

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20140124001

付旭锋, 李圆圆, 苏红巧, 等. 异噻唑啉酮类杀菌剂对黑斑蛙胚胎和蝌蚪的急性毒性[J]. 生态毒理学报, 2014, 9(6): 1097-1103

Fu X F, Li Y Y, Su H Q, et al. Acute toxicity of isothiazolinone biocides to *Pelophylax nigromaculatus* embryos and tadpoles [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(6): 1097-1103 (in Chinese)

## 异噻唑啉酮类杀菌剂对黑斑蛙胚胎和蝌蚪的急性毒性

付旭锋<sup>1,2</sup>, 李圆圆<sup>2</sup>, 苏红巧<sup>2</sup>, 崔清华<sup>1</sup>, 秦占芬<sup>2,\*</sup>

1. 云南大学生命科学学院, 昆明 650091

2. 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

收稿日期: 2014-01-24 录用日期: 2014-03-07

**摘要:** 异噻唑啉酮类杀菌剂 1,2-苯并异噻唑-3-酮(BIT) 和甲基异噻唑啉酮(MIT) 虽已在多种行业中广泛使用,但目前有关其毒性尤其对水体中生物毒性的数据还较少。鉴于 BIT 和 MIT 在水体中普遍存在,本文研究了这两种污染物对两栖动物黑斑蛙胚胎和蝌蚪的急性毒性。黑斑蛙胚胎和蝌蚪分别暴露系列浓度的 BIT 和 MIT,观察化学品对其生长、发育和运动的影响,计算 96 小时半数致死浓度(96 h-LC<sub>50</sub>) 和 96 小时半数致畸浓度(96 h-TC<sub>50</sub>) ,确定最小生长抑制浓度(MCIG)。结果发现,BIT 对黑斑蛙胚胎的 96 h-LC<sub>50</sub> 和 96 h-TC<sub>50</sub> 分别为 2.99 mg·L<sup>-1</sup> 和 0.60 mg·L<sup>-1</sup>,MCIG 小于 0.40 mg·L<sup>-1</sup>,对蝌蚪的 96 h-LC<sub>50</sub> 为 6.44 mg·L<sup>-1</sup>。MIT 对黑斑蛙胚胎的 96 h-LC<sub>50</sub> 和 96 h-TC<sub>50</sub> 分别为 5.30 mg·L<sup>-1</sup> 和 2.36 mg·L<sup>-1</sup>,MCIG 为 2.59 mg·L<sup>-1</sup>,对蝌蚪的 96 h-LC<sub>50</sub> 为 7.58 mg·L<sup>-1</sup>。根据《化学农药环境安全评价准则报批稿》中两栖动物蝌蚪急性毒性的分级标准,判定 BIT 和 MIT 的毒性等级为中等。该毒性数据可为异噻唑啉酮类杀菌剂的环境管理提供参考。

**关键词:** 异噻唑啉酮; 杀菌剂; 黑斑蛙; 胚胎; 蝌蚪; 急性毒性

文章编号: 1673-5897(2014)6-023-07 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## Acute Toxicity of Isothiazolinone Biocides to *Pelophylax nigromaculatus* Embryos and Tadpoles

Fu Xufeng<sup>1,2</sup>, Li Yuanyuan<sup>2</sup>, Su Hongqiao<sup>2</sup>, Cui Qinghua<sup>1</sup>, Qin Zhanfen<sup>2,\*</sup>

1. School of Life Science, Yunnan University, Kunming 650091

2. State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Ecological Toxicology, Ecological Environmental Research Center, CAS, Beijing 10085

Received 24 January 2014 accepted 7 March 2014

**Abstract:** 1,2-benzisothiazolin-3-one (BIT) and methylisothiazolinone (MIT) are isothiazolinone biocides that are widely used in various industries, but their toxicity has still been unclear. Considering their ubiquitous pollution in water, we investigated the acute toxicity of BIT and MIT to *Pelophylax nigromaculatus* embryos and tadpoles. By exposing embryos and tadpoles to different concentrations of BIT and MIT, we observed the growth and motor ability of embryos and tadpoles, and calculated 96 h-LC<sub>50</sub>, 96 h-TC<sub>50</sub>, and the minimum concentration to inhibit growth (MCIG). 96 h-LC<sub>50</sub> and 96 h-TC<sub>50</sub> of BIT to embryos were 2.99 mg·L<sup>-1</sup> and 0.60 mg·L<sup>-1</sup>, respectively, with a

基金项目 “863”计划课题(2012AA06A302) 和环保公益性行业科研专项(201109048)

作者简介: 付旭锋(1988-) 男, 硕士, 研究方向: 毒理学; E-mail: fuxufeng100@163.com

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

MCIG value less than  $0.40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . 96 h- $\text{LC}_{50}$  of BIT to tadpoles was  $6.44 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . 96 h- $\text{LC}_{50}$  and 96 h- $\text{TC}_{50}$  of MIT to embryos were  $5.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  and  $2.36 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectively, with a MCIG value of  $2.59 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . 96 h- $\text{LC}_{50}$  of MIT to tadpoles was  $7.58 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . According to Guidelines on Environmental Safety Assessment for Chemical Pesticides, BIT and MIT are medium toxic to *P. nigromaculatus* embryos and tadpoles. These results can provide a reference for environmental management of isothiazolinone biocides.

**Keywords:** isothiazolinone; biocides; *Pelophylax nigromaculatus*; embryos; tadpoles; acute toxicity

异噻唑啉酮衍生类化合物因具有抗菌能力强、药效持久、对环境安全以及抗菌谱宽广等优良性能,在工业、农业、医药等行业广泛使用。1,2-苯并异噻唑啉-3-酮(BIT)和甲基异噻唑啉酮(MIT)是目前使用最多的两种异噻唑啉酮类杀菌剂<sup>[1-3]</sup>,主要用于水性树脂涂料和乳胶制品中,在造纸、油墨和皮革制品等工业领域也有应用<sup>[1,4,5]</sup>,MIT也可作为抗菌剂直接添加到化妆品中<sup>[2,6]</sup>。BIT和MIT主要通过工业废水排放进入水体,研究显示在一些污水厂排污口和河流都有这些污染物的检出<sup>[2,7,8]</sup>。尽管BIT和MIT在水体中的半衰期在一周左右<sup>[2]</sup>,但由于持续排放,这些污染物在环境中的存在及对生物体的不良影响不容忽视。有资料显示,BIT对大鼠和小鼠的 $\text{LD}_{50}$ 分别为 $1400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $1150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ <sup>[9]</sup>,对大型蚤和虹鳟鱼的 $\text{LC}_{50}$ 分别为 $1.35 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[2]</sup>和 $1.60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[10]</sup>。Textron公司的产品数据显示,MIT对大鼠的 $\text{LD}_{50}$ 大于 $4500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。也有研究报道,MIT对卤虫无节幼体的96 h- $\text{LC}_{50}$ 为 $10.40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[11]</sup>。目前没有MIT直接暴露鱼类的毒性数据。鉴于BIT和MIT在水中的存在,其对水中生物的毒性和水生态系统的影响值得关注。

两栖动物的胚胎和蝌蚪在水中生长发育,水环境中BIT和MIT可能对其生长发育有一定的影响并产生毒性效应。黑斑蛙是我国分布最广的本土两栖类种之一,隶属两栖纲、无尾目、蛙科、蛙属<sup>[12]</sup>。本文研究BIT和MIT对黑斑蛙胚胎和蝌蚪的急性毒性,为异噻唑啉酮类杀菌剂的环境管理提供科学依据。

## 1 材料和方法(Materials and methods)

### 1.1 仪器与试剂

仪器和设备:两栖动物诱导繁育设备(本实验室研发);体式显微镜(型号XTL0745,重庆光电仪器有限公司,重庆);90 mm塑料培养皿;500 mL烧杯。

试剂:1,2-苯并异噻唑啉-3-酮(CAS NO. 2634-33-5; 98%,百灵威,中国);甲基异噻唑啉酮(CAS NO. 2682-20-4; 99%,Dr. Ehrenstorfer,德

国);人绒毛膜促性腺激素(HCG,烟台北方制药有限公司,中国);注射用促黄体素释放激素(LHRH, Sigma 美国);半胱氨酸(Cysteine,索莱宝,中国);NaCl等化学试剂为国产分析纯试剂,购自北京化学试剂公司。

### 1.2 试验生物

本实验室动物房的成年黑斑蛙(2012年4月采自安徽蚌埠某生态养殖场),饲养在水陆两栖的玻璃缸中,每天清洗。水温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ,明暗光周期为12 h:12 h。成蛙每天喂食面包虫一次。

成年雌蛙和雄蛙各注射 $25 \mu\text{g}$  LHRH(以0.6%的生理盐水配制),再分别注射300 IU(雌)和150 IU(雄)的HCG(以0.6%的生理盐水配制),然后放入两栖动物诱导繁育设备中,诱导其抱对产卵<sup>[13,14]</sup>。产卵后收集受精卵于 $10 \text{ cm} \times 20 \text{ cm}$ 整理盒,加入2%(W/V)的半胱氨酸在脱色摇床上进行两次脱膜。第一次脱膜15 min至受精卵完全分开,用除氯自来水冲洗3次后加入2%半胱氨酸第二次脱膜,约10 min至受精卵外层膜脱落后,用除氯自来水漂洗5次以上。在体视显微镜下挑选出Gosner 8期(囊胚期)的胚胎用于胚胎毒性试验<sup>[15]</sup>。待蝌蚪出膜发育到Gosner 26期(约13~15 mm),进行急性毒性试验。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 胚胎毒性试验

BIT和MIT用助溶剂DMSO配制成储备液,设置溶剂对照组,其中对照组中溶剂的浓度与最高浓度处理组中溶剂浓度相同,溶剂的体积浓度不超过0.1%。暴露时用除氯自来水稀释至相应浓度。BIT和MIT分别以 $15.16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $17.74 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 为最高浓度,以4为公比设置6个浓度暴露组进行预试验。选取25只胚胎放于加入40 mL暴露液的培养皿中,设置两个平行,将其置于 $25^\circ\text{C}$ 的恒温箱中,明暗光周期为12 h:12 h,每隔24 h换液,清除死亡个体并记录死亡数,试验持续96 h。根据预试验结果设置BIT的范围为 $0.40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \sim 5.51 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,MIT的范围为 $0.77 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \sim 8.76 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,进行正式试验,每个处理设置两个平行。

1.3.2 蝌蚪急性毒性试验

BIT 和 MIT 分别以 15.16 mg·L<sup>-1</sup>和 17.74 mg·L<sup>-1</sup>为最高浓度,以 4 为公比设置 6 个浓度暴露组进行预试验。随机选取 10 只蝌蚪放于盛有 300 mL 暴露液的烧杯中,设置两个平行,每隔 24 h 换液,清除死亡个体并记录死亡数,试验持续 96 h。根据预试验结果设置浓度范围,进行正式试验,每个处理设置三个平行。

1.4 统计分析

每天记录胚胎的死亡数,96 h 后记录存活胚胎中的畸形数。以受试化学品的对数值为自变量(x),以相应浓度下胚胎畸形和死亡或蝌蚪死亡的机率为因变量(y),采用 SPSS 19 数据处理软件,使用 Probit 进行回归分析,建立“剂量-效应”线性方程,并计算 96 h-LC<sub>50</sub>值和 96 h-TC<sub>50</sub>值及其 95% 置信

限。用 10% 的甲醛固定胚胎并测量体长,通过 T-检验分析其最小抑制生长浓度(MCIG)。

每天详细记录每个烧杯内蝌蚪死亡数,计算 96 h-LC<sub>50</sub>值、95% 置信限和其“剂量-效应”线性方程。

2 结果(Results)

2.1 胚胎毒性试验

通过预试验设定正式试验浓度范围,BIT 的范围为 0.40 mg·L<sup>-1</sup>~5.51 mg·L<sup>-1</sup>,MIT 的范围为 0.77 mg·L<sup>-1</sup>~8.76 mg·L<sup>-1</sup>。BIT 和 MIT 暴露胚胎在 48 h 都没有出现死亡,72 h 和 96 h 时出现死亡,死亡率如图 1 所示。96 h 后观察畸形胚胎,其头部变小,尾部弯曲,体长变短,如图 2 所示。测量体长结果如表 1 和表 2 所示。

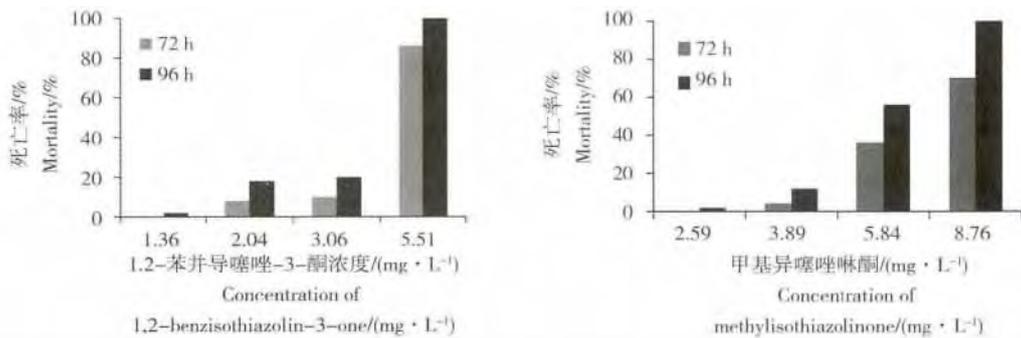


图 1 1,2-苯并异噻唑-3-酮(BIT)和甲基异噻唑啉酮(MIT)对黑斑蛙胚胎的死亡率

Fig. 1 Mortality rate of Pelophylax nigromaculatus embryos following exposure to 1,2-benzisothiazolin-3-one (BIT) and methylisothiazolinone (MIT)

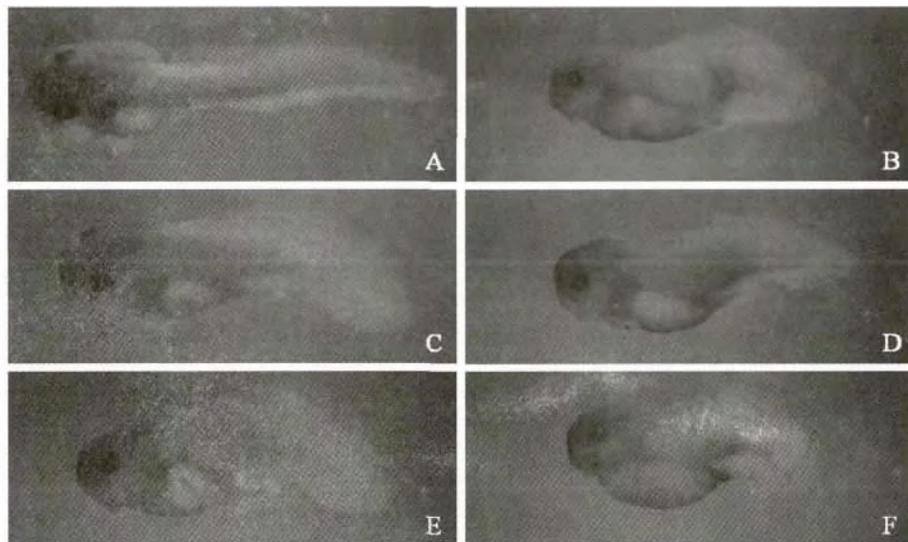


图 2 1,2-苯并异噻唑-3-酮(BIT)和甲基异噻唑啉酮(MIT)暴露黑斑蛙胚胎导致的畸形:

A 为正常胚胎, B, C 为 1,2-苯并异噻唑-3-酮(BIT)致畸胚胎, D-F 为甲基异噻唑啉酮(MIT)致畸胚胎

Fig. 2 Malformed Pelophylax nigromaculatus embryos caused by 1,2-benzisothiazolin-3-one (BIT) and methylisothiazolinone (MIT)

BIT 暴露 72 h 后 2.04 mg·L<sup>-1</sup> 浓度下的胚胎出现死亡,96 h 后 5.51 mg·L<sup>-1</sup> 浓度下的胚胎全部死亡,计算得到 96 h-LC<sub>50</sub> 和 96 h-TC<sub>50</sub> 分别为 2.99 mg·L<sup>-1</sup> 和 0.60 mg·L<sup>-1</sup>, 测量体长(表 1 和表 2) 并通过显著性差异分析得到 MCIG 小于 0.40 mg·L<sup>-1</sup>, 计算得到安全浓度为 0.03 mg·L<sup>-1</sup>(表 3)。MIT 暴露 72 h 后 3.89 mg·L<sup>-1</sup> 浓度下的胚胎出现死亡,96 h 后 8.76 mg·L<sup>-1</sup> 浓度下的胚胎全部死亡。同样得到 96 h-LC<sub>50</sub> 和 96 h-TC<sub>50</sub> 分别为 5.30 mg·L<sup>-1</sup> 和 2.36 mg·L<sup>-1</sup>,

MCIG 为 2.59 mg·L<sup>-1</sup> 安全浓度为 0.05 mg·L<sup>-1</sup>(表 3)。

BIT 和 MIT 对黑斑蛙胚胎的 96 h-LC<sub>50</sub>、96 h-TC<sub>50</sub>、MCIG、安全浓度和“剂量-效应”线性方程如表 3 所示。

2.2 蝌蚪急性毒性

通过预试验设定正式试验浓度范围, BIT 的范围为 2.05 mg·L<sup>-1</sup> ~ 10.26 mg·L<sup>-1</sup>, MIT 的范围为 2.59 mg·L<sup>-1</sup> ~ 13.91 mg·L<sup>-1</sup>。BIT 和 MIT 暴露黑斑蛙蝌蚪在每 24 h 的死亡率如图 3 所示。

表 1 1,2-苯并异噻唑-3-酮(BIT) 对黑斑蛙胚胎体长的影响

Table 1 Effects of 1,2-benzisothiazolin-3-one (BIT) on the body length of Pelophylax nigromaculatus embryos

浓度/(mg·L <sup>-1</sup> ) Concentration/(mg·L <sup>-1</sup> )	0	0.40	0.60	0.91	1.36	2.04	3.06
平均值/cm Mean/cm	0.82	0.69*	0.72*	0.74*	0.68*	0.56*	0.54*
范围/cm Range/cm	0.7~0.9	0.6~0.7	0.7~0.8	0.7~0.8	0.55~0.75	0.5~0.6	0.5~0.6

注: \* 表示与对照组相比存在显著性差异(p < 0.05)。

Note: \* indicate significant difference compared with the control group (p < 0.05).

表 2 甲基异噻唑啉酮(MIT) 对黑斑蛙胚胎体长的影响

Table 2 Effects of and methylisothiazolinone(MIT) on the body length of Pelophylax nigromaculatus embryos

浓度/(mg·L <sup>-1</sup> ) Concentration/(mg·L <sup>-1</sup> )	0	0.77	1.15	1.73	2.59	3.89	5.84
平均值/cm Mean/cm	0.81	0.79	0.81	0.81	0.78*	0.58*	0.52*
范围/cm Range/cm	0.8~0.85	0.7~0.85	0.8~0.85	0.75~0.85	0.7~0.8	0.55~0.65	0.5~0.6

注: \* 表示与对照组相比存在显著性差异(p < 0.05)。

Note: \* indicate significant difference compared with the control group (p < 0.05).

表 3 1,2-苯并异噻唑-3-酮(BIT) 和甲基异噻唑啉酮(MIT) 对黑斑蛙胚胎的毒性

Table 3 Toxicity of 1,2-benzisothiazolin-3-one (BIT) and methylisothiazolinone (MIT) to Pelophylax nigromaculatus embryos

杀菌剂 Biocides	96 h-LC <sub>50</sub>	95% 置信区间	线性方程	安全浓度	96 h-TC <sub>50</sub>	95% 置信区间	线性方程	MCIG
		95% confidence interval	Linear equation	Safe concentration		95% confidence interval	Linear equation	
BIT	2.99	[1.81, 13.58]	y = 6.25x - 3.13	0.03	0.60	[0.10, 1.09]	y = 4.17x - 0.67	≤0.40
MIT	5.30	[3.41, 9.15]	y = 7.50x - 5.50	0.05	2.36	[1.54, 4.33]	y = 4.80x - 2.10	2.59

注: 半致死浓度 LC<sub>50</sub>、安全浓度、半致死浓度 TC<sub>50</sub>、最小生长抑制浓度 MCIG 和 95% 置信区间的单位均为 mg·L<sup>-1</sup>, 安全浓度采用通用计算方法: 96 h-LC<sub>50</sub> × 0.01。

Note: The unit for all parameters is mg·L<sup>-1</sup>. Safe concentrations were calculated as follows: 96 h-LC<sub>50</sub> × 0.01.

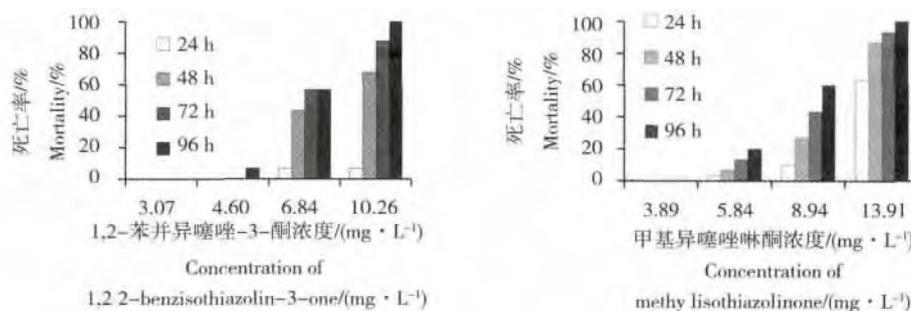


图 3 1,2-苯并异噻唑-3-酮 (BIT) 和甲基异噻唑啉酮 (MIT) 对黑斑蛙蝌蚪的致死率

Fig. 3 Mortality rate of *Pelophylax nigromaculatus* tadpoles

1,2-benzisothiazolin-3-one (BIT) and methylisothiazolinone (MIT)

表 4 1,2-苯并异噻唑-3-酮 (BIT) 和甲基异噻唑啉酮 (MIT) 对黑斑蛙蝌蚪的 96 h-LC<sub>50</sub> (mg·L<sup>-1</sup>) 和 95% 置信区间

Table 4 96 h-LC<sub>50</sub> (mg·L<sup>-1</sup>) and 95% confidence interval of 1,2-benzisothiazolin-3-one (BIT) and methylisothiazolinone (MIT) to *Pelophylax nigromaculatus* tadpoles

杀菌剂 Biocides	96 h-LC <sub>50</sub>	95% 置信区间 95% confidence interval	线性方程 Linear equation	安全浓度 Safe concentration
BIT	6.44	[5.94 7.00]	$y = 9x - 7.45$	0.06
MIT	7.58	[6.88 8.39]	$y = 5x - 4.50$	0.08

注: 半致死浓度 LC<sub>50</sub> 及 95% 置信区间的单位均为 mg·L<sup>-1</sup>, 安全浓度采用通用计算方法: 96 h-LC<sub>50</sub> × 0.01。

Note: The unit for all parameters is mg·L<sup>-1</sup>. Safe concentrations were calculated as follows: 96 h-LC<sub>50</sub> × 0.01.

黑斑蛙蝌蚪急性毒性结果显示, BIT 暴露 24 h 后 6.84 mg·L<sup>-1</sup> 浓度下的蝌蚪出现死亡, 48 h 后 6.84 mg·L<sup>-1</sup> 和 10.26 mg·L<sup>-1</sup> 浓度下的蝌蚪运动较对照明显减弱, 96 h 后 10.26 mg·L<sup>-1</sup> 浓度下的蝌蚪全部死亡。MIT 暴露 24 h 后 5.84 mg·L<sup>-1</sup> 浓度下的蝌蚪出现死亡, 48 h 后 13.91 mg·L<sup>-1</sup> 浓度下的蝌蚪运动较对照明显减弱, 72 h 后 8.94 mg·L<sup>-1</sup> 浓度下的蝌蚪运动较对照明显减弱, 96 h 后 13.91 mg·L<sup>-1</sup> 浓度下的蝌蚪全部死亡。计算得到 BIT 和 MIT 对蝌蚪的 96 h-LC<sub>50</sub> 分别为 6.44 mg·L<sup>-1</sup> 和 7.58 mg·L<sup>-1</sup>, 安全浓度分别为 0.06 mg·L<sup>-1</sup> 和 0.08 mg·L<sup>-1</sup>。根据《化学农药环境安全评价准则报批稿》中两栖动物蝌蚪急性毒性的分级标准, 确定 BIT 和 MIT 为中毒性化学品<sup>[16,17]</sup>。

黑斑蛙蝌蚪的 96 h-LC<sub>50</sub>、95% 置信区间、“剂量-效应”线性方程和安全浓度如表 4 所示。

### 3 讨论 (Discussion)

本文首次研究了 BIT 和 MIT 对黑斑蛙的急性毒性。BIT 暴露胚胎在 0.40 mg·L<sup>-1</sup> (试验最低浓度) 下出现畸形, 在 1.36 mg·L<sup>-1</sup> 下出现死亡, 最小生长抑制浓度为小于等于 0.40 mg·L<sup>-1</sup>, 暴露的蝌蚪在

4.60 mg·L<sup>-1</sup> 下出现死亡。MIT 暴露胚胎在 1.15 mg·L<sup>-1</sup> 下出现畸形, 在 2.59 mg·L<sup>-1</sup> 下出现死亡, 最小生长抑制浓度为 2.59 mg·L<sup>-1</sup>, 暴露的蝌蚪在 5.84 mg·L<sup>-1</sup> 下出现死亡。以上结果显示, BIT 和 MIT 对胚胎的毒性都略大于蝌蚪, 且整体来看 BIT 的毒性略高于 MIT。值得注意的是, BIT 在 0.40 mg·L<sup>-1</sup> 时对胚胎造成生长抑制, 其毒性已相当于高毒<sup>[9]</sup>。

有研究报道 BIT 对大型蚤和虹鳟鱼的 LC<sub>50</sub> 分别为 1.35 mg·L<sup>-1</sup><sup>[2]</sup> 和 1.60 mg·L<sup>-1</sup><sup>[10]</sup>, 为中等毒性化学品。本文研究显示 BIT 和 MIT 对黑斑蛙胚胎和蝌蚪具有中等毒性, 对胚胎的 LC<sub>50</sub> 分别为 2.99 mg·L<sup>-1</sup> 和 5.30 mg·L<sup>-1</sup>, 对蝌蚪的 LC<sub>50</sub> 分别为 6.44 mg·L<sup>-1</sup> 和 7.58 mg·L<sup>-1</sup>。这些结果显示, BIT 对黑斑蛙胚胎和蝌蚪的急性毒性与对鱼类的急性毒性相当。目前还没有 MIT 对鱼类急性毒性的数据, 估计可能与对黑斑蛙胚胎和蝌蚪的急性毒性接近。与对黑斑蛙胚胎和蝌蚪以及鱼类的毒性不同, 有资料显示, BIT 和 MIT 对大鼠的 LD<sub>50</sub> 分别为约 1 400 mg·kg<sup>-1</sup> 和大于 4 500 mg·kg<sup>-1</sup>, 属低毒化学品<sup>[9]</sup>。由此看来, 对鼠类具有低毒性的化学品, 对两栖动物胚胎和蝌蚪及

其它水中生物却可能有更高的毒性。因此,使用多种生物种测试化学品的毒性对于全面认识化学品的生物安全性是必要的。

有研究表明,异噻唑啉酮类杀菌剂主要通过污水排放进入环境,污水中和地表水中都有分布<sup>[18]</sup>。一般地表水中的 BIT 和 MIT 污染水平在  $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[19-20]</sup> 在某些污水排放口附近的浓度可到几个  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[2,6,7]</sup>。从我们的研究数据来看,BIT 和 MIT 对黑斑蛙产生急性毒性的浓度要比环境浓度高一个或两个数量级。尽管如此,考虑到安全系数,BIT 和 MIT 对黑斑蛙胚胎和蝌蚪的毒性作用不容忽视,尤其长期暴露的生态风险需要进一步研究。

通讯作者简介:秦占芬(1971—),女,环境科学博士,研究员,主要研究方向为毒理学。以两栖动物为模型开展化学污染物毒理学研究,尤其关注污染物对本土物种的生态毒理学效应。

#### 参考文献:

- [1] Reinhard E, Waeber R, Niederer M, et al. Preservation of products with MCI/MI in Switzerland [J]. *Contact Dermatitis*, 2001, 45(5): 257–264
- [2] Raftery A, Gabriel S, Sacher F. Analysis of isothiazolinones in environmental waters by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2007, 1164(1-2): 74–81
- [3] Novick R M, Nelson M L, Unice K M, et al. Estimation of the safe use concentrations of the preservative 1, 2-benzisothiazolin-3-one (BIT) in consumer cleaning products and sunscreens [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2013, 56: 60–66
- [4] Aalto-Korte K, Ackermann L, Henriks-Eckerman M L, et al. 1, 2-Benzisothiazolin-3-one in disposable polyvinyl chloride gloves for medical use [J]. *Contact Dermatitis*, 2007, 57(6): 365–370
- [5] Fuller S J, Denyer S P, Hugo W B, et al. The mode of action of 1, 2-benzisothiazolin-3-one on *Staphylococcus aureus* [J]. *Letters in Applied Microbiology*, 1985, 1(1): 13–15
- [6] Alvarez-Rivera G, Dagnac T, Lores M, et al. Determination of isothiazolinone preservatives in cosmetics and household products by matrix solid-phase dispersion followed by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1270: 41–50
- [7] Speksnijder P, Van Ravestijn J, De Voogt P. Trace analysis of isothiazolinones in water samples by large-volume direct injection liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2010, 1217(32): 5184–5189
- [8] Chen Z F, Ying G G, Lai H J. Determination of biocides in different environmental matrices by use of ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012, 404(10): 3175–3188
- [9] Chemicalbook. 1,2-苯并异噻唑-3-酮基本信息 [OL]. (2013-01-06) [2014-01-20] <http://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB1496512.htm>
- [10] 张硕慧,陈轩. 异噻唑啉酮的灭藻效应和生物毒性试验 [J]. *海洋环境科学*, 2004, 23(4): 464–466
- Zhang S H, Chen X. Efficacy of killing unicellular algae by isothiazolintone and toxicity tests [J]. *Marine Environment Science*, 2004, 23(4): 464–466 (in Chinese)
- [11] Seidle T, Prieto P, Bulgheroni A. Examining the Regulatory Value of Multi-route Mammalian Acute Systemic Toxicity Studies [M]. *ALTEX-Alternatives to Animal Experimentation*, 2011, 28(2): 95
- [12] 袁运开,顾明远,孙大文. 科学技术社会辞典(生物) [M]. 浙江教育出版社
- [13] 任东凯,苏红巧,刘芃岩,等. 全氟辛烷磺酸盐(PFOS)及其替代品对两栖类胚胎的发育毒性 [J]. *生态毒理学报*, 2012, 7(1): 561–564
- Ren D K, Su H Q, Liu P Y, et al. Developmental toxicity of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and its substitutes to amphibian embryos [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2012, 7(1): 561–564 (in Chinese)
- [14] 苏红巧,任东凯,秦占芬,等. 全氟辛烷磺酸盐(PFOS)及其替代品对两栖类蝌蚪的急性毒性 [J]. *生态毒理学报*, 2012, 7(5): 521–524
- Su H Q, Ren D K, Qin Z F, et al. Acute toxicity of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and its substitutes to amphibian tadpoles [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2012, 7(5): 521–524 (in Chinese)
- [15] Gosner K L. Simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification [J]. *Herpetologica*, 1960, 16(1): 183–190
- [16] 潘道一,梁雪明. 泽蛙(蝌蚪)和蜘蛛对农药的敏感性与急性毒性分级 [J]. *动物学报*, 1995, 42(2): 154–160
- Pan D Y, Liang X M. The susceptibility of marsh frog (tadpole) and acute toxicity [J]. *Acta zoologica sinica*, 1995, 42(2): 154–160 (in Chinese)
- [17] 中华人民共和国农业部. 化学农药环境安全评价试验准则(2008年报批稿) [S]. 北京: 97–100
- [18] Wittmer I K, Bader H P, Scheidegger R, et al. Signifi-

- cance of urban and agricultural land use for biocide and pesticide dynamics in surface waters [J]. *Water Research*, 2010, 44(9): 2850–2862
- [19] Singer H, Jaus S, Hanke I, et al. Determination of biocides and pesticides by on-line solid phase extraction coupled with mass spectrometry and their behaviour in wastewater and surface water [J]. *Environmental Pollution*, 2010, 158(10): 3054–3064
- [20] Bester K, Banzhaf S, Burkhardt M, et al. Activated soil filters for removal of biocides from contaminated run-off and waste-waters [J]. *Chemosphere*, 2011, 85(8): 1233–1240 ◆

## ECHA 和欧盟委员会澄清 REACH 法规中的动物试验禁令

2014 年 10 月 27 日 来源: 欧洲化学品管理署

欧洲化学品管理署(ECHA)和欧盟委员会今天发布了一份联合声明,试图就关于在动物身上试验的化妆品和成分的上市销售禁令对欧盟化妆品法规和 REACH 法规之间的结合部分进行澄清。该声明从禁令中排除了 REACH 法规涵盖的广泛试验,这已经引起了动物权利组织的关注。

根据化妆品法规,如果一种产品的最终配方、成分或制成品进行了动物试验,则不得将该产品投放市场。该规定在对于相同物质,是否能够进行动物试验以遵守 REACH 法规方面造成了一些混乱。

在 ECHA 网站上发布的该声明澄清道,化妆品中的试验和上市销售禁令不适用于:出于职业安全目的进行的试验;在物质也登记用于非化妆品用途的情况下,针对所有人类健康终点进行的试验;以及在有必要的情况下,作为最后一项手段针对所有环境终点进行的试验。

ECHA 和欧盟委员会得出结论,只有在下列情况下不需要进行动物试验:为了符合 REACH 要求,一个登记人不需要评估与工人暴露相关的任何风险,并且这种物质仅用于化妆品。不过,这仍将基于具体情况具体决定,该声明表示。在发布该文件的同时,ECHA 还发布了一份问答文件和一份情况说明书。

动物权利组织对该宣布感到非常愤怒。欧洲禁止动物试验联盟(ECEAE)表示,欧盟委员会和 ECHA 的方法暗示,实际上,动物试验禁令事实上几乎没有用处。REACH 表示,其要求不影响化妆品禁令。然而,为了确保工人安全的试验与那些为了确保消费者安全的试验完全相同,因此,企业可以很容易地将一项试验标识为为了确保工人安全,从而避开这些禁令,该组织表示。

ECEAE 表示,该处理方法与 2005 年的一个案例的判决不符,在该案例中,法国对化妆品动物试验禁令提出质疑。在该案例中,总辩护官得出结论,动物试验禁令,同样适用于为了符合其他立法而实施的试验。该联盟表示,它打算尽早将其关于该潜在矛盾的关注提交欧洲法院。

善待动物组织(Peta)表示,提议的该处理方法?意味着,动物事实上将继续在化妆品成分试验中死去,该组织表示,这是不可饶恕的……尤其考虑到现在有大量高级非动物试验广泛可用。

化学观察网已联系欧洲化妆品协会征求其意见,不过,该协会表示,它还不能就该宣布及其对产业界的潜在影响发表任何声明。

引自《化学品安全信息周报》2014 年第 45 期总第 309 期(中国检验检疫科学研究院化学品安全研究所编译)

[http://www.chinachemicals.org.cn/reported\\_detail.aspx?contentid=321&ClassID=230](http://www.chinachemicals.org.cn/reported_detail.aspx?contentid=321&ClassID=230)