

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897-20140609001

张丽, 蒋凤华, 曹为等. 四溴双酚 A (TBBPA) 对中肋骨条藻的毒性效应研究[J]. 生态毒理学报, 2014, 9(6): 1219-1225

Zhang L, Jiang F H, Cao W, et al. Toxic effects of tetrabromobisphenol A (TBBPA) on *Skeletonema costatum* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(6): 1219-1225 (in Chinese)

四溴双酚 A (TBBPA) 对中肋骨条藻的毒性效应研究

张丽, 蒋凤华*, 曹为, 郑立, 陈军辉, 孙承君, 郑晓玲

国家海洋局第一海洋研究所海洋生态研究中心, 青岛 266061

收稿日期: 2014-06-09 录用日期: 2014-08-03

摘要: 为研究四溴双酚 A (tetrabromobisphenol A, TBBPA) 对海洋微藻的毒性效应, 本文设置五个不同浓度组 (0、1.0、5.0、10.0、20.0 mg·L⁻¹) 进行中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*) 培养实验, 在 96 h 内取样分析其光合色素含量、可溶性蛋白含量、丙二醛 (MDA) 含量和超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的变化。结果表明, 较低浓度组 (1.0 和 5.0 mg·L⁻¹) 叶绿素 a、叶绿素 c 和类胡萝卜素含量 48 h 之前被显著诱导, 最大值出现在 24 h; 较高浓度组 (10.0 和 20.0 mg·L⁻¹) 三种色素含量在 48 h 之前被显著抑制, 24 h 达最低值; 72 h 之后各浓度组均恢复到对照组水平。不同浓度 TBBPA 胁迫下, 中肋骨条藻的可溶性蛋白含量、SOD 活性和 MDA 含量一般被显著诱导, SOD 活性和 MDA 含量在 72 h 和 96 h 时随 TBBPA 浓度升高而增加。虽然 1.0 mg·L⁻¹ TBBPA 对中肋骨条藻生长不具有可观测效应, 但已影响到其生理生化指标。目前海水中 TBBPA 浓度较低, 尚不会对中肋骨条藻产生毒性影响。

关键词: 中肋骨条藻; 四溴双酚 A; 光合色素; SOD; MDA

文章编号: 1673-5897(2014)6-1219-07 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Toxic Effects of Tetrabromobisphenol A (TBBPA) on *Skeletonema costatum*

Zhang Li, Jiang Fenghua*, Cao Wei, Zheng Li, Chen Junhui, Sun Chengjun, Zheng Xiaoling

Marine Ecology Center, the First Institute of Oceanography, State Oceanic Administration (SOA), Qingdao 266061, China

Received 9 June 2014 accepted 3 August 2014

Abstract: To study the toxic effect of tetrabromobisphenol A (TBBPA) on marine microalgae, *Skeletonema costatum* was exposed to five different concentrations (0, 1.0, 5.0, 10.0, and 20.0 mg·L⁻¹) of TBBPA. The contents of photosynthetic pigments, soluble protein, and malondialdehyde (MDA), and the activities of superoxide dismutase (SOD) were monitored within a 96 h period. The results showed that in the lower-concentration groups (1.0 and 5.0 mg·L⁻¹ of TBBPA), the contents of three pigments (chlorophyll a and c, and carotenoid) were induced till 48 h with a maximum value at 24 h. In the higher-concentration groups (10.0 and 20.0 mg·L⁻¹ of TBBPA), the pigments contents were inhibited till 48 h with the lowest values at 24 h. After 72 h, pigments contents in all the exposed groups were similar to the control. In most of the cases, the contents of soluble protein and MDA, and the activities of SOD showed significant induction in all the test groups. SOD activity and MDA content increased with increasing TBBPA concentration at 72 h and 96 h. Although 1.0 mg·L⁻¹ of TBBPA showed no effects on the growth of *S. costatum*, it did affect the physiological and biochemical parameters of the

基金项目: 海洋公益性行业科研专项 201105013, 泰山学者海外创新人才项目

作者简介: 张丽 (1988-) 女, 硕士研究生, 研究方向为生态毒理学, E-mail: zhang1222li@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author) E-mail: jiangfh@fio.org.cn

diatom. Currently, the TBBPA concentration in seawater is not high enough to cause toxic influence on *S. costatum*.

Keywords: TBBPA; *Skeletonema costatum*; photosynthetic pigment; SOD; MDA

四溴双酚 A (tetrabromobisphenol A, TBBPA) 自上世纪 70 年代以来被广泛应用于纺织品和建筑材料等领域^[1], 是目前市场上应用最广泛、全球产量最大的含溴阻燃剂之一。目前在空气、土壤、底泥和水生生物体内均已检测出, 甚至在人体血液和母乳中存在生物富集现象^[2-4]。目前对海水中 TBBPA 含量的研究较少, 可能是因为海水中 TBBPA 浓度较低, 往往低于检出限^[5]。据报道, 英国湖泊水样中 TBBPA 的含量为 0.14 ~ 3.2 ng·L⁻¹^[6], 中国南方高度工业化地区的河流中 TBBPA 浓度为 1 100 ~ 2 800 pg·L⁻¹^[7]。虽然海水中 TBBPA 浓度较低, 但是 TBBPA 所具有的迁移性、持久性和蓄积性等特点决定了这类化合物不仅会在环境中长期残留, 而且会通过生物富集和放大作用影响生物体的正常生理活动。研究表明, TBBPA 具有内分泌干扰作用, 对水生生物毒性较大^[8], 如 TBBPA 能抑制斑马鱼胚胎的发育和影响幼年斑马鱼的存活率, 可引起红鲫肝脏脂肪化、空泡化和线粒体囊泡化等现象^[5, 9]。

微藻是海洋生态系统的初级生产者, 其种类多样性和生物量影响海洋生态系统的结构功能, 在食物链中具有非常重要的作用^[10]; 同时具有对毒物敏感、繁殖快和易获得等优点, 能在短时间内得到污染物对其种群及世代的影响研究, 是较为理想的指示生物^[11]。而目前关于 TBBPA 对微藻的毒性影响尚未见报道。本文以中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*) 为实验生物, 分析了不同 TBBPA 浓度胁迫下对光合色素含量、可溶性蛋白含量、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性及丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量等指标在 96 h 内的变化情况, 以期了解 TBBPA 对中肋骨条藻的毒性效应, 从而为 TBBPA 毒性评价、海洋生态污染效应等提供科学依据和基础资料。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 仪器与试剂

仪器: 光照培养箱 (宁波江南仪器厂), 超声波破碎仪 (宁波新芝生物科技有限公司), 超低温冰箱 (青岛海尔公司), 高压灭菌锅 (日本 Tomy Digital Biology 公司), 可见光分光光度计 (尤尼柯 (上海) 仪器有限公司), CR22G II 型大容量离心机 (德国 Hermle 公司), 显微镜 (重庆光学仪器厂)。

试剂: TBBPA (纯度 > 98%, TCI 公司), 考马斯亮蓝 G-250 (分析纯, Sanland 公司), SOD 试剂盒和 MDA 试剂盒 (南京建成生物工程研究所), 其他国产分析纯试剂。

1.2 实验材料

试验用中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*) 由中国海洋大学提供。采用 f/2 营养盐配方, 海水取自青岛石老人近岸海域, 经 0.45 μm 滤膜过滤后, 煮沸消毒, 冷却后配制培养液。培养温度为 (20 ± 0.2) °C, 光强约 4500 lx, 光暗比为 12 h : 12 h, 光源为白色日光灯。用于培养实验的三角瓶经 1 : 5 的 HCl 浸泡处理后, 用超纯水冲洗干净, 蒸汽灭菌 (121 °C, 15 min) 后待用。

1.3 实验方法

1.3.1 TBBPA 实验溶液的配制:

由于 TBBPA 微溶于水, 故以二甲基亚砜 (DMSO) 为溶剂配制 TBBPA 母液, 4 °C 下保存备用, 以 f/2 培养液稀释至实验浓度。

1.3.2 TBBPA 对中肋骨条藻的毒性实验

根据前期实验结果, TBBPA 对中肋骨条藻的 96 h-NOEC (96 h 无可观测效应浓度) 为 2.0 mg·L⁻¹, 96 h-EC₅₀ (96 h 半最大效应浓度) 为 18.08 mg·L⁻¹^[12], 因而本实验中设置 TBBPA 浓度为对照、1.0、5.0、10.0 和 20.0 mg·L⁻¹。对照组中只含有 0.2% (V/V) DMSO 的培养液 (该浓度 DMSO 对中肋骨条藻的生长无显著效应)。将处于指数生长期的中肋骨条藻分别接种于 81 个 250 mL 三角瓶中, 使初始细胞密度为 1 × 10⁵ ~ 2 × 10⁵ 个·mL⁻¹, 加入 f/2 培养液, 最终定容到 150 mL。培养期间每天定时人工摇动三角瓶 3 次, 并随机调换三角瓶位置以尽可能使光照均匀。

在实验的第 0 h、12 h、24 h、48 h、72 h、96 h 分别取样, 其中 1 mL 加入鲁格试剂固定, 测定藻细胞密度; 10 mL 样品离心收集藻泥, 测定光合色素含量; 其余样品离心收集藻泥, -80 °C 保存, 用于测定可溶性蛋白含量、SOD 活性和 MDA 含量。0 h 取 6 个平行, 其余时间每个浓度组取 3 个平行。

1.3.3 光合色素含量的测定

在藻泥中加入 5 mL 90% 丙酮溶液, 振荡混匀, 黑暗低温处提取 24 h; 然后离心取上清液, 以 90%

丙酮溶液作为参比,用分光光度计测定提取液在 440 nm、630 nm、644 nm、662 nm、664 nm、750 nm 波长处的吸光值,按照 Jeffrey and Humphrey^[13]的方法进行计算叶绿素 a (Chl-a)、叶绿素 c (Chl-c) 和类胡萝卜素 (Car) 的浓度,并换算为单位细胞密度下的浓度。

1.3.4 粗酶液的制备及酶活性的测定

将藻泥悬浮于预冷的 2 mL 磷酸盐缓冲液中超声波破碎 5 min $6\ 000\ r\cdot\min^{-1}$ 离心 10 min,上清液即为粗酶液,置于 -80℃ 冰箱中待测。

可溶性蛋白含量以牛血清蛋白为标准,采用考马斯亮蓝 G-250 法进行测量。SOD 活性和 MDA 含量均采用南京建成生物工程研究所 SOD 试剂盒和 MDA 试剂盒进行测量,其操作过程严格按照说明进行,计算时换算为单位细胞密度下的活性或含量。

1.4 数据分析

实验结果以平均值 ± 标准偏差 (Mean ± SD) 表示。采用 SPSS 18.0 软件,以单因素方差分析 (One-way ANOVA) 对光合色素含量、可溶性蛋白含量、SOD 活性和 MDA 含量变化情况进行差异性分析,并用 Origin 8.5 软件绘图。与对照组相比, $p < 0.05$ 认为差异显著, $p < 0.01$ 认为差异极显著。

2 结果 (Results)

2.1 不同浓度 TBBPA 对中肋骨条藻光合色素含量的影响

不同浓度 TBBPA 污染下中肋骨条藻的 Chl-a、Chl-c 和 Car 含量随时间的变化如图 1 所示。可以看出,较低浓度组 (1.0 和 5.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 三种色素含量呈先升高后降低的趋势,24 h 时达最大值; Chl-a 含量在 24 h ~ 72 h 显著高于对照组 ($p < 0.01$ 或 $p < 0.05$); Chl-c 和 Car 含量在 24 h 和 48 h 显著高于对照组 ($p < 0.01$), 96 h 时与对照组无显著差异。较高浓度组 (10.0 和 20.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 三种色素含量则呈先降低后升高的趋势,24 h 时达最低值; 三种色素在 24 h 和 48 h 均显著低于对照组 ($p < 0.01$ 或 $p < 0.05$), 72 h 和 96 h 时与对照组无显著差异。

2.2 TBBPA 对中肋骨条藻可溶性蛋白含量、SOD 活性和 MDA 含量的影响

由图 2 可以看出,不同浓度 TBBPA 作用下中肋骨条藻的可溶性蛋白含量、SOD 活性和 MDA 含量随时间变化基本一致,表现为升高-降低-升高的趋势,在 96 h 时达最大值。

1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组可溶性蛋白含量在 24 h 前被显著诱导,48h 之后恢复到对照组水平; 5.0 和 10.0

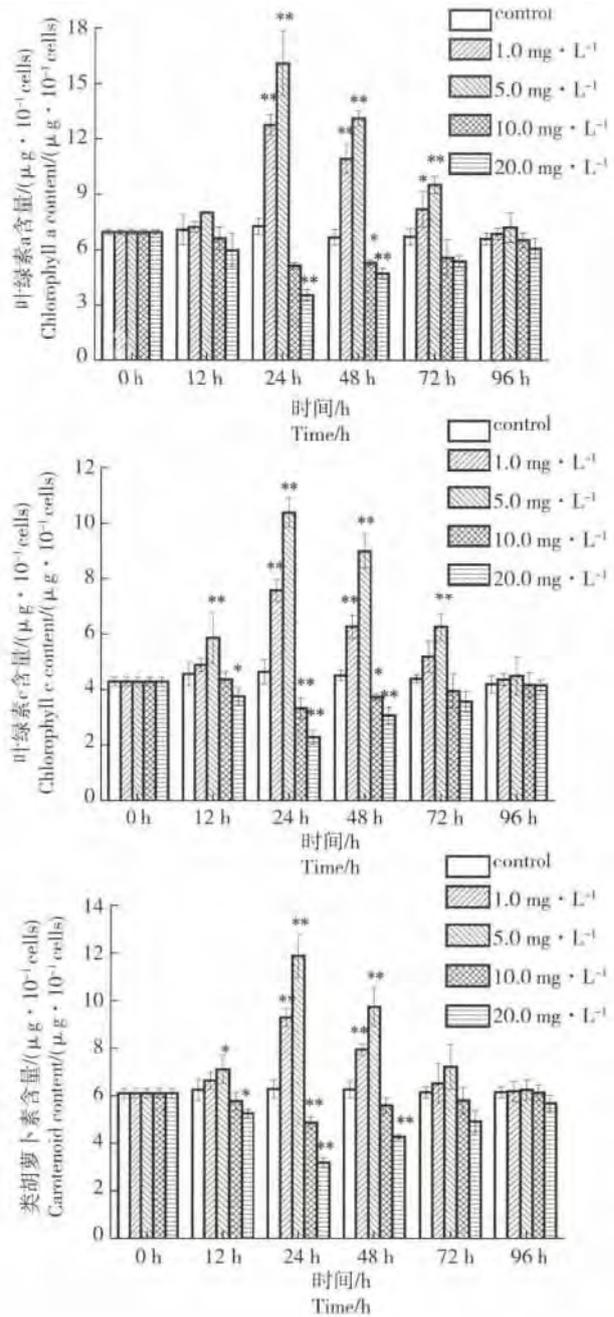


图 1 不同浓度 TBBPA 作用下中肋骨条藻光合色素含量的变化 (注:与对照组相比,* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$)

Fig. 1 Changes of photosynthesis pigment content in *Skeletonema costatum* under different concentration of TBBPA treatments

(Note: compared with the control, * : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$)

$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度的 TBBPA 对可溶性蛋白含量主要起促进作用,其中在 5.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组可溶性蛋白含量在 12 h、72 h 和 96 h 被显著诱导; 10.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组可溶性蛋白含量在 24 h、72 h 和 96 h 被显著诱导,其他胁迫时间内与对照组无显著差异; 20.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓

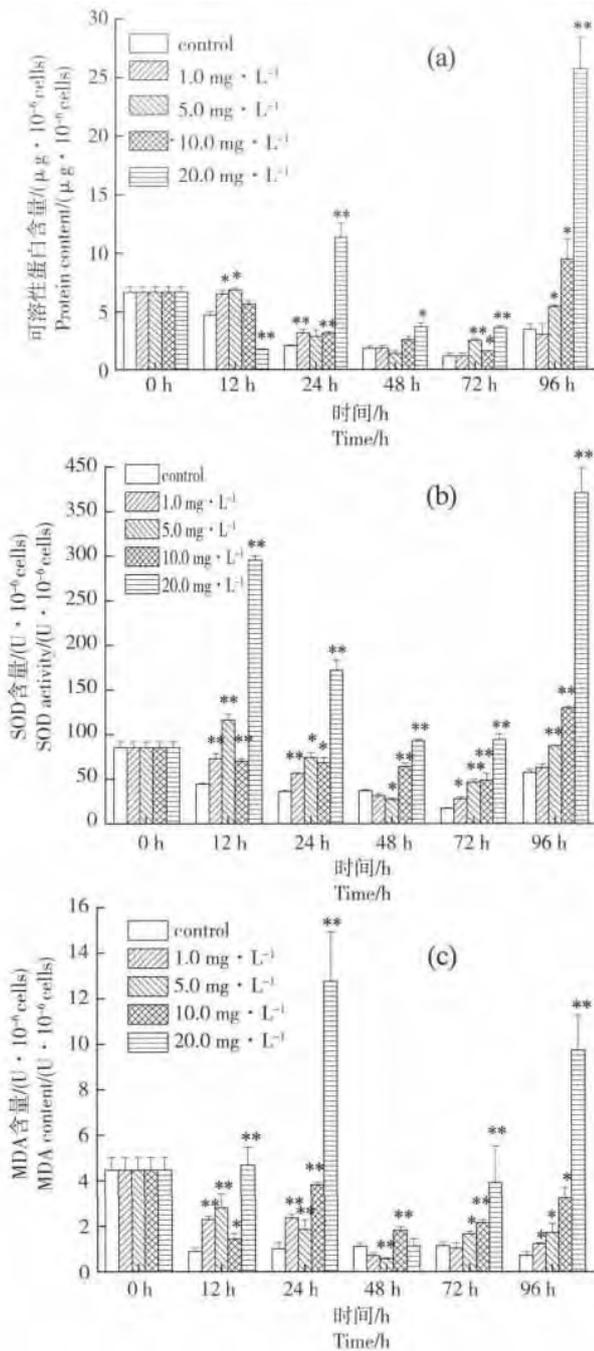


图2 不同浓度 TBBPA 作用下中肋骨条藻可溶性蛋白含量 (a)、SOD 活性 (b) 和 MDA 含量 (c) 的变化
(注: 与对照组相比, *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$)

Fig. 2 Changes of soluble protein content (a), SOD activity (b), MDA content (c) in *Skeletonema costatum* under different concentration of TBBPA treatments
(Note: compared with the control, *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$)

度组可溶性蛋白含量在 12 h 被显著抑制, 其余时间则被显著诱导。96 h 时可溶性蛋白含量与 TBBPA 浓度之间存在正相关关系 ($r = 0.944$, $p < 0.05$, $n = 15$)。

由图 2 (b) 可见, 除了 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 SOD 活性在 48 h 和 96 h 与对照组无显著差异, $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组在 48 h SOD 活性被显著抑制, 其余时间各浓度组 SOD 活性均被显著诱导。72 h 和 96 h SOD 活性随 TBBPA 浓度增加而增加 (r 分别为 0.874 和 0.957, p 分别为 0.004 和 0.02, $n = 15$)。

由图 2 (c) 可见, TBBPA 胁迫下, 中肋骨条藻的 MDA 含量同样被显著诱导, 但 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组在 48 h 和 72 h 时、 $20.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组在 48 h 时与对照组无显著差异, $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组在 48 h 时被显著抑制。进一步分析可知, 72 h 和 96 h 时 MDA 含量与 TBBPA 浓度之间存在显著的正相关性 (r 分别为 0.91 和 0.94, p 分别为 0.015 和 0.025, $n = 15$)。

对 TBBPA 胁迫下中肋骨条藻的可溶性蛋白含量、SOD 活性和 MDA 含量进行偏相关性分析。结果显示, SOD 活性和可溶性蛋白含量在暴露第 24 ~ 96 h 期间内呈现正相关性 ($r = 0.935 \sim 0.998$, $p = 0.000 \sim 0.044$, $n = 15$); SOD 活性和 MDA 含量在第 12 ~ 96 h 时呈正相关性 ($r = 0.889 \sim 0.999$, $p = 0.000 \sim 0.013$, $n = 15$); 可溶性蛋白含量和 MDA 含量在 24 h、72 h 和 96 h 呈正相关性 (r 分别为 0.99、0.89 和 0.99, p 分别为 0.001、0.044 和 0.00, $n = 15$)。

3 讨论 (Discussion)

叶绿素含量变化能较好地反映生物各阶段生长发育正常与否^[14]。本文研究结果表明, 较低浓度 TBBPA ($1.0 \sim 5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 对微藻的光合色素的影响主要是促进作用, 而较高浓度 TBBPA ($10.0 \sim 20.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 的影响则体现为微藻光合色素的含量降低。之前关于有机污染物对微藻的毒性研究也发现存在类似现象, 如低浓度 ($\leq 5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 多效唑胁迫下绿色巴夫藻的 Chl-a 含量升高, 高浓度 ($\geq 15.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 胁迫则使其含量降低, 且随污染物浓度的增加, Chl-a 含量有迅速降低的趋势^[15]。

可溶性蛋白在植物生长中起着很重要的作用, 是衡量植物生理生化特性的重要指标, 可以提供代谢酶类以消除活性氧自由基并对污染物进行生物降解; 可溶性蛋白含量的增加有助于提高微藻对不利环境的适应性^[11, 16-17]。本研究结果显示, $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TBBPA 胁迫下中肋骨条藻可溶性蛋白含量在 24 h 内被诱导, 时间延长至 48 h 恢复到对照组水平, 表明藻细胞逐渐适应了外部环境的压力^[18]; 较高浓度 ($\geq 5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) TBBPA 污染下可溶性蛋白一般被显著诱导, 并且随 TBBPA 浓度增加而增加, 这可能是微

藻为抵抗逆境胁迫而积累营养物质以适应外界环境的变化^[10,19-20]。研究表明三角褐指藻在 0 ~ 14.0 mmol·L⁻¹ 2-甲基乙酰乙酸乙酯(EMA)胁迫下可溶性蛋白含量随 EMA 浓度增加而增加^[18]。同样,谷皮菱形藻在 0.1 ~ 0.3 mg·L⁻¹的 Cd²⁺胁迫下可溶性蛋白含量呈现随着 Cd²⁺浓度增加而增加的趋势^[19]。

目前,抗氧化防御系统的变化作为指示污染物胁迫的生物标志物已成为生态毒理学领域的研究热点之一^[21]。SOD 是生物体内重要的抗氧化酶之一,是活性氧清除体系中的关键酶,能够保护生物膜系统的结构和功能^[22]。本研究表明,中肋骨条藻 SOD 活性一般被显著诱导,并且在 72 h 和 96 h 随 TBBPA 浓度增加而增加。据文献报道,栅藻在 Cu²⁺(62 ~ 414 μmol·L⁻¹)胁迫下培养 7 d,其 SOD 活性随 Cu²⁺增加而增加^[23];三角褐指藻在 0 ~ 14.0 mmol·L⁻¹ 2-甲基乙酰乙酸乙酯(EMA)胁迫下培养 3 d 时,SOD 活性也随着 EMA 浓度增加而增加^[18]。这是由于在环境胁迫下,生物体能及时调动自身的抗氧化防御系统增强机体消除活性氧自由基的能力,在一定耐受限度内,污染物浓度越高,抗氧化机能越活跃,从而减小污染物对生物体的影响^[24-25]。

MDA 是细胞脂质过氧化产物中的一类,可以与细胞内各种成分发生反应,破坏细胞膜结构和生理功能^[24]。MDA 含量常用来衡量机体的膜脂质过氧化程度,从而间接评价机体细胞受损伤的程度^[9]。本研究结果表明,随 TBBPA 质量浓度的增加 MDA 含量逐渐上升,在 72 h 和 96 h 时 MDA 含量与 TBBPA 浓度之间存在正相关性。这与三角褐指藻 MDA 含量与 EMA 以及 Cu²⁺、荧蒹等污染物浓度增加而增加的变化趋势是一致的^[18,26]。这可能是因为随浓度增加和时间延长,对藻细胞造成氧化损伤,藻细胞清除活性氧的速度小于脂质过氧化的速度,过氧化产物积累,导致 MDA 含量升高^[23]。

本文结果显示,可溶性蛋白含量、SOD 活性和 MDA 含量随时间延长均表现为升高-降低-升高的趋势,48 h 出现最小值,可能是因为在暴露初期藻细胞对污染物做出应激性反应,导致含量升高;随着中肋骨条藻的适应能力增强在 48 h 达较低值;当时间延长至 72 h 以后,藻体需要合成较多的蛋白来对抗胁迫压力,同时体内自由基增多,导致膜脂质过氧化产物 MDA 含量升高,从而诱导可溶性蛋白含量和 SOD 活性升高^[27]。TBBPA 胁迫下中肋骨条藻的可溶性蛋白含量、SOD 活性和 MDA 含量之间均存在

密切相关性。这可能是因为植物细胞受到外界环境胁迫时,SOD 和可溶性蛋白共同作用来减弱外界不利的影响,表现为 SOD 活性和可溶性蛋白含量变化一致的趋势,而当胁迫加强,动态平衡被打破时,细胞的结构和功能受到损伤,细胞过氧化产物 MDA 逐渐累积,呈现出随着胁迫时间延长、污染物浓度增高而含量上升的趋势^[23]。

综上所述,TBBPA 污染下中肋骨条藻的光合色素含量、可溶性蛋白含量、SOD 活性和 MDA 含量均呈现规律性变化。较低浓度组的光合色素含量主要被诱导,而较高浓度组的光合色素含量被抑制;各浓度组的可溶性蛋白含量、SOD 活性和 MDA 含量随时间延长呈升高-降低-升高的变化趋势,一般被显著诱导,且三者之间存在相关性;实验后期均与污染物浓度之间呈正相关性。本研究结果表明,在实验条件下 1.0 mg·L⁻¹ TBBPA 虽然未对中肋骨条藻生长产生影响,但是已影响到其生理生化指标的变化。鉴于目前海水中 TBBPA 浓度水平远低于此实验浓度,因而目前尚不会对中肋骨条藻产生毒性。然而,海洋微藻长期暴露于低浓度 TBBPA 所产生的慢性毒性效应还不清楚,有待进一步研究。

通讯作者简介:蒋凤华(1977—),女,海洋化学博士,副研究员,主要研究方向为生态毒理学,发表学术论文 10 余篇。

参考文献:

- [1] Alae M, Arias P, Sjödin A, et al. An overview of commercially used brominated flame retardants, their applications, their use patterns in different countries/regions and possible modes of release [J]. *Environment International*, 2003, 29(6): 683-689
- [2] Jakobsson K, Thuresson K, Rylander L, et al. Exposure to polybrominated diphenyl ethers and tetrabromobisphenol A among computer technicians [J]. *Chemosphere*, 2002, 46(5): 709-716
- [3] Morris S, Allchin C R, Zegers B N, et al. Distribution and fate of HBCD and TBBPA brominated flame retardants in North Sea estuaries and aquatic food webs [J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38(21): 5497-5504
- [4] 薛银刚,王晓蓉,顾雪元,等. 四溴双酚 A 对赤子爱胜蚓的急性毒性及抗氧化防御系统酶的影响 [J]. *生态毒理学报*, 2009, 4(1): 93-100
- Xue Y G, Wang X R, Gu X Y, et al. Acute toxicity of tetrabromobisphenol A to earthworms *Eisenia fetida* and

- its effects on antioxidant defense system enzymes [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2009, 4(1): 93–100 (in Chinese)
- [5] Kuiper R V, van den Brandhof E J, Leonards P E, et al. Toxicity of tetrabromobisphenol A (TBBPA) in zebrafish (*Danio rerio*) in a partial life-cycle test [J]. *Archives of Toxicology*, 2007, 81(1): 1–9
- [6] Harrad S, Abdallah M A, Rose N L, et al. Current-use brominated flame retardants in water, sediment, and fish from English Lakes [J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43: 9077–9083
- [7] He M J, Luo X J, Yu L H, et al. Diastereoisomer and enantiomer-specific profiles of hexabromocyclododecane and tetrabromobisphenol A in an aquatic environment in a highly industrialized area, South China: Vertical profile, phase partition, and bioaccumulation [J]. *Environmental Pollution*, 2013, 179: 105–110
- [8] Shi H H, Wang X R, Luo Y, et al. Electron paramagnetic resonance evidence of hydroxyl radical generation and oxidative damage induced by tetrabromobisphenol A in *Carassius auratus* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2005, 74(4): 365–371
- [9] 陈玛丽, 瞿璟琰, 刘青坡, 等. 四溴双酚-A 和五溴酚对红鲫肝脏组织和超微结构的影响 [J]. *安全与环境学报*, 2008, 8(4): 8–11
- Chen M L, Qu J Y, Liu Q P, et al. Effects of tetrabromobisphenol A and pentabromophenol on the liver histological and ultrastructure of *Carassius auratus* [J]. *Journal of Safety and Environment*, 2008, 8(4): 8–11 (in Chinese)
- [10] 岳文洁, 王朝晖, 王桥军, 等. 氯氰菊酯对海洋卡盾藻的毒性效应 [J]. *生态毒理学报*, 2009, 4(2): 251–257
- Yue W J, Wang Z H, Wang Q J, et al. Toxic Effects of Cypermethrin on *Chattonella marina* [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2009, 4(2): 251–257 (in Chinese)
- [11] 周名江, 颜天. 中国海洋生态毒理学的研究进展 [J]. *环境科学研究*, 1997, 10(3): 1–6
- Zhou M J, Yan T. Progress in marine eco-toxicology study in China [J]. *Research of Environmental Sciences*, 1997, 10(3): 1–6 (in Chinese)
- [12] 王晓艳, 蒋凤华, 曹为, 等. 六溴环十二烷和四溴双酚 A 对 4 种海洋微藻急性毒性 [J]. *海洋环境科学*, 2013, 32(6): 831–835
- Wang X Y, Jiang F H, Cao W, et al. Acute toxic effect of hexabromocyclododecane and tetrabromobisphenol A on four marine microalgae [J]. *Marine Environmental Science*, 2013, 32(6): 831–835 (in Chinese)
- [13] Jeffrey S W, Humphrey G F. New spectrophotometric equations for determining chlorophyll a, b, c1 and c2 in higher plants and natural phytoplankton [J]. *Biochemie & Physiologie der Pflanzen*, 1975, 167(2): 191–194
- [14] Qian H, Li J, Chen W, et al. The effect of exogenous nitric oxide on alleviating herbicide damage in *Chlorella vulgaris* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2009, 92(4): 250–257
- [15] 焉翠蔚, 肖宜华, 朱岩松, 等. 多效唑对 2 种海洋微藻生长和抗氧化酶活性的影响 [J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2008, 38(2): 291–296
- Yan C W, Xiao Y H, Zhu Y S, et al. Effects of PP333 on growth and activities of antioxidative enzymes of two marine microalgae [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2008, 38(2): 291–296 (in Chinese)
- [16] Aghaleh M, Niknam V, Ebrahimzadeh H, et al. Salt stress effects on growth, pigments, proteins and lipid peroxidation in *Salicornia persica* and *S. europaea* [J]. *Biologia Plantarum*, 2009, 53(2): 243–248
- [17] Kim H Y, Kim K. Protein glycation inhibitory and antioxidative activities of some plant extracts in vitro [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(6): 1586–1591
- [18] 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 and Physiology*, 2011, 100(1): 93–103
- [19] Diana B, Ana L, Salome F P, et al. Sensitivity of biochemical markers to evaluate cadmium stress in the freshwater diatom *Nitzschia palea* (Kützinger) W. Smith [J]. *Aquatic Toxicology*, 2010, 99: 109–117
- [20] Kumar S, Habib K, Fatma T. Endosulfan induced biochemical changes in nitrogen-fixing cyanobacteria [J]. *Science of the Total Environment*, 2008, 403(1–3): 130–138
- [21] 王晓蓉, 罗义, 施华宏, 等. 分子生物标志物在污染环境早期诊断和生态风险评估中的应用 [J]. *环境化学*, 2006, 25(3): 320–325
- Wang X R, Luo Y, Shi H H, et al. Application of molecular biomarkers in early diagnosis and ecological risk assessment for water and soil [J]. *Environmental Chemistry*, 2006, 25(3): 320–325 (in Chinese)
- [22] 孟范平, 李卓娜, 赵顺顺, 等. BDE-47 对 4 种海洋微藻抗氧化酶活性的影响 [J]. *生态环境学报*, 2009, 18(5): 1659–1664
- Meng F P, Li Z N, Zhao S S, et al. Effects of BDE-47 on the antioxidase activities of four species of marine microalgae [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2009, 18(5): 1659–1664 (in Chinese)

- [23] Sabatini S E , Juárez A B , Eppis M R , et al. Oxidative stress and antioxidant defenses in two green microalgae exposed to copper [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety* , 2009 , 72(4) : 1200 – 1206
- [24] 吴建勋, 张姗姗. Cr、Co、Pb 单一胁迫对浮萍 SOD、POD、MDA 的影响 [J]. *中国农学通报* , 2013 , 29(15) : 188 – 194
- Wu J X , Zhang S S. Effect of metal icon Cr , Co , Pb on SOD , POD , MDA in *Lemna minor* L. [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin* , 2013 , 29(15) : 188 – 194 (in Chinese)
- [25] 周红卫, 施国新, 徐勤松. Cd²⁺ 污染水质对水花生根系抗氧化酶活性和超微结构的影响 [J]. *植物生理学通讯* , 2003 , 39(3) : 211 – 214
- Zhou H W , Shi G X , Xu Q S. Effects of Cd²⁺ polluted water on the activities of antioxidant enzymes and ultra-structure in roots of *Alternanthera philoxeroides* [J]. *Plant Physiology Communications* , 2003 , 39(3) : 211 – 214 (in Chinese)
- [26] Wang L P , Zheng B H. Toxic effects of fluoranthene and copper on marine diatom *Phaeodactylum tricorutum* [J]. *Journal of Environmental Sciences* , 2008 , 20(11) : 1363 – 1372
- [27] Marco P , Alessandra P , Andrea B. Variation of antioxidant activity in *Dreissena polymorpha* specimens exposed to 2 , 2' , 4 , 4' , 5 , 6'-Hexa BDE (BDE-154) [J]. *Water , Air , and Soil Pollution* , 2012 , 223(6) : 3067 – 3076 ◆

欧盟机构更新替代方法数据库

2014 年 10 月 2 日 来源: 欧盟动物实验替代方法参考实验室

欧盟动物试验替代方法参考实验室(EURL ECVAM) 更新了其替代方法数据库的数据检索系统 DB-ALM2014。

此外 , 已经发布了符合规制要求并且 / 或正在致癌性、眼刺激性和皮肤致敏性等领域进行验证的下列体外方法:

- ①在 6 孔和 96 孔板中的 bhas42 细胞转化试验;
- ②体外 BALB/c 3T3 细胞转化分析;
- ③眼刺激分析系统;
- ④人类细胞系活化试验。

引自《化学品安全信息周报》2014 年第 41 期总第 305 期 (中国检验检疫科学研究院化学品安全研究所编译)

http: //www. chinachemicals. org. cn/reported_detail. asp? contentid = 317 & ClassID = 230