

6 种含氮杂环化合物对发光细菌的毒性研究

Study on Toxicity of Six Kinds of Nitrogenous Heterocyclic Compounds to Photobacteria

江 敏 顾国维 李咏梅 (同济大学污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海 200092)
Jiang Min Gu Guowei Li Yongmei (State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse,
Tongji University, Shanghai 200092)

摘要 研究了吡啶、吡啶、喹啉、异喹啉、2-甲基喹啉和 8-羟基喹啉 6 种含氮杂环化合物对发光细菌的急性毒性作用及上述物质两两混合对发光细菌的联合毒性作用。结果表明, 上述物质对发光细菌的 EC_{50} 分别为 11.75、591.50、24.30、8.24、52.26 和 0.88 mg/L, 毒性由强至弱依次为 8-羟基喹啉、异喹啉、吡啶、喹啉、2-甲基喹啉、吡啶。所有物质两两混合的联合毒性作用均表现为相加作用。

关键词: 含氮杂环化合物 发光细菌 半数有效浓度 联合毒性

1 前言

含氮杂环化合物广泛存在于石油工业、食品工业、医药工业等的废水中^[1]。许多含氮杂环化合物具有强烈的“三致”作用, 同时又很难为自然界的微生物所降解, 即使在废水的好氧生物处理中降解程度也较低, 因而会对生态系统和人类健康产生潜在的长远的危害^[2]。

本文就 6 种常见的含氮杂环化合物对发光细菌的急性毒性和联合毒性进行了研究, 以此为这些物质的急性毒性、联合毒性和危险性评价提供基础数据和基本方法, 也为有关水质标准的制定提供基础资料。

2 实验与方法

2.1 六种含氮杂环化合物

吡啶、吡啶、喹啉、异喹啉、2-甲基喹啉和 8-羟基喹啉均为分析纯。用蒸馏水分别配制 0.5、1.0、1.0、1.0、0.5 和 0.2 g/L 的溶液, 再按需稀释成相应浓度后用于实验。

2.2 发光细菌和实验仪器

实验用发光细菌为明亮发光杆菌 (*Photobacterium phosphoreum*), 购自中国科学院南京土壤研究所。取 1 mL 2% NaCl 溶液注入已开口的、含 0.5 g 发光细菌冻干粉的安瓿瓶中, 充分混匀后, 放入置有冰块的保温瓶内, 2 min 后发光细菌即复苏发光, 放置备用。采用

DDY-2 型生物毒性测试仪 (中国科学院南京土壤研究所研制) 进行发光细菌发光度的测试。

2.3 纯物质半数有效浓度 (EC_{50}) 的测定

在 25℃ 下, 按照发光细菌法 (GB/T 15441—1995) 进行纯物质 EC_{50} 的测定^[3]。将各物质配成系列浓度梯度的溶液, 加入 NaCl, 使各溶液中 NaCl 最终浓度为 3%; 同时配制 3% NaCl 溶液作为对照。分别取对照溶液与测试溶液各 2 mL 于测试管中, 加入 10 μ L 复活菌液, 反应 15 min 后测试其发光度。同时进行 $HgCl_2$ 的毒性实验, 以验证结果的可靠性。实验结束后按下式计算各浓度的相对发光度:

$$\text{相对发光度}(\%) = \frac{\text{测试溶液发光量}(\text{mV})}{\text{对照溶液发光量}(\text{mV})} \times 100\%$$

每一浓度做 3 次平行测试, 将溶液浓度与相对发光度平均值进行线性回归, 用直线内插法求得相对发光度为 50% 时所对应的溶液浓度, 即为 EC_{50} 。

2.4 联合毒性的测试

在纯物质毒性实验基础上, 参照邱郁春和 GB 15193.3—1994 提供的联合作用系数法^[4], 按等毒性配制混合物, 采用纯物质 EC_{50} 的测定方法获得混合物的 EC_{50} 实测值。假设混合物的联合毒性作用为

国家自然科学基金资助项目, 编号 50108009; 上海市重点课程资助项目。

第一作者江 敏, 女, 1972 年生, 1999 年毕业于华东师范大学, 硕士、副教授, 在读博士研究生。



相加作用,则可按下式计算混合物的 EC_{50} 预期值:

$$\frac{1}{\text{混合物的}EC_{50}\text{预期值}} = \frac{a}{\text{物质A的}EC_{50}} + \frac{b}{\text{物质B的}EC_{50}}$$

式中 a 、 b 为 A 、 B 物质在混合物中的质量百分比。最后计算混合物的 EC_{50} 预期值与混合物的 EC_{50} 实测值之间的比值 Q , 参照 Smyth 法判定混合物联合毒性作用的类型:

$Q < 0.4$, 为拮抗作用;

$Q > 2.7$, 为协同作用;

$Q = 0.4 \sim 2.7$, 为相加作用。

3 结果与讨论

3.1 对发光细菌的 EC_{50}

6种含氮杂环化合物纯物质对发光细菌的毒性影响结果见表1。由表1可知,发光细菌的相对发光度均随化合物浓度的增加而线性降低,各方程相关系数为 $0.9720 \sim 0.9903$,具有良好的相关性,表明本实验结果准确可信。6种物质对发光细菌的毒性由强至弱依次为8-羟基喹啉、异喹啉、吲哚、喹啉、2-甲基喹啉、吡啶。

表1 6种含氮杂环化合物纯物质对发光细菌的毒性作用¹⁾

Table 1 Toxicity of six pure nitrogenous heterocyclic compounds to photobacteria

物质	相关方程	相关系数	EC_{50} (mg/L)	EC_{50} (mmol/L)
吲哚	$y = -4.3344x + 100.91$	0.9875	11.75	0.10
吡啶	$y = -0.0694x + 91.05$	0.9720	591.50	7.48
喹啉	$y = -1.3615x + 83.091$	0.9808	24.30	0.19
异喹啉	$y = -1.6649x + 63.712$	0.9798	8.24	0.06
2-甲基喹啉	$y = -0.8231x + 93.016$	0.9873	52.25	0.37
8-羟基喹啉	$y = -50.341x + 94.21$	0.9903	0.88	0.006

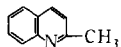
1) y 为相对发光度(%), x 为化合物纯物质浓度(mg/L), 样本数为6, $P < 0.01$ 。

陈景文等的研究表明,取代氮类杂环化合物及其衍生物的毒性与其分子体积密切相关,增大其分子体积可增大毒性^[5]。由表2可知,8-羟基喹啉的分子量为145.16,属九碳杂环化合物,其分子体积为六者中最大。同时,苯环上羟基的引入可增强与生物体内受体碱性基团的结合能力,导致活性和毒性的增高^[6],

因而在6种物质中表现出最大的毒性。吡啶则是其中惟一的单环物质,分子直径最小,与之相对应的毒性也最小。与喹啉、异喹啉相比,2-甲基喹啉引入了烷基,使其脂溶性增大,同时使环上电子云密度降低,位阻又进一步导致2-甲基喹啉稳定性的增强,从而使其生物毒性较前两者显著降低。

表2 6种含氮杂环化合物的分子式、分子量与结构式

Table 2 Molecular formula, molecular weight and structure formula of six pure nitrogenous heterocyclic compounds

物质	分子式	结构式	分子量
吲哚	C_8H_7N		117.15
吡啶	C_5H_5N		79.10
喹啉	C_9H_7N		129.16
异喹啉	C_9H_7N		129.16
2-甲基喹啉	$C_{10}H_9N$		143.18
8-羟基喹啉	C_9H_7NO		145.16



在同样实验条件下测得 HgCl_2 的 EC_{50} 为 0.09mg/L , 即 0.00033mmol/L 。即使是毒性最大的 8-羟基喹啉, 毒性也仅有 HgCl_2 的 $1/18$ 。而异喹啉、吡啶、喹啉、2-甲基喹啉和吡啶的毒性则分别为 HgCl_2 的 $1/181$ 、 $1/302$ 、 $1/573$ 、 $1/1116$ 和 $1/22564$, 远远小于 HgCl_2 。目前国际上就纯化合物对发光细菌的毒性分级尚无明确、统一的标准, 若参照鱼类的毒性分级标准^[7], 则 8-羟基喹啉属剧毒, 吡啶、喹啉、异喹啉和 2-甲基喹啉属高毒, 吡啶则属中等毒。

表 3 为部分上述物质对淡水纤毛虫及大鼠的毒

性^[8,9]。将这些物质对发光细菌的毒性与对淡水纤毛虫和大鼠的毒性进行相关性分析可以发现, 同样的化学物质对不同生物表现出不同的毒性, 如喹啉对大鼠的毒性强于吡啶, 对发光细菌则相反。即使发光细菌与淡水纤毛虫同属水生生物, 其毒性之间也不具有很好的相关性。如吡啶对淡水纤毛虫的毒性为最小, 而对发光细菌则相对较大。因此, 在判断某一化学物质对水生生态系统的毒性影响和在进行化学物毒性分级时, 需综合考虑其对包括浮游植物、浮游动物、大型鱼虾类及微生物等多种水生生物在内的综合影响。

表 3 部分含氮杂环化合物对发光细菌、淡水纤毛虫及大鼠的毒性

Table 3 Toxicity of some nitrogenous heterocyclic compounds to photobacteria, ciliate and rat

物质	对发光细菌的 EC_{50} (mmol/L)	对淡水纤毛虫的 LC_{50} (mol/L)	对大鼠的经口 LC_{50} (mmol/kg)
吡啶	0.10	15.49	8.54
吡啶	7.48	0.617	11.26
喹啉	0.19	0.977	3.56
异喹啉	0.06		2.79
2-甲基喹啉	0.37	0.339	8.59

3.2 对发光细菌的联合毒性作用

实际上, 化合物以纯物质形式作用于生物体的可能性很小, 通常是 2 种或多种物质共存于某一环境介质中, 对生物产生联合毒性。因此, 研究化合物的联合毒性作用就显得非常重要。化合物的联合毒性实验方法有多种, 如等效效应图法、系数法、Bliss 法、Logistic

模型评价法和相加指数法等, 目前国际上尚未建立起标准实验法, 我们选用在陆生生物联合毒性研究中较为成熟、在鱼类实验中也有较多运用, 并且已被列为我国联合毒性国家标准的系数法进行了 6 种含氮杂环化合物对发光细菌的联合毒性研究, 结果见表 4。

表 4 6 种含氮杂环化合物混合物对发光细菌的联合毒性作用¹⁾

Table 4 Combined toxicity of six nitrogenous heterocyclic compounds to photobacteria

物质A	物质B	相关方程	相关系数	EC_{50} 预期值 (mg/L)	EC_{50} 实测值 (mg/L)	Q值
吡啶	吡啶	$y = -0.0906x + 84.493$	0.9963	301.63	380.72	0.79
吡啶	喹啉	$y = -2.2545x + 97.395$	0.9980	18.03	21.02	0.86
吡啶	异喹啉	$y = -5.0986x + 99.592$	0.9950	10.00	19.73	0.51
吡啶	2-甲基喹啉	$y = -1.657x + 117.44$	0.9959	32.01	40.7	0.79
吡啶	8-羟基喹啉	$y = -4.6796x + 89.342$	0.9963	6.31	8.41	0.75
吡啶	喹啉	$y = -0.1494x + 99.562$	0.9926	307.90	331.74	0.93
吡啶	异喹啉	$y = -0.1073x + 96.276$	0.9953	299.87	431.28	0.70
吡啶	2-甲基喹啉	$y = -0.0927x + 80.339$	0.9941	321.88	327.28	0.98
吡啶	8-羟基喹啉	$y = -0.5271x + 122.95$	0.9932	296.19	138.4	2.14
喹啉	异喹啉	$y = -1.2081x + 74.532$	0.9957	16.27	20.31	0.80
喹啉	2-甲基喹啉	$y = -0.5892x + 63.892$	0.9955	38.28	23.58	1.62
喹啉	8-羟基喹啉	$y = -3.4262x + 76.914$	0.9926	12.59	7.86	1.60
异喹啉	2-甲基喹啉	$y = -1.8199x + 112.04$	0.9924	30.25	34.09	0.89
异喹啉	8-羟基喹啉	$y = -16.312x + 85.069$	0.9988	4.56	2.15	2.12
2-甲基喹啉	8-羟基喹啉	$y = -1.3663x + 96.332$	0.9985	26.57	33.91	0.78

1) y 为相对发光度(%), x 为化合物混合物浓度(mg/L)。

由表4可知,本实验中混合物对发光细菌相对发光度的影响与浓度呈显著负相关,相关系数均在0.99以上,显示了实验所用的系数法具有较高的可信度。

根据Smyth法判定标准,本实验结果表明,6种含氮杂环化合物两两混合的联合毒性作用均为相加作用。

而Warne等人的研究指出,对于非特异性的化学毒物,联合作用方式将随组分的增加而趋向于相加作用^[10]。

4 结论

4.1 吡啶、吡啶、喹啉、异喹啉、2-甲基喹啉和8-羟基喹啉对发光细菌的 EC_{50} 分别为11.75、591.50、24.30、8.24、52.26和0.88mg/L;毒性由强至弱依次为8-羟基喹啉、异喹啉、吡啶、喹啉、2-甲基喹啉、吡啶。

4.2 6种物质对发光细菌的毒性与对淡水纤毛虫、大鼠的毒性之间不具有相关性。

4.3 吡啶、吡啶、喹啉、异喹啉、2-甲基喹啉和8-羟基喹啉两两混合后对发光细菌的联合毒性作用均表现为相加作用。

5 参考文献

1 Novotny M. Compositional studies of coal bar by

capillary gas chromatography/mass spectrometry. Fuel, 1981, 60: 213 ~ 220.

2 Ganczarczyk J J. Fate of basic pollutants in treatment of coke plant effluents. Proc 36th Ind. Waste Conf, Purdue University, 1981: 147 ~ 154.

3 中国标准出版社第二编辑室. 水质分析方法——国家标准汇编. 北京: 中国标准出版社. 1996.

4 邱郁春. 水污染鱼类毒性实验方法. 北京: 中国环境科学出版社. 1992.

5 陈景文、廖宜勇、赵元慧,等. 取代氮杂环化合物对大型蚤的定量结构-活性关系研究. 农药, 1996, 35(5): 21 ~ 24.

6 郑微云、翁恩琪. 环境毒理学概论. 厦门: 厦门大学出版社. 1993.

7 Joint IMCO/FAO/UNESCO/WMO Group of experts on the scientific aspects of marine pollution. Abstract of the report of the first session. Water Res, 1969, 3: 995.

8 王连生. 环境健康化学. 北京: 科学出版社. 1994.

9 《中国商品大词典》编辑委员会. 中国商品大辞典——化学试剂分册. 北京: 中国商业出版社. 1994.

10 Warne M S, Connell D W, Hauker D W. Prediction of the toxicity of mixtures of shale oil components. Ecotoxic and Environ Safety, 1989, 18(2): 121 ~ 128.

责任编辑 魏正明 (收稿日期: 2003-08-06)

美国计划增加煤床甲烷开发

为减少对进口能源的依赖,布什政府计划在今后15年内增加40%国内天然气产量,其中10%可能来自煤床甲烷。据预测,今后20年内,美国电力的主要能源将仍然是煤和天然气,以天然气占的比例增长最快。可更新能源发电比例仍然不高,而核电所占比例将持续下降。

地下煤层夹缝中有大量煤床甲烷。这些夹缝中的水阻碍甲烷逸出,因此必须将水抽出。美国政府早在15年前就鼓励石油天然气公司开发这一能源。相对而言,开发煤床甲烷比较容易和便宜,因为煤层夹缝通常比天然气矿床较浅。已探明美国国内储量为17.5tcf(万亿立方英尺),据估计全国还可能有400~600tcf锁在煤层夹缝中。

目前美国每年的消费20tcf天然气,煤床甲烷消费将增加。在提取煤床甲烷对抽出的水含盐量很高,处理它的最经济办法是直接排放到地面水体中,但这样做可能会引起一些环境问题,此事已引起美国农业人士和环保人士的关注。

(江研因)

美国第8届总统绿色化学挑战奖颁奖

2003年6月下旬美国科学院在首都华盛顿举行仪式,向4家公司和一名个人颁发第8届“总统绿色化学挑战奖”。5名得奖人中有3名是由于与生物工程有关的工作得奖。有这样一种看法,即有朝一日化学家会认识到传统的工业化学产品和过程会被基于生物工程的技术取代。当然,这只有生物工程技术在环保和经济上都占优势的情况下才有可能出现的情况。本届得奖项目也表明这种情况正在发生。

颁奖仪式在第7届绿色化学和工程年会前夕举行,该年会将举行3天。美国环保局(EPA)、商务部和美国化学会是会议东道主。白宫环境质量委员会主席James L. Connaughton传达了布什总统的意见。布什在信中写道:“本世纪伟大的环境进展将通过技术和革新实现。促进环境科学有助于国家的繁荣和改善人民的生活质量。鼓励开发预防污染的创造性技术,有助于保护我们的自然资源和环境。我祝贺得奖人应用绿色化学使水、土地和天空更清洁,同时有益于我们的经济发展。”

(江研因)

Province should reduce ecological footprint of not reducing living standard as premise and improving development capability of ecosystem.

Key words: Ecological footprint model
Ecological footprint
Sustainable development
Guangdong Province

Study on Toxicity of Six Kinds of Nitrogenous Heterocyclic Compounds to Photobacteria

Jiang Min
Gu Guowei
Li Yongmei

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, Tongji University, Shanghai 200092)

Study on toxic effect of 6 kinds of nitrogenous heterocyclic compounds on photobacteria, including: indole, pyridine, quinoline, iso-quinoline, 2-methyl quinoline and 8-hydroxy-quinoline and the combined toxicity of the mixture of two above compounds to photobacteria have been conducted. The result showed the EC_{50} of photobacteria effected by the above 6 compounds were 11.75, 591.50, 24.30, 8.24, 52.26 and 0.88 mg/l respectively, and toxicity sequence were 8-hydroxyl-quinoline > isoquinoline > Indole > quinoline > 2-methyl quinoline > pyridine, and all the mixtures showed the addition action.

Key words: Nitrogenous heterocyclic compounds
Photobacteria
 EC_{50}
Combined toxicity

Study on Residue Dynamics and Tracer Kinetic Model of Pirimicarb

Jiang Zhen
Wang Dezhong

(School of Mechanical Engineering, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200030)

Lu Yitong
(School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201101)

The radioisotope tracing techniques was used to study the tracer kinetic model on residues of *pirimicarb* with three different dosages in greengrocery and soil system. When *pirimicarb* was applied, disappearance of ^{14}C -residues in green was very rapid in the early

stage, and then slower, rapid in the high concentration, slower in the low concentration. At the end of the study, the quantity of the bound residues in proportion to the initiation was about 60.75%. The dynamics of *pirimicarb* in greengrocery/soil system could be well described by exponent equation and two-compartment model.

Key words: ^{14}C Isotope tracing *Pirimicarb*
Bound residues
Two-compartment model
Kinetic model

Study on Detecting Heavy Metal Ions in Environmental Samples with Urease Inhibition Method

Hua Yinfeng
Lu Yitong

(Institute of Agricultural Environmental ecology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201101)

A method for detection of trace heavy metal ions based on urease inhibition method was presented. Those metal ions with high binding affinity to proteins (Cu and Hg) showed the strongest inhibitory effect on urease and could be detected at very low concentrations (less above 1 $\mu g/l$). The inhibitory efficiency of these metals was examined in phosphate and citrate buffer and the effects of buffer concentration and metals complexation on urease were also studied.

Key words: Urease
Rate of inhibition
Heavy metal
Quick detection
Buffer solution
Optimal condition

Study on Rule of Phosphorus Release and Stability in Zhouzhang Waterbody

Li Hui

(The Architectural Design & Research Institute of Tongji University Shanghai YATONG Environmental Industry Co., Ltd, Shanghai 200092)

Zhou Qi

An Miao

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, Tongji University, Shanghai 200092)

Dissolved oxygen (DO), pH and temperature in a