

几种海洋抗污损化合物的单一与联合毒性效应评价

靳翠丽^{1,2}, 许明景², 胡波², 朱鸿辰², 张立奎^{1,2}, 周晓见^{1,2}

(1. 扬州大学环境科学与工程学院, 江苏 扬州 225127;

2. 扬州大学海洋科学与技术研究所, 江苏 扬州 225127)

摘要:本文研究了目前广泛应用的防污涂料毒性添加剂 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea (Diuron)、2-methylthio-4-t-butylamino-6-cyclopropylamino-s-triazine (Irgarol 1051)、triphenylborane pyridine (TPBP)、Zinc pyrithione (Zn-Pt)、Zinc bis(dimethyl thiocarbamate, Ziram)、 Cu^{2+} 的单一毒性和二元混合毒性。结果表明:对卤虫而言,6种化合物单一毒性按强弱排序为 TPBP > Diuron > Ziram > CuSO_4 > Irgarol 1051 > Zn-Pt, 它们对卤虫 48 h 的 LC_{50} 分别为 CuSO_4 9.1 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ 、Diuron 8.0 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ 、Irgarol 1051 12.0 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ 、TPBP 0.07 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ 、Zn-Pt 30.9 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ 、Ziram 8.2 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ 。对卤虫的二元联合毒性实验采用混合毒性指数法(MTI)评价,结果显示:共有8个组合具有协同效应,包括 Irgarol 1051/Diuron、Irgarol 1051/TPBP、Irgarol 1051/Ziram、Irgarol 1051/Zn-Pt、Irgarol 1051/ CuSO_4 、Diuron/TPBP、Ziram/ CuSO_4 以及 Zn-Pt/ CuSO_4 。其中 Irgarol 1051/Ziram 组合的 MTI 值高达 2.740, Zn-Pt/ CuSO_4 组合更高达 5.621。发现8个协同效应组合中有5个和 Irgarol 1051 有关,表明 Irgarol 1051 在基于毒性的防污涂料配方中有其良好的适应性,但进入海洋环境的 Irgarol 1051 具有引起较强生物毒性的环境风险。另有5个组合 Diuron/Zn-Pt、Diuron/ CuSO_4 、TPBP/Ziram、TPBP/Zn-Pt、Ziram/Zn-Pt 表现为一定程度拮抗作用,应在防污涂料配制中尽量避免同时使用。

关键词:海洋生物学;海洋抗污损化合物;卤虫;毒性联合效应;协同效应

DOI:10.3969/J. ISSN. 2095-4972. 2017. 03. 010

中图分类号:P735

文献标识码:A

文章编号:2095-4972(2017)03-0372-07

在船体和其他海上人工设施表面涂刷防污涂料,可防止海洋生物的污损。最初的防污涂料是在浸海船体上涂抹含焦油、沥青、硫磺或砷的混合物^[1-2]。18世纪开始,含铅涂料、含铜涂料已经开始出现,到19世纪中期,氧化铜、氧化汞和砷等均被用作防污涂料的有效成分^[1-3]。20世纪60年代含三丁基有机锡(tributyltin, TBT)防污涂料因其长效性和广谱高毒性,被大规模运用于船体防污^[2,4]。但大量研究表明,有机锡的使用严重影响非目标海洋生物如牡蛎、鱼类的生长发育,对其免疫系统、生殖系统等产生不可逆的破坏,引起各国政府和国际机构的重视,被陆续限制或禁止使用^[2,4-5]。2001年国际海事组织决定:从2008年起全面禁止有机锡的在船舶防污涂料中的使用^[2,4-5]。

目前市场上主流防污涂料产品是以含铜和有机杀生剂为主的防污剂^[1-3,5-6]。其中,广泛使用的有机杀虫剂,被认为是 TBT 替代品,主要有 Diuron、Irgarol 1051、TPBP、Zn-Pt、Ziram 等近 20 种,各国的具体限制措施也有差异,例如,英国健康安全局允许其中 Irgarol 1051、Diuron、Chlorothalonil、Dichlofluanid、Sea-Nine 211、TCMTB、TCMS Pyridine、Zineb、Zn-Pt 等,而日本造船协会不许可其中的 TCMTB,增加了 TPBP、Ziram、Thiram、2,4,6-三氯代苯基顺丁烯二酰亚胺、二碘代甲基-对甲苯基磺内酯和丁基氨基甲酸 3-碘代-2-丙炔脂、N-(氟代二氯化甲基硫)苯邻二甲酰亚胺等^[1-3,5-7]。但各国都十分关注这些化合物对环境的危害,在目前无毒高效抗污损化合物研究进展缓慢的情况下,一般的原则是禁止使用高生物富

收稿日期:2016-07-29

基金项目:国家自然科学基金资助项目(41306131,41271521);教育部科学技术研究重点资助项目(211065);江苏省自然科学基金资助项目(BK20130440);江苏省教育厅高校自然科学基金资助项目(13KJB180029);扬州大学大学生科技创新资助项目

作者简介:靳翠丽(1976~),女,博士,讲师;E-mail:cljin@yzu.edu.cn

通讯作者:周晓见(1976~),男,博士,教授;E-mail:zhouxiaojian@yzu.edu.cn

集性、难降解的持久性化合物,尽可能使用低生物富集、在海水中可较快降解的化合物^[2,7-10]。

有关抗污损化合物的环境安全性研究,已在海洋环境中的分析监测、模拟降解、毒性效应等方面取得进展^[3,11-13]。但实际上,这些化合物在涂料或环境中,都是与其他物质处于混合状态的;而且进入海水后,其毒性可能受海水中离子浓度、pH 值等的影响而发生改变,对环境的危害程度就变得难以预测^[7,12-14]。另外,目前业内大量使用的抗污损化合物,其起效机制仍然是非选择性的生物毒性,而且防污涂料中一般都是含有多种毒性化合物的组合。所以,利用具有协同效应而避免具有拮抗效应的化合物组合,可以减少防污涂料中毒物用量,降低毒物进入环境的总量^[12-13]。但迄今对抗污损化合物的联合毒性作用的报道尚不充分^[12-13]。

本文以卤虫作为受试生物,对几种常见的抗污损化合物及 Cu^{2+} 的联合毒性效应进行了研究,以期得到这些化合物的实际毒性效应,为准确评估抗污损化合物的环境安全性提供依据。

1 材料和方法

1.1 供试化学品

铜离子用 CuSO_4 (分析纯)。另外选择了 5 种常见毒性抗污损化合物,分别为:敌草隆,3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea (Diuron); 2-叔丁氨基-4-环丙氨基-6-甲硫基-s-三嗪,2-methylthio-4-t-butylamino-6-cyclopropylamino-s-triazine (Irgarol 1051); 吡啶三苯基硼, triphenylborane pyridine (TPBP); 吡啶硫酮锌, Zinc complex of 2-mercaptopyridine-1-oxide (Zn-Pt); 福美锌, Zinc bis (dimethyl thiocarbamate, Ziram)。供试化学品均为日本神户大学内海域环境研究中心冈村秀雄教授提供,纯度大于 95%。

1.2 受试生物

卤虫无节幼体由商品卤虫休眠卵在水温 24℃、盐度 35 的人工海水中经 48 h 孵化获得。

1.3 试验方法

卤虫孵化:取适量卤虫卵于加入 1 dm³ 人工海水的烧杯中,适当充气使卤虫卵均匀悬浮。48 h 后,拿出充气管,静置 15 min,吸去上层卵壳后,取适量含有孵化后的卤虫幼体的海水于表面皿中待用。

毒性实验:单一毒性实验和联合毒性实验均按照 Zhou 等(2006)的方法进行^[12]。各化学品均预先溶解于二甲基亚砜(DMSO)中,取 15 mm³ 样品溶液加入到含有 1.5 cm³ 人工海水的 24 孔板的各孔内 [DMSO 终浓度 1% (V/V)],对照为加入 15 mm³

DMSO 的同体积人工海水。依据预试验结果,各单一化合物测试终浓度设定如下:

Cu^{2+} 质量浓度(下简称浓度,以 CuSO_4 计)为 0、1.6、3.1、5.0、6.3、12.5 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$; Diuron 浓度为 0、1.6、6.3、12.5、25.0 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$; Irgarol 1051 浓度为 0、0.1、0.4、1.6、6.3、25.0 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$; TPBP 浓度为 0、0.01、0.03、0.06、0.10 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$; Zn-Pt 浓度为 0、6.3、12.5、25.0、35.0、50.0 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$; Ziram 浓度为 0、1.6、3.1、5.0、6.3、12.5 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ 。

用移液枪吸取 20 个卤虫无节幼体加入各孔,每个处理组设 4 组平行。锡箔纸包住 24 孔板后,放入 25℃ 恒温箱中培养 48 h。每隔 4 h 在体视显微镜下记录个体死亡数和存活数。

根据单一毒性实验测得的 48 h LC_{50} ,按等毒性混合原则,确定联合毒性实验中使用的混合样品中的两个化合物的浓度比例,即按照“化合物_A LC_{50} : 化合物_B LC_{50} ”的比例配制混合样品。以混合液中两种化合物浓度均为 (LC_{50})/2 为浓度基准(浓度系数为 1),分别测试浓度系数为 1/32、1/16、1/8、1/4、1/2、1、2、4 的混合溶液。其他操作步骤和单一毒性实验相同^[12-13]。

1.4 毒性效应的评价

致死率计算公式为:

$$\text{致死率}(\%) = (N_s/N) \times 100 \quad (1)$$

式(1)中: N_s 为实验组死亡卤虫数, N 为实验组卤虫总数。

LC_{50} 计算采用概率单位法,将各组卤虫无节幼体的致死率换算为经验概率单位,以各组经验概率单位和相应化合物浓度或者稀释倍数的对数值作图,拟合曲线,计算 LC_{50} ^[15]。

联合毒性效应按照 Könnemann 的 MTI (mixture toxicity index) 方法进行评估^[16]:

$$MTI = 1 - \lg M / \lg M_0 \quad (2)$$

式(2)中: $M = \sum TU_i$, $M_0 = M / \max(TU_i)$, $TU_i = C_i / LC_{50i}$, C_i 为混合物中第 i 种组分的浓度, LC_{50i} 为第 i 种组分的半致死浓度。具体评价标准见表 1^[12-13,16]。

2 结果与分析

2.1 单一毒性实验

各单一化合物处理下的卤虫无节幼体的存活情况一直追踪至 48 h 后,发现各处理浓度的存活率差异明显,且后续变化较小了。另外,考虑到对照卤虫无节幼体也不易因长时间培养而引起死亡,所以本文的毒性实验以 48 h 的数据为准。以 Zn-Pt 为例,化

合物对卤虫致死率随时间的变化,见图 1.

表 1 MTI 法评价标准

Tab. 1 Evaluation criterion of MTI	
联合作用类型	评价标准
拮抗	MTI 值 < 0
独立	MTI 值 = 0
部分相加	0 < MTI 值 < 1
简单相加	MTI 值 = 1
协同	MTI 值 > 1

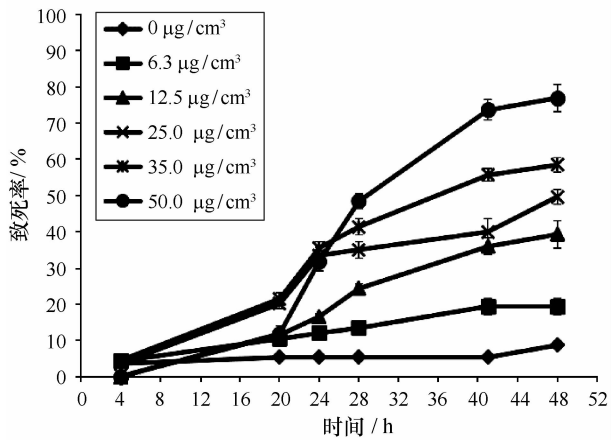


图 1 卤虫无节幼体在 Zn-Pt 作用下致死率随时间的变化曲线

Fig. 1 Relationship between the *Artemia* nauplii mortality and treating time by Zn-Pt with various concentrations

化合物拥有较大的 LC_{50} 代表其具有较小的生物毒性^[12-13]. 为比较各化合物的毒性,利用 48 h 的致死率和处理浓度的数据,计算各单一化合物 48 h 的 LC_{50} ^[15],结果见表 2.

从表 2 中的结果可以看出, LC_{50} 最低的是 TPBP 为 $0.07 \mu\text{g}/\text{cm}^3$, 最高的为 Zn-Pt 为 $30.9 \mu\text{g}/\text{cm}^3$, 和抗污损化合物对发光细菌的毒性测试结果相似,均表现出较强的毒性^[12-13]. 所测试的 6 种抗污损化合

物对卤虫的毒性顺序为: TPBP > Diuron > Ziram > CuSO_4 > Irgarol 1051 > Zn-Pt.

表 2 单一化合物对卤虫急性毒性效应 (48 h)

Tab. 2 Toxic effect of single chemical against <i>Artemia</i> nauplii (48 h)	
化合物	$LC_{50}/\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$
CuSO_4	9.1
Diuron	8.0
Irgarol 1051	12.0
TPBP	0.07
Zn-Pt	30.9
Ziram	8.2

2.2 联合毒性

通过测试 15 种组合的混合物引起的卤虫致死率,计算出各组合混合物的 LC_{50} ^[15-16],再结合混合物中各单一化合物的 LC_{50} ,依照 Könemann 毒性单位原理^[16],按照 Zhou 等 (2006) 的方法计算 MTI^[12],结果见表 3.

由表 3 可知,共有 5 个组合 (包括 Diuron/Zn-Pt、Diuron/ CuSO_4 、TPBP/Ziram、TPBP/Zn-Pt、Ziram/Zn-Pt) 的 MTI 值小于 0,对卤虫的急性毒性联合效应作用表现为拮抗作用,其中的 TPBP/Zn-Pt 的拮抗效应最强,MTI 值为 -1.456 . 有 2 个组合 (包括 Diuron/Ziram、TPBP/ CuSO_4) 的 MTI 值大于 0,小于 1,其急性毒性联合效应表现为部分相加;而有 8 个组合,包括 Irgarol 1051/Diuron、Irgarol 1051/TPBP、Irgarol 1051/Ziram、Irgarol 1051/Zn-Pt、Irgarol 1051/ CuSO_4 、Diuron/TPBP、Ziram/ CuSO_4 、Zn-Pt/ CuSO_4 ,其 MTI 值大于 1. 其中 6 个组合的 MTI 值大于 1,小于 2,大多属于中等协同效应,而组合 Irgarol 1051/Ziram 的 MTI 值高达 2.740,属于强烈的协同效应,更有 Zn-Pt/ CuSO_4 组合的 MTI 值高达 5.621,其毒性联合效应为极强的协同作用.

表 3 混合物对卤虫的毒性联合效应

Tab. 3 Joint effects of the mixture toxicities against <i>Artemia</i> nauplii				
组成	线性拟合方程	R^2	$LC_{50}/\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$	MTI 值
TPBP/Zn-Pt	$y = 70.416x + 1.7049$	0.9667	0.192/84.790	-1.456
Ziram/Zn-Pt	$y = 88.603x + 9.4932$	0.9501	15.355/56.485	-0.921
Diuron/ CuSO_4	$y = 121.62x - 32.418$	0.9745	9.289/6.509	-0.311
Diuron/Zn-Pt	$y = 80.607x - 0.9754$	0.9839	8.658/19.529	-0.172
TPBP/Ziram	$y = 91.841x + 0.8572$	0.9486	0.075/8.988	-0.135

续表 3

组成	线性拟合方程	R^2	$LC_{50}/\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$	MTI 值
Diuron/Ziram	$y = 96.414x + 5.1105$	0.9845	6.384/3.914	0.481
TPBP/CuSO ₄	$y = 84.575x + 7.9415$	0.9059	0.035/4.771	0.969
Diuron/TPBP	$y = 88.928x - 9.1163$	0.9371	4.555/0.023	1.224
Irgarol 1051/TPBP	$y = 116.43x - 34.548$	0.9718	4.356/0.025	1.462
Irgarol 1051/Diuron	$y = 104.67x - 6.3795$	0.9538	3.234/3.692	1.681
Ziram/CuSO ₄	$y = 97.081x - 4.1692$	0.9387	2.344/2.678	1.802
Irgarol 1051/Zn-Pt	$y = 106.15x - 5.7806$	0.9399	3.150/8.111	1.930
Irgarol 1051/CuSO ₄	$y = 87.413x - 3.3196$	0.9912	7.320/5.856	1.948
Irgarol 1051/Ziram	$y = 61.38x + 40.726$	0.8923	1.812/1.268	2.740
Zn-Pt/CuSO ₄	$y = 43.205x + 46.17$	0.8973	0.688/0.214	5.621

注:拟合方程中 y 为致死率(%) , x 为样品浓度系数

选择 MTI 值最高 (CuSO₄/Zn-Pt) 和最低 (TPBP/Zn-Pt) 的两个组合进行进一步分析. 图 2 中显示是卤虫无节幼体在化合物 (CuSO₄、Zn-Pt) 单独处理下卤虫的致死率之和与混合处理下卤虫的致死率. 在单一化合物处理下, 3.1、5.0 μg/cm³ CuSO₄ 分别导致 24.58%、32.16% 的致死率; 6.3、12.5 μg/cm³ Zn-Pt 分别导致 11.61%、33.50% 的致死率. 而当混合溶液中同时含有 0.6 μg/cm³ CuSO₄ 和 1.93 μg/cm³ Zn-Pt 这样的较低浓度 (混合 C1) 时,

其致死率已达到 55.79%. 而混合液中同时含有 2.4 μg/cm³ CuSO₄ 和 7.72 μg/cm³ Zn-Pt (混合 C2) 时, 其导致的致死率已接近 95.00%. 计算单一情况下 3.1 μg/cm³ CuSO₄、6.3 μg/cm³ Zn-Pt 各自导致的致死率之和, 以及单一情况下 5.0 μg/cm³ CuSO₄、12.5 μg/cm³ Zn-Pt 导致的致死率之和, 发现混合溶液在浓度分别小于单一情况下的 C1、C2 浓度时, 导致的致死率分别大于上述两个单一致死率之和, 说明该混合溶液中有较强的毒性协同效应存在.

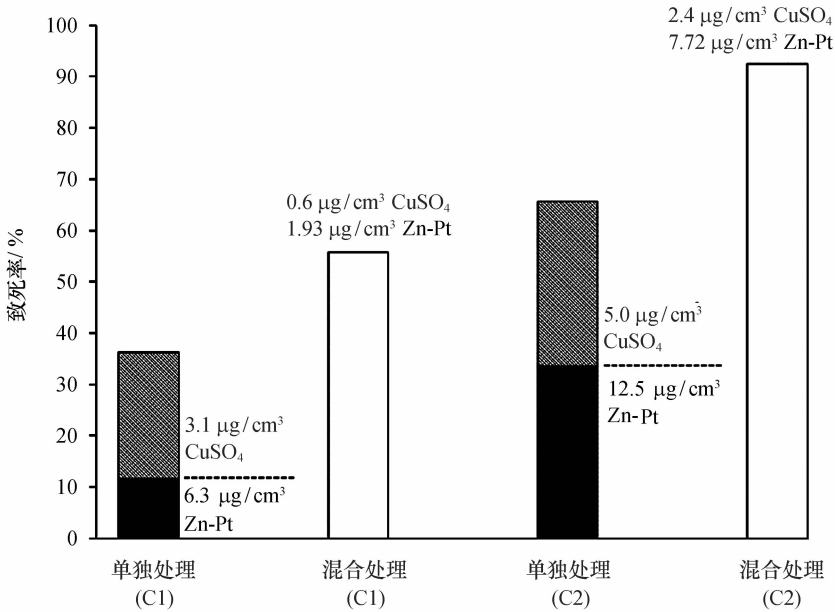


图 2 单一和混合的 CuSO₄、Zn-Pt 毒性比较

Fig. 2 Comparison between the single and mixed toxicities of CuSO₄ and Zn-Pt

单独处理组阴影部分 (CuSO₄)、黑色部分 (Zn-Pt) 分别对应某浓度单一化合物处理时的致死率, 混合处理组

(白色部分) 指某浓度的混合溶液导致的致死率; C1、C2 为两组致死率相近的单一和混合状态的化合物浓度, 具体浓度在图中已标出

而图 3 中显示是另外一种类型,对应的是单一和混合状态的 TPBP 和 Zn-Pt. 在单一化合物处理下,0.03、0.06 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ TPBP 分别导致 25.83%、42.81% 的致死率;12.5、25.0 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ Zn-Pt 分别导致 33.50%、44.80% 的致死率. 而当混合溶液中同时含有 0.07 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ TPBP 和 30.9 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ Zn-Pt 这样的较高浓度(混合 C1)时,其致死率才达到 26.75%,甚至低于 0.06 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ TPBP、12.5、25.0

$\mu\text{g}/\text{cm}^3$ Zn-Pt 的单一作用时的致死率. 比较更高浓度混合溶液的致死率发现,当混合溶液中同时含有 0.14 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ TPBP 和 61.8 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ Zn-Pt 时(混合 C2),其致死率(29.78%)甚至低于 12.5 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ Zn-Pt 单一处理时的致死率(33.50%),仅稍高于 0.03 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ TPBP 单一处理时的致死率(25.83%),说明该混合溶液中的组合存在较强烈的拮抗效应.

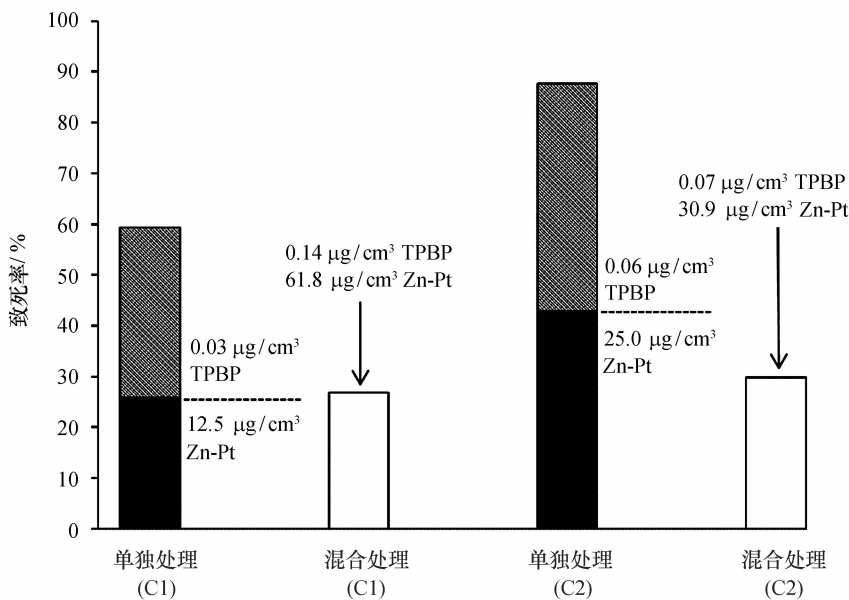


图 3 单一和混合的 TPBP、Zn-Pt 毒性比较

Fig. 3 Comparison between the single and mixed toxicities of TPBP and Zn-Pt

单一处理组阴影部分(TPBP)、黑色部分(Zn-Pt)分别对应某浓度单一化合物处理时的致死率,混合处理组(白色部分)指某浓度的混合溶液导致的致死率;C1、C2 为两组致死率相近的单一和混合状态的化合物浓度,具体浓度在图中已标出

3 讨论

本研究中的 6 种抗污损化合物对卤虫无节幼体的急性毒性联合效应,协同作用、部分相加以及拮抗作用均有出现. 其中 Diuron/Zn-Pt、Diuron/ CuSO_4 、TPBP/Ziram、TPBP/Zn-Pt、Ziram/Zn-Pt 对卤虫的联合急性毒性作用表现为拮抗作用; Diuron/Ziram、TPBP/ CuSO_4 对卤虫的联合毒性作用表现为部分相加; Irgarol 1051/Diuron、Irgarol 1051/TPBP、Irgarol 1051/Ziram、Irgarol 1051/Zn-Pt、Irgarol 1051/ CuSO_4 、Diuron/TPBP、Ziram/ CuSO_4 、Zn-Pt/ CuSO_4 联合毒性为协同作用. 本研究发现 5 种具有拮抗效应的化合物组合,在抗污涂料中同时出现会让基于毒性的抗污损效率下降,应避免同时使用. 值得重点注意的是出现强烈协同效应的组合 Irgarol 1051/Ziram 和极强烈协同效应的组合 Zn-Pt/ CuSO_4 ,其强烈的协同效应一方面可以提高抗污损效率,另一方面对环境

生物的毒性也比单一化合物要更加严重^[12-14,17-18]. 曾有利用海洋微藻(*Selenastrum capricornutum*)、海洋甲壳类(*Daphnia magna*)作为测试生物的研究报道, Irgarol 1051 和抗污损化合物敌草隆(Diuron)、2-(硫氰酸甲基巯基)苯并噻唑(2-thiocyanomethylthio-benzothiazole, TCMTB)混合后也具有较强烈的协同效应^[18]. 在利用海胆(*Strongylocentrotus intermedius*)幼体的生物测试中, Irgarol 1051 也和吡啶硫酮铜(Copper pyrrhione)、苯氟磺胺(Dichlofluanid)、4,5-二氯-2-正辛基-3-异噻唑啉酮(4,5-Dichloro-2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one, Sea nine 211)混合后表现较强烈的协同效应^[17]. 而关于 Zn-Pt 和 Cu^{2+} 的协同效应的发现和我们之前测定微生物(*Vibrio fischeri*)毒性时的结果也大体一致,说明这些组合的生物毒性联合效应有一定的广谱性^[12].

在本研究测定的 15 种混合物中, Irgarol 1051/Diuron、Irgarol 1051/TPBP、Irgarol 1051/Ziram、Irgarol

1051/Zn-Pt, Irgarol 1051/CuSO₄ 5 种混合物的 MTI 值分别为 1.681、1.462、2.740、1.930、1.948 均大于 1. 所以,发现 Irgarol 1051 和几乎所有测试的化合物存在毒性协同效应. 这一结果一方面验证了 Irgarol 1051 在基于毒性的防污涂料配方中有其良好的适应性,也是其被广泛使用于多种防污涂料的原因之一;另一方面也说明了当其进入海洋环境后且未降

解时,可能因协同效应对非目标生物具有强烈毒性^[17-18]. 虽有报道称 Irgarol 1051 在海洋环境中可以通过光学降解和水解,但自然降解反应的速率不是很高^[3]. 所以, Irgarol 1051 可能会和海水中的其他有机杀虫剂及 Cu²⁺ 发生协同作用,危害海洋生态环境.

参考文献:

- [1] Callow M E, Callow J A. Marine biofouling: a sticky problem[J]. Biologist (London), 2002, 49(1): 10-14.
- [2] Konstantinou I K, Albanis T A. Worldwide occurrence and effects of antifouling paint booster biocides in the aquatic environment: a review[J]. Environment International, 2004, 30(2): 235-248.
- [3] Monica T G, Miriam C P, Mirta E S, et al. Towards a reduction of the content of copper in antifouling paints[J]. Materiaro de Janeiro, 2015, 20(3): 691-698.
- [4] Podratz P L, Merlo E, Sena G C, et al. Accumulation of organotins in seafood leads to reproductive tract abnormalities in female rats[J]. Reproductive Toxicology, 2015, 57: 29-42.
- [5] 周晓见,董夏伟,缪莉,等. 海洋防污损涂料添加剂 Irgarol 1051 环境科学研究进展[J]. 环境科技, 2011, 24(3): 64-68.
- [6] 金晓鸿. 海洋污损生物防除技术和发展(Ⅲ)——世界防污技术的历史和发展[J]. 材料开发与应用, 2006, 21(1): 44-46.
- [7] 赵金榜. 低毒和无毒防污涂料的研究进展[J]. 上海涂料, 2012, 50(12): 24-29.
- [8] Jin C L, Qiu J J, Miao L, et al. Antifouling activities of anti-histamine compounds against the barnacle *Amphibalanus*(= *Balanus*) *amphitrite*[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2014, 452(1): 47-53.
- [9] Rittschof D, Lai C H, Kok L M, et al. Pharmaceuticals as antifoulants: Concept and principles[J]. Biofouling, 2003, 19(s1): 207-212.
- [10] Zhou X J, Jin C L, Xu Y, et al. Reversible anti-settlement activity against *Amphibalanus*(= *Balanus*) *amphitrite*, *Bugula neritina*, and *Hydroides elegans* by a nontoxic pharmaceutical compound, mizolastine[J]. Biofouling, 2009, 25(8): 739-747.
- [11] Zhou X J, Okamura H, Nagata S. Abiotic degradation of triphenylborane pyridine antifouling agent in water[J]. Chemosphere, 2007, 67(10): 1 904-1 910.
- [12] Zhou X J, Okamura H, Nagata S. Remarkable synergistic effects in antifouling chemicals against *Vibrio fischeri* by bioluminescent assay[J]. Journal of Health Science, 2006, 52(3): 1-8.
- [13] Nagata S, Zhou X J, Okamura H. Antagonistic and synergistic effects of antifouling chemicals in mixture[M]//Jørgensen S E, Fath B D. Encyclopedia of Ecology. Oxford: Academic Press, 2008: 194-203.
- [14] 王召根,吴洪喜,王瑶华,等. Cd²⁺ 和 Cu²⁺ 对泥蚶的急性毒性和联合毒性试验[J]. 海洋科学, 2014, 38(8): 16-20.
- [15] 周永欣,章宗涉. 水生生物毒理学实验方法[M]. 北京:中国农业出版社, 1989: 109-168.
- [16] Könemann H. Fish toxicity tests with mixtures of more than two chemicals: a proposal for aquantitative approach and experimental results[J]. Toxicology, 1981, 19(3): 229-238.
- [17] Wang H, Li Y, Huang H, et al. Toxicity evaluation of single and mixed antifouling biocides using the *Strongylocentrotus intermedius* sea urchin embryo test[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2011, 30(3): 692-703.
- [18] Fernández-Alba A R, Hernando M D, Piedra L, et al. Toxicity evaluation of single and mixed antifouling biocides measured with acute toxicity bioassays[J]. Analytica Chimica Acta, 2002, 456(2): 303-312.

Evaluation for joint toxic effects of some marine antifouling compounds

JIN Cui-li^{1,2}, XU Ming-jing², HU Bo², ZHU Hong-chen², ZHANG Li-kui^{1,2}, ZHOU Xiao-jian^{1,2}

(1. College of Environmental Science & Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225127, China;

2. Marine Science & Technology Institute, Yangzhou University, Yangzhou 225127, China)

Abstract: In this study, the single and joint toxicities of 6 wide used and represented antifouling compounds, including 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea (Diuron), 2-methylthio-4-t-butylamino-6-cyclopropylamino-s-triazine (Irgarol 1051), triphenylborane pyridine (TPBP), Zinc pyrithione (Zn-Pt), Zinc bis(dimethyl thiocarbamate, Ziram), and Cu^{2+} , were examined to promote the toxicity data approaching to the real situations and to provide the optimized compounds adding strategies. The single toxicities against *Artemia nauplii* were detected with results of descending order of $\text{TPBP} > \text{Diuron} > \text{Ziram} > \text{CuSO}_4 > \text{Irgarol 1051} > \text{Zn-Pt}$ with LC_{50} of 0.07, 8.0, 8.2, 9.1, 12.0, and 30.9 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$, respectively. When every two compounds were combined, the joint effects of their toxicities were evaluated by MTI analysis. The results indicated that there were 8 synergetic combinations, including Irgarol 1051/Diuron, Irgarol 1051/TPBP, Irgarol 1051/Ziram, Irgarol 1051/Zn-Pt, Irgarol 1051/ CuSO_4 , Diuron/TPBP, Ziram/ CuSO_4 , and Zn-Pt/ CuSO_4 . Among them, the MTIs of the combinations of Irgarol 1051/Ziram and Zn-Pt/ CuSO_4 were detected as high as 2.740 and 5.621, respectively. All 5 Irgarol 1051 involved combinations showed synergistic effects, which indicates that Irgarol 1051 in the marine environments may lead to higher risk than previously evaluated based on the single toxicity data. In addition, 5 antagonistic combinations, including Diuron/Zn-Pt, Diuron/ CuSO_4 , TPBP/Ziram, TPBP/Zn-Pt, and Ziram/Zn-Pt, were also observed. Those coexistence of antagonistic compounds in same antifouling paints will lead to the reduced antifouling efficiencies, therefore, should be avoided.

Key words: marine biology; marine antifouling compounds; *Artemia nauplii*; joint effect of toxicities; synergistic effect

DOI:10.3969/J. ISSN.2095-4972.2017.03.010

(责任编辑:肖 静)