体中与在环境中浓度的比值(C_f/C_w)[8]。在陆生生态系统中,化学物质在生物体内的生物富集能力也可以用生物富集系数来表示[11]。DDTs 在生物体内的富集能力主要取决于污染物固有的理化性质和生物本身的特性,特别是生物体内存在的能与 DDTs 结合的活性物质的活性强弱和数量多少[14]。在生态系统内,DDTs 在沿食物链流动的过程中,含量逐级增加而被富集,由于它在环境系统中的持久性和难降解性,使处于食物链中高级位置的生物尤其是人类有着更大的生态风险[15]。

不同时间老化 DDTs 在蚯蚓体内的生物富集能力如图 3 所示。随着 DDTs 在土壤中保留时间的延长,各组分在土壤中的生物有效性降低,生物富集系数下降。o,p′-DDT、p,p′-DDT、o,p′-DDE、p,p′-DDE 和 p,p′-DDD 的 BCF 值分别在 1.85～2.98、1.47～2.57、2.27～3.74、3.36～5.04 和 2.65～3.73 之间,并呈如下规律:p,p′-DDE > p,p′-DDD > o,p′-DDE > o,p′-DDT > p,p′-DDT。对于 o,p′-DDT 和 p,p′-DDT 来说,其在蚯蚓体内的生物富集系数低于其代谢产物 o,p′-DDE、p,p′-DDE 和 p,p′-DDD,即 DDTs 的代谢产物比其母体化合物更容易在蚯蚓体内富集。

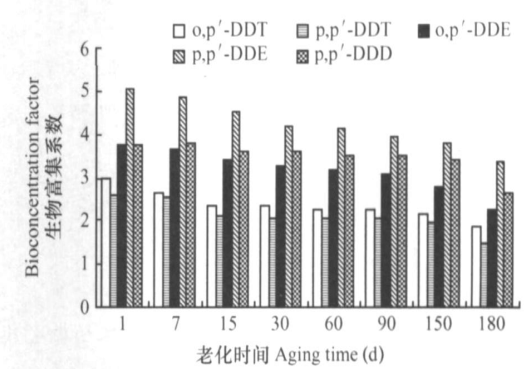

图 3　DDTs 在蚯蚓体内的生物富集能力

Fig. 3　DDTs bioconcentration capacity of earthworm

2.4　老化与生物富集之间的关系 —以 DDT 为例

由图 4 和图 5 可以看出,p,p′-DDT 和 o,p′-DDT 在土壤中因残留时间的延长而产生的老化现象,使其可提取量降低,这两种物质在蚯蚓体内的生物富

集量和生物富集系数也逐渐降低。其降低的程度呈如下的趋势:可提取量的降低 > 生物富集量的降低 > 生物富集系数的降低。对于 p ,p ′DDT 和 o ,p ′DDT,在 180 d 的老化实验中,其可提取量分别下降 59.8 %和 60.8 %,其生物富集系数只下降了 29.8 % 和 37.9 %,远远小于其可提取量的下降值。这也说明,物质在土壤中的老化现象虽然使可提取量远远低于其初始添加值,但其生物富集系数,即生物富集能力却下降很少,在蚯蚓体内仍然有一定的生物富集能力。

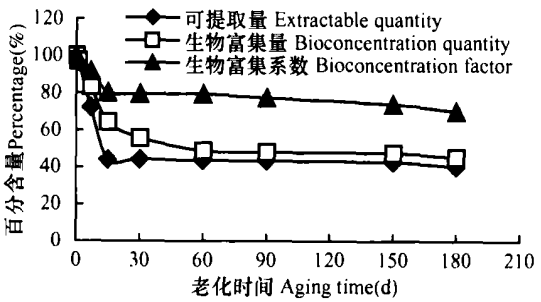

图 4 p ,p ′DDT 在土壤中的老化与生物富集的关系

Fig. 4 Relationship between p ,p ′DDT aging in soil and bioconcentration in earthworm

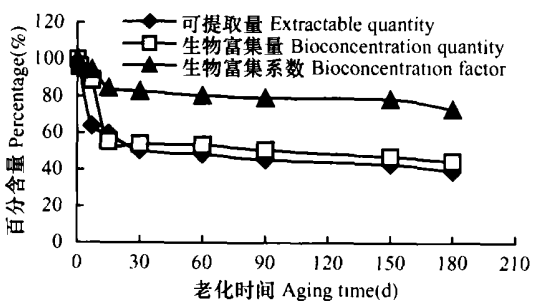

图 5 o ,p ′DDT 在土壤中的老化与生物富集的关系

Fig. 5 Relationship between o ,p ′DDT aging in soil and bioconcentration in earthworm

3 结 论

DDT 类物质在土壤的老化现象表现出初始老化速率较快,而后老化速率减慢的二阶段特征。DDTs 在蚯蚓体内的生物富集量和生物富集系数也表现出随老化时间延长而逐渐降低的规律,其降低的程度呈如下的趋势:可提取量的降低 > 生物富集量的降低 > 生物富集系数的降低。老化虽然可使 DDTs 的可提取态含量降低,但仍可以在蚯蚓体内有一定的生物富集,生态风险依然存在。

参 考 文 献

[1] Gevao B, Semple K T, Jones K C. Bound pesticide residues in soils: A review. Environmental Pollution, 2000, 108: 3～14

[2] Alexander M. Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollution. Envrionmental Science and Technology, 2000, 34(20): 4 259～4 265

[3] Reid B J, Joners K C, Semple K T. Bioavailability of persistent organic pollutions in soils and sediments —A perspective on mechanisms, consequences and assessment. Environmental Pollution, 2000, 108: 103～112

[4] 汪立刚, 蒋新. 土壤结合态农药残留生物效应研究进展. 农业环境科学学报, 2003, 22(3): 376～379. Wang L G, Jiang X. Advance of research on bioavailability of bound pesticide residues in soil (In Chinese). Journal of Agro-Environment Science, 2003, 22(3): 376～379

[5] 安琼, 董元华, 王辉, 等. 苏南农田土壤有机氯农药残留规律. 土壤学报, 2004, 41(3): 414～419. An Q, Dong Y H, Wang H, *et al*. Organochlorine pesticide residues in cultivated soils, in the south of Jiangsu, China (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2004, 41(3): 414～419

[6] 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. Pedosphere, 2005, 15(3): 301～309

[7] Morrison D E, Robertson B K, Alexander M. Bioavailability to earthworms of aged DDT, DDE, DDD and dieldrin in soil. Environmental Science and Technology, 2000, 34: 709～713

[8] Barton M G. Bioconcentration. Environmental Science and Technology, 1990, 24(11): 1 612～1 618

[9] 黄庆国, 王连生. 有机化合物在水体中生物富集的研究. 环境监测管理与技术, 1992, 4(3): 13～16. Huang Q G, Wang L S. Research on the bioconcentration of organic compounds in water (In Chinese). Management and Technique of Environmental Monitoring, 1992, 4(3): 13～16

[10] 李建政. 环境毒理学. 北京:化学工业出版社, 2006. 42. Li J Z. Environmental Toxicology (In Chinese). Beijing: Chemical Industry Press, 2006. 42

[11] Connell D W, Markwell R D. Bioaccumulation in the soil to earthworm. Chemosphere, 1990, 20: 91～100

[12] Tuomas L, Marjo, Ari V, *et al*. Toxicity of copper and zinc assessed with three different earthworm tests. Applied Soil Ecology, 2005, 30(2): 133～146

[13] Lanno R, Wells J, Conder J, *et al*. The bioavailability of chemicals in soil for earthworms. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2004, 57(1): 39～47

[14] Morrison D E, Robertson B K, Alexander M. Bioavailability to earthworms of aged DDT, DDE, DDD and dieldrin in soil. Environmental Science and Technology, 2000, 34: 709～713

[15] Wang J S, Simpson K L. Accumulation and denudation of DDTs in the food chain from Artemia to Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 1996, 56: 888～895

AGING AND BIOAVAILABILITY OF DDTs IN SOIL

Gao Hongjian[1,2]　Jiang Xin[2†]　Wang Fang[2]　Yu Guifen[2]　Bian Yongrong[2]

(1 School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

(2 State Key Lab of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract Aging and bioavailability of DDTs in paddy soil were investigated in the lab under simulated conditions. Results indicate that aging phenomena of DDTs existed in soil. Extractable DDTs decreased as the time elapsed. Its aging rate was rather high at the initial stage, and then slowed down in the rest of the time. During the first 30 days, o,p′-DDT, p,p′-DDT, o,p′-DDE, p,p′-DDE and p,p′-DDD dropped by 53.5 %, 52.1 %, 31.4 %, 36.0 % and 38.3 %, respectively due to high aging rate. DDTs, bioaccumulated in earthworm displayed the same rule as aging, that is, the contents of DDTs in earthworm decreased as the incubation time extended and so did. Bioconcentration factors (BCF) of DDTs in earthworm show a decreasing order of $BCF_{p,p'\text{-}DDE} > BCF_{p,p'\text{-}DDD} > BCF_{o,p'\text{-}DDE} > BCF_{o,p'\text{-}DDT} > BCF_{p,p'\text{-}DDT}$. Though the extractable DDTs decreased with aging, they still accumulated in earthworms through bioconcentration, and biomagnified through the food chain, thus posing potential environmental risk.

Key words DDTs; Aging; Bioavailability; Earthworm bioaccumulation