

几种卤素类消毒剂对刺参幼参的急性毒性作用

孙振兴, 赵彦翠, 陈燕妮, 杜岩岩, 张军营

(鲁东大学 生命科学学院, 山东 烟台 264025)

摘要: 在水温 18.5~20℃ 的静水条件下, 用 4 种卤素类消毒剂对刺参幼参进行了急性毒性试验。结果表明, 三氯异氰尿酸(trichloroisocyanuric acid, 简称 TCCA) 对刺参幼参的 24 h LC_{50} 、48 h LC_{50} 和安全质量浓度 (C_s) 分别为 33.22、25.32、4.41 mg/L, 二溴海因(dibromo dimethyl hydantoin, 简称 DBDMH) 的 24 h LC_{50} 、48 h LC_{50} 和 C_s 分别为 371.17、339.65、85.32 mg/L, 聚维酮碘(povidone iodine, 简称 PVP I) 的 24 h LC_{50} 、48 h LC_{50} 和 C_s 分别为 3.14、1.45、0.09 mg/L, 季铵盐络合碘(quaternary ammonium salt iodine, 简称 QASI) 的 24 h LC_{50} 、48 h LC_{50} 和 C_s 分别为 4.24、2.02、0.14 mg/L。研究表明, 4 种消毒剂对幼参的毒性大小依次为聚维酮碘> 季铵盐络合碘> 三氯异氰尿酸> 二溴海因。

关键词: 刺参(*Apostichopus japonicus*); 消毒剂; 急性毒性; LC_{50} ; C_s

中图分类号: Q947; S948

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2008)03-0068-05

近年来中国北方刺参(*Apostichopus japonicus*) 养殖业迅速发展, 刺参的病害问题也日益受到人们的关注。由于渔用消毒剂对病毒、细菌和真菌都有较强的杀灭能力和消毒效果, 毒副作用小、余毒残留少, 已被广泛用于幼参培育和成参养殖的环境消毒以及病害防治。目前市场上各种渔用消毒剂频出不断, 但生产中因对消毒剂的毒性不明, 用药不合理导致刺参中毒或死亡的现象时有发生。有关药物对刺参毒性作用的研究, 大多为抗生素和甲醛等^[1~2], 作者用几种常用的渔用卤素类消毒剂对刺参幼参进行了急性毒性试验, 以期合理为合理使用消毒剂提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验刺参

试验于 2005 年 11 月进行, 供试验用的刺参幼参取自烟台隆海养殖公司海珍品育苗场, 为当年 6 月人工繁殖经室内人工培育的个体, 幼参伸展体长为 2.4~3.1 cm, 平均体长为 2.8 cm, 体质量为 0.385~0.516 g, 平均体质量 0.422 g。

1.2 消毒剂

试验用消毒剂符合国家农业部发布的行业标准^[3], 均为允许使用的渔用消毒剂, 其种类及有效含量见表 1。试验中各消毒剂的质量浓度均按有效含量计算, 先将各种消毒剂分别用蒸馏水配成一定质量浓度的母液, 使用时用微量移液器加入海水中稀释至所需质量浓度。

表 1 试验用消毒剂的名称、有效含量和生产厂家

Tab. 1 Names, effective contents and manufacturers of the disinfectant used in experiment

消毒剂名称	性状	有效含量	生产厂家
三氯异氰尿酸	粉末	300 g/kg	广东佛山澳龙制药有限公司
二溴海因	结晶	100 g/kg	北京中大安特生化科技有限公司
聚维酮碘	液体	100 g/L	北京中大安特生化科技有限公司
季铵盐络合碘	液体	50 g/L	广东佛山澳龙制药有限公司

1.3 试验方法

采用静水试验法^[4], 根据预试验确定的消毒剂质量浓度范围, 按等对数间距设计若干质量浓度组, 每组设双样平行, 另设空白对照组; 每组使用经过暂养的健康幼参 20 只, 分别置于 2 个 1 L 烧杯中, 每个烧杯中放 10 只幼参。试验期间不投饵、不充气, 每隔 24 h 全量换水后重新添加消毒剂 1 次; 试验用海水取自烟台近海, 海水盐度为 30.7, 试验期间水温 18.5~20℃。试验过程中每隔 3 h (夜间除外) 观察一次幼参活动状况, 记录死亡个体数并及时清除死亡个体。幼参死亡以沉入杯底, 管足无附着能力, 对轻微刺激无反应为准^[1]。

收稿日期: 2006-02-21; 修回日期: 2007-12-19

基金项目: 鲁东大学科研基金项目(L20063301)

作者简介: 孙振兴(1956), 男, 山东烟台人, 教授, 博士, 从事海洋经济无脊椎动物繁育与养殖, 电话: 0535-6681053, E-mail: sunxz@public.ytptt.sd.cn

1.4 数据统计

各试验组取双样平行结果的均值计算死亡率,并按公式 $P = (p' - C) / (1 - C)$ 进行校正,式中: p' 为试验组死亡百分数, C 为对照组死亡百分数, P 为经校正后的试验组死亡百分数。

采用概率单位法,根据死亡百分数-概率单位换算表,将死亡百分数换算成死亡概率单位,做质量浓度对数概率单位回归曲线,分别求出各种消毒剂对幼参 24、48、72 h 的 LC_{50} 及其 95% 置信区间,按下式计算安全质量浓度(C_s)^[5]:

$$C_s = \frac{48 \text{ h} LC_{50} \times 0.3}{(24 \text{ h} LC_{50} / 48 \text{ h} LC_{50})^2}$$

2 结果

2.1 三氯异氰尿酸对刺参幼参的急性毒性作用
 各种消毒剂对刺参幼参的急性毒性作用见表

表 2 4 种消毒剂对刺参幼参的急性毒性

Tab. 2 The acute toxicity of four disinfectants to *Apostichopus japonicus* juveniles

消毒剂	质量浓度 (mg/ L)	24 h 死亡率 (%)	48 h 死亡率 (%)	72 h 死亡率 (%)
三氯异氰尿酸	0.00	0.0	0.0	0.0
	19.70	5.0	5.0	5.0
	22.40	15.0	15.0	15.0
	26.60	30.0	55.0	80.0
	30.90	20.0	95.0	100.0
	34.60	70.0	100.0	100.0
	40.00	70.8	100.0	100.0
二溴海因	0.00	0.0	0.0	—
	261.00	0.0	0.0	—
	292.50	2.5	5.0	—
	337.50	17.5	62.5	—
	391.50	40.0	87.5	—
	450.00	100.0	100.0	—
聚维酮碘	0.00	0.0	0.0	—
	0.90	0.0	0.0	—
	1.80	0.0	65.0	—
	2.40	5.0	75.0	—
	3.20	60.0	90.0	—
	4.20	95.0	100.0	—
	5.60	100.0	100.0	—
季铵盐络合碘	0.00	0.0	0.0	0.0
	0.63	0.0	0.0	15.0
	1.12	0.0	15.0	60.0
	2.03	10.0	25.0	90.0
	3.50	50.0	95.0	100.0
	4.62	60.0	100.0	100.0
	5.46	55.0	100.0	100.0

注: 二溴海因和聚维酮碘实验组未统计 72 h 死亡率

2. 结果显示,三氯异氰尿酸各质量浓度组在 24 h 内均可使幼参出现不同程度的死亡,当质量浓度 $\geq 34.6 \text{ mg/L}$ 时,24 h 内可使幼参死亡率达到 70% 以上,试验观察可见,未死亡个体也出现排脏、化皮现象,但质量浓度为 30.9 mg/L 时的死亡率仅为 20%; 2 个低质量浓度组的幼参死亡率在 48 和 72 h 仍保持恒定。各时间段的三氯异氰尿酸质量浓度对数与幼参死亡概率单位回归曲线见图 1,据此求出的 24、48 和 72 h 的 LC_{50} 分别为 33.22、25.32 和 24.45 mg/L (表 3),其中 48 与 72 h 的 LC_{50} 相差不大,表明随着时间的推移,幼参对三氯异氰尿酸质量浓度变化的敏感性降低。试验观察也证实了这一点,刚施药后幼参身体急剧收缩,反应强烈,但 48 h 后未死亡的幼参仍可缓慢伸展身体, 19.7 mg/L 质量浓度组 72 h 后存活幼参仍可贴附在烧杯壁上。

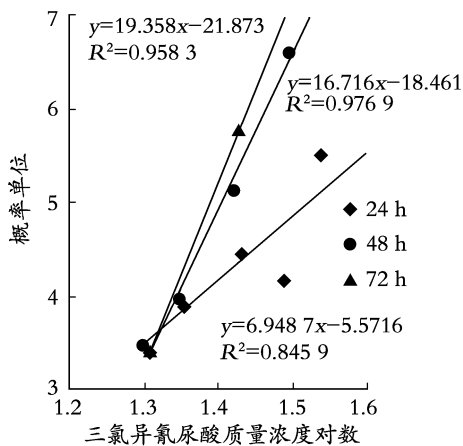


图1 三氯异氰尿酸质量浓度对数-幼参死亡概率单位曲线
Fig. 1 The linear equation between logarithm of concentration of TCCA and mortality probit of *Apostichopus japonicus* juveniles

表3 4种消毒剂对刺参幼参的LC₅₀、Cs和LC₅₀的95%置信区间

Tab. 3 The LC₅₀ values, Cs values and LC₅₀ 95% confidence of four disinfectants to *Apostichopus japonicus* juveniles

消毒剂	时间 (h)	LC ₅₀ (mg/L)	LC ₅₀ 的95%置信区间		Cs (mg/L)
			上限 (mg/L)	下限 (mg/L)	
三氯异 氰尿酸	24	33.22	29.51	37.40	4.41
	48	25.32	24.10	26.60	
	72	24.45	23.43	25.51	
二溴 海因	24	371.17	354.03	389.19	85.32
	48	339.65	327.26	352.46	
聚维 酮碘	24	3.14	2.96	3.34	0.09
	48	1.45	1.15	1.83	
季铵盐 络合碘	24	4.24	3.36	5.35	0.14
	48	2.02	1.73	2.35	
	72	1.04	0.87	1.24	

注:二溴海因和聚维酮碘实验组未统计72 h死亡率

2.2 二溴海因对刺参幼参的急性毒性作用

二溴海因对幼参的毒性作用较弱,当质量浓度达到292.5 mg/L时才会引起幼参的死亡,而且高于这一质量浓度时,幼参对其质量浓度变化较敏感,随着质量浓度增加死亡率急剧升高,450 mg/L时可使幼参在24 h内全部死亡(表2)。试验发现,48 h后即使存活的幼参,也都丧失活动能力,而且化皮现象严重。二溴海因质量浓度对数-幼参死亡概率单位回归曲线见图2,其24 h LC₅₀为371.17 mg/L,48 h LC₅₀为339.65 mg/L。

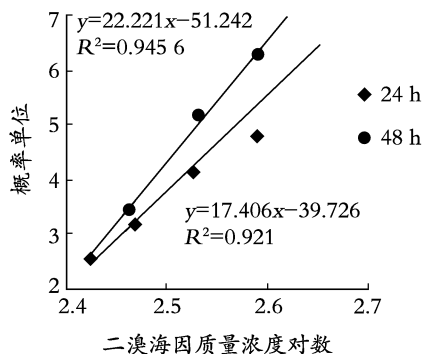


图2 二溴海因质量浓度对数-幼参死亡概率单位曲线

Fig. 2 The linear equation between logarithm of concentration of DBDMH and mortality probit of *Apostichopus japonicus* juveniles

2.3 聚维酮碘对刺参幼参的急性毒性作用

试验结果表明,聚维酮碘对幼参的毒性作用较强,其质量浓度为3.20 mg/L时可使幼参在24 h内死亡60%,5.60 mg/L时可使幼参在24 h内全部死亡,而且随着时间的延长,1.80和2.40 mg/L质量浓度组的幼参死亡率也明显升高(表2),可见幼参对低质量浓度聚维酮碘的持续耐受能力也较弱。根据其质量浓度对数-概率单位回归曲线(图3),聚维酮碘对幼参24和48 h的LC₅₀分别为3.14和1.45 mg/L。

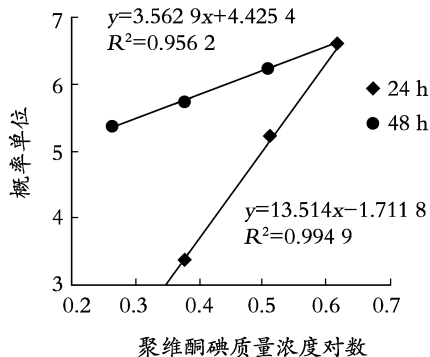


图3 聚维酮碘质量浓度对数-幼参死亡概率单位曲线

Fig. 3 The linear equation between logarithm of concentration of PVP-I and mortality probit of *Apostichopus japonicus* juveniles

2.4 季铵盐络合碘对刺参幼参的急性毒性作用

试验中,质量浓度≥2.03 mg/L的季铵盐络合碘在24 h内均可使幼参出现部分死亡,在48和72 h条件下,毒性大小随其质量浓度的增大呈现出逐渐上升的趋势(表2)。0.63 mg/L质量浓度组至72 h也会引起幼参死亡,而且试验中观察到该质量浓度组存活的个体也大多活动能力微弱、反应缓慢,表明季铵盐络合碘对幼参具有持续的毒性效应。其24、48和72 h的LC₅₀分别为4.24、2.02和1.04 mg/L,

季铵盐络合碘的质量浓度对数-幼参死亡概率单位回归曲线见图 4。

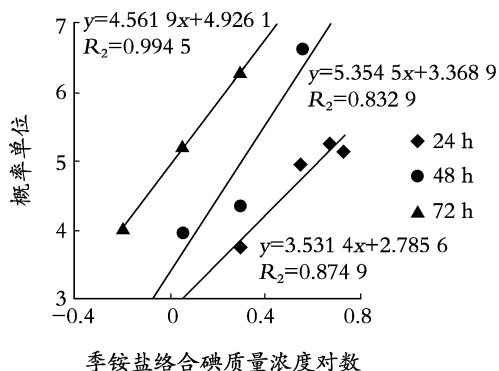


图 4 季铵盐络合碘质量浓度对数-幼参死亡概率单位曲线
Fig. 4 The linear equation between logarithm of concentration of quaternary ammonium salt iodine and mortality probit of *A. postichopus japonicus* juveniles

2.5 4 种消毒剂对刺参幼参的毒性差异

本试验所用 4 种消毒剂对刺参幼参的毒性作用有一定的差异,从 24 和 48 h 的 LC_{50} 都可以看出:聚维酮碘对幼参的毒性最大,其它几种的毒性大小依次为季铵盐络合碘>三氯异氰尿酸>二溴海因。

3 讨论

水产养殖选择药物时,除了考虑药物对病原体的有效性和对养殖生物的安全性外,还要考虑保护水环境,以及药物成本和便于使用等因素。目前刺参养殖过程中的病害主要有细菌病、寄生虫病和霉菌病等^[6],生产上特别是室内幼参培育过程中,滥用抗生素类药物的现象较为普遍,这样不仅增加了生产成本,而且大多数抗生素都有一定的抗菌谱和选择性,长期使用易使病原生物产生耐药性,还会造成养殖动物自身抵抗力下降,从而诱发更为严重的病害。消毒剂价格低廉、杀菌效果彻底,而且不易产生耐药性,有利于病害的防治。

三氯异氰尿酸是一种高效低毒、广谱、快速的氧化型消毒剂。其机理是通过次氯酸、初生态氧和活性氯的作用杀菌消毒,次氯酸本身能使病原体的蛋白质变性而使其死亡,由于次氯酸不稳定,可分解形成初生态氧并逸出活性氯,将病原体蛋白质氧化,也起到杀菌作用。由于其杀菌迅速、余毒残留时间短,因而被普遍用于鱼虾类细菌病的防治。同一药物对不同生物的毒性作用随生物种类而异,已知三氯异氰尿酸对平均体长 3.9 cm 的翘嘴红鲌(*Erythroculter ilishaefomis*)鱼苗的 C_s 为 0.136 mg/L^[7],对罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)仔虾的 C_s 为 0.124 mg/L^[8],对体长 3.5~5 cm 的秀丽白虾(*Palaeomon modestus*)的 C_s 为 0.14 mg/L^[9],本试验中对刺参幼参的 C_s 为 4.41 mg/L,可见刺参对三氯异氰

尿酸的耐受性较强。

二溴海因是纯溴制剂,它在水中能通过不断释放出活性 Br^+ 离子形成次溴酸,次溴酸本身具有强氧化性,能氧化分解微生物体内的酶,次溴酸还能与水中的氨结合产生溴氨,溴氨转变为 $NH_3 Br^+$,带正电荷的 $NH_3 Br^+$ 容易与细菌结合,促进溴氨中的溴离子与细菌中的氨基发生交换作用,从而破坏细菌的氨基酸代谢,达到消毒杀菌的目的^[10]。二溴海因具有低毒、残留量少,能抵抗高有机质含量和高 pH 值的水环境,不改变养殖水体的酸碱度等优点。据报道,二溴海因对体长 15 cm 鲤鱼(*Cyprinus carpio*)的 C_s 为 7.62 mg/L^[10],对体长 4~6 cm 罗非鱼(*Tilapia nilotica*)苗的 C_s 为 2.87 mg/L^[11],对体长 3.5~5 cm 的秀丽白虾的 C_s 为 21 mg/L^[9],本试验中对刺参幼参的 C_s 为 85.32 mg/L,显示出刺参对该消毒剂有很强的耐受性。

聚维酮碘又称聚乙烯吡咯烷酮碘或碘伏,是碘与不同载体(高分子聚合物或表面活性剂)结合而成的一种复合物,它在水中逐渐解聚释放出游离碘,游离碘能与菌体蛋白质的氨基结合,使菌体的蛋白质受到破坏,微生物因代谢机能发生障碍而死亡。由于碘的缓慢释放,所以碘伏的杀菌作用持久,刺激性低,而且其杀菌效果受水温和 pH 的影响较小,但有机质增加时其杀菌能力下降^[12]。聚维酮碘是水产养殖业应用较早的消毒杀菌剂之一,它对鳗鲡(*Anguilla japonica*)的 48 h LC_{50} 为 0.63 mg/L^[13],对体长 1.0~1.5 cm 异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)鱼苗的 C_s 为 2.14 mg/L^[14],对中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)仔虾的 48 h LC_{50} 为 3.05 mg/L^[15],对罗氏沼虾仔虾的 C_s 为 53.6 mg/L^[8],对海湾扇贝(*Argopecten irradians*)壳顶幼虫的 C_s 为 3.25 mg/L^[16],而对壳长 6.5 mm 皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)稚鲍的 C_s 仅为 0.036 mg/L^[17],本试验中对刺参幼参的 C_s 为 0.09 mg/L,表明刺参对聚维酮碘的敏感性较强。

季铵盐络合碘是一种新型含氮化合物的碘制剂,其特点是性能稳定、低刺激性、低毒,受环境 pH 变化影响小,对有机质有一定的抵抗能力。它的杀菌消毒机理是利用双链季铵盐与碘络合,发挥季铵盐和碘的协同作用。季铵盐的灭菌活性部分是阳离子即季铵离子,具有降低表面张力的作用,因带正电荷故能吸附表面带有负电荷的物质如细菌、蛋白质等,它能形成离子化凝胶和胶囊,使蛋白质变性沉淀,从而破坏酶的活性,抑制细菌代谢;另一方面,季铵盐为阳离子表面活性剂,络合的碘在水中可以缓释出游离碘,同样具有杀菌作用^[18]。季铵盐络合碘对全长 1.0~1.2 cm 金鱼的 C_s 为 6.43 mg/L^[19],从本试验结果看,对刺参幼参的 C_s 仅为 0.14 mg/L,说明刺参对该消毒剂的耐受性较低。

综上所述, 本试验所涉及的 4 种消毒剂中, 聚维酮碘和季铵盐络合碘对刺参幼参的毒性作用较大, 且 CS 很低, 而且由于这两种消毒剂具有缓释作用, 毒性较持久, 因此在刺参养殖中应谨慎使用。三氯异氰尿酸和二溴海因对刺参幼参的毒性较小, 且 CS 较高, 使用中便于掌握, 可作为刺参养殖中的消毒剂, 特别是二溴海因, 其挥发性比三氯异氰尿酸低, 受水环境 pH 和有机质含量变化的影响较小, 可作为刺参养殖中的首选消毒剂。

参考文献:

- [1] 李强, 罗永成, 李华, 等. 常用抗菌药物和消毒剂对刺参幼体的急性毒性试验[J]. 大连水产学院学报, 2005, 20(2): 105-110.
- [2] 吕豪, 周伯文. 四种药物对刺参幼参毒性的初步研究[J]. 水产科学, 2005, 24(6): 28-31.
- [3] 绿色食品——渔药使用准则[S]. NY/T 755-2003.
- [4] 物质对淡水鱼急性毒性测定方法[S]. GB/T 13267-91.
- [5] 周永欣, 章宗涉. 水生生物毒性试验方法[M]. 北京: 农业出版社, 1989, 75-156.
- [6] 王印庚, 荣小军, 张春云, 等. 养殖海参主要疾病及防治技术[J]. 海洋科学, 2005, 29(3): 1-7.
- [7] 沈智华, 胡廷尖, 尹文林, 等. 翘嘴红鲌对几种常用渔药的敏感性试验[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2002, 4: 340-343.
- [8] 张健东, 陈刚. 两种消毒剂对罗氏沼虾幼体的急性毒性试验[J]. 湛江水产学院学报, 1998, 18(1): 9-14.
- [9] 徐镇, 徐如卫, 周志明, 等. 四种常用渔药对秀丽白虾的急性毒性试验[J]. 水产科学, 2005, 24(7): 29-31.
- [10] 房英春, 陈阳, 孔岩, 等. 鲤鱼对二溴海因的耐受性研究[J]. 河北渔业, 2003, 5: 19-22.
- [11] 朱春华, 刘柏明. 海因类消毒剂对吉富罗非鱼的急性毒性[J]. 湛江海洋大学学报, 2005, 25(3): 40-42.
- [12] 蓝洪. 碘伏类消毒剂的研究现状[J]. 中国动物保健, 2004, 9: 43-44.
- [13] Liu C K, Fong A A. Disinfection study of iodophor on the pathogenic bacteria of eels [A]. Kou G H. The Memoir of Bacteriology and Immunology in Fish Disease [C]. Taipei: Taiwan Council of Agriculture, 1987, 115-124.
- [14] 黄辨非, 阮国良, 缪有玲. 2 种碘制剂对异育银鲫鱼苗的急性毒性试验[J]. 长江大学学报(自然科学版), 2005, 11: 17-20.
- [15] 李天保, 赵增元, 王勇强, 等. 聚乙烯吡咯烷酮碘对中国对虾的毒性试验[J]. 海洋科学, 1998, 22(6): 9-10.
- [16] 吕豪, 梁峻, 龙强. 聚维酮碘对海湾扇贝等贝类幼虫的毒性试验研究[J]. 水产科学, 2003, 22(6): 8-11.
- [17] 桂英爱, 王洪军. 碘伏对皱纹盘鲍的急性毒性试验[J]. 水产科学, 2002, 21(2): 22-23.
- [18] 王蕾, 李玮, 吴连勇, 等. 双链季铵盐及季铵盐络合碘消毒剂消毒效果[J]. 中国兽药杂志, 2003, 37(4): 42-44.
- [19] 文祝友, 刘小燕, 黎力. 2 种新型药物对金鱼的急性毒性试验[J]. 内陆水产, 2004, 5: 34-35.

Acute toxicity of four halogen disinfectants to juvenile of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*)

SUN Zhen-xing, ZHAO Yan-cui, CHEN Yan-ni, DU Yan-yan, ZHANG Jun-ying

(College of Life Science, Ludong University, Yantai 264025, China)

Received: Feb. 21, 2006

Key words: *Apostichopus japonicus*; disinfectant; acute toxicity; median lethal concentration; safe concentration

Abstract: The acute toxicity of four halogen disinfectants to sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) was determined in still water at water temperature of 18.5~20℃. The 24 h LC_{50} , 48 h LC_{50} and safe concentration of trichloroisocyanuric acid (TCCA) were 33.22, 25.32 and 4.41 mg/L respectively. The 24 h LC_{50} , 48 h LC_{50} and safe concentration of dibromo dimethyl hydantoin (DBDMH) were 371.17, 339.65 and 85.32 mg/L respectively. The 24 h LC_{50} , 48 h LC_{50} and safe concentration of povidone-iodine (PVP-I) were 3.14, 1.45 and 0.09 mg/L respectively. The 24 h LC_{50} , 48 h LC_{50} and safe concentration of quaternary ammonium salt-iodine (QASI) were 4.24, 2.02 and 0.14 mg/L respectively. The results indicated that the toxicity sequence of the four disinfectants to *Apostichopus japonicus* juveniles in a descent order ranged as PVP-I > QASI > TCCA > DBDMH.

(本文编辑: 谭雪静)