

灭幼脲 III 号与除虫脲在实验室 鱼水系统中归趋的比较研究

Margaret Haas-Jobulius

(西德辐射与环境研究中心生态化学所)

张雨元 徐盈 陈专

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

提 要

本研究选择当年草鱼为试验对象, 放入水族箱内, 分为试验组和对照组。每组两个平行样, 灭幼脲 III 号 (CCU) 和除虫脲 (DFB) 的暴露浓度分别都为 5 和 50 $\mu\text{g/L}$ 。未放鱼的水族箱作为对照。实验开始后, 分别在 0, 6, 24, 48, 72 和 120 h 后取样分析两种母体化合物浓度。CCU 和 DFB 在水中的溶解度, 用标准柱提取法测定为 0.21 mg/L 和 0.23 mg/L (温度 $19^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$), 试验鱼体内类脂含量用 1987 年 OECD 法测定为 1% (湿重计), 水样与鱼样中的 DFB 与 CCU, 分别在样品纯化步骤后用高效液相色谱法进行测定。本实验结果表明: 无论对照箱还是养鱼箱中, 同 DFB 相比, 水中 CCU 都消失得更快, 同时它在鱼体内的积累值较低 ($\text{BCF} < 100$), 说明 CCU 比 DFB 具有更强的生物可降解性。两种化学品在鱼体内的积累过程与水中暴露浓度有关。

关键词 归趋, 积累, 代谢, 降解, 鱼, 水

自国外从七十年代初期发现昆虫生长调节剂除虫脲 (Diflubenzuron, 简称 DFB) 以来^[7,9], 现已证明, 它是一种控制节枝害虫的有效制剂。对于 DFB 在环境中的归趋及其对非靶生物的影响方面已有大量报道^[1-6,8,10-13], 我国近年来自行开发的新品种灭幼脲 III 号 (Chlorobenzuron, 简称 CCU), 其化学结构与 DFB 类似, 但人们对 CCU 的环境行为及其对环境、生物的影响方面了解甚少, 本研究从这一基点出发, 选用草鱼为试验鱼, 进行了灭幼脲 III 号与除虫脲在实验室鱼水系统中归趋的比较研究, 获得了有意义的结果。

材 料 与 方 法

1. 试剂 乙晴: 紫外光谱纯, 浙江黄岩化工厂生产; 正己烷 (优级纯), 甲醇 (优级纯), 二氯甲烷 (分析纯), 均由北京化工厂生产; 超纯水由美国 Millipore 公司纯水制备装置自制; 商品化 SepPak C18 柱由美国 Waters 公司生产; 除虫脲 (DFB) 标准品由瑞士 Fluka 公司生产, 纯度大于 99%; 灭幼脲 III 号 (CCU) 标准品由吉林通化农药厂提供,

1990 年 7 月 4 日收到。

纯度大于 90%；氟罗里土，60—80 目，由美国 Sigma 公司生产，于 650℃ 烘烤 8h 后加 6% 水去活化；中性氧化铝，120—140 目，上海化学试剂厂生产，于 250℃ 烘烤 8h 后加 8% 水去活化；硅胶，100—120 目，上海化学试剂厂生产，于 150℃ 烘烤 8h 后加 8% 水去活化。

2. 试验鱼及其养殖条件 试验对象为当年 6—7 cm 小草鱼，取自本所鱼塘，试验前至少驯养两周，试验时采用经活性炭过滤的自来水，水族箱容积为 80L，室温控制在 $19 \pm 1^\circ\text{C}$ ，箱内装有充气滤头，不断充气。

3. 试验步骤 分别采用 1987 年 OECD 标准柱提取法测定 CCU 和 DFB 在水中的溶解度（室温控制在 $19 \pm 1^\circ\text{C}$ ）以及试验小草鱼体内类脂含量（以湿重计）。实验鱼 6 尾 1 组，放入水族箱内，分为试验组和对照组，每组两个平行样，CCU 和 DFB 在水中暴露浓度分别都为 5 和 50 $\mu\text{g/L}$ ，试验开始后，分别在 0, 6, 24, 72 和 120h 后取样分析两种母体化合物在水中的浓度。

4. DFB 和 CCU 的残留测定 本研究采用商品化 SepPak C18 小柱从水中固相萃取 DFB 和 CCU，SepPak C18 小柱使用前须经甲醇水活化，再用蠕动泵迫使水样缓缓通过小柱，最后收集其甲醇洗脱液，用作 HPLC 分析。鱼体中积累的母体化合物，先用乙晴（ $3 \times 20 \text{ mL}$ ）抽提整体鱼匀浆物，然后通过氟罗里土-中性氧化铝-硅胶混合柱层析分离，在经过正己烷/二氯甲烷（1:2）10 ml 和正己烷/二氯甲烷（1:1）150 ml 去杂质后，收集 50 ml 二氯甲烷洗脱液，浓缩进样分析。

5. HPLC 测定条件 美国沃特斯氨基酸分析系统（U6K-510-441-680-TCM-745 B）。色谱柱， $3.9 \times 150 \text{ mm}$ Porasil 10 μm 硅胶不锈钢柱。流动相：正己烷/二氯甲烷（1:5）；流速：1 ml/min；于 UV254 nm 检测，灵敏度 0.01 Auf.s。

结果与讨论

1. DFB 和 CCU 从养鱼水体中的消失动态

从图 1 到图 4 的结果来看，到试验的第五天，对照组中 DFB 的降解率分别为 6%

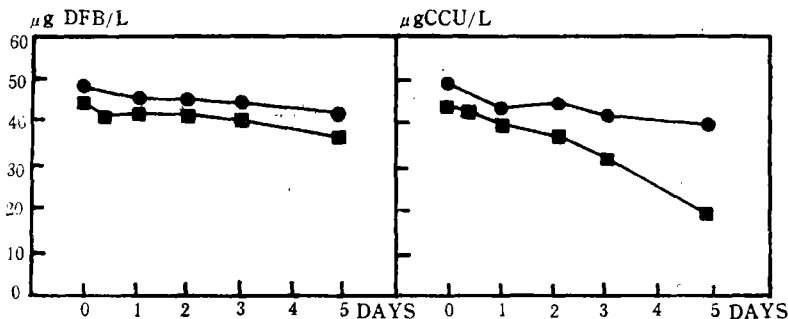


图 1 50 $\mu\text{g/L}$ 的 DFB 浓度随时间的减少

Fig. 1 Decrease in DFB at 50 $\mu\text{g/L}$

图 2 50 $\mu\text{g/L}$ 的 CCU 浓度随时间的减少

Fig. 2 Decrease in DFB at 50 $\mu\text{g/L}$

●-对照 -■-样品
control Experimental

(图注同图 1)

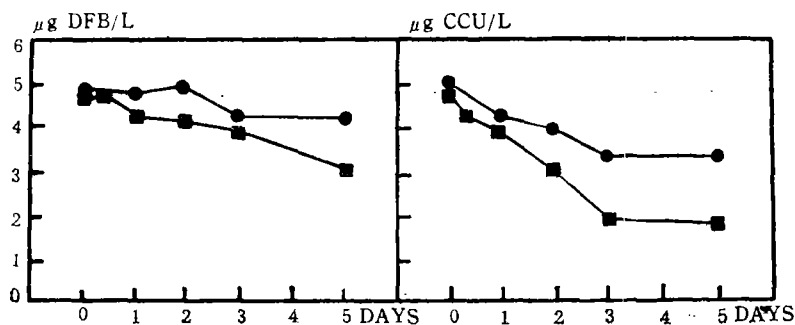


图3 5 µg/L 的 DFB 浓度随时间的减少

Fig. 3 Decrease in DFB at 5 µg/L

(图注同图 1)

图4 5 µg/L 的 CCU 浓度随时间的减少

Fig. 4 Decrease in CCU at 5 µg/L

(图注同图 1)

(50 µg/L) 和 11% (5 µg/L), 而 CCU 的降解率则为 9% (50 µg/L) 及 21% (5 µg/L), 显然, 同 DFB 相比, CCU 在水中更易发生水解反应。同时在试验组中, 鱼水系统在试验 5 天后, 水中 DFB 的浓度与其初始浓度相比较, 仅稍有降低(如图 1, 3), 而此时 CCU 的生物降解半衰期已测出为 67h 左右, 表明 CCU 在鱼水系统中, 从水体中的消失速率要比 DFB 快得多(图 2, 4)。

2. DFB 和 CCU 在鱼体内的积累

由于化学品在生物体内的积累因子 (BCF) 往往与其理化常数密切相关, 故本实验在开始前, 分别先用 OECD 法测出试验鱼的类脂含量为 1% (以湿重计), 以及两种化学品 DFB 和 CCU 在水中的溶解度(室温 19°C ± 1°C), 分别为 0.23 mg/L 和 0.21 mg/L。根据化学上的相似性原理, 将 DFB 和 CCU 分别用正反相液相色谱法考察了其色谱行为, 在反相色谱中, 水溶性大的组分先出峰而脂溶性大的后出峰, 故 DFB 的滞留小于 CCU, 在正相色谱中则正好相反, 说明 DFB 和 CCU 由于在结构上有所差异, 导致其水中溶解度也确有不同。

假定从养鱼水体中消失的 DFB 和 CCU 全部转入鱼体, 则从理论上计算出鱼体内的积累值如表 1。

表 1 暴露 5 天后草鱼组织中 DFB 和 CCU 的理论浓度

Tab. 1 Theoretical concentrations of DFB and CCU in grass carp tissue after 5 days of exposure

暴露浓度 Exposure concentration (µg/L)	50	5
DFB	15.6	3.9
(µg/g)	13.6	3.4
CCU	78.3	8.2
(µg/g)	68.4	9.0

表 2 暴露 5 天后鱼体内 DFB、CCU 生物积累因子比较表

Tab. 2 Comparative of the bioaccumulation factor (BCF) of DFB and CCU in fish body after 5 day exposure

水中暴露浓度 Exposure concentration in water ($\mu\text{g/L}$)	DFB		CCU	
	5	50	5	50
生物积累因子 BCF _s	95.91	119.35	59.69	74.69
$\text{BCF}_{\text{高}}/\text{BCF}_{\text{低}}$ $\text{BCF}_{(\text{high})}/\text{BCF}_{(\text{low})}$	1.24		1.24	
测出水中溶解度 Detected solubility in water(mg/L) ($19\pm 1^\circ\text{C}$)	0.23		0.21	

试验 5 d 后, DFB 和 CCU 在鱼水系统中, 实测鱼体内的积累值以计算的生物积累因子来表示, 现归纳于表 2。

对照表 1 与表 2 两种实测与理论结果, 可以看出 (1) 当试验鱼类脂含量为 1% (湿重计) 和水体 pH 值保持中性 (pH 7.2—7.6 左右) 时, 无论 DFB 还是 CCU, 两种化学品在鱼体内的生物积累过程, 都与其水中的暴露浓度有关, 暴露浓度高, 生物积累高, 暴露浓度提高 10 倍, 则其生物浓缩因子增大 1.24 倍左右。对照组的结果表明, 同 DFB 相比, CCU 在水中自身更易发生水解反应, 而在微生物活跃的鱼水系统中, CCU 从水体中比 DFB 消失得更快, 同时在试验 5 d 后, 测出鱼体内的积累较低, 表明 CCU 比 DFB 具有更好的生物可降解性。

参 考 文 献

- [1] Apperson, C., et al., 1978. Effects of diflubenzuron on *chaoborus sicciopus* and nontarget organisms and persistence of diflubenzuron in lentic habitats. *J. Econ. Entomol.*, 71: 521—527.
- [2] Austin, D. J. and Carter, K. J., 1986. Further studies of the deposition and persistence of binapacryl, bupirimate and diflubenzuron on apple foliage and fruit. *Pestic. Sci.*, 17: 73—78.
- [3] Austin, D. J. and Hall, K. J., 1981. A method of analysis for determination of binapacryl, bupirimate and diflubenzuron on apple foliage and fruit, and its application to persistence studies. *Pestic. Sci.*, 12: 495—502.
- [4] Bull, D. L. and Ivie, G. W., 1978. Fate of diflubenzuron in cotton, soil, and rotational crops. *J. Agric. Food Chem.*, 26: 515—520.
- [5] Hansen, S. H. and Garton, R. R., 1982. The effects of diflubenzuron on a complex laboratory stream community. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 11: 1—10.
- [6] Ivie, G. W., Bull, D. L. and Veech, J. A., 1980. Fate of diflubenzuron in water. *J. Agric. Food Chem.*, 28: 330—337.
- [7] Marx, J. L., 1977. Chitin synthesis inhibitors; new class of insecticides. *Science*, 197: 1170—1172.
- [8] Metcalf, R. L., Lu Po-Yung and Bowlus, S., 1975. Degradation and environmental fate of 1-(2,6-difluorobenzoyl)-3-(4-chlorophenyl) urea. *J. Agric. Food Chem.*, 23: 359—364.
- [9] Post, L. C. and Vincent, W. R., 1973. A new insecticide inhibits chitin synthesis. *Die Naturwiss.*, 9: 431—432.
- [10] Schaefer, C. H. and Dupras, E. F., 1976. Factors affecting the stability of dimilin in water and the persistence of dimilin in field waters. *J. agric. Food Chem.*, 24: 733—739.

- [11] Schaefer, C. H. and Dupras, E. F., 1977. Residues of diflubenzuron in pasture soil, vegetation, and water following aerial applications. *J. Agric. Food Chem.*, **25**: 1026—1030.
- [12] Schaefer, C. H., Dupras, E. F. and Stewart, R. J., 1979. The accumulation and elimination of diflubenzuron by fish. *Bull. Environ. Contam. toxicol.*, **21**: 249—254.
- [13] Wurtsbaugh, W. A. and Apperson, C. S., 1978. Effects of mosquito control insecticides on nitrogen fixation and growth of blue-green algae in natural plankton associations. *Bull. Environ. contam. Toxicol.*, **19**: 641—647.

COMPARATIVE STUDY ON THE FATE OF DIFLUBENZURON AND 1-(4-CHLOROPHENYL)-3-(2-CHLOROBENOYL) UREA IN LABORATORY WATER AND FISH

Margaret Haas-Jobuius

(*Institute of Ecological Chemistry, GSF, BRD*)

Zhang Yongyuan Xu Ying and Chen Zhuan

(*Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan 430072*)

Abstract

Grass carp were exposed to 5 and 50 µg/L of diflubenzuron (DFB) and 1-(4-chlorophenyl)-3-(2-chlorobenoyl) urea (CCU) for 5 days. Water samples were analyzed for the parent compounds after 0, 6, 24, 48 and 72 h. Tanks without fish were used as controls. Water solubilities for DFB and CCU, measured by standard column extraction method, were 0.21 mg/L and 0.23mg/L respectively (Temp. 19°C±1°C). Lipid content of fish, determined by OECD method, 1987, was 1% (wet weight). HPLC was used for residue analysis of water and fish samples after they were purified. The results showed that, compared to DFB, CCU disappeared more rapidly from water both in control and in fish tanks. Meanwhile, its bioaccumulation value in fish was relatively low (BCF₅ < 100), indicating a higher biodegradability in CCU than in DFB. The Bioaccumulation processes for both chemicals were related to their exposure concentration in water.

Key words Fate, Accumulation, Metabolism, Degradation, Fish, Water