

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20171128001

许霞, 薛银刚, 刘菲, 等. 废弃农药厂污染场地土壤浸出液的急性毒性和遗传毒性筛查[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(6): 223-232

Xu X, Xue Y G, Liu F, et al. Screening of acute toxicity and genetic toxicity of soil leachates from abandoned pesticide factory contaminated site [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(6): 223-232 (in Chinese)

废弃农药厂污染场地土壤浸出液的急性毒性和遗传毒性筛查

许霞¹, 薛银刚^{1,2,*}, 刘菲¹, 金珊², 姜逸², 蒋少杰², 施昕澜², 谢显传³

1. 常州大学环境与安全工程学院, 常州 213164

2. 常州市环境监测中心, 江苏省环境保护水环境生物监测重点实验室, 常州 213001

3. 南京大学环境学院, 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 南京 210046

收稿日期: 2017-11-28 录用日期: 2017-12-30

摘要: 污染土地再开发是城市土地可持续利用的关键。为进行废弃农药厂的生态风险评价, 采集常州市某废弃农药厂污染场地6个不同区域的土壤样品(编号为S1、S2、S3、S4、S5和S6), 选取发光细菌、大型溞和蚕豆根尖细胞为试验生物, 运用成组生物毒性试验对6个土壤样品的浸出液进行生物毒性检测。结果表明: 6个土壤样品的浸出液都具有急性毒性和遗传毒性; 发光菌和大型溞急性毒性试验表明, S3和S5的土壤浸出液毒性最高, S6的土壤浸出液毒性最低; 蚕豆根尖微核遗传毒性试验表明S3和S5的土壤浸出液毒性最高, S4和S6的土壤浸出液毒性最低。蚕豆根尖微核遗传毒性试验结果与发光菌和大型溞急性毒性效应基本相同, 表明成组生物毒性测试法可以用于污染土壤浸出液的毒性评价。污染物质和毒性检测结果的相关性分析结果表明, 土壤中所含污染物种类和浓度已经对土壤毒性效应产生影响, 结合化学分析与生物毒性检测可为污染场地进行综合评价与风险评估提供依据。

关键词: 农药厂; 土壤; 急性毒性; 遗传毒性

文章编号: 1673-5897(2017)6-223-10 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Screening of Acute Toxicity and Genetic Toxicity of Soil Leachates from Abandoned Pesticide Factory Contaminated Site

Xu Xia¹, Xue Yingang^{1,2,*}, Liu Fei¹, Jin Shan², Jiang Yi², Jiang Shaojie², Shi Xinlan², Xie Xianchuan³

1. School of Environmental and Safety Engineering, Changzhou University, Changzhou 213164, China

2. Key Laboratory of Environmental Protection of Water Environment Biological Monitoring of Jiangsu Province, Changzhou Environmental Monitoring Center, Changzhou 213001, China

3. State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, Nanjing University, Nanjing 210046, China

Received 28 November 2017 **accepted** 30 December 2017

Abstract: The redevelopment of contaminated land is the key factor on sustainable utilization of urban land. For the ecological risk assessment of abandoned pesticide plant, six soil samples (S1, S2, S3, S4, S5, S6) were collected from different regions of contaminated soil in an abandoned pesticide factory in Changzhou. Luminescent bacteria,

基金项目: 江苏省社会发展项目(BS2007026)

作者简介: 许霞(1982-), 女, 博士, 研究方向为水污染控制技术和生态毒理学, E-mail: xuxia@cczu.edu.cn

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: yzyyg@126.com

Daphnia magna, *Vicia faba* were chosen as experiment materials using a battery of bioassays to detect biological toxicity of leachates of six soil samples. Results indicated that the six leachates had acute toxicity and genetic toxicity. Acute toxicity of luminescent bacteria and *Daphnia magna* test showed that the toxicity of leachates of S3 and S5 soil samples was the highest, and the toxicity of leachate of S6 soil sample was the lowest. Micronucleus genetic toxicity test on *Vicia faba* root tip indicated that the toxicity of leachates of S3 and S5 soil samples was the highest, and the toxicity of leachate of S4 and S6 soil samples was the lowest. The effect of micronucleus genetic toxicity and the luminescent bacteria, *Daphnia magna* acute toxicity showed the same trend basically, indicating that a battery of bioassays can be used to evaluate the toxicity of contaminated soil leachates. Correlation analysis between pollutant and toxicity test results showed that the types and concentrations of pollutants in the soil had an impact on soil toxicity. The combination of chemical analysis and toxicity test can provide a basis for comprehensive evaluation and risk assessment of contaminated sites.

Keywords: pesticide factory; soil; genetic toxicity; acute toxicity

近年来,由于经济的快速发展、产业结构的调整升级,以及城市化和工业化进程的加快,大量工业企业进行了搬迁、停产或关闭,废弃的工业污染场地数量逐步增加^[1]。各类废弃的工业企业污染场地会对人类健康和生态环境造成威胁,对于存在严重污染隐患的场地,急需管理与修复^[2-3]。而废弃的污染场地大多需要进行再一次开发利用,为防范工业企业关停搬迁过程中的偷排、偷倒和不规范拆迁等行为,以防污染加重,我国环保部于2014年颁布“关于加强工业企业关停、搬迁及原址场地再开发利用过程中污染防治工作的通知”,旨在保障工业企业场地再开发利用环境的安全^[4]。

加强废弃污染场地土壤环境对人体健康和生态环境的风险评估,可为其开展风险管理和实施修复措施提供科学依据^[2]。目前,许多研究依靠土壤样品的化学分析来进行环境风险评价^[5-6],但由于废弃污染场地生产历史的复杂性,仅根据化学污染物指标对其进行生态风险评估是不全面的。生物毒性检测作为化学污染物检测的补充,是环境监测与风险管理的一种有效手段,可以用于反映污染物间的联合毒性,并通过生物指标直观地反映污染物对人类健康和生态环境的影响^[7]。Antczak等^[8]基于大型蚤的毒性机制研究人造化学品对生态系统和人体健康的危害;Ding等^[9]运用发光细菌试验对厌氧氨氧化底物和制药废水中4种抗生素的急性毒性进行探究,并依据50%抑制浓度(IC₅₀)对其单独和联合急性毒性进行评价。

土壤污染因其隐蔽性、滞后性、累积性、难治理性等特点,导致国家及公众对土壤污染的重视程度远远不够,污染土壤的综合评价对于准确反映污染场地对人体健康和生态环境产生的危害尤为重要,

而目前我国尚未建立污染土壤的综合评价方法^[10]。与单一生物毒性测试相比,成组生物毒性测试能更全面反映供试样品的综合生物毒性^[11-12]。本研究结合成组生物测试和化学分析方法对废弃的农药厂污染土壤进行评价,以期为建立中国污染土壤综合评价方法做基础性储备。所选取的毒性测试方法包括发光细菌(*Luminescent bacteria*)急性毒性试验、大型蚤(*Daphnia magna*)急性毒性试验和蚕豆根尖(*Vicia faba*)微核试验。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 实验材料

1.1.1 供试土壤

采样区位于常州市某废弃农药厂,根据土壤环境监测技术规范(HJT 166—2004),用螺旋取土钻采集该场区内6处不同区域20 cm坡面深度的土壤样品,每个采样点采集3份土壤样品,去除杂物并碾碎后混匀,采样点具体分布见表1。供试土样经风干、磨碎后过20目筛,用于后续土壤浸出液的制备。本次研究的土壤质地为粉砂壤土,土壤有机质、总氮、总磷和总钾含量分别为13.87 g·kg⁻¹、1.33 g·kg⁻¹、1.61 g·kg⁻¹和16.23 g·kg⁻¹。

1.2 土壤浸出液提取

主要参照《固体废物浸出毒性浸出方法-水平振荡法》(HJ 557—2009)^[13]制备土壤浸出液,制作过程进行少许修改。浸出液采用纯水,GB/T 6682,二级,每份浸出液做3个平行。制备过程:取20 g干试样于500 mL的锥形瓶,按液固比10:1 (L·kg⁻¹)加入浸取剂,盖紧瓶盖,将其垂直固定于水平往复恒温振荡器,振荡频率为每分钟(110±10)次,振幅为40 mm,于室温下振荡8 h后取下锥形瓶静置16 h。用

0.45 μm 微孔滤膜对浸出液进行抽滤后,存放于用 HNO₃ 浸泡 24 h 的聚乙烯瓶中,测定浸出液 pH 值后将其置于 4 ℃ 冰箱冷藏(各土壤样品浸出液 pH 分别为 S1:7.38,S2:7.31,S3:7.21,S4:7.35,S5:7.53,S6:7.41),供毒性试验使用。

1.3 生物毒性测试方法

1.3.1 发光细菌急性毒性试验

(1)供试生物

选用 ISO 发光细菌急性毒性试验标准方法所采用的菌种——费氏弧菌(*Vibrio fischeri*),购自美国 SDI 公司。

(2)实验方法和步骤

①水样相对发光度测定

发光菌冻干粉的菌体复苏:用 4 ℃ 保存的 1 mL MicroTox 稀释液复苏发光菌冻干粉(置于-22 ℃ 保存的 Microtox SOLO Reagent)15 min,用 DeltaTox 毒性检测仪(SDI,USA)读取复苏菌液的发光强度(ATP 模式下),当发光强度大于 100 万光子数时即可用于毒性实验。取水样 1 mL,加入 0.1 mL 渗透压调节溶液,混匀后用 DeltaTox 毒性检测仪进行实验(B-Tox 模式下),先读取 0.1 mL 复苏菌液的发光强度,再取调节渗透压后的水样 0.9 mL 加入到 0.1 mL 复苏菌液中,混匀后恒温 5 min 后测其相对发光度,每组试验做 3 个平行,对照组为 MicroTox 稀释液。

②质量保证和质量控制

按照①的测试步骤,2.2 mg·L⁻¹ Zn²⁺ 的相对发光度在 20~80 之间;步骤②中发光菌的 CF 值在 0.6~1.8 之间。

1.3.2 大型蚤急性毒性实验

(1)供试生物

供试蚤(*Daphnia magna*)取自中国科学院水生生物研究所,经分类鉴定后,用孤雌生殖法获取水蚤单克隆纯品系,以斜生栅藻为饵进行培养,获得纯品系

生物株。

(2)实验方法和步骤

①预试验

在正式实验之前,先进行较大范围浓度系列(如 0.1~100 mg·L⁻¹)的预实验,从而为正式试验设置受试物的浓度。预实验每个浓度放置 5 个幼蚤,设置 4 组平行组,持续时间 48 h 后观察结果,找出被测水样使大型蚤全部产生活动抑制的最低浓度和最大耐受浓度的范围。

②正式试验

根据预试验的结果,按几何级数的浓度系列设计 6 个浓度的试验液,每个浓度 4 组平行,同时设置空白对照(各 4 组),各土壤浸出液正式试验稀释浓度梯度分别设置为: S1 和 S4 为 0.39%、0.78%、1.56%、3.13%、6.25%、12.5%; S2 和 S6 为 3.125%、6.25%、12.5%、25%、50%、100%; S3 和 S5 为 0.05%、0.1%、0.2%、0.4%、0.8%、1.6%。将每个浓度和每个对照组各放 5 个幼蚤,试验期间不再喂食,试验温度控制在 18~22 ℃,持续 48 h 后记录每个浓度大型蚤活动受抑制数,计算 48 h-EC₅₀ 值。

③质量保证和质量控制

用分析纯重铬酸钾测定试验用大型蚤 24 h-EC₅₀ 在 0.5~1.2 mg·L⁻¹ 之间;实验中空白对照未出现不活动大型蚤。

1.3.3 蚕豆根尖微核试验

(1)试验材料

试验所用的蚕豆(*Vicia faba*)品种为松滋青皮豆,是筛选出的较为敏感的品种,购于江苏省常州市竹林菜市场。

(2)实验方法和步骤

将松滋青皮豆放入盛有自来水的烧杯中,于 25 ℃ 的恒温箱中浸泡 26~30 h,待种子吸胀后,取出种子,用纱布包裹放入恒温箱内催芽 12~30 h。选取

表 1 废弃农药厂土壤样品分布情况
Table 1 Distribution of soil samples in the waste pesticide factory

样品 Samples	位置 Location	经度 Longitude (E)	纬度 Latitude (N)
S1	办公区 Office	119°58'34.4"	31°51'14.4"
S2	污水处理区 Sewage treatment	119°58'41.1"	31°51'19.6"
S3	辅助设施区 Auxiliary facility	119°58'39.9"	31°51'26.1"
S4	危险品仓库区 Dangerous goods warehouse	119°58'41.3"	31°51'20.3"
S5	车间内 Inside the workshop	119°58'39.4"	31°51'23.4"
S6	厂区外 Outside the factory	119°59'14.7"	31°50'56.1"

初生根生长良好、根长一致种子,放于盛有被测水样的培养皿中,用蒸馏水处理做对照;处理6 h后将种子洗净,放于恒温箱中恢复培养24 h;将恢复后的种子用卡诺固定液固定24 h;固定好的幼根用蒸馏水浸洗2次后加入 $5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl淹没幼根,于 28°C 水浴锅中水解至幼根被软化;蒸馏水浸洗2次,碱性品红染色10 min,加盖玻片压片。在数码显微镜BSmart zoom 5(Carl Zeiss Jena, Germany)下镜检观察并拍照。

(3) 质量保证与质量控制

对于严重污染的土壤,其浸出液可能造成根尖死亡,应稀释后再做检测。

1.4 数据处理

实验数据用Excel软件(2010版本)计算平均值和标准偏差。(1)发光细菌相对发光度由Deltatox系统计算得出;(2)大型蚤48 h-EC₅₀值和95%置信区间用SPSS软件(22.0版本)计算得出;(3)蚕豆根尖微核试验中各测试样品的微核千分率(MCN‰)计算方法见公式(1),污染指数(PI)判别方法见公式(2)。

$$\text{MCN}\% = \frac{\text{某测试样品观察到的MCN数}}{\text{某测试样品观察到的细胞数}} \times 1000\% \quad (1)$$

$$\text{PI}\% = \frac{\text{样品实测MCN}\% \text{平均值}}{\text{对照组MCN}\% \text{平均值}} \times 1000\% \quad (2)$$

2 结果 (Results)

2.1 发光菌急性毒性实验

实验结果根据中国科学院南京土壤所发光菌毒性分级标准(表2)进行判定^[11],结果如图1所示。该废弃农药厂6个点位土壤样品浸出液的发光细菌急性毒性测试结果表明,6个点位的土壤样品毒性检出率为100%。其中S3和S5的土壤浸出液对发光细菌的抑制作用最强,其发光细菌急性毒性检测结果为重毒;S1、S2和S4的土壤浸出液毒性比S3和S5弱,属于中毒;S6的土壤浸出液毒性最小,为低毒。

表2 发光细菌急性毒性级别

Table 2 Acute toxicity level of luminescent bacteria

相对发光率(L)/%	毒性级别
Relative luminous intensity (L)/%	Toxicity level
$70 < L \leq 90$	低毒 Low toxic
$50 < L \leq 70$	中毒 Moderate toxic
$30 < L \leq 50$	重毒 Severe toxic
$0 < L \leq 30$	高毒 Highly toxic
$L = 0$	剧毒 Toxic

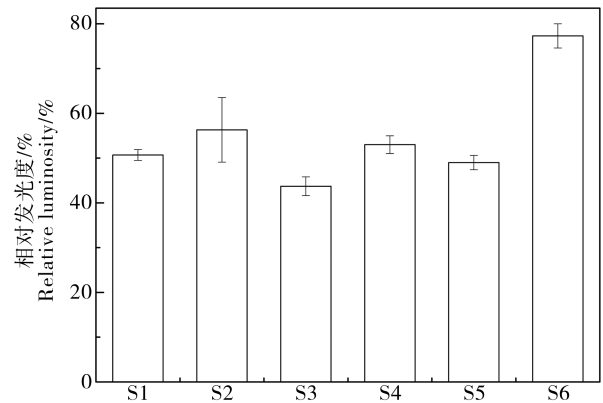


图1 土壤浸出液发光细菌急性毒性结果

Fig. 1 Results of luminescent bacteria acute toxicity of soil leachates

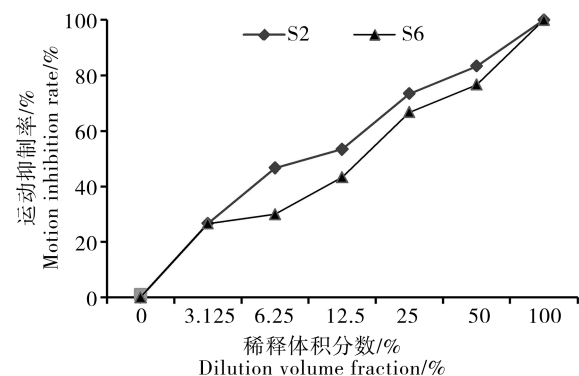
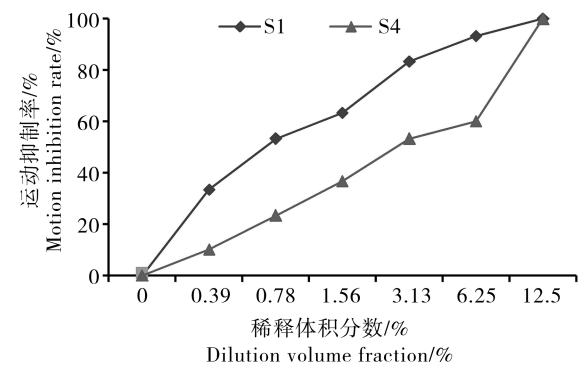
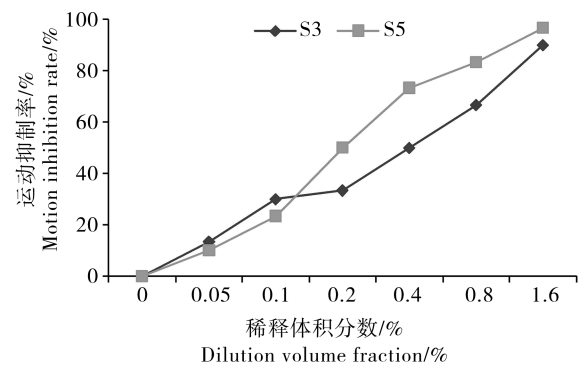


图2 土壤浸出液大型蚤运动抑制剂量-效应关系

Fig. 2 Dosage-response relationship of soil leachates on *Daphnia magna* immobilization

2.2 大型蚤急性毒性结果

土壤浸出液大型蚤运动抑制剂量-效应关系(图 2)表明,空白对照组大型蚤均未出现死亡和运动受抑制等异常症状。S1 和 S3 的土壤浸出液原液对大型蚤均具有很高的毒性效应,48 h 后对大型蚤运动抑制率为 100%。S1 和 S4 在土壤浸出液稀释体积分数为 12.5% 时,所有实验组大型蚤均出现死亡或运动受抑制现象;而 S3 和 S5 在土壤浸出液稀释体积分数为 1.6% 时,大型蚤运动抑制率分别为 90% 和 96.67%。

农药厂土壤浸出液大型蚤急性毒性结果如表 3 所示,急性毒性评价标准参照《水和废水监测分析方法》(第四版)-蚤类急性活动抑制毒性分级标准(48 h-EC₅₀ ≤ 1: 极高毒, 1 < 48 h-EC₅₀ ≤ 10: 高毒, 10 < 48 h-EC₅₀ < 100: 中毒, 48 h-EC₅₀ > 100: 低毒)^[14]。6 个点位的土壤浸出液样品大型蚤急性毒性检测结果表明:S3 和 S5 的土壤浸出液对大型蚤的抑制作用最为明显,其浸出液检测结果为极高毒,S1、S2 和 S4 为高毒,S6 为中毒,检测结果与发光细菌急性毒性结果基本相同。

2.3 蚕豆根尖微核实验

农药厂土壤浸出液蚕豆根尖微核实验结果见表

4,根据《水和废水监测分析方法》(第四版)中污染指数(PI)判别法(污染指数在 0~1.5 区间为基本无污染;1.5~2 区间为轻污染;2~3.5 区间为中污染;3.5 以上为重污染)进行污染情况的鉴定^[14]。S3 和 S5 的遗传毒性检测结果为重污染,S1、S4 和 S6 为中污染,S2 为轻污染。与急性毒性检测结果进行对比发现,除 S2 和 S6 点位的土壤浸出液遗传毒性与急性毒性的检测结果略有不同,其余点位样品的急性毒性和遗传毒性效应基本一致。

3 讨论 (Discussion)

3.1 废弃农药厂污染场地土壤浸出液的急性毒性和遗传毒性筛查结果

生物毒性检测是基于生态毒理学而发展的检测方法,主要用于研究有毒有害物质对生态系统中的生物所造成的分子、细胞、器官、个体和群落等不同生命层次的损伤,是能直观反映环境介质中所有共存污染物整体效应的生物学方法^[15]。发光细菌和大型蚤是目前国际广泛认可的测试生物,由于其快速、有效和费用低等特点,被广泛用于化学品、农药以及工业废水的风险评估和监测^[16-17]。蚕豆根尖微核遗传毒性试验是适用于分析化学物质对生物产生毒害

表 3 土壤浸出液大型蚤急性毒性结果
Table 3 Results of *Daphnia magna* acute toxicity of soil leachates

样品 Samples	大型蚤 48 h-EC ₅₀ /‰ <i>Daphnia magna</i> 48 h-EC ₅₀ /‰	95% 置信区间/% 95% Confidence interval/%	毒性 Toxicity
S1	6.15	0.32~9.50	高毒 Highly toxic
S2	8.65	5.79~11.89	高毒 Highly toxic
S3	0.57	0.33~0.83	极高毒 Extremely toxic
S4	2.52	3.99~8.42	高毒 Highly toxic
S5	0.33	0.24~0.43	极高毒 Extremely toxic
S6	14.94	10.38~21.16	中毒 Moderate toxic

表 4 土壤浸出液蚕豆根尖微核结果
Table 4 Results of micronucleus genetic toxicity test on *Vicia faba* root tips of soil leachates

样品 Samples	微核千分率/% Micronucleus (MCN)‰	污染指数(PI) Pollution index (PI)	污染情况 Pollution situation
S1	12.1±1.2	3.4	中污染 Moderately polluted
S2	6.45±1.3	1.8	轻污染 Lightly polluted
S3	17.6±1.1	4.9	重污染 Heavily polluted
S4	11.7±1.1	3.2	中污染 Moderately polluted
S5	14.5±1.4	4.0	重污染 Heavily polluted
S6	7.97±1.1	2.2	中污染 Moderately polluted

的遗传毒理学方法,在环境监测中得到了广泛应用^[18]。宋晓威等^[3]利用发光细菌、大型溞和斜生栅藻3种受试生物检测废弃农药厂浅层地下水的急性毒性,结果表明:3种受试生物的敏感性虽有所不同,但毒性效应均随着时间的增加有所增大。本次研究运用成组生物毒性试验对农药厂污染场地土壤进行研究,首先通过发光细菌急性毒性试验进行土壤浸出液毒性级别筛选,同时结合大型溞急性毒性实验做进一步毒性监测与评价,并补充蚕豆根尖微核试验对污染土壤浸出液进行遗传毒性检测,从而建立适用于污染土壤生物毒性综合评价的方法。

由表5可以看出,2种急性毒性试验结果基本一致,3种毒性测试方法的结果具有较好的一致性,适用于农药厂污染场地的毒性分析。比较3种毒性试验对土壤样品的测试结果,发光细菌和大型溞相对来说较为敏感,其中发光细菌毒性试验周期最短,可用于土壤浸出液毒性级别的初步筛选,但发光菌抑制实验容易受到各种因素干扰,准确性较差;大型溞培养方便且对许多毒物敏感,被广泛用于水生生态毒理学研究;从本次研究结果来看,综合2种毒性试验更能全面地反映土壤样品的急性毒性;蚕豆根尖是微核技术检测常用的材料,可以用于反映污染土壤中存在的潜在遗传危害^[18],通过蚕豆根尖微核试验可以看出农药厂的土壤污染对遗传毒性也造成了一定影响(表5);可见,运用成组生物毒性更利于准确地生物毒性评价^[19]。

3.2 生物毒性试验结果与理化分析结果的相关性

该废弃农药厂由于长期的农药生产、加工和运输过程中掺杂多种污染物质,已对土壤环境造成了较大程度的影响,通过对农药厂不同点位的土壤进行毒性测试,发现该污染场地多处场所的土壤具有生物毒性,且部分点位的土壤毒性非常大,对生态环境和人体健康具有一定的危害。章霖之等^[20-21]和何

欢等^[22]对该农药厂土壤所含有的挥发性有机污染物(volatile organic compounds, VOCs)和多环芳烃(poly-cyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)进行调查(表6),发现该农药污染场地土壤中挥发性有机污染物以苯系物为主,同时还检出14种多环芳烃,其中苯是人类致癌物,甲苯、乙苯、二甲苯以及其他多环芳烃也都具有不同程度的“致突变、致癌和致畸”作用^[23-25],此类持久性有机污染物不仅对人体有潜在危害^[26],同时会对土壤中的生物具有毒性效应。目前,有16种多环芳烃已被美国环境保护署列为优先污染物^[27],由于其不易溶于水,具有高度的亲脂性^[28],致使在生物体内逐级富集^[29]。此次研究区域土壤中多环芳烃类污染物以萘、菲、苯并[k]荧蒽和芘为主,这些物质可能对土壤中存在的生物产生不利影响^[30]。由表7可以看出,该农药厂污染土壤中含有甲萘酚、乙草胺、丁草胺和扑虱灵等农药成分,以扑虱灵的浓度最高,其中危险品库和辅助设施区土壤中所含农药成分最高。农药在土壤中的长期存留不仅对生态环境产生负面影响,同时危害土壤中的生物^[31]。

由表6可以看出,生产车间内(S5)的土壤所含多环芳烃和挥发性有机物浓度最高,其次是辅助设施区域(S3),同时S3和S5点位土壤中农药的检出浓度较高。综合该研究区域土壤理化指标分析结果与生物毒性试验结果可知,含污染物浓度较高的研究场所(S3和S5),发光菌和大型溞急性毒性试验结果分别为重毒和极高毒,蚕豆根尖微核试验结果为重污染;含污染物浓度最低的研究场所(厂区外:S6),发光菌和大型溞急性毒性试验结果分别为低毒和中毒,蚕豆根尖微核试验结果为中污染;不难看出,土壤中所含污染物浓度已经对土壤毒性效应产生影响,污染物浓度较高的场所,其毒性作用也较高,生物毒性检测结果与理化分析结果呈现出较好的相关性。

表5 农药厂污染土壤生态毒性诊断结果

Table 5 Ecotoxicity diagnosis of contaminated site in the waste pesticide factory

样品 Samples	急性毒性(发光细菌) Acute toxicity (Luminescent bacteria)	急性毒性(大型溞) Acute toxicity (<i>Daphnia magna</i>)	遗传毒性(蚕豆根尖) Genetic toxicity (<i>Vicia faba</i> root tip)
S1	中毒 Moderate toxic	高毒 Highly toxic	中污染 Moderately polluted
S2	中毒 Moderate toxic	高毒 Highly toxic	轻污染 Lightly polluted
S3	重毒 Severe toxic	极高毒 Extremely toxic	重污染 Heavily polluted
S4	中毒 Moderate toxic	高毒 Highly toxic	中污染 Moderately polluted
S5	重毒 Severe toxic	极高毒 Extremely toxic	重污染 Heavily polluted
S6	低毒 Low toxic	中毒 Moderate toxic	中污染 Moderately polluted

表 6 农药厂污染土壤中挥发性有机物和三环芳烃检出浓度

Table 6 Detection concentration of volatile organic compounds (VOCs) and polycyclic aromatic hydrocarbons in pesticide contaminated soil						
多环芳烃 Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs)	含量范围/(mg·kg ⁻¹) Content range/(mg·kg ⁻¹)	挥发性有机物 VOCs	含量范围/(mg·kg ⁻¹) Content range/(mg·kg ⁻¹)	采样区域 Sampling area	多环芳烃(mg·kg ⁻¹) Σ PAHs(mg·kg ⁻¹)	挥发性有机物(mg·kg ⁻¹) Σ VOCs(mg·kg ⁻¹)
萘 Naphthalene	0.009~0.295	二氯甲烷 Dichloromethane	0~0.048	办公区 Office	0~1.213	0~0.049
苊 Fluorene	0.001~0.038	三氯甲烷 Trichloromethane	0~1.140	危险品库 Dangerous goods warehouse	0.081~0.835	0.075~2.140
菲 Phenanthrene	0.004~0.142	苯 Benzene	0~2.160	车间内 Inside the workshop	0.048~1.546	0~55.600
蒽 Anthracene	0.001~0.063	甲苯 Toluene	0~55.200	车间外 Outside the workshop	0.03~0.615	0.007~1.210
荧蒽 Fluoranthene	0.001~0.260	乙苯 Ethylbenzene	0~10.700	辅助设施区 Auxiliary facility	0.259~0.835	0~2.210
芘 Pyrene	0.0025~0.536	二甲苯 Xylene	0~14.700	厂区内 Outside the factory	ND	/
苯并[a]蒽 Benzo [a] anthracene	0.0010~0.106			污水处理区 Sewage treatment	/	0.283~1.360
屈 Chrysene	0.001~0.0555					
苯并[b]荧蒽 Benzo [b] fluoranthene	0.001~0.0111					
苯并[k]荧蒽 Benzo [k] fluoranthene	0.100~0.327					
苯并[a]芘 Benzo [a] pyrene	0.001~0.0814					
茚并[1,2,3]芘 Indeno[1,2,3] pyrene	0.001~0.098					
二苯并[a,h]蒽 Dibenz [a,h] anthracene	0.001~0.0491					
苯并[ghi]芘 Benzo [ghi] perylene	0.001~0.117					

注：ND 表示污染物未检出，/表示未研究该区域样品。
Note: ND indicates the contaminant was not detected, / indicates the sample was not studied.

表 7 农药厂污染土壤中农药检出浓度
Table 7 Detection concentration of pesticides in pesticide contaminated soil

	甲萘酚 α-Naphthol	乙草胺 Acetochlor	丁草胺 Butachlor	扑虱灵 Buprofezin
办公区 Office	/	/	/	/
危险品库 Dangerous goods warehouse	/	/	/	/
车间内 Inside the workshop	0.100~15.200	0.090~2.250	0.020~2.200	0.170~4.100
车间外 Outside the workshop	ND	ND	ND	0~0.566
辅助设施区 Auxiliary facility	0.350~15.200	1.770~2.250	0.020~2.200	0.300~0.340
厂区外 Outside the factory	ND	ND	ND	ND
污水处理区 Sewage treatment	ND	ND	ND	2.680~13.400

注：ND 表示污染物未检出，/表示未研究该区域样品。
Note: ND indicates the contaminant was not detected, / indicates the sample was not studied.

综上所述,综合发光细菌急性毒性试验、大型蚤急性毒性实验和蚕豆根尖微核试验进行土壤浸出液毒性级别筛选、监测与评价,建立污染土壤生物毒性综合评价方法对于准确和全面地反映农药厂污染场地对人体健康和生态环境产生的危害具有重要意义。同时研究结果表明土壤的生物毒性跟其中所含的污染物质密切相关,毒性试验结果与土壤理化指标具有较好的相关性,可见,结合化学分析与生物毒性检测是进行污染土壤综合评价和危害识别的重要手段。

通讯作者简介:薛银刚(1981-),男,江苏常州人,博士,高级工程师,主要从事生态毒理学和生物监测,发表论文 50 余篇。

参考文献 (References) :

[1] 李玮,王明玉,韩占涛,等.棕地地下水污染修复技术筛选方法研究——以某废弃化工厂污染场地为例[J].水文地质工程地质,2016,43(3):131-140
Li W, Wang M Y, Han Z T, et al. Screening process of brownfield site groundwater remedial technologies: A case study of an abandoned chemical factory contaminated site [J]. Hydrogeology and Engineering Geology, 2016, 43(3): 131-140 (in Chinese)

[2] Wcisło E, Bronder J, Bubak A, et al. Human health risk assessment in restoring safe and productive use of abandoned contaminated sites [J]. Environment International, 2016, 94: 436-448

[3] 宋晓威,徐建,张孝飞,等.废弃农药厂污染场地浅层地下水生态毒性诊断研究[J].农业环境科学学报,2011,30(1):42-48
Song X W, Xu J, Zhang X F, et al. Ecology toxicity diagnostic research on an abandoned pesticide factory contam-

inated site of shallow groundwater [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2011, 30(1): 42-48 (in Chinese)

[4] 中华人民共和国环境保护部.关于加强工业企业关停、搬迁及原址场地再开发利用过程中污染防治工作的通知(环发[2014]66号)[EB/OL]. (2015-05-14) [2017-11-22]. http://www.zhb.gov.cn/gkml/hbb/bwj/201405/t20140519_275216.htm

[5] Wang L J, Lu X W, Li L Y, et al. Content, speciation and pollution assessment of Cu, Pb and Zn in soil around the lead-zinc smelting plant of Baoji, NW China [J]. Environmental Earth Sciences, 2015, 73(9): 1-8

[6] Kowalska J, Mazurek R, Gasiorek M, et al. Soil pollution indices conditioned by medieval metallurgical activity—A case study from Krakow (Poland) [J]. Environmental Pollution, 2016, 218: 1023-1036

[7] 吴晓亭.成组生物毒性检测的污水及再生水水质安全评价[D].西安:西安建筑科技大学,2016:1-3
Wu X T. Safety evaluation for wastewater and reclaimed water using a battery of bioassay [D]. Xi'an: Xi'an University of Architecture and Technology, 2016: 1-3 (in Chinese)

[8] Antczak P, White T A, Giri A, et al. A systems biology approach reveals a novel calcium-dependent mechanism for basal toxicity in *Daphnia magna* [J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(18): 11132-11140

[9] Ding S, Wu J W, Zhang M, et al. Acute toxicity assessment of ANAMMOX substrates and antibiotics by luminescent bacteria test [J]. Chemosphere, 2015, 140: 174-183

[10] 陈海滨.基于人体健康风险评估的污染场地管理与修复研究[D].兰州:兰州大学,2009:2-6
Chen H B. Research on the contaminated site management and remediation based on the human health risk assess-

- ment [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2009: 2-6 (in Chinese)
- [11] 邹叶娜, 蔡焕兴, 薛银刚, 等. 成组生物毒性测试法综合评价典型工业废水毒性[J]. 生态毒理学报, 2012, 7(4): 381-388
Zou Y N, Cai H X, Xue Y G, et al. Synthetic evaluation on toxicity of typical industrial effluents using a battery of bioassays [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2012, 7(4): 381-388 (in Chinese)
- [12] 张秋亚, 马晓妍, 王晓昌, 等. 基于 A²/O 处理工艺的生活污水的成组生物毒性评价[J]. 环境科学, 2017(3): 1084-1092
Zhang Q Y, Ma X Y, Wang X C, et al. Biological toxicity evaluation of domestic wastewater based on A²/O treatment processes using a battery of bioassays [J]. Environmental Science, 2017(3): 1084-1092 (in Chinese)
- [13] 中华人民共和国环境保护部. HJ 557—2009 固体废物浸出毒性浸出方法 水平振荡法[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2010
Ministry of Environmental Protection of the People's Republic of China. HJ 557-2009 Solid Waste-Extraction Procedure for Leaching Toxicity—Horizontal Vibration Method [S]. Beijing: China Environmental Science Press, 2010 (in Chinese)
- [14] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法(第四版) [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 776, 824
State Environmental Protection Administration. Water and Wastewater Monitoring and Analysis Method (Fourth Edition) [M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2002: 776, 824 (in Chinese)
- [15] 赵春桃. 基于生物毒性测试的水质安全评价方法及其应用研究[D]. 北京: 首都师范大学, 2014: 2-5
Zhao C T. Study on water quality safety assessment method and its application based on biotoxicity test [D]. Beijing: Capital Normal University, 2014: 2-5 (in Chinese)
- [16] Kuznetsov A M, Rodicheva E K, Medvedeva S E. Bio-testing of effluent and river water by lyophilized luminous bacteria biotest [J]. Field Analytical Chemistry and Technology, 2015, 2(5): 267-275
- [17] Gao Y, Lin Z F, Chen R, et al. Using molecular docking to compare toxicity of reactive chemicals to freshwater and marine luminous bacteria [J]. Molecular Informatics, 2012, 31(11-12): 809-816
- [18] 黄德超, 任强, 刘蓉, 等. 纳米银污染对蚕豆根尖微核率影响及评价研究[J]. 生态环境学报, 2016, 25(4): 711-714
Huang D C, Ren Q, Liu R, et al. Research on the influence and evaluation of nano-silver pollution on the micro-nucleus rate of the root tip of *Vicia faba* [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2016, 25(4): 711-714 (in Chinese)
- [19] 阴琨, 赵淑莉, 郭辰, 等. 淮河流域安徽段水体成组生物毒性评价[J]. 生态毒理学报, 2015, 10(6): 93-100
Yin K, Zhao S L, Guo C, et al. Evaluation on water bodies in Anhui section of Huaihe River Basin by a battery of bioassays [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2015, 10(6): 93-100 (in Chinese)
- [20] 章霖之, 王荣俊, 丁倩. 常州某农药生产场地土壤中挥发性有机物污染状况调查[J]. 中国环境监测, 2012, 28(3): 67-71
Zhang L Z, Wang R J, Ding Q. Investigation of volatile organic compounds contamination in soil of a pesticide production site in Changzhou [J]. Environmental Monitoring in China, 2012, 28(3): 67-71 (in Chinese)
- [21] 章霖之, 刘廷凤, 丁倩, 等. 农药企业搬迁土地挥发性有机物风险评价[J]. 环境监控与预警, 2014, 6(1): 49-52
Zhang L Z, Liu T F, Ding Q, et al. Risk assessment of pesticides enterprise relocation land contaminated by VOCs [J]. Environmental Monitoring and Forewarning, 2014, 6(1): 49-52 (in Chinese)
- [22] 何欢, 刘廷凤, 孙成, 等. 农药企业搬迁土地多环芳烃的风险评价[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(3): 482-486
He H, Liu T F, Sun C, et al. Risk assessment of a brown-field contaminated by PAHs at Changzhou, China [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2011, 30(3): 482-486 (in Chinese)
- [23] Zhang W, Wang H, Zhang R, et al. Bacterial communities in PAH contaminated soils at an electronic-waste processing center in China [J]. Ecotoxicology, 2010, 19(1): 96-104
- [24] Varjani S J, Gnansounou E, Pandey A. Comprehensive review on toxicity of persistent organic pollutants from petroleum refinery waste and their degradation by microorganisms [J]. Chemosphere, 2017, 188: 280-291
- [25] Bhattacharya S S, Syed K, Shann J, et al. A novel P450-initiated biphasic process for sustainable biodegradation of benzo [a] pyrene in soil under nutrient-sufficient conditions by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* [J]. Journal of Hazardous Materials, 2013, 261: 675-683
- [26] Meckenstock R U, Boll M, Mouttaki H, et al. Anaerobic degradation of benzene and polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 2016, 26(1-3): 92-118
- [27] United States Environmental Protection Agency. 2012 E-

- dition of the Drinking Water Standards and Health Advisories [S]. Washington DC: Office of Water, 2012
- [28] Beškoski V P, Gojgić-Cvijović G, Milić J, et al. *Ex situ* bioremediation of a soil contaminated by mazut (heavy residual fuel oil)—A field experiment [J]. *Chemosphere*, 2011, 83(1): 34-40
- [29] Varjani S J. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons [J]. *Bioresource Technology*, 2016, 223: 277-286
- [30] 贾成俊, 赵淑莉, 翟超英, 等. 农村饮用水中多环芳烃的致癌风险评价[J]. *环境与健康杂志*, 2015, 32(12): 1087-1091
- Jia C J, Zhao S L, Zhai C Y, et al. Carcinogenic risk assessment on polycyclic aromatic hydrocarbons in some rural drinking water [J]. *Journal of Environment and Health*, 2015, 32(12): 1087-1091 (in Chinese)
- [31] 姜锦林, 单正军, 周军英, 等. 常用农药对赤子爱胜蚓急性毒性和抗氧化酶系的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2017, 36(3): 466-473
- Jiang J L, Shan Z J, Zhou J Y, et al. Influence of commonly used pesticides on acute toxicity to earthworm *Eisenia fetida* and alteration of antioxidant enzyme activities [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(3): 466-473 (in Chinese) ◆