

阎晓静, 王金花, 朱鲁生, 等. 卡马西平对小球藻生长的影响和氧化损伤[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(4): 643–650.

YAN Xiao-jing, WANG Jin-hua, ZHU Lu-sheng, et al. Effects of carbamazepine on the growth and the oxidative damage of *Chlorella*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(4): 643–650.

卡马西平对小球藻生长的影响和氧化损伤

阎晓静, 王金花*, 朱鲁生, 王 军, 张风兆

(山东农业大学资源与环境学院, 山东省高校农业环境重点实验室, 山东 泰安 271018)

摘 要: 为了考察药品及个人护理品(Pharmaceuticals and Personal Care Products, PPCPs)对水生生物及生态环境的影响, 以典型的PPCPs 化合物卡马西平(Carbamazepine, CBZ)为目标化合物, 研究其对普通小球藻(*Chlorella*)的生长、叶绿素含量、超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)活性、过氧化氢酶(Catalase, CAT)活性和丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量的影响。结果表明, CBZ 对小球藻的 96 h 半最大效应浓度(EC_{50})为 $154.42 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 对小球藻具有一定的毒性作用, 能抑制小球藻的生长。CBZ 影响小球藻的叶绿素含量, 低浓度($0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的 CBZ 对小球藻的叶绿素 a 和 b 的含量有抑制作用, 使其分别降低到 $2.16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.38 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 随着 CBZ 浓度的升高, 抑制作用逐渐减弱; 小球藻 SOD 的活性随 CBZ 浓度的升高表现出先激活后抑制的状态, CAT 活性表现出中低浓度激活的状态; CBZ 对 MDA 含量的影响较弱, 处理组含量在 $2.06 \sim 2.32 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 范围之间, 略高于对照组。由冗余分析(RDA)可知, CBZ 对小球藻 CAT、SOD 活性和叶绿素 a 含量的影响更显著。

关键词: 小球藻; 卡马西平; 叶绿素含量; 毒性效应

中图分类号: X503.23 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2017)04-0643-08 doi:10.11654/jaes.2016-1259

Effects of carbamazepine on the growth and the oxidative damage of *Chlorella*

YAN Xiao-jing, WANG Jin-hua*, ZHU Lu-sheng, WANG Jun, ZHANG Feng-zhao

(College of Resources and Environment, Key Laboratory of Agricultural Environment in Universities of Shandong, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

Abstract: As a kind of emerging contaminants, pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) have been gradually concerned by people. PPCPs cause serious adverse effects on aquatic organisms in water because of the residual toxicity in the water environment. The experiment was based on carbamazepine (CBZ) as the target compound, the typical PPCPs compound, which studied the influence of CBZ on the ordinary *Chlorella* growth, chlorophyll content, superoxide dismutase (SOD) activity, catalase (CAT) activity and malondialdehyde (MDA) content. The concentration of 96 h half maximal effect (EC_{50}) of CBZ on *Chlorella vulgaris* was $154.42 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, which have certain toxicity effects on *Chlorella* and can inhibit the growth of *Chlorella*. CBZ affected the chlorophyll content of *Chlorella*. The low concentration ($0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) of CBZ act as a disincentive to *Chlorella* chlorophyll a and chlorophyll b content, which decreased to $2.16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $0.38 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ respectively. The inhibition gradually weakened with the increasing of CBZ concentration. With the increase of CBZ concentration, the activity of SOD in *Chlorella* showed inhibition after activation first state, and the activity of CAT showed a low concentration of activated state. The influence of CBZ on MDA content was weak, and the MDA content of processing group was in the range of 2.06 to $2.32 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$, which

收稿日期: 2016-09-30

作者简介: 阎晓静(1993—), 女, 山东潍坊人, 硕士研究生, 研究方向为环境与生态毒理。E-mail: yxj_93@163.com

* 通信作者: 王金花 E-mail: wjh@sdaa.edu.cn

基金项目: 国家科技重大专项(2016YFD0201203); 国家自然科学基金项目(21377075, 41671320); 山东省自然科学基金(ZR2016JL029); 泰山学者工程专项

Project supported: The National Key Research and Development Program of China(2016YFD0201203); The National Natural Science Foundation of China(21377075, 41671320); The Natural Science Foundation of Shandong Province, China(ZR2016JL029); The Special Funds of Taishan Scholar of Shandong Province, China

was slightly higher than the control group. The redundancy analysis (RDA) showed that the influence of CBZ on CAT, SOD activity and the content of chlorophyll a were more significant.

Keywords: *Chlorella*; carbamazepine; chlorophyll content; toxicity effects

21 世纪以来, 随着环境分析技术的进步和人们环保意识的增强, 一大类新型环境污染物——药品及个人护理用品 (Pharmaceutical and personal care products, PPCPs) 开始受到人们的广泛关注。大多数 PPCPs 在环境中具有浓度低、结构复杂、难降解、累积性等特点^[1]。长期的 PPCPs 污染可能对水生生物产生内分泌干扰效应或繁殖毒性^[2], 诱发生物栖息物发生生物化或生化功能的改变, 对生态环境及生物健康产生较大的危害。环境中很多 PPCPs 被检出, 质量浓度水平基本处于 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 至 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围, 虽然在环境中浓度水平较低, 但对环境的风险不容忽视^[3]。Zhou 等^[4]研究表明, 长江和珠江水体中 PPCPs 具有较高的环境风险, 如双氯芬酸和布洛芬。虽然地表水中的抗生素浓度远小于医疗剂量, 却能够在人体中诱导细菌耐药性, 并破坏生态系统^[5]。

卡马西平 (Carbamazepine, CBZ) 是 PPCPs 中的一类典型化合物。CBZ 主要用于治疗癫痫、心律失常和抑郁等疾病, 用量较大^[6]。CBZ 排入环境的方式多样, 并可在环境中残留, 导致水体中的 CBZ 持续性存在, 对生态系统产生不良影响^[7]。Malarvizhi 等^[8]报道了 CBZ 对鲤鱼的鳃、肝脏和肌肉的谷氨酸-草酰乙酸转氨酶 (GOT)、谷丙转氨酶 (GPT) 和乳酸脱氢酶 (LDH) 活性的影响。结果显示, 在所有器官中, CBZ 对鲤鱼的 GOT 均呈抑制作用, 24 h LC_{50} 是 $59.70\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 而 GPT 和 LDH 活性在肝脏和肌肉中呈促进作用, 在鳃中呈抑制作用。Aguirre-Martínez 等^[9]也报道了 CBZ 对普通青蟹的稳定溶酶体膜、二苄基荧光脱羟酶、谷胱甘肽 S-转移酶、谷胱甘肽过氧化物酶、脂质过氧化和 DNA 加合物有显著影响。CBZ 还能引起斑马鱼胚胎心率降低, 其引起胚胎心率下降的 24 h EC_{50} 约为 $626.07\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 并呈现量效依赖性^[10]。因此, CBZ 对水生生物的毒性效应不容忽视。

藻类是水体中最主要的初级生产者, 对生态系统的平衡和稳定起到重要的作用^[11]。藻类具有敏感性高、易获得、繁殖快等特点, 因而作为一种很好的测试生物被广泛应用于污染物的毒性研究中^[12-13]。本实验选取的普通小球藻 (*Chlorella*) 即为藻类中最具代表性的一种。光合色素是植物进行光合作用的物质基础, 可以用于判断植物光合生理能力、反映环境胁迫

状况, 其含量变化能较好地反映植物各阶段的生长发育是否正常^[14]。生物体内的抗氧化酶系, 如超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和抗坏血酸、类胡萝卜素等, 在受到污染物刺激时, 其酶活性的变化可以间接反映机体受氧化胁迫的程度, 因此酶活性作为一类重要指标受到国内外学者的关注。另外, 丙二醛 (MDA) 是细胞脂质过氧化的终产物, 机体内 MDA 含量的多少通常可以反映出其体内脂质过氧化反应的程度, 因此对 MDA 含量进行测定可以较准确的反映出细胞的受损程度^[15]。Yang 等^[16]在 2-甲基乙酰乙酸乙酯 (EMA) 对三角褐指藻的毒性效应研究中发现, EMA 使得三角褐指藻的活性氧自由基和 MDA 含量均有增加, 且三角褐指藻 SOD 活性随 EMA 浓度的增加而升高。

本实验拟研究 CBZ 对小球藻生长量、半最大效应浓度 (EC_{50})、叶绿素 a 和 b 含量、抗氧化酶系 (SOD、CAT) 活性和 MDA 含量的影响, 以揭示 CBZ 对水生生物的生态毒理效应, 为其安全使用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

普通小球藻购置于中国科学院武汉水生生物研究所淡水藻种库, 并经室内扩大培养用于实验。

储备液制备: 将 0.5 g CBZ 用甲醇溶解, 配制成浓度为 $10\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的母液, 于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储存备用。

1.2 实验方法

1.2.1 藻种的培养

将小球藻在无菌条件下转移至 BG-11 培养液中, 于光照培养箱中 (光照强度为 3000 lx , 光暗比为 $12\text{ h}:12\text{ h}$, 培养温度为 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$) 培养, 每天定时摇晃 5~6 次防止藻种老化沉淀, 以 5~6 d 一次的频率接种。定期镜检, 在形状上观察藻种是否单一、有无其他杂菌 (是否发生聚集现象)。预培养 3 代, 镜检细胞正常, 进入对数生长期时进行实验。

1.2.2 小球藻的生长抑制实验

用直线内插法初步计算 CBZ 抑制淡水绿藻的 96 h EC_{50} 范围, 以初步确定值为基准, 各向两边以等差数列形式延伸, 最终确定 CBZ 的浓度为: 0 、 40 、 70 、 100 、 130 、 $160\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在初始藻密度约为 $6.0\times10^5\text{ 个}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时开始, 采用血球计数板计数法每 24 h 测定藻

细胞数量,每组设 3 个平行样,连续培养 96 h。最后,根据《化学品藻类生长抑制试验》^[17]中的概率单位-浓度对数法,计算 CBZ 对小球藻的 96 h EC_{50} 。实验采用的是 16×25(大格)的计数板,细胞数计算公式为:

$$\text{细胞个数}(\text{个}\cdot\text{mL}^{-1})=\frac{80\text{小格内细胞数}}{80}\times 4\times 10^6$$

1.2.3 叶绿素含量测定

将染毒时间为 96 h 的小球藻藻液移取 20 mL 到具塞离心管(50 mL)中,10 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min,弃上清液得到藻体,加丙酮研磨,暗处提取 1 h,离心(4 $^{\circ}\text{C}$ 、13 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、10 min)得到澄清液。采用分光光度法,以 90%丙酮为参比,用 U-2 900 分光光度计扫描范围为 400~750 nm 的光谱,叶绿素 a、b 的浓度值($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)使用在 663、645、630 nm 处测得的吸光度(OD 值)来计算,用 750 nm 处的 OD 值来校正浑浊度,将每个色素的 OD 值减去 750 nm 下的浊度校正值后,代入下列公式^[18]计算浓度:

$$\text{叶绿素 a 含量} = 11.64(\text{OD}_{663}) - 2.16(\text{OD}_{645}) + 0.10(\text{OD}_{630})$$

$$\text{叶绿素 b 含量} = 20.97(\text{OD}_{645}) - 3.94(\text{OD}_{663}) - 3.66(\text{OD}_{630})$$

1.2.4 酶活性测定

取一定量(约 20 mL)的藻液,9000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 20 min,弃上清液,准确称量藻体质量,按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:(5~10)的比例,加入相应的提取液,冰浴匀浆。8500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min,上清液为粗酶液。

测定方法采用苏州科铭生物技术有限公司 SOD、CAT 含量试剂盒法中的分光光度法,其中 SOD、CAT 分别在分光光度计波长为 560、240 nm 处进行测量。

(1) SOD 活性计算:

$$\text{抑制百分率} = (A_{\text{对照管}} - A_{\text{测定管}}) \div A_{\text{对照管}} \times 100\%$$

$$\text{SOD 活性}(\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\text{鲜重}) = [\text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \times V_{\text{反应}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times \text{样本稀释倍数} = 11.4 \times \text{抑制百分率} \div (1 - \text{抑制百分率}) \div W \times \text{样本稀释倍数}$$

式中: $A_{\text{对照管}}$ 、 $A_{\text{测定管}}$ 分别为对照管、测定管的吸光度; $V_{\text{反应}}$ 为反应体系总体积,1.026 mL; $V_{\text{样}}$ 为加入反应体系中样本体积,0.09 mL; $V_{\text{样总}}$ 为加入提取液体积,1 mL; W 为样本质量,g。

(2) CAT 活性计算:

$$\text{CAT}(\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\text{鲜重}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\varepsilon \times d) \times 109] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 678 \times \Delta A \div W$$

式中: ΔA 为 240 nm 下的初始吸光度与 1 min 后的吸

光度的差值; $V_{\text{反应}}$ 为反应体系总体积,1.035 $\times 10^{-3}$ L; ε 为 H_2O_2 摩尔消光系数,4.36 $\times 10^4$ $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$; d 为比色皿光径,1 cm; $V_{\text{样}}$ 为加入样本体积,0.035 mL; $V_{\text{样总}}$ 为加入提取液体积,1 mL; T 为反应时间,1 min; W 为样本质量,g。

1.2.5 MDA 含量测定

利用 1.2.4 节中提取的粗酶液,采用试剂盒法测定。MDA 含量按下式计算:

$$\text{MDA 含量}(\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}\text{鲜重}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\varepsilon \times d) \times 109] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) = 25.8 \times \Delta A \div W$$

式中: ΔA 为 532 nm 与 600 nm 下吸光度的差值; $V_{\text{反应}}$ 为反应体系总体积,8 $\times 10^{-4}$ L; ε 为丙二醛摩尔消光系数,155 $\times 10^3$ $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$; d 为比色皿光径,1 cm; $V_{\text{样}}$ 为加入样本体积,0.2 mL; $V_{\text{样总}}$ 为加入提取液体积,1 mL; W 为样本质量,g。

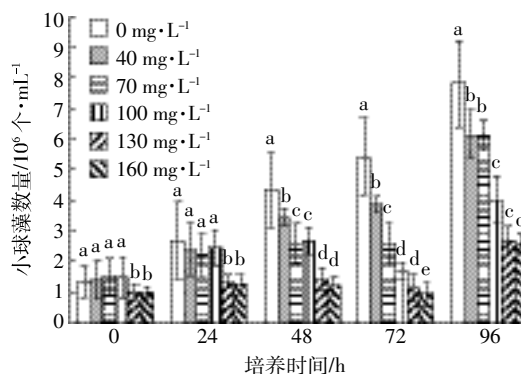
1.3 数据处理

实验结果运用 Excel 2010 计算数据平均值和标准偏差,采用 SPSS 16.0 软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA)中的 LSD 检验和 Canoco 冗余分析对实验数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 CBZ 对小球藻数量的影响

由图 1 可知,在实验开始时,藻液中小球藻各个浓度处理组的数量基本一致,随着时间的延长,对照组数量与时间呈线性关系。第 96 h 的对照组和处理组小球藻数量相比前四个时间段均有显著增加,其中在 40 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 70 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的暴露浓度下,小球藻细胞数量均约为 6.2×10^6 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$,更高(130、160 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的暴露浓度下,小球藻细胞数量分别为 2.7×10^6 、 $2.6 \times$



图中不同小写字母表示各处理间差异显著($P < 0.05$)。下同

图 1 CBZ 对小球藻数量的影响

Figure 1 Effects of CBZ on the numbers of *Chlorella*

10^6 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 。通过计算得出 CBZ 对小球藻的 96 h $\text{EC}_{50}=154.42 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,根据水和废水检测分析方法^[19]中藻类生长抑制实验对毒物的毒性分级标准可知,CBZ 对小球藻属于低毒物质。

2.2 CBZ 对小球藻叶绿素含量的影响

由图 2 可知,经各浓度 CBZ 处理后的小球藻,叶绿素 a 和叶绿素 b 含量都明显低于对照组。随着处理组染毒浓度的升高,叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量均出现先减少后增加的趋势。由此可见,低浓度($0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的 CBZ 明显降低了小球藻叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量,其中叶绿素 a、叶绿素 b 含量分别为 2.16、 $0.38 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。随着染毒浓度的升高,叶绿素降低的趋势逐渐减缓。

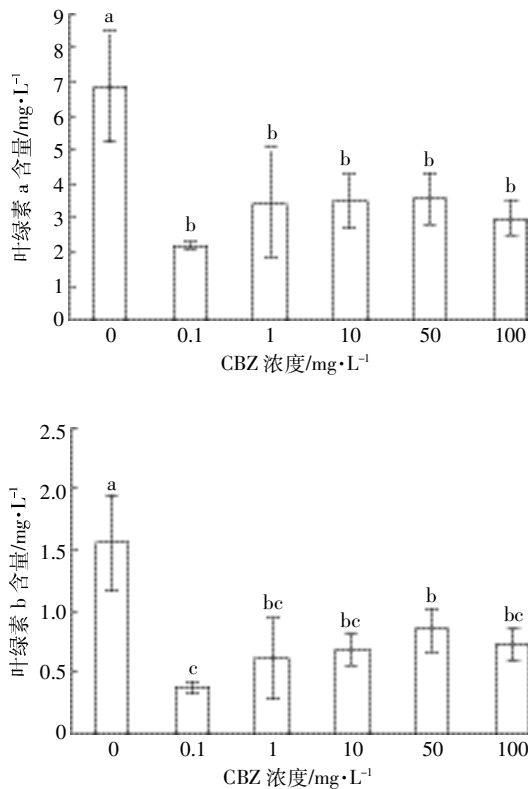


图 2 CBZ 对小球藻叶绿素含量的影响

Figure 2 Effects of CBZ on the chlorophyll content of *Chlorella*

2.3 CBZ 对小球藻 SOD 活性的影响

图 3 为染毒第 7 d 时 CBZ 对小球藻 SOD 活性的影响。低浓度处理组($0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)相对于对照组而言,对小球藻 SOD 的活性起到了促进作用,而中高浓度处理组($1, 10, 50, 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)随着浓度的增加,对 SOD 活性起到了相对明显的抑制作用,其活性逐渐减弱。最终高浓度处理组($50, 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)SOD 活性稳定

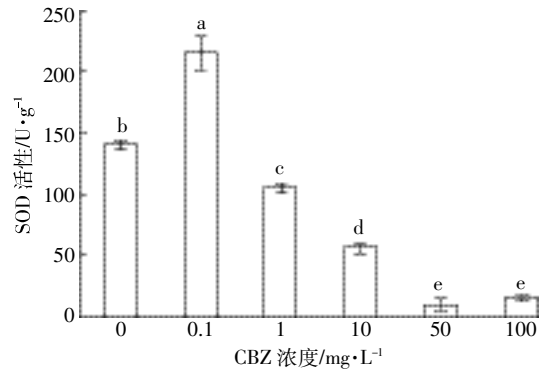


图 3 CBZ 对小球藻 SOD 活性的影响

Figure 3 Effect of CBZ on the SOD activity of *Chlorella*

在 $8.68\sim 14.21 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ 范围内。

2.4 CBZ 对小球藻 CAT 活性的影响

图 4 为染毒第 7 d 时 CBZ 对小球藻 CAT 活性的影响。低中浓度处理组($0.1, 1, 10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)表现出与对照组的显著性差异($P<0.05$),而高浓度处理组($50, 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)与对照组并无显著性差异。因此,在 CBZ 的影响下,中低浓度处理组的 CAT 活性受到激活,并且活性随浓度升高而降低;而高浓度的处理组活性基本不变,大致为 $4.52 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

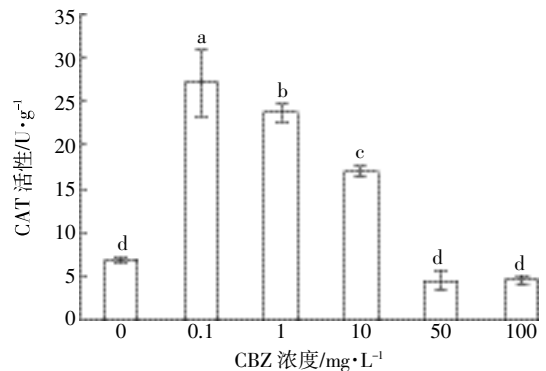


图 4 CBZ 对小球藻 CAT 活性的影响

Figure 4 Effect of CBZ on the CAT activity of *Chlorella*

2.5 CBZ 对小球藻 MDA 含量的影响

图 5 为染毒第 7 d 时 CBZ 对小球藻 MDA 活性的影响。各浓度 CBZ 的处理组 MDA 含量均略高于对照组,处理组之间 MDA 含量变化不明显,其含量在 $2.06\sim 2.32 \text{ nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间。因此,CBZ 在短时间内对小球藻的 MDA 含量并无明显的影响。

2.6 小球藻指标的主成分分析

图 6 为 CBZ 对小球藻影响的冗余分析图。CBZ 浓度的变化对图中五项指标的影响程度较大,CBZ 浓度与小球藻叶绿素 a 含量、叶绿素 b 含量、SOD 活性、

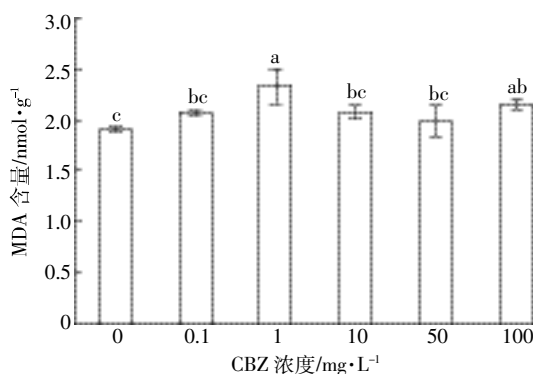


图 5 CBZ 对小球藻 MDA 含量的影响

Figure 5 Effect of CBZ on the MDA content of *Chlorella*

CAT 活性呈负相关,与 MDA 含量呈正相关,其中小球藻 CAT、SOD 活性和叶绿素 a 含量受 CBZ 的影响较大。此外,SOD、CAT 活性的相关性较高,并且在 CBZ 浓度为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 CAT 活性受影响显著;叶绿素 a、叶绿素 b 含量的相关性次之,并且在 CBZ 浓度为 $1, 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时受影响显著。

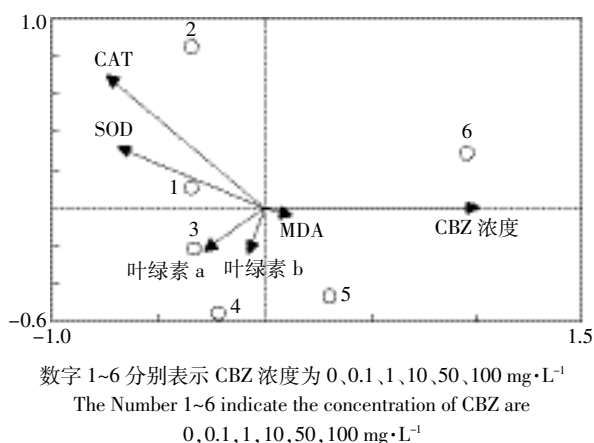


图 6 CBZ 对小球藻影响的冗余分析

Figure 6 RDA for the effects of CBZ on *Chlorella*

3 讨论

本实验的目的是通过研究 CBZ 对小球藻的影响,探究 CBZ 对水生生物的生态毒性,为控制药物残留、保护生态环境提供理论依据。实验测得 CBZ 对小球藻的 96 h EC_{50} 为 $154.42 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,可见有毒性影响,并且随着 CBZ 浓度的升高和时间的延长,小球藻生长受抑制作用加强,而 96 h 小球藻数量有显著增加,说明小球藻对 CBZ 有逐渐适应的趋势。王丽艳^[20]在研究纳米 CuO 对小球藻的毒性效应中,测得纳米 CuO 的 96 h EC_{50} 为 $74.61 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,并且对小球藻的毒性存

在剂量-效应关系,与本研究随 CBZ 浓度的升高,小球藻生长受抑制加重的趋势差别较小。由此可见,高浓度的污染物暴露均可污染水生环境,影响藻类的生长。本实验同时也研究了小球藻叶绿素含量随 CBZ 暴露浓度的变化情况,结果显示处理组叶绿素 a 和叶绿素 b 含量均明显低于对照组,低浓度 ($0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) CBZ 对其含量的降低程度最显著。Zhang 等^[21]研究 CBZ 对斜生栅藻和蛋白核小球藻的生态毒理效应,结果显示,CBZ 影响两者叶绿素 a 的合成,且小球藻表现出更明显的剂量-效应关系,即小球藻叶绿素 a 含量随 CBZ 浓度的升高而减少,与本研究结果存在差异。李威等^[22]在抗癌物 5-氟尿嘧啶对羊角月牙藻的叶绿素含量影响中得到与本研究相似的结果,即低浓度 ($5.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 暴露下的 5-氟尿嘧啶对羊角月牙藻叶绿素含量表现出抑制作用,浓度为 $12.5 \sim 32 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时叶绿素含量有所提高,浓度大于 $32 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时其含量呈下降趋势。这种相似的结果可以解释为藻类色素合成的相关酶类在一定污染物胁迫浓度下受到激活,叶绿素含量相应增加,而随着胁迫浓度的升高,由于植物细胞中活性氧受到攻击和叶绿体中捕光 Chla/b-Pro 复合体的合成受到抑制,叶绿素含量又逐渐降低,由此对藻类正常的生化反应造成危害,并间接影响环境中的碳氧循环。

生物体内具有抗氧化作用的酶类主要包括 SOD、CAT、POD 等。其中 SOD 是清除超氧自由基的唯一特效酶,其含量及活性是整个自由基连锁反应过程的限制性因素之一^[23];CAT 是生物体内酶系统中重要的抗氧化酶之一,可催化 H_2O_2 降解为 H_2O 和 O_2 ,从而防止机体氧化损伤^[24]。本次实验中的小球藻 SOD、CAT 活性均在 CBZ 浓度为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时受到激活,说明机体内抗氧化酶含量升高,正积极防御外来氧化的损伤;而当染毒浓度升高至超过了细胞的抗氧化能力时,酶结构遭到破坏,活性呈下降趋势。李楠^[25]在双酚 A (BPA) 对小球藻和斑马鱼的毒性效应研究中得到与本研究相似的结论,即低浓度的 BPA 对小球藻的 SOD 活性产生激活作用,随着 BPA 浓度的升高,SOD 活性下降,说明机体在低浓度 BPA 的影响下,产生了保护性的应激反应,而高浓度 BPA 暴露超出其修复能力,导致氧化损伤,甚至死亡。此外,吴清莲等^[26]在研究 Y^{3+} 对 Pb^{2+} 胁迫下铜绿微囊藻生长生理的影响时发现,低质量浓度的 Y^{3+} ($0.10 \sim 0.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 促进了 Pb^{2+} 胁迫下铜绿微囊藻的抗氧化酶活性,高质量浓度 Y^{3+} ($1.00 \sim 10.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 则抑制了铜绿微囊藻的抗氧

化酶活性,同样与本研究结果相似。可见,实验中各暴露浓度下的污染物均能导致藻类抗氧化酶系的改变,对藻类产生不同程度的损伤。

MDA 是机体膜脂过氧化最重要的产物之一。MDA 含量的增加反映机体内自由基的大量积累,机体受到自由基攻击,引起膜脂过氧化,破坏细胞膜系统的完整性^[27]。本研究中 CBZ 处理组的 MDA 含量均略高于对照组,说明 CBZ 引起了机体的膜脂过氧化,细胞受到损伤。杨兆壬等^[28]通过急性毒性实验探究 [OMIm]Br 离子液体对蛋白核小球藻的致毒作用,结果显示随着离子液体浓度升高,小球藻 MDA 含量增加,高浓度处理组 (50 mg·L⁻¹ 和 80 mg·L⁻¹) 的 MDA 含量较对照组均有极显著差异 ($n=3, P<0.01$),说明藻细胞在不利环境中受到氧化损伤。龙瑞等^[29]在 Mn²⁺、Cd²⁺ 对伊乐藻处理 7 d 的实验中得出,单一 Mn²⁺、Cd²⁺ 胁迫均不同程度地加快了伊乐藻 MDA 的产生,表明生物体可通过自身抗氧化系统的应激性清除过多的活性自由氧,增强抗逆性以抵抗污染物的胁迫,与本研究的结果相似。

在正常的藻细胞中,活性氧自由基 (Reactive oxygen species, ROS) 的产生和清除处于平衡状态,当 ROS 产生过多或抗氧化能力减弱时,会导致细胞内部脂质过氧化,使 MDA 含量上升, SOD、CAT 活性增高,以清除细胞内部的活性氧^[30]。为了通过少数指标揭示多个变量之间的内部结构,选择直接梯度排序方法进行分析,本研究基于对各指标进行去趋势对应分析 (DCA) 的判断,确定选择线性模型冗余分析。冗余分析是一种直接梯度排序分析方法,与常规统计分析对各个指标的相关性分析结果一致,但它以样方为基础,能通过箭头方向和长度等在排序图上更直观表达出各要素之间的相关性和影响程度,是一种更加科学的评价方法^[31]。本研究分析结果显示,小球藻的 CAT、SOD 活性和叶绿素 a 含量受 CBZ 的影响较大,并且 CBZ 浓度的变化与小球藻叶绿素含量、SOD 活性、CAT 活性呈负相关,与 MDA 含量呈正相关。这表明 CBZ 可对小球藻抗氧化酶类及叶绿素的合成产生不利影响,进而造成细胞膜脂过氧化。王蓉等^[32]在纳米硫化镉量子点对斜生栅藻的毒性研究中,通过计算斜生栅藻 SOD 活性和 MDA 含量变化的百分比得出,在硫化镉量子点暴露浓度为 1.0 mg·L⁻¹ 时两指标呈明显负相关关系,与本研究结果相似。同样,在 [OMIm]Br 离子液体对蛋白核小球藻的影响实验中,分析小球藻各指标随离子液体暴露浓度的变化趋势线可得,受

试物剂量与小球藻叶绿素含量、SOD 活性呈负相关,与 MDA 含量呈正相关,即离子液体与小球藻的阻滞程度和坏死程度存在剂量-效应关系^[28]。

4 结论

(1) CBZ 对小球藻的 96 h EC₅₀ 为 154.42 mg·L⁻¹, 说明其对小球藻有一定的毒性,能抑制小球藻的生长,并且浓度越高,抑制作用越强;CBZ 影响小球藻叶绿素含量,随 CBZ 浓度的升高,叶绿素 a、叶绿素 b 含量表现出先减少后增加的趋势。

(2) 不同浓度的 CBZ 对小球藻的抗氧化酶活性均有一定程度的影响,低浓度处理组 (0.1 mg·L⁻¹) 对小球藻 SOD 的活性具有促进作用,中高浓度处理组 (1、10、50、100 mg·L⁻¹) 对 SOD 活性起到了明显的抑制作用,并随着浓度的增加逐渐增强;中低浓度处理组 (0.1、1、10 mg·L⁻¹) 的小球藻 CAT 活性受到激活,并随浓度升高活性降低,而高浓度的处理组 (50、100 mg·L⁻¹) 活性与对照组无显著差异 ($P<0.05$);处理组小球藻的 MDA 含量均高于对照组,细胞均受到膜脂过氧化损伤。

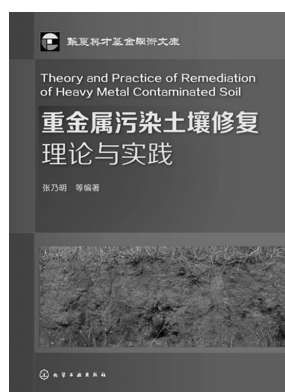
(3) 通过 CBZ 对小球藻各个指标的相关性分析可得,小球藻的 CAT、SOD 活性和叶绿素 a 含量受 CBZ 的影响较大。

参考文献:

- [1] 王樱凝,崔迪,庞长珑,等. 水中 PPCPs 的污染现状及其控制技术进展[J]. 中国给水排水, 2015, 31(24): 25-29.
WANG Ying-ning, CUI Di, PANG Chang-long, et al. Pollution status and control technologies of pharmaceuticals and personal care products: Review[J]. *China Water & Wastewater*, 2015, 31(24): 25-29.
- [2] 刘娜,金小伟,王业耀,等. 我国地表水中药物与个人护理品污染现状及繁殖毒性筛查[J]. 生态毒理学报, 2015, 10(6): 1-12.
LIU Na, JIN Xiao-wei, WANG Ye-yao, et al. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) caused reproductive toxicity in surface water of China: A review[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2015, 10(6): 1-12.
- [3] 刘晓晖,董文平,乔光明,等. 水环境中药品和个人护理品的迁移转化、毒性效应及其风险评估[J]. 科技导报, 2015, 33(16): 56-60.
LIU Xiao-hui, DONG Wen-ping, QIAO Guang-ming, et al. Transport-transformation, toxic effect and risk assessment of pharmaceuticals and personal care products in water[J]. *Science and Technology Review*, 2015, 33(16): 56-60.
- [4] Zhou X F, Dai C M, Zhang Y L, et al. A preliminary study on the occurrence and behavior of carbamazepine (CBZ) in aquatic environment of Yangtze River Delta, China[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2011, 173(1): 45-53.
- [5] Huang R X, Ding P, Huang D Q, et al. Antibiotic pollution threatens

- public health in China[J]. *The Lancet*, 2015, 385(9970):773-774.
- [6] 龚浩,郭劲松,方芳,等.改性陶粒对水中卡马西平去除的动态吸附实验及模型[J]. *环境工程学报*, 2016, 10(7):3573-3579.
- GONG Hao, GUO Jin-song, FANG Fang, et al. Experiments and model for dynamic adsorption of carbamazepine onto modified ceramisite in drinking water[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2016, 10(7):3573-3579.
- [7] 高晓亚. BiOX 对水中卡马西平的光催化降解及其对人类皮肤角质细胞的生物效应评价[D]. 太原:太原理工大学, 2015:1-124.
- GAO Xiao-ya. Study on BiOX for photocatalytic degradation of carbamazepine and biological aspects on human HaCaT cells[D]. Taiyuan: Taiyuan University of Technology, 2015:1-124.
- [8] Malarvizhi A, Kavitha C, Saravanan M, et al. Carbamazepine(CBZ) induced enzymatic stress in gill, liver and muscle of a common carp, *Cyprinus carpio*[J]. *Journal of King Saud University-Science*, 2012, 24(2):179-186.
- [9] Aguirre-Martínez G V, Del Valls T A, Martín-Díaz M L. Early responses measured in the brachyuran crab *Carcinus maenas* exposed to carbamazepine and novobiocin: Application of a 2-tier approach[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2013, 97:47-58.
- [10] 王雪,王希敏,韩利文,等.卡马西平对斑马鱼胚胎心脏功能的影响[J]. *实验动物与比较医学*, 2012, 32(6):517-520.
- WANG Xue, WANG Xi-min, HAN Li-wen, et al. The effect of carbamazepine on cardiac function of zebrafish embryo[J]. *Laboratory Animal and Comparative Medicine*, 2012, 32(6):517-520.
- [11] 刘欢,陈雪晴,裴元生.硼化合物对普通小球藻的急性毒性效应[J]. *环境科学研究*, 2015, 28(12):1887-1894.
- LIU Huan, CHEN Xue-qing, PEI Yuan-sheng. Acute toxic effects of boron compounds on *Chlorella vulgaris*[J]. *Research of Environment Sciences*, 2015, 28(12):1887-1894.
- [12] Qian H F, Li J J, Sun L W, et al. Combined effect of copper and cadmium on *Chlorella vulgaris*, growth and photosynthesis-related gene transcription[J]. *Aquatic Toxicology*, 2009, 94(1):56-61.
- [13] Oukarroum A, Bras S, Perreault F, et al. Inhibitory effects of silver nanoparticles in two green algae, *Chlorella vulgaris*, and *Dunaliella tertiolecta*[J]. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 2012, 78:80-85.
- [14] 张丽. 2, 2', 4, 4'-四溴联苯醚(BDE-47)对两种海洋微藻的毒性效应研究[D]. 青岛:国家海洋局第一海洋研究所, 2015:1-68.
- ZHANG Li. The toxic effects of BDE-47 on two species of marine microalgae[D]. Qingdao: The First Institute of Oceanography, SOA, 2015:1-68.
- [15] Duryee M J, Klassen L W, Schaffert C S, et al. Malondialdehyde-acetaldehyde adduct is the dominant epitope after MDA modification of proteins in atherosclerosis[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2010, 49(10):1480-1486.
- [16] Yang C Y, Liu S J, Zhou S W, et al. Allelochemical ethyl 2-methyl acetoacetate(EMA) induces oxidative damage and antioxidant responses in *Phaeodactylum tricornutum*[J]. *Pesticide Biochemistry & Physiology*, 2011, 100(1):93-103.
- [17] 国家质量监督检验检疫总局, 国家标准化管理委员会. GB/T 21805—2008 化学品藻类生长抑制试验[S]. 北京:中国标准出版社, 2008.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of PRC, Standardization Administration of PRC. GB/T 21805—2008 Chemicals alga growth inhibition test[S]. Beijing: China Standards Press, 2008.
- [18] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 四版增补版. 北京:中国环境科学出版社, 2006.
- State Environmental Protection Administration. Water and wastewater monitoring analysis method[M]. Fourth Enlarged Edition. Beijing: China Environmental Science Press, 2006.
- [19] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 四版. 北京:中国环境科学出版社, 2002.
- State Environmental Protection Administration. Water and wastewater monitoring analysis method[M]. Fourth Edition. Beijing: China Environmental Science Press, 2002.
- [20] 王丽艳. 纳米 CuO 对小球藻的毒性效应研究[D]. 青岛:中国海洋大学, 2013:1-60.
- WANG Li-yan. Toxic effects of nano-CuO on *Chlorella* sp.[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013:1-60.
- [21] Zhang W, Zhang M, Lin K F, et al. Eco-toxicological effect of Carbamazepine on *Scenedesmus obliquus*, and *Chlorella pyrenoidosa*[J]. *Environmental Toxicology & Pharmacology*, 2012, 33(2):344-352.
- [22] 李威, 恽焱, 是怡芸, 等. 5 氟尿嘧啶对蛋白核小球藻和羊角月芽藻生长及叶绿素含量的影响[J]. *生态毒理学报*, 2015, 10(6):213-218.
- LI Wei, YUN Ye, SHI Yi-yun, et al. Effects of 5-fluorouracil on the growth and chlorophyll content of *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus*[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2015, 10(6):213-218.
- [23] Singh S, Eapen S, D'Souza S F. Cadmium accumulation and its influence on lipid peroxidation and antioxidative system in an aquatic plant, *Bacopa monnieri* L.[J]. *Chemosphere*, 2006, 62(2):233-246.
- [24] 任海, 李健, 李吉涛, 等. 急性氨氮胁迫对脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)抗氧化系统酶活力及 GPx 基因表达的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2014, 33(4):647-655.
- REN Hai, LI Jian, LI Ji-tao, et al. Effects of acute ammonia stresses on antioxidant enzyme activities and GPx gene expression in *Exopalaemon carinicauda*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(4):647-655.
- [25] 李楠. 双酚 A(BPA)对小球藻和斑马鱼的毒性效应研究[D]. 沈阳:辽宁大学, 2013:1-55.
- LI Nan. Research on the toxicity effects of BPA on *Chlorella* and zebrafish[D]. Shenyang: Liaoning University, 2013:1-55.
- [26] 吴清莲, 王应军, 杜宇, 等. 钇对铅胁迫下铜绿微囊藻抗氧化能力及藻毒素释放的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2013, 32(6):1128-1133.
- WU Qing-lian, WANG Ying-jun, DU Yu, et al. Effects of yttrium on physiological characteristics and microcystins release of *Microcystis aeruginosa* with Pb²⁺ stress[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(6):1128-1133.
- [27] Aravind P, Prasad M N V. Cadmium-zinc interactions in a hydroponic

- system using *Ceratophyllum demersum* L.: Adaptive ecophysiology, biochemistry and molecular toxicology[J]. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 2005, 17(1):3-20.
- [28] 杨兆壬, 周作明. [OMIm]Br 对蛋白核小球藻的致毒效应[J]. 生态学杂志, 2014, 33(6):1539-1545.
YANG Zhao-ren, ZHOU Zuo-ming. Toxic effect of [OMIm]Br on *Chlorella pyrenoidosa*[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2014, 33(6):1539-1545.
- [29] 龙 瑞, 张 明, 张光生, 等. Mn、Cd 单一及其复合胁迫对伊乐藻生长及生理生化的影响[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(6):1112-1117.
LONG Rui, ZHANG Ming, ZHANG Guang-sheng, et al. Effects of Mn and Cd and their combination on growth and physiological and biochemical characteristics of *Elodea nuttallii*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(6):1112-1117.
- [30] 张化俊, 彭 云, 张 凤, 等. 溶藻细菌 BS01 产二异丁氧基苯基对塔玛亚历山大藻生长的影响[J]. 微生物学报, 2015, 55(7):834-842.
ZHANG Hua-jun, PENG Yun, ZHANG Su, et al. Algicidal effect of (2-isobutoxyphenyl) amine on *Alexandrium tamarense*[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2015, 55(7):834-842.
- [31] 于文婧, 孙丹峰, 曲 威. 基于冗余分析的宁夏平罗耕地土壤盐渍化特征研究[J]. 中国农业大学学报, 2015, 20(5):103-110.
YU Wen-jing, SUN Dan-feng, QU Wei. Study of the characteristics of soil salinization based on redundancy analysis in Pingluo, Ningxia[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2015, 20(5):103-110.
- [32] 王 蓉, 林溢琦, 孙相振, 等. 纳米硫化镉量子点对斜生栅藻的毒性研究[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(3):524-529.
WANG Rong, LIN Yi-qi, SUN Xiang-zhen, et al. Effect of quantum dot cadmium sulfide on *Scenedesmus obliquus*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(3):524-529.



重金属污染土壤修复理论与实践

张乃明 等编著

本书共分九章, 主要介绍了土壤重金属的性质、来源与危害; 土壤重金属元素的背景值与环境容量; 重金属在土壤中的迁移转化行为, 包括形态特征、迁移转化规律和长期累积的危害与健康风险; 重金属污染土壤的物理修复、化学修复、植物修复、微生物修复和联合修复五类修复技术措施的概念特点、技术原理与方法、修复技术实际应用示范工程案例等。

※书号: 9787122285461

※定 价: 85.0 元

※开本: 16

※出版日期: 2017 年 4 月



医疗废物管理与污染控制技术(第二版)

史昕龙、赵由才 主编

本书全面系统地总结了国内外医疗垃圾处理方面的管理、处理技术等, 内容包括医疗废物概述, 医疗废物的管理, 医疗废物的收集、贮存和运输, 医疗废物污染控制技术及发展趋势, 医疗废物焚烧处理技术, 医疗废物非焚烧处理技术等。

※书号: 9787122281784

※定 价: 68.0 元

※开本: 16

※出版日期: 2017 年 3 月

如需更多图书信息, 请登录 www.cip.com.cn

服务电话: 010-64518888, 64518800(销售中心)

网上购书可登录化学工业出版社天猫旗舰店: <http://hxgycbs.tmall.com>

邮购地址: (100011) 北京市东城区青年湖南街 13 号 化学工业出版社

如要出版新著, 请与编辑联系, 联系电话: 010-64519525。