

# 消油剂对海湾扇贝(*Argopecten irradians*) 的急性毒性效应\*

徐勇<sup>1,2</sup> 朱建新<sup>1①</sup> 江涛<sup>1</sup> 刘文文<sup>1,2</sup>

(1. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071;  
2. 中国海洋大学化学化工学院 266100)

**摘要** 本研究以海湾扇贝(*Argopecten irradians*)为研究对象,通过96 h半静水毒性实验,探讨了消油剂、0号柴油分散液(WAF)与0号柴油乳化液(CEWAF)对海湾扇贝24 h、48 h、72 h、96 h急性毒性效应。结果显示,消油剂对海湾扇贝的24 h、48 h、72 h和96 h半致死浓度(95%可信限)分别为1905(1570–2451 mg/L)、1293(1070–1556 mg/L)、1015(721–1348 mg/L)、846 mg/L(660–1020 mg/L); WAF对海湾扇贝的24 h、48 h、72 h和96 h半致死浓度(95%可信限)分别为36.57(29.42–48.96 mg/L)、23.10(21.07–25.39 mg/L)、14.99(13.66–16.41 mg/L)、11.31 mg/L(8.37–14.47 mg/L); CEWAF对海湾扇贝的24 h、48 h、72 h和96 h半致死浓度(95%可信限)分别为12.71(10.78–15.55 mg/L)、8.51(7.99–9.07 mg/L)、6.56(4.46–7.74 mg/L)、5.42 mg/L(4.51–6.29 mg/L)。消油剂、0号柴油分散液、0号柴油乳化液对海湾扇贝96 h安全浓度分别为84.6、1.13、0.54 mg/L。随着实验时间的延长,消油剂、WAF和CEWAF对海湾扇贝的半致死浓度(LC<sub>50</sub>)均呈逐渐降低之势,半致死浓度与时间呈幂函数关系,其关系式分别为 $y=12242x^{-0.583}$ 、 $y=564.37x^{-0.848}$ 、 $y=89.987x^{-0.613}$ 。在受试溶液中暴露相同时间,海湾扇贝的半致死浓度从高到低依次为消油剂、WAF和CEWAF,说明CEWAF对海湾扇贝的毒性大于消油剂和WAF,这对于在养殖海区使用消油剂处理溢油事故具有重要的指导意义。

**关键词** 海湾扇贝(*A. irradians*); 消油剂; 0号柴油; 急性毒性

**中图分类号** S912 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2015)06-0121-06

随着海上运输业和海上采油业的发展,溢油污染已成为各种海洋污染类型中发生频率最高、分布面积最广、危害程度最大的污染源,不但对海洋生物的生存构成巨大威胁,而且对海洋生态环境安全造成严重破坏。在海上溢油清除过程中,消油剂扮演着十分重要的角色。消油剂处理溢油是将大面积的浮油分散成悬浮状小油滴以加速溶解,增加水体含氧量及细菌对溢油的降解速度,阻止溢油进一步影响海岸线及其敏感的生态环境,降低海洋上层生物(藻类、海洋哺乳动物)受污染的风险,从而减弱溢油带来的环境影响;但其形成的化学分散原油水溶组分因含有更多毒性

较大的多环芳烃,不仅导致水体环境恶化,而且严重威胁水体中、下层特别是近岸生物的繁殖、摄食、生长及免疫系统功能。消油剂的使用不仅能提高海洋生物的死亡率(韩方圆等, 2011; 王颖等, 2011),而且会增加海水浑浊度,影响浮游植物的光合作用,降低水体初级生产力(Nordtug *et al*, 2011),并对水生植物的再生细胞造成不可复原的损害,导致水生植物发生亚致死的情况(杨庆霄等, 1997)。同时损伤水生生物呼吸器官,影响鱼类的味觉器官,进而对其进食、生长、迁徙、繁殖及防御行为造成不利影响(Brooke, 1990);另外,消油剂会剥蚀贝类壳体,影响附着性贝类的附

\* 国家海洋局海洋溢油鉴别与损害评估技术重点实验室开放基金资助(201317)。徐勇, E-mail: xuyong@ysfri.ac.cn

① 通讯作者: 朱建新, 副研究员, E-mail: zhujx@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2014-12-09, 收修改稿日期: 2015-09-10

着能力。鉴于以上原因,世界各国纷纷发展低毒高效消油剂,采用聚乙二醇的浓缩型第3代化学分散剂,其毒性只是第一代的1%,以降低对环境的影响。即便如此,美国、加拿大、日本及欧洲等多国对消油剂的使用都持谨慎态度,在机械清除无效或海区环境不适宜时才允许使用,且禁止在沿海及养殖区使用(Fingas, 2001)。

目前国内外学者对消油剂毒性效应的研究主要集中在鱼类(韩方圆等, 2011; Nordtug *et al.*, 2011)、藻类(Wilson *et al.*, 2012)、浮游动物(王颖等, 2011; 黄逸君等, 2010)方面,关于消油剂对扇贝毒性效应的研究尚未见报道。扇贝为滤食性底栖动物,分布范围广,生活方式固定,对其生活环境中的污染物有较强的生物蓄积作用。通过测定贝类体内污染物的残留量,可以监测和评价其周围海洋环境的污染程度和变化趋势。海湾扇贝(*A. irradians*)由于其具有生长速度快、抗病能力较强等优点,在我国的养殖规模不断扩大,已成为北方海区的主要养殖对象之一。本研究选用海湾扇贝为研究对象,进行消油剂及消油剂处理石油对海湾扇贝毒性效应的研究,为消油剂安全使用和管理提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验海水** 实验用海水为过滤海水,盐度为29–31, pH 7.9, 溶解氧浓度为7.8–8.2 mg/L, 石油烃浓度为3.05 μg/L。

**1.1.2 实验生物** 实验用海湾扇贝购自青岛农贸市场,在室温下养于室内20 L盛有天然海水的塑料箱中,连续充气,24 h换水。每天投喂海藻1次,水温为(17±1)°C,暂养7 d,待其状态稳定后,选取活力好,体长4–5 cm的个体进行实验。

**1.1.3 药剂** 0号柴油,购自青岛中石化加油站,密度0.84 g/cm<sup>3</sup>。消油剂为青岛光明环保技术有限公司生产的青岛光明GM-2型溢油分散剂,淡黄色透明液体,密度1 g/cm<sup>3</sup>。

### 1.2 方法

**1.2.1 实验试剂的制备** 按照消油剂与海水1:9的比例混合,机械搅拌1 h,静止1 h,即得消油剂母液。

**1.2.2 0号柴油分散液(WAF)的制备** 将0号柴油与过滤海水按体积比1:9混合,电动低速搅拌机连续搅拌24 h,在分液漏斗中静置4 h后,分离后取下层水相即为石油分散液(WAF)母液。母液置于冰箱4°C

保存。

**1.2.3 0号柴油乳化液(CEWAF)的制备** 将消油剂、0号柴油和水按照1:5:45的比例混合,用电动低速搅拌机连续搅拌24 h,在分液漏斗中静置4 h后,取下层水相,即得化学增强的石油分散液(CEWAF)母液,置于4°C低温保存。

**1.2.4 急性毒性实验** 根据预实验结果,确定试验溶液的浓度范围,按等比间距设置试验溶液的浓度。海湾扇贝实验组消油剂浓度梯度为0.53、0.75、1.06、1.50、2.12、3.00 g/L,0号柴油分散液浓度梯度为5.88、9.32、14.77、23.41、37.10、58.80 mg/L,0号柴油乳化液浓度梯度为3.54、5.00、7.07、10.00、14.14、20.00 mg/L。每个实验浓度设置3个平行,同时设置1个空白对照组。试验容器为5 L玻璃缸,每个缸随机投放实验扇贝10只,实验期间不投喂,实验水温(17±1)°C,每隔12 h全量更换等浓度试验液1次。实验持续96 h,开始的2 h连续观察,之后每隔12 h观察1次受试生物活动状况,并记录死亡个体数。为避免实验过程中水质败坏和病原微生物交叉感染,每次观察后均将死亡生物及时捞出。

### 1.3 数据处理

采用概率单位算法并利用SPSS17.0进行数据处理,求得回归方程并进行可靠性检验,计算半致死浓度 $LC_{50}$ 及95%置信区间。然后计算安全浓度(SC):

$$SC=96 \text{ h } LC_{50} \times 0.1$$

## 2 实验结果

### 2.1 海湾扇贝中毒症状和死亡情况

消油剂、0号柴油乳化液高浓度组中海湾扇贝首先出现中毒症状,表现为在玻璃缸内剧烈运动,贝壳快速张合。随着时间的延长,部分中毒扇贝死亡时贝壳张开,闭壳肌松弛。实验生物在不同浓度实验溶液中死亡数量见表1–表3。

### 2.2 实验试剂对海湾扇贝的半致死浓度( $LC_{50}$ )

通过SPSS17.0线性回归法计算得到消油剂对海湾扇贝的24 h、48 h、72 h和96 h半致死浓度(95%可信限)分别为1905(1570–2451 mg/L)、1293(1070–1556 mg/L)、1015(721–1348 mg/L)、846 mg/L(660–1020 mg/L)。0号柴油分散液对海湾扇贝的24 h、48 h、72 h和96 h半致死浓度(95%可信限)分别为36.57(29.42–48.96 mg/L)、23.10(21.07–25.39 mg/L)、14.99(13.66–16.41 mg/L)、11.31 mg/L(8.37–14.47 mg/L)。0号柴油乳化液对海湾扇贝的24 h、48 h、72 h和96 h半

表1 消油剂对海湾扇贝的急性毒性实验  
Tab.1 The acute toxic effects of oil dispersant on *A. irradians*

浓度(mg/L) Concentration	24 h 死亡数(个) Mortality for 24 h (ind)			48 h 死亡数(个) Mortality for 48 h (ind)			72 h 死亡数(个) Mortality for 72 h (ind)			96 h 死亡数(个) Mortality for 96 h (ind)		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.53	0	0	0	0	1	0	2	2	1	2	3	2
0.75	0	0	0	1	1	2	3	3	3	4	4	5
1.06	1	2	3	3	4	4	6	5	4	7	7	6
1.50	2	4	4	6	6	7	8	6	8	9	7	9
2.12	5	6	6	8	8	9	10	10	9	10	10	10
3.00	8	7	9	10	9	10	10	10	10	10	10	10

表2 0号柴油分散液对海湾扇贝的急性毒性实验  
Tab.2 The acute toxic effects of 0 diesel oil on *A. irradians*

浓度(mg/L) Concentration	24 h 死亡数(个) Mortality for 24 h (ind)			48 h 死亡数(个) Mortality for 48 h (ind)			72 h 死亡数(个) Mortality for 72 h (ind)			96 h 死亡数(个) Mortality for 96 h (ind)		
0	0	1	0	0	2	1	2	1	1	3	3	0
0	0	0	1	0	2	2	3	2	2	5	3	2
2	2	1	3	2	3	5	5	4	6	6	7	5
3	3	2	4	5	5	7	8	6	8	9	7	6
5	4	5	8	7	7	10	9	9	10	10	10	9
9	8	6	10	9	9	10	9	10	10	10	10	10
3.00	8	7	9	10	9	10	10	10	10	10	10	10

表3 0号柴油乳化液对海湾扇贝的急性毒性实验  
Tab.3 The acute toxic effects of dispersed 0 diesel oil on *A. irradians*

浓度(mg/L) Concentration	24 h 死亡数(个) Mortality for 24 h (ind)			48 h 死亡数(个) Mortality for 48 h (ind)			72 h 死亡数(个) Mortality for 72 h (ind)			96 h 死亡数(个) Mortality for 96 h (ind)		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3.54	0	0	0	0	0	1	2	2	1	2	3	2
5.00	0	1	1	2	3	2	3	5	3	4	6	4
7.07	0	2	2	3	4	4	4	5	4	6	5	5
10.00	4	3	3	4	6	5	7	6	6	8	8	9
14.14	7	6	8	8	9	8	9	10	10	9	10	10
20.00	7	8	6	10	10	9	10	10	10	10	10	10

致死浓度(95%可信限)分别为 12.71(10.78–15.55 mg/L)、8.51(7.99–9.07 mg/L)、6.56(4.46–7.74 mg/L)、5.42 mg/L (4.51–6.29 mg/L)。

### 2.3 实验试剂对海湾扇贝的安全浓度

采用 96 h  $LC_{50}$  值乘以安全系数 0.1 作为安全浓度, 可以得到消油剂、0 号柴油分散液、0 号柴油乳化液对海湾扇贝安全浓度分别为 84.6、1.13、0.54 mg/L。

### 2.4 半致死浓度与暴露时间相关性

从实验结果可以看出, 半致死浓度与时间呈幂函数关系(图 1), 在受试液中暴露相同时间, 海湾扇贝

的半致死浓度从高到低依次为消油剂、0 号柴油分散液、0 号柴油乳化液, 说明 0 号柴油乳化液对海湾扇贝的毒性大于消油剂、0 号柴油分散液。

由图 1 显示, 消油剂对海湾扇贝半致死浓度与时间关系式为  $y=12242x^{-0.583}$ 。式中,  $y$  为半致死浓度,  $x$  为时间。0 号柴油分散液对海湾扇贝半致死浓度与时间关系式为  $y=564.37x^{-0.848}$ , 0 号柴油乳化液对海湾扇贝半致死浓度与时间关系式为  $y=89.987x^{-0.613}$ 。

## 3 讨论

虽然消油剂处理溢油会减轻溢油带来的环境影

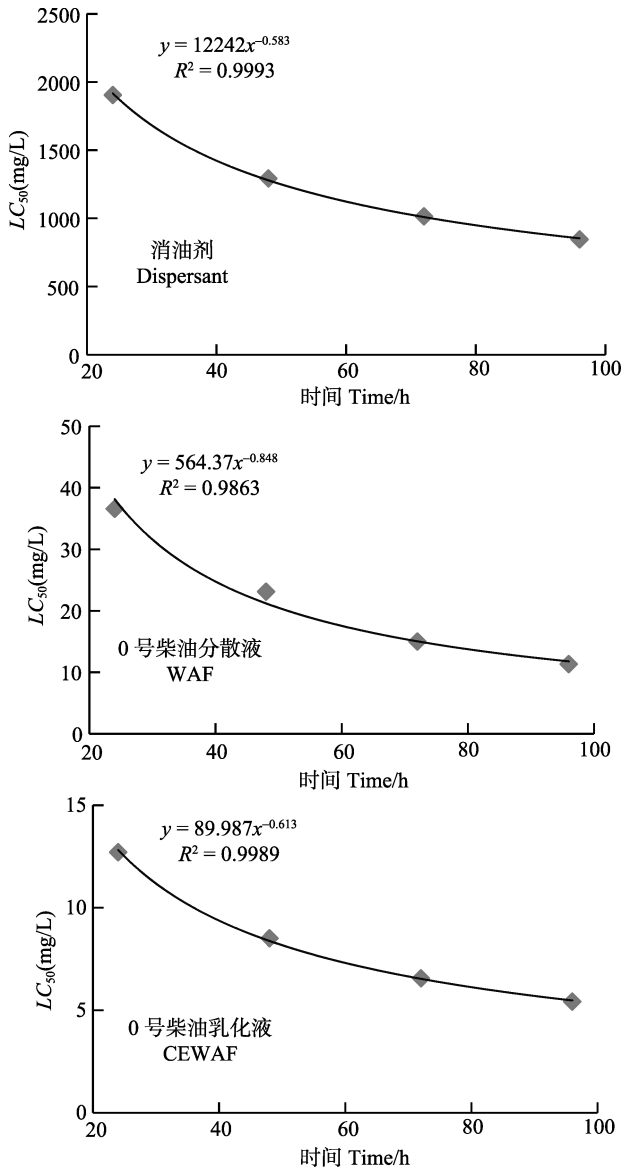


图1 海湾扇贝的  $LC_{50}$  与时间之间的关系  
Fig.1 The relationship between  $LC_{50}$  for *A. irradians* and time

影响,但由于水体中石油烃含量的增加及自身毒性的影响,会造成海洋环境的二次污染。近年来,我国学者研究了消油剂及其与油混合溶液对刺参(陈皓璿等, 2012)、菲律宾蛤仔(杨波等, 1991)、马粪海胆(吕福荣等, 2010)、红鳍东方鲀(于晓明等, 2014)的毒性效应。各种消油剂对不同的海洋生物均存在毒性,即使同种消油剂对不同海洋生物的毒性也存在差异。GM-2 消油剂对蒙古裸腹蚤 1 龄幼体、裸项栉虾虎鱼仔鱼、卤虫 *Artemia* 幼体和凡纳滨对虾仔虾的 24 h  $LC_{50}$  为 53.08、228.98、4132.79、9404.08 mg/L(王颖等, 2011), GM-2 牌消油剂对合浦珠母贝稚贝的 96 h  $LC_{50}$  为 1258 mg/L(邓岳文等, 2000), 本研究中 GM-2 消油剂对海湾扇贝的 24 h  $LC_{50}$  为 1905 mg/L, GM-2 消油

剂对以上几种生物的毒性由高到低依次为: 蒙古裸腹蚤 1 龄幼体>裸项栉虾虎鱼仔鱼>合浦珠母贝稚贝>海湾扇贝>卤虫幼体>凡纳滨对虾仔虾; 而同种海洋生物对不同消油剂的耐受能力也有所不同, 双象 I 号、碧浪宁 868 和 Correxit 9527 对菲律宾蛤仔的 96 h  $LC_{50}$  分别为 2140、46、500 mg/L(杨波等, 1991), GM-2 牌、海环牌、青岛牌消油剂对合浦珠母贝稚贝的 96 h  $LC_{50}$  分别为 1258、4469、2545 mg/L(邓岳文等, 2000)。杨波等(1991)根据 96 h  $LC_{50}$  将消油剂毒性分为 3 种: 1–100 mg/L 为高毒性; 100–1000 mg/L 为一般毒性; 1000–10 000 mg/L 为微毒性。按照此原则, 本研究中 GM-2 消油剂对海湾扇贝的 96 h  $LC_{50}$  为 846 mg/L, 其毒性为一般毒性; 0 号分散液对海湾扇贝的 96 h  $LC_{50}$  为 11.31 mg/L, 为高毒性; 0 号柴油乳化液对海湾扇贝的 96 h  $LC_{50}$  为 5.42 mg/L, 为高毒性。

消油剂处理溢油增加了碳氢化合物的数量, 尤其是较大分子的、不溶性的多环芳烃的数量, 从而引起毒性增加。石油乳化液(CEWAF)对水生生物的致死能力是消油剂、石油分散液(WAF)的几倍甚至上百倍(Hemmer *et al.*, 2011)。吕福荣等(2012)研究发现, 0 号柴油分散液对马粪海胆幼胆的 24 h、48 h、72 h、96 h 半致死浓度分别为 18.2、15.5、11.5、9.5 mg/L; 0 号柴油乳化液对马粪海胆幼胆的 24 h、48 h、72 h、96 h 半致死浓度分别为 11.7、9.1、7.4、5.1 mg/L。石油乳化液(CEWAF)可导致 45.4% 桡足类死亡, 远高于石油分散液(WAF)22.7% 的致死率(Hansen *et al.*, 2012); 而且石油乳化液(CEWAF)对糠虾、银河鱼、浮游生物的毒性研究(Hemmer *et al.*, 2011)也证明 CEWAF 毒性高于消油剂、WAF, 本研究结果与以上研究结论一致。此外, 消油剂提高了低分子量烃类在水中的溶解, 增加了油成分的生物可利用性, 导致海洋生物更易富集多环芳烃进而威胁生物健康及食品安全(Milinkovitch *et al.*, 2011)。因此在消油剂处理溢油污染时, 不能只考虑消油剂自身对生物及生态的影响, 应该全方位的考虑消油剂和溢油共同作用下的效力、乳化液的毒性。

目前, 我国对消油剂使用的管理较为宽松(宋春印, 1995), 有关消油剂特别是其与油类混合后对生态环境的直接危害与潜在影响研究还不够充分, 相关国家标准(GB 18188.1-2000)和行业标准(HY044-1997)均以鰕虎鱼或者斑马鱼成鱼 24 h 的半致死浓度 3000 mg/L 作为判断合格与否的毒性限量, 超过以上标准, 可以认为对成鱼的毒性很小。由于不同生物对消油剂的耐受力存在巨大差异, 这一标准并不能充分表征消油剂的生物毒性。如王颖等(2011)及本研究中消油剂的生物毒性显著高于以上两个标准。另外, 水体的温度、

盐度、pH 都会影响消油剂在水体中的溶解、分布、附着力等,从而影响到实验生物的敏感性。因而,上述两个标准中用来评价消油剂毒性的生物种类较为单一,不能全面有效地衡量消油剂对生物的影响程度。因此,需要从多种生物及其不同生长发育阶段、生理生态指标等方面开展进一步研究,为合理评估和使用消油剂,提供客观真实、全面系统的参考依据。

### 参 考 文 献

- 于晓明, 刘海映, 张国胜, 等. 消油剂对红鳍东方鲀幼鱼的急性毒性效应. 大连海洋大学学报, 2014, 29(2): 179-182
- 王颖, 孙丽萍, 魏社林, 等. 四种水生动物对GM-2消油剂的急性毒性反应. 实验动物与比较医学, 2011, 31(4): 259-265
- 邓岳文, 杨丰华, 湛波, 等. 钻井泥浆和消油剂对合浦珠母贝稚贝的急性毒性试验. 湛江海洋大学学报, 2000, 20(4): 23-28
- 吕福荣, 熊德琪. 消油剂对马粪海胆污染效应的研究. 海洋环境科学, 2010, 29(3): 328-331
- 宋春印. 渤海消油剂使用应纳人规范化管理. 海洋信息, 1995(4): 13-14
- 陈皓鋈, 房建孟, 印春生, 等. 经消油剂处理的石油水溶组分对刺参幼参的急性毒性研究. 海洋环境科学, 2012, 31(3): 414-417
- 杨庆霄, 高光智, 粟俊, 等. 化学消油剂对孔石莼生长影响的研究. 海洋学报, 1997, 19(3): 45-49
- 杨波, 关敏, 徐汉光, 等. 几种常用消油剂对海洋生物的毒性影响. 海洋环境科学, 1991, 10(4): 14-20
- 海洋石油勘探开发常用消油剂性能指标及检验方法 HY044-1997. 国家海洋局, 1997
- 黄逸君, 陈全震, 曾江宁, 等. 原油和消油剂对海洋桡足类的急性毒性效应. 应用与环境生物学报, 2010, 16(4): 566-571
- 韩方园, 杨开亮, 邢小丽, 等. 几种溢油分散剂对斑马鱼的急性毒性研究. 上海海事大学学报, 2010, 31(3): 86-90
- 溢油分散剂技术条件 GB181881.1-2000. 北京: 中国标准出版社, 2000
- Brooke J. The Dock and Harbour. London: Foxlow Publications, 1990
- Fingas M. Oil spill clean up (second edition). New York: Lewis Publishers, 2001
- Hansen BH, Altin D, Olsen AJ, *et al.* Acute toxicity of naturally and chemically dispersed oil on the filter-feeding copepod *Calanus finmarchicus*. Ecotoxicol Environ Safety, 2012, 86(6): 38-46
- Hemmer MJ, Barron MG, Greene, *et al.* Comparative toxicity of eight oil dispersants, Louisiana sweet crude oil(LSC), and chemically dispersed LSC to two aquatic test species. Environ Toxicol Chem, 2011, 30(10): 2244-2252
- Milinkovitch T, Kanan R, Thomas-Guyon H, *et al.* Effects of dispersed oil exposure on the bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons and the mortality of juvenile *Liza ramada*. Sci Total Environ, 2011, 409(9): 1643-1650
- Nordtug, T, Olsen AJ, Altin D, *et al.* Oil droplets do not affect assimilation and survival probability of first feeding larvae of North-East Arctic cod. Sci Total Environ, 2011(412-413): 148-153
- Wilson KG, Ralph PJ. Laboratory testing protocol for the impact of dispersed petrochemicals on seagrass. Mar Poll Bull, 2012, 64(11): 2421-2427

(编辑 江润林)

## The Acute Toxicity of Dispersant and Chemically Dispersed Oil on the *Argopecten irradians*

XU Yong<sup>1,2</sup>, ZHU Jianxin<sup>1</sup>①, JIANG Tao<sup>1</sup>, LIU Wenwen<sup>1,2</sup>

(1. Key Laboratory for Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071;

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100)

**Abstract** Chemical dispersant has rapidly gained popularity in controlling unwanted oil spill in the aquatic environment, however, it exerts adverse effects on the aquatic organisms. The acute toxicity of chemical dispersant on fish, algae and zooplanktons has been widely investigated in previous studies. In the contrast, the acute toxic effects on shellfish remains unclear. In this study, we examined the acute toxic effects of chemical dispersant, dispersed 0 diesel oil (WAF) and chemically dispersed 0 diesel (CEWAF) on *A. irradians*. The test was performed within 96h, and the concentrations of chemical dispersant, WAF and CEWAF ranged from 0.50–3.00, 5.88–58.80 and 3.54–20.00 mg/L respectively. The  $LC_{50}$  values (within 95% confidence intervals) of dispersant in *A. irradians* were 1905, 1293, 1015 and 846 mg/L in the time courses of 24 h, 48 h, 72 h and 96 h respectively. The  $LC_{50}$  values of WAF were 36.57, 23.10, 14.99 and 11.31 mg/L corresponding to different time courses, and the values of CEWAF were 12.71, 8.51, 6.56 and 5.42mg/L respectively. As the time course increased from 24 h to 96 h, the median lethal concentrations ( $LC_{50}$ ) of chemical dispersant, WAF and CEWAF were decreased accordingly. The median lethal concentration and time course appeared to be highly correlated. The functions of  $LC_{50}$  (y) of dispersant, WAF and CEWAF against time (x) were  $y=12242x^{-0.583}$ ,  $y=564.37x^{-0.848}$ , and  $y=89.987x^{-0.613}$  respectively. For the same exposure time, the order of the median lethal concentrations was dispersant > WAF > CEWAF, suggesting that the acute toxicity of CEWAF on *A. irradians* was higher than dispersant and WAF.

**Key words** *Argopecten irradians*; Dispersant; No.0 diesel oil; Acute toxicity

① Corresponding author: ZHU Jianxin, E-mail: zhujx@ysfri.ac.cn