

全氟辛烷磺酸盐 (PFOS) 及其替代品对两栖类蝌蚪的急性毒性

苏红巧, 任东凯, 曹闪, 秦占芬*

中国科学院生态环境研究中心环境化学和生态毒理学国家重点实验室, 北京 100085

摘要: PFOS及其4种替代品对两栖动物非洲爪蟾和黑斑蛙蝌蚪的急性毒性结果为: 用调聚法合成的织物三防整理剂对非洲爪蟾蝌蚪和黑斑蛙蝌蚪的96 h-LC₅₀分别为8和21 mg·L⁻¹, 而PFOS对两种蝌蚪的96 h-LC₅₀分别为92和81 mg·L⁻¹。此实验结果说明织物三防整理剂的急性毒性高于PFOS。用电解氟化法合成的C4、C6织物三防整理剂和50%的全氟丁基有机铵盐阳离子表面活性剂浓度在100 mg·L⁻¹时, 对两种蝌蚪都没有毒性。这说明, 从急性毒性的角度, C4、C6织物三防整理剂和表面活性剂可作为PFOS的替代品使用, 但是织物三防整理剂的急性毒性比PFOS大, 作为替代品使用应慎重考虑。另外, PFOS和织物三防整理剂对黑斑蛙蝌蚪的急性毒性与对非洲爪蟾蝌蚪的急性毒性存在差异。出于保护我国本土两栖动物的目的, 使用黑斑蛙开展毒性评价比使用非洲爪蟾更有现实意义。

关键词: PFOS; 替代品; 非洲爪蟾; 黑斑蛙; 急性毒性

文章编号: 1673-5897(2012)5-521-04 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Acute Toxicity of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) and Its Substitutes to Amphibian Tadpoles

Su Hongqiao, Ren Dongkai, Cao Shan, Qin Zhanfen*

State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100085 China

Received 2 July 2012 accepted 17 July 2012

Abstract: In this paper, the acute toxicity of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and four substitutes on *Xenopus laevis* tadpoles and *Rana nigromaculata* tadpoles were compared. 96 h-LC₅₀ for tri-fabric finishing agent synthesized using telomerization method (tri-fabric finishing agent) on *Xenopus laevis* tadpoles and *Rana nigromaculata* tadpoles were 8 and 21 mg·L⁻¹, respectively, while that for PFOS on the two tadpoles were 92 and 81 mg·L⁻¹. It is indicated that acute toxicity of tri-fabric finishing agent is significantly higher than PFOS. The other three alternatives C4 and C6 tri-proof finishing agents (C4 and C6 emulsion) synthesized by electrolysis fluorination method, and 50% perfluorobutyl organic ammonium salt cationic surfactant (50% cationic surfactants) are not toxic to tadpoles at the concentration of 100 mg·L⁻¹. Therefore, to acute toxicity, C4, C6 emulsion and 50% cationic surfactants can be used as substitutes for PFOS, however, tri-fabric finishing agent should not be a alternative of PFOS. The toxicity of PFOS and tri-fabric finishing agent on *Rana nigromaculata* tadpoles is different from that on *Xenopus laevis* tadpoles. To protect local amphibians in China, it is of practical

收稿日期: 2012-07-02 录用日期: 2012-07-17

基金项目: "863"计划课题(2010AA065105)和环保公益专项(201109048)

作者简介: 苏红巧(1987-), 女, 硕士, 研究方向: 毒理学; E-mail: suhongqiao77@163.com;

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: qinzhafen@cees.ac.cn

significance that toxicity assessment will be carried out using *Rana nigromaculata* rather than *Xenopus laevis*.

Keywords: PFOS; substitutes; *Xenopus laevis*; *Rana nigromaculata*; acute toxicity

全氟辛烷磺酸盐(PFOS)因具有低表面自由能、疏油和疏水等特性,曾作为表面活性剂和阻燃剂等被广泛用于造纸、纺织和家装等工业生产和生活的方方面面^[1-2]。但是 PFOS 同时具有在环境中的持久性、在生物体中的富集性以及动物和人体潜在的毒性等特点,因此 2009 年被列入《关于持久性有机污染物(POPs)的斯德哥尔摩公约》,成为受控 POPs 之一。为应对公约对 PFOS 的限制,急需开展 PFOS 替代品的研究。其中,PFOS 替代品的生物安全性是替代品研究的重要内容之一。

两栖动物在生物进化过程中占有重要地位,在生态系统中扮演重要角色。但近几十年来,两栖动物急剧减少,畸形大幅度增加^[3-4]。两栖动物被认为是反映环境污染损害的前哨动物^[5-6]。两栖动物蝌蚪在水中发育,皮肤具有高渗透性,对水体中污染物十分敏感,因此水体污染物对两栖类蝌蚪的影响值得关注。

两栖动物非洲爪蟾是成熟的实验动物,被广泛用于生物学和毒理学的研究^[7-8]。我国的农药登记管理办法要求,一些农药登记必须提供关于两栖类蝌蚪的急性毒性数据,所用实验材料也为非洲爪蟾蝌蚪^[9]。然而,考虑到两栖动物种属的差异,出于保护我国本土两栖动物的目的,使用本土两栖动物可能比使用非洲爪蟾开展毒性评价工作更有意义。

因此,本研究以非洲爪蟾蝌蚪和我国本土两栖动物代表种黑斑蛙的蝌蚪为实验材料,比较研究了 PFOS 和 4 种替代品的生物毒性,以评价替代品的生物安全性及作为 PFOS 替代品的合理性。

1 材料和方法(Materials and methods)

1.1 仪器与试剂

仪器:两栖动物诱导繁育设备,本实验室研发;500 mL 烧杯;尼龙纱网。

试剂:PFOS(纯度 98%,Matrix Scientific 公司,美国);人绒毛膜促性腺激素(HCG,烟台北方制药有限公司);注射用促黄体素释放激素 A₃(LHRH-A₃,宁波第二激素厂);NaCl 等化学试剂为国产分析纯试剂,购自北京化学试剂公司。供试药剂:50%的全氟丁基有机铵盐阳离子表面活性剂(以下简称表面活性剂)、用调聚法合成的织物三防整理剂(含固率 23.7%)、用电解氟化法合成的 C4 和 C6 织物三

防整理剂由中国某化工厂提供。

1.2 实验动物

非洲爪蟾蝌蚪:本实验室饲养的非洲爪蟾成年雌蛙和雄蛙,分养于盛有去氯自来水的玻璃缸中,水温(22 ± 2)℃,明暗光周期为 12 h : 12 h。成蛙喂食配制饲料(猪肝:玉米粉:大豆粉 60% : 30% : 10%),1 周 2 次,喂食 2 h 后重新换水。

用 0.8% 的生理盐水配制 HCG 溶液,非洲爪蟾雌性皮下注射 300 ~ 500 IU,雄性注射 200 ~ 300 IU。将雌雄蛙放于产卵容器中,置于黑暗、安静的环境中让其抱对,12 h 左右即可产卵。在水温(22 ± 2)℃、明、暗光周期为 12 h : 12 h 的条件下,胚胎发育至 47 阶段的蝌蚪^[10],用于急性毒性实验。

黑斑蛙蝌蚪:成蛙取自生态中心昌平养殖场,饲养在实验室水陆两栖的玻璃缸中。水温(22 ± 2)℃,明、暗光周期为 12 h : 12 h。成蛙每天喂食添加蛋黄和胡萝卜的面包虫。1 周换 2 次水。

成年雌雄蛙各注射 2.5 μg LHRH-A₃(以 0.8% 的生理盐水配制),放入两栖动物诱导繁育设备中,诱导抱对产卵繁殖。在水温(23 ± 2)℃、明、暗光周期为 12 h : 12 h 的条件下,胚胎发育至 26 阶段的蝌蚪^[11],用于急性毒性实验。

1.3 蝌蚪半静态暴露实验

测试物用去氯自来水配制为 10 g·L⁻¹ 储存液,实验时配成系列浓度的暴露液。

PFOS 暴露非洲爪蟾蝌蚪和黑斑蛙蝌蚪,系列浓度为 35、45、59、77、100 和 130 mg·L⁻¹。织物三防整理剂暴露黑斑蛙蝌蚪,系列浓度为 2、5、13、32 和 80 mg·L⁻¹;暴露非洲爪蟾蝌蚪,系列浓度为 10、15、22、33 和 50 mg·L⁻¹。C6、C4 织物三防整理剂和表面活性剂设限度浓度 100 mg·L⁻¹。每个处理设置两个平行。暴露实验在 500 mL 烧杯中进行,每个烧杯中盛有 300 mL 暴露液,随机投放入 10 尾蝌蚪。每隔 24 h 换液,清除死亡个体,记录死亡数。实验持续 4 d。

1.4 统计分析

每天详细记录每个烧杯蝌蚪死亡数;用概率分析(Probit analysis)计算得到 LC₅₀ 和 95% 置信区间。数据分析使用 SPSS 16.0 版本进行统计。

2 结果(Results)

溶剂对照组无蝌蚪死亡,显示实验质量控制良好。PFOS 及其 4 种替代品对非洲爪蟾蝌蚪的半致死浓度 LC_{50} 如表 1 所示,C6、C4 织物三防整理剂和表面活性剂 3 种替代品在 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的浓度下,对非洲爪蟾蝌蚪没有明显的毒性作用。PFOS 毒性明显,24、48、72 和 96 h 的 LC_{50} 分别为 129、126、100 和 $92 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。替代品织物三防整理剂表现出比 PFOS 更强的毒性,相应时间下的 LC_{50} 比 PFOS 的 LC_{50} 低一个数量级。比较 96 h PFOS 和织物三防整理剂各浓度下的致死率,可以更明显地看出,织物三防整理剂对非洲爪蟾的毒性明显高于 PFOS (图 1)。

表 1 PFOS 及其 4 种替代品对非洲爪蟾蝌蚪的半致死浓度 LC_{50} 及 95% 置信区间

Table 1 LC_{50} and 95% confidence interval (CI) of PFOS and four substitutes to *Xenopus laevis* tadpole

药品名称	浓度范围 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	LC_{50} (95% 置信区间)			
		24 h	48 h	72 h	96 h
PFOS	35 ~ 130	129 (85,196)	126 (78,202)	100 (73,150)	92 (65,130)
织物三防整理剂	10 ~ 50	21 (18,25)	17 (14,22)	9 (7,12)	8 (5,10)
C6	100	>100			
表面活性剂	100	>100			
C4	100	>100			

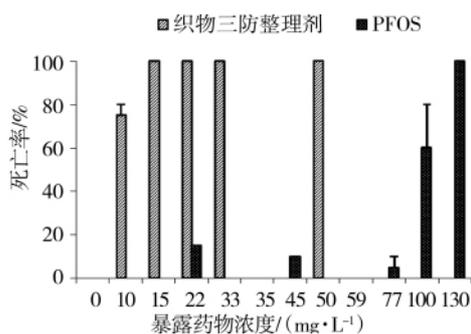


图 1 96 h PFOS 和织物三防整理剂对非洲爪蟾蝌蚪的致死率

Fig. 1 96 h lethal rate of PFOS and tri-fabric finishing agent to *Xenopus laevis* tadpole

同非洲爪蟾一样,C6、C4 织物三防整理剂和表面活性剂对黑斑蛙蝌蚪没有明显毒性(如表 2),PFOS 和织物三防整理剂对黑斑蛙蝌蚪的毒性明显。织物三防整理剂的 LC_{50} 远低于 PFOS 的 LC_{50} ,

因此毒性更强(图 2)。

表 2 PFOS 及其 4 种替代品对黑斑蛙蝌蚪的半致死浓度 LC_{50} 及置信区间

Table 2 LC_{50} and 95% confidence interval (CI) of PFOS and four substitutes to *Rana nigromaculata* tadpole

药品名称	浓度范围 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	LC_{50} (95% 置信区间)			
		24 h	48 h	72 h	96 h
PFOS	35 ~ 130	131 (120,145)	95 (87,104)	84 (77,92)	81 (75,88)
织物三防整理剂	10 ~ 50	34 (29,40)	30 (25,35)	21 (18,25)	21 (18,25)
C6	100	>100			
表面活性剂	100	>100			
C4	100	>100			

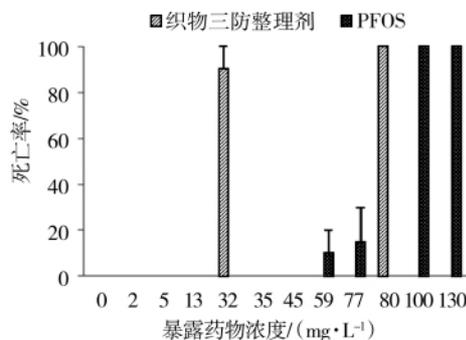


图 2 96 h PFOS 和织物三防整理剂对黑斑蛙蝌蚪的致死率

Fig. 2 96 h lethal rate of PFOS and tri-fabric finishing agent to *Rana nigromaculata* tadpole

从图 1 和图 2 可以看出,相同药物对非洲爪蟾蝌蚪和黑斑蛙蝌蚪的毒性存在差异。例如织物三防整理剂在 $15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,非洲爪蟾蝌蚪死亡率达到 100%,而在 $13 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,黑斑蛙蝌蚪则没有任何效应,即织物三防整理剂对非洲爪蟾蝌蚪的毒性大于对黑斑蛙蝌蚪的毒性。

另外,在实验中发现,对于 PFOS,暴露非洲爪蟾蝌蚪 96 h 最低观察无效应剂量为 $59 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;而黑斑蛙蝌蚪在 $35 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 暴露组 96 h 死亡率虽然为 0,但有少数蝌蚪出现面部畸形的现象。即 PFOS 对黑斑蛙蝌蚪的毒性大于对非洲爪蟾蝌蚪的毒性。

3 讨论(Discussion)

PFOS 为中等毒性污染物,具有较高的生态和健康风险。因此,希望能够开发出性能更好、毒性更低的新产品以替代 PFOS。从本研究的结果来看,织物三防整理剂对两栖类蝌蚪的毒性非但不比

PFOS低,反而比其高,显然不可作为PFOS的替代产品。而其他3种替代品C4、C6织物三防整理剂和表面活性剂在限度浓度 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 对两种蝌蚪都没有毒性,所以从急性毒性的角度考虑,这3种产品可作为PFOS的替代品使用。

另外,一般认为,不同种属的动物会因生物学特征的差异而对污染物损伤的敏感性不同。本研究结果显示,PFOS对黑斑蛙蝌蚪的毒性比对非洲爪蟾更明显,而织物三防整理剂的作用正好相反,即非洲爪蟾和黑斑蛙对污染物损伤的敏感性存在较大差异。非洲爪蟾虽然作为实验室成熟的模型动物广泛用于生物学和毒理学的研究中,但它终生在水中生活,与真正意义上的两栖动物存在一定的差别。另外,在两栖类进化树中非洲爪蟾处于较低等的位置,因此,用非洲爪蟾评价化学品毒性不能真正反映化学品对我国本土两栖动物的生态风险。为保护我国本土物种为目的的化学品毒性评价方法中,使用本土黑斑蛙比使用非洲爪蟾更有现实意义。

通讯作者简介: 秦占芬(1971—),女,环境科学博士,副研究员,主要研究方向为毒理学。

参考文献:

- [1] Paul A G, Jones K C, Sweetman A J. A first global production, emission, and environmental inventory for perfluorooctane sulfonate [J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(2): 386 - 392
- [2] Lindstrom A B, Strynar M J, Libelo E L. Polyfluorinated compounds: Past, present, and future [J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(19): 7954 - 7961
- [3] Stuart S N, Chanson J S, Cox N A, et al. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide [J]. *Science*, 2004, 306(5702): 1783 - 1786
- [4] Collins J P. Amphibian decline and extinction: What we know and what we need to learn [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2010, 92(2-3): 93 - 99
- [5] Hopkins W A. Amphibians as models for studying environmental change [J]. *ILAR Journal*, 2007, 48(3): 270 - 277
- [6] 秦晓飞, 秦占芬, 徐晓白. 前哨动物在环境污染物人体健康风险评估中的应用[J]. *生态毒理学报*, 2007, 2(4): 476 - 480
Qin X F, Qin Z F, Xu X B. Application of sentinel animals to human health risk assessment of environmental contaminants [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2007, 2(4): 476 - 480 (in Chinese)
- [7] Pearl E J, Grainger R M, Guille M, et al. Development of *Xenopus* resource centers: The national *Xenopus* resource and the European *Xenopus* resource center [J]. *Genesis*, 2012, 50(3): 155 - 163
- [8] Brown D D. A tribute to the *Xenopus laevis* oocyte and egg [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(44): 45291 - 45299
- [9] 中国农业部. 化学农药环境安全评价试验准则(2008年报批稿)[S]. 北京: 97 - 100
- [10] Nieuwkoop P D, Faber J. Normal Table of *Xenopus laevis* (Daudin) [M]. Amsterdam, Netherlands: The Hubrecht Laboratory, North - Holland Publishing, 1956
- [11] Gosner K L. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification [J]. *Herpetologica*, 1960, 16(3): 183 - 190

◆