

## 毒死蜱生态毒理与风险研究综述

苏冠勇, 张效伟, 韦 斯, 于红霞

(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, 江苏 南京 210093)

**摘要:** 毒死蜱被认为是一种高效、安全和广谱的含氮杂环类杀虫杀螨剂, 被广泛应用于农业生产病虫害的防治中。在中国, 毒死蜱曾被列为取代高毒农药的重要品种, 并被农业部推荐用于无公害农产品生产的专用杀虫杀螨剂。近年来, 由于不断发现的毒死蜱生物毒性及其产生的环境安全问题, 美国和欧盟国家已经在某些范围内禁用毒死蜱。综合近几年文献, 从环境介质含量、转化行为、生物活性检测以及国外水质基准等方面, 对其分别叙述, 旨在为今后中国地区毒死蜱的环境健康风险评价、生态风险评价和水质基准制定提供基本参考依据。

**关键词:** 暴露水平; 转化行为; 生物活性检测; 水质基准

**中图分类号:** X131.2

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1674-6732(2012)-05-0005-05

### Review of Ecotoxicological and Risk Assessment for Chlorpyrifos

SU Guan-yong, ZHANG Xiao-wei, WEI Si, YU Hong-xia

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing, Jiangsu 210093, China)

**ABSTRACT:** Chlorpyrifos was widely used in prevention of insect pests and treatment of diseases in agriculture since it was thought to be an efficient, safe and broad-spectrum heterocyclic insecticide. Chlorpyrifos was suggested to replace insecticide high-toxic pesticide for pollution-free agricultural products by National Development and Reform Commission. However, it has recently been prohibited for use in USA and some European countries because of environment safety concerns. Here the toxicological mechanisms, environmental exposures, transformation, and environmental quality criteria of Chlorpyrifos were discussed in this paper based on recent literatures. This work aimed to provide basic background and data for environmental health risk assessment, the ecological risk assessment and water quality criteria assessment in China.

**KEY WORDS:** exposure level; transformation; bioassay; water quality

1965年, 毒死蜱由美国陶氏化学公司在美国注册生产, 通用名为乐斯本(Lorsban)。此后, 毒死蜱及其系列产品成为应用最普遍的卫生杀虫剂, 然而截止1995年, 美国环保局(USEPA)收到249起关于毒死蜱污染事件的案件, 投诉者认为他们的症状与毒死蜱有关。2000年, 根据美国环保局的环保新标准, 毒死蜱逐渐在住宅中被淘汰使用。2008年, 美国国家海洋渔业局为了保护濒临灭绝的鲑鱼和虹鳟鱼, 特将这些物种的栖息地约1000英尺的范围划分为缓冲区, 禁止这块区域内毒死蜱农药的空中喷洒。

在中国, 毒死蜱被认为是一种高效、安全和广谱的含氮杂环类杀虫杀螨剂, 仍被广泛应用于农业生产病虫害的防治中。国家发改委和农业部甚至将毒死蜱列为取代高毒农药的重要品种, 并被农业部推荐用于无公害农产品生产的专用杀虫杀螨剂。

然而, 有文献指出, 暴露在含有毒死蜱的环境中, 可能会导致神经毒性、生殖毒性, 并会影响胚胎的生长发育<sup>[1,2]</sup>。笔者综合近几年的文献, 从环境介质含量、转化行为、生物活性检测以及国外水质基准等方面, 对其分别叙述, 旨在为今后中国地区毒死蜱的环境健康风险评价、生态风险评价和水质基准制定提供基本参考依据。

#### 1 药理和毒理学机制

与其他同种类型的杀虫剂不同, 毒死蜱可以产生急性毒性, 同时兼具阻断神经系统的功能。作为

收稿日期: 2012-01-10

基金项目: 江苏省环境监测科研基金项目(1012)。

作者简介: 苏冠勇(1985—), 男, 博士, 从事环境分析化学, 环境毒理学研究工作。

一种胆碱酯酶抑制剂,毒死蜥可经呼吸道、皮肤吸收,分布于肝脏、肾脏、脾脏等血液流量较高的器官。毒死蜥最主要的毒性之一是神经发育毒性<sup>[1]</sup>。蓄积于神经系统的后急性毒死蜥中毒会导致头痛、多汗、恶心、呕吐、头晕眼花、呼吸困难、心率减慢等症状;长期或反复接触毒死蜥会导致麻木、刺痛等中枢神经系统症状,高剂量会导致昏迷死亡。毒死蜥神经发育毒性的毒理学机制复杂,主要是对乙酰胆碱酯酶(AChE)具有抑制作用,引起神经功能紊乱,从而对神经发育产生影响。除胆碱能系统外,毒性机制还涉及非胆碱能神经系统变化

(如5-HT系统、DA系统)、DNA与蛋白质合成抑制及对重要信号通路(如Ca<sup>2+</sup>信号通路、长时程增强信号通路)的影响等多方面因素。<sup>[3-5]</sup>

目前,关于毒死蜥的生物测试共323个,其中有12个测试显示出了毒死蜥的生物活性,约占所有测试的4%。这12个生物测试涉及酪氨酰-DNA磷酸二酯酶I、磷酸泛酰巯基乙胺基转移酶、细胞色素P450、前列腺素受体EP2、潜伏性核相关抗原组蛋白、MAGL单酰甘油脂肪酶(瑞士韦伯斯特大鼠)、FAAH脂肪酸酰胺水解酶(瑞士韦伯斯特大鼠)7个的测试指标,如表1所示。

表1 12种具有生物活性的生物指标测试数据

生物测试指标	测试手段	PubChem 编号
酪氨酰-DNA 磷酸二酯酶 I	qHTS	485290
磷酸泛酰巯基乙胺基转移酶	qHTS	1490
细胞色素 P450	qHTS	884
前列腺素受体 EP2	鼠神经胶质瘤细胞	1421
前列腺素受体 EP2	鼠神经胶质瘤细胞	1080
前列腺素受体 EP2	鼠神经胶质瘤细胞	940
潜伏性核相关抗原组蛋白	HTS	2629
MAGL 单酰甘油脂肪酶	瑞士韦伯斯特大鼠 KIAA1363 酶表达	503745
MAGL 单酰甘油脂肪酶	瑞士韦伯斯特大鼠脑 KIAA1363 酶缺失	503744
MAGL 单酰甘油脂肪酶	瑞士韦伯斯特大鼠脑 KIAA1363 酶表达	503747
FAAH 脂肪酸酰胺水解酶	瑞士韦伯斯特大鼠脑 KIAA1363 酶缺失	503746

注:数据来源于美国国立生物技术信息中心。

## 2 暴露水平

毒死蜥的分子量约为350.6,25℃下在水中溶解度为1.39 mg/L,辛醇-水分配系数的log值在4.7~5.3之间,有机碳分配系数为8500,25℃下的蒸汽压为 $2.0 \times 10^{-5}$  mm 汞柱<sup>[6]</sup>。该物质易挥发,很难溶于水,进入水体后很快会被土壤中的颗粒物或植物吸附。据研究表明,在农药喷施过程中,一般只有农药使用量的10%~20%会附着在植物体上,其余部分约有40%~60%降落于地面。这些农田中残留的农药一部分会通过渗透作用被地表径流携带进入地下水和河流,进而进入海洋和湖泊;另一部分会通过植物蒸腾、浮沉和地表挥发进入大气,并通过干湿沉降返回地面,造成水体污染<sup>[7]</sup>。

在农业地区的水体中常会检测到毒死蜥,浓度大约在1~30 μg/L之间,在频繁使用的季节浓度

会更高。美国EPA从1987年开始对环境水体中的毒死蜥进行检测,如表2所示。

表2 北美地区毒死蜥在水体中的分布情况

研究对象	浓度范围/(ng · L <sup>-1</sup> )	参考文献
加拿大地区 北冰洋湖泊	<0.017 ~ 1.6	[8]
阿拉斯加海岸线	70 ~ 80	[9]
美国加州地表水	0.09 ~ 337	[10]
白令海峡合 楚克其海域	浮冰:170 000.0 海水:19 000.0 ~ 67 000.0	[11]

此外,有研究者检测发现,位于密西西比州的Beasley湖体底泥中的毒死蜥浓度为0.38~7.19 μg/kg<sup>[12]</sup>;也有研究者对中国珠三角一带的底泥中毒死蜥含量进行了报道,其含量为<RL-

100 ng/g dw<sup>[13]</sup>。

由于毒死蜱的正辛醇-水分配系数(Kow值)较高,容易被鱼类和其他水生动物富集。鱼类生物浓缩因子(BCF)为1 400~1 700<sup>[14]</sup>;美洲牡蛎(*Crassostrea virginica*)能迅速积累毒死蜱,软组织中的BCF高达1 650,而贝类的BCF仅为30~54<sup>[15]</sup>。由此可见,水体中低水平的毒死蜱虽无急性毒性,但残留物的积累仍会使鱼类遭受胁迫,并可能通过食物链富集并转移至陆生生物<sup>[16]</sup>。

### 3 环境特征

#### 3.1 毒死蜱的水解和光化学降解

毒死蜱属于二烷基磷酸酯类农药,在水体中较为稳定,普遍认为毒死蜱在水体中会发生亲核加成取代反应,从而发生水解反应。毒死蜱的水解半衰期受pH、温度、盐度、Cu<sup>2+</sup>等因素的影响<sup>[17]</sup>。

毒死蜱在水体中不仅会发生水解反应,也会发生氧化反应,产生毒性更强的毒死蜱氧化物。有研究者研究了饮用水消毒对毒死蜱的影响,发现氯易将毒死蜱氧化生成毒死蜱氧化物,而在低pH值下,毒死蜱的氧化反应更容易发生<sup>[18]</sup>。

空气、水体、土壤等环境接种中毒死蜱光降解的研究均有报道, Benitez 等人利用单一氧化剂(UV辐射、臭氧、Fenton试剂)和联合氧化技术(UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>/UV)对毒死蜱进行光催化降解研究,发现使用联合氧化技术光降解速率要大于使用单一氧化剂<sup>[19]</sup>。土壤湿度是影响毒死蜱在土壤中光解的重要因素,曾有人对比研究湿砂土

和干砂土中5 μg/kg毒死蜱的光解反应,发现湿砂土中的光解速率要比干砂土快30%<sup>[20]</sup>。

#### 3.2 毒死蜱在土壤中的吸附与降解

毒死蜱在土壤和沉积物中的吸附行为与毒死蜱化学性质和土壤沉积物中有机质含量有密切关系。曾有人研究毒死蜱在5种土壤中的吸附/解吸附特征,发现毒死蜱在土壤中的吸附与解吸附等温线符合Freundlich曲线,毒死蜱吸附与解吸附行为受到Kow值与土壤有机质含量的影响<sup>[21]</sup>。又有人研究毒死蜱在池塘沉积物中的吸附特征,发现毒死蜱在沉积物上的吸附系数Koc高达7.43×10<sup>3</sup> mL/g<sup>[22]</sup>。由于毒死蜱如此高的吸附系数,决定了毒死蜱在土壤中的环境归趋主要是被土壤所吸附。也有许多研究认为,土壤微生物在土壤中毒死蜱的降解过程扮演重要角色<sup>[23,24]</sup>。

### 4 生态毒性与水质基准

由于使用量及使用范围的不断扩大,毒死蜱对水生生物的毒性危害逐渐显现并引起广泛关注。近年来,很多文献就毒死蜱对水生生物的毒性及安全性研究进行了报道(表3),其中,毒死蜱对鱼类的急性毒性研究报道较多。试验中发现最敏感的淡水物种是水蚤类角突网纹蚤,96 h LC50为0.10 μg/L;最敏感的海水物种是糠虾,96 h LC50为0.04 μg/L。此外,也有学者对毒死蜱的慢性毒性及生物富集效应进行了研究。WIJNGAARDEN等测得毒死蜱对蚤状蚤(*Daphnia pulex*)的生殖NOEC为0.065 μg/kg<sup>[25]</sup>。

表3 毒死蜱对鱼类的急性毒性

物种	暴露时间	毒性指标	效应浓度	实验方法	参考文献
大型蚤	48 h	LC50	1.0 μg/L	静态法	[26]
蚤状钩虾	96 h	LC50	0.08 μg/L	半静态法	[27]
水栉水虱	96 h	LC50	1.8 μg/L	半静态法	[27]
中肋骨条藻	96 h	EC50	0.521 mg/L	藻类毒性测试标准方法	[28]
斑马鱼	48 h	LC50	13.3 μg/L	半静态法	[29]
斑马鱼	96 h	LC50	0.52 mg/L	半静态法	[30]
斑马鱼	96 h	LC50	0.68 mg/L	半静态法	[31]
鲫鱼	96 h	LC50	3.67 mg/L	静态法	[32]
鲫鱼	96 h	LC50	0.1849 mg/L	半静态法	[33]
鲤鱼	96 h	LC50	3.17 mg/L	静态法	[32]
鲢鱼	96 h	LC50	3.97 mg/L	静态法	[32]

毒死蜱也能通过生物富集而影响水生生态系统。

在96 h LC50的1/10作用剂量下持续暴露14 d后,毒

毒死蜱对鲫鱼脑部 AChE 活性抑制率达到峰值,为 76.07%,毒死蜱可以在鲫鱼组织器官中富集浓缩,富集量为肝脏(15.426 8 mg/kg) > 鳃(4.037 2 mg/kg) > 肌肉(2.207 4 mg/kg)<sup>[33]</sup>。陈舜华等报道了淡水中 5 种生物(食蚊鱼、石螺、扁卷螺、浮萍和西洋菜)对毒死蜱的富集作用,其中 3 种动物的富集能力强于 2 种植物<sup>[34]</sup>。

关于毒死蜱的水质基准,许多国家和地区进行了研究,具体见表 4 和表 5。

表 4 毒死蜱长期暴露的水质基准

国家或地区	应用	指导浓度/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	参考文献
美国	连续浓度	0.041	[35]
欧盟	内陆、过渡型、沿海、领海	0.000 46	[36]
澳大利亚/ 新西兰	保护 99% 的物种	0.000 4	[37]
澳大利亚/ 新西兰	保护 95% 的物种	0.01	[37]
加拿大	水生生物	0.003 5	[38]
荷兰	最大允许浓度	0.000 11	[39]
加拿大安大略省	水质目标	0.001	[40]

表 5 毒死蜱短期暴露的水质基准

国家	最大允许浓度/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	参考文献
美国	0.083	[35]
欧盟	0.001	[36]

注:引自 Canadian water quality guidelines for chlorpyrifos: scientific criteria document(draft)。

## 5 展望

毒死蜱作为一种 20 世纪 60 年代出现并逐渐被广泛使用的农药,在近十几年来越来越被西方发达国家所限制使用。在一些发展中国家,包括中国,毒死蜱在过去十几年来生产与使用规模不断增大。近年来由于环境暴露监测数据与生物效应研究数据的不断积累,人们对毒死蜱形成的生物毒性和生态风险有了逐渐清晰的了解。然而,在中国常用的化学合成农药有 300 多种,在美国注册和使用的杀虫剂有效成分物质有 900 多种,如何有效地管理和控制这些化学物质的生态风险仍然是 21 世纪人们必须面对的挑战。

致谢:于南洋、徐博阳、夏洁、胡欣欣和李小林参与了文献搜集和整理,在此对以上人员表示感谢。

## [参考文献]

- [1] CHEN W, JIANG H, WANG M, et al. Effects of Chlorpyrifos Exposure on Kidney Notch2 - Jagged1 Pathway of Early Prenatal Embryo[J]. Birth Defects Research, 2011, 92(2).
- [2] DEN H E, SCHOETERS G. Endocrine disrupters and human puberty [J]. International Journal of Andrology, 2006, 29(1):264-270.
- [3] NOLAN R J, RICK D L, FRESHOUR N L, et al. Chlorpyrifos: pharmacokinetics in human volunteers[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 1984, 73(1):8-15.
- [4] POPE C N, CHAKRABORTI T K, CHAPMAN M L, et al. Long-term neurochemical and behavioral effects induced by acute chlorpyrifos treatment[J]. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 1992, 42(2): 251-256.
- [5] RICHARDSON R J, MOORE T B, KAYYALI U S, et al. Chlorpyrifos; assessment of potential for delayed neurotoxicity by repeated dosing in adult hens with monitoring of brain acetylcholinesterase, brain and lymphocyte neurotoxic esterase, and plasma butyrylcholinesterase activities [J]. Fundamental and Applied Toxicology, 1993, 21(1):89-96.
- [6] Racke K D. Environmental fate of chlorpyrifos [J]. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 1993, 131: 1-150.
- [7] BARRON M G, WOODBURN K B. Ecotoxicology of chlorpyrifos [J]. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 1995, 144: 1-93.
- [8] MUIR D C G, TEIXEIRA C, WANIA F. Empirical and modeling evidence of regional atmospheric transport of current-use pesticides [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2004, 23(10):2421-2432.
- [9] GARBARINO J R, SNYDER C E, LEIKER T J, et al. Contaminants in arctic snow collected over northwest Alaskan sea ice [J]. Water Air and Soil Pollution, 2002, 139(1-4): 183-214.
- [10] ENSMINGER M, BERGIN R, SPERLOCK F, et al. Pesticide concentrations in water and sediment and associated invertebrate toxicity in Del Puerto and Orestimba Creeks, California, 2007-2008 [J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2011, 175(1-4).
- [11] CHERNYAK S M, RICE C P, MCCONNELL L L. Evidence of currently used pesticides in air, ice, fog, seawater and surface microlayer in the Bering and Chukchi seas [J]. Marine Pollution Bulletin, 1996, 32(5): 410-419.
- [12] LIZOTTE R E, KNIGHT S S, BRYANT C T. Sediment quality assessment of Beasley Lake: bioaccumulation and effects of pesticides in *Hyalella azteca* [J]. Chemistry and Ecology, 2010, 26(6):411-424.
- [13] LI H Z, MEHLER W T, LYDY M J, et al. Occurrence and distribution of sediment-associated insecticides in urban waterways in the Pearl River Delta, China [J]. Chemosphere, 2011, 82(10):

- 1373-1379.
- [14] HANSEN D J, GOODMAN L R, CRIPE G M, et al. Early life-stage toxicity test methods for gulf toadfish (*Opsanus beta*) and results using chlorpyrifos [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1986, 11(1):15-22.
- [15] WOODBURN K B, HANSEN S C, ROTH G A, et al. The bioconcentration and metabolism of chlorpyrifos by the eastern oyster, *Crassostrea virginica* [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2003, 22(2):276-284.
- [16] TILAK K S, VEERAI AH K, RAO D K. Toxicity and bioaccumulation of chlorpyrifos in Indian carp *Catla catla* (Hamilton), *Labeo rohita* (Hamilton), and *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2004, 73(5):933-941.
- [17] 田芹, 周志强, 江树人, 等. 毒死蜱在环境水体中降解的研究 [J]. *农业环境科学学报*, 2005, 24(2):289-293.
- [18] DUIRK S E, COLLETTE T W. Degradation of chlorpyrifos in aqueous chlorine solutions: Pathways, kinetics, and modeling [J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(2):546-551.
- [19] BENITEZ F J, REAL F J, GONZALEZ M, et al. Oxidation processes applied to the elimination of chlorpyrifos and acetochlor in aqueous solutions [J]. *Fresenius Environmental Bulletin*, 2006, 15(12A):1484-1490.
- [20] GRAEBING P, CHIB J S. Soil photolysis in a moisture- and temperature-controlled environment. 2. Insecticides [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52(9):2606-2614.
- [21] YU Y L, WU X M, LI S N, et al. An exploration of the relationship between adsorption and bioavailability of pesticides in soil to earthworm [J]. *Environmental Pollution*, 2006, 141(3):428-433.
- [22] LU J H, WU L S, NEWMAN J, et al. Degradation of pesticides in nursery recycling pond waters [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(7):2658-2663.
- [23] RACKE K D, LASKOWSKI D A, SCHULTZ M R. Resistance of Chlorpyrifos to Enhanced Biodegradation in Soil [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1990, 38(6):1430-1436.
- [24] ROBERTSON L N, CHANDLER K J, STICKLEY B D A, et al. Enhanced microbial degradation implicated in rapid loss of chlorpyrifos from the controlled-release formulation suSCon (R) Blue in soil [J]. *Crop Protection*, 1998, 17(1):29-33.
- [25] WIJNGAARDEN R, BROCK T C M, DOUGLAS M T. Effects of chlorpyrifos in freshwater model ecosystems: the influence of experimental conditions on ecotoxicological thresholds [J]. *Pest Management Science*, 2005, 61(10):923-935.
- [26] KERSTING K, WIJNGAARDEN R V. Effects of chlorpyrifos on a microecosystem [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1992, 11(3):365-372.
- [27] WIJNGAARDEN R, LEEUWANGH P, LUCASSEN W G H, et al. Acute toxicity of chlorpyrifos to fish, a newt, and aquatic invertebrates [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1993, 51(5):716-723.
- [28] 陈秋兰, 陈猛, 郑森林, 等. 毒死蜱、乙草胺、一氯杀螨醇对中华肋骨条藻的单一和二元联合毒性效应 [J]. *海洋环境科学*, 2010, 29(6):874-878.
- [29] 赵华, 李康, 吴声敢, 等. 毒死蜱对环境生物的毒性与安全性评价 [J]. *浙江农业学报*, 2004, 16(5):292-298.
- [30] 余向阳, 赵于丁, 王冬兰, 等. 毒死蜱和三唑磷对斑马鱼头部 AChE 活性影响及在鱼体内的富集 [J]. *农业环境科学学报*, 2008, 27(6):2452-2455.
- [31] 季静, 肖斌, 李杨, 等. 两种不同剂型毒死蜱对四种环境生物的毒性评价 [J]. *农业环境科学学报*, 2010, 29(9):1681-1686.
- [32] 赵玉琴, 李丽娜, 李建华. 常见拟除虫菊酯和有机磷农药对鱼类的急性及其联合毒性研究 [J]. *环境污染与防治*, 2008, 30(11):53-57.
- [33] 夏锦瑜, 王冬兰, 张志勇, 等. 毒死蜱和丙溴磷对鲫鱼的毒性效应及其在鱼体中的富集 [J]. *江苏农业学报*, 2010, 26(5):1088-1092.
- [34] 陈舜华, 钟创光, 赵小奎. 几种淡水动植物对 14C2 毒死蜱的吸收、分布和消长的研究 [J]. *核农学报*, 1998, 12(5):286-292.
- [35] United States Environmental Protection Agency, National Recommended Water Quality Criteria: 2002 [S]. 2002.
- [36] LEPPER P. Towards the Derivation of Quality Standards for Priority Substances in the Context of the Water Framework Directive. Final Report of the Study, Contract No. B4-3040/2000/30637/MAR/E1: Identification of quality standards for priority substances in the field of water policy [R]. 2002.
- [37] Australian and New Zealand Environment and Conservation Council. National Water Quality Management Strategy: Australian Water Quality Guidelines for Fresh and Marine Waters. ISBN 09578245-0-5. , Agriculture and Resource Management Council of Australia and New Zealand [S]. 2000.
- [38] Conseil canadien des ministres de l'environnement, Protocole d'élaboration des recommandations pour la qualité des eaux en vue de protéger la vie aquatique. Publié dans: Recommandations canadiennes pour la qualité de l'environnement, 1999 [S]. Winnipeg. 2007.
- [39] VAN DEN PLASSCHE E J, Towards Integrated Environmental Quality Objective for Several Compounds with a Potential for Secondary Poisoning. Report No. 679101 012. National Institute of Public Health and Environmental Protection, Bilthoven [S]. The Netherlands. 1994.
- [40] OMEE, Water Management Policies Guidelines: Provincial Water Quality Objectives of the Ministry of the Environment and Energy [S]. Toronto, Ontario. 1994.