

# 苯丙胺对铜绿微囊藻的生物效应研究

高豫娟<sup>1,3</sup>, 周培疆<sup>1\*\*</sup>, 沈宏<sup>1</sup>, 周雪<sup>1</sup>, 宋立荣<sup>2</sup>, 沈银武<sup>2</sup>, 刘永定<sup>2</sup>

(1. 武汉大学环境科学系, 武汉 430072; 2. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072;

3. 武汉市公安局毒品检测中心, 武汉 430022)

**摘要:**研究了不同浓度苯丙胺在不同条件下对铜绿微囊藻的生长及毒性效应。结果表明,低浓度苯丙胺在弱碱性条件下促进铜绿微囊藻的生长;高浓度的苯丙胺则抑制其生长。苯丙胺对铜绿微囊藻 24、48、72、96h 的  $EC_{50}$  值分别为 24.52、16.51、10.76、9.60mg/L,且其毒性随着时间的延长而增加。

**关键词:**苯丙胺; 微囊藻; 生长效应; 毒性效应

**中图分类号:**X171 **文献标识码:**A **文章编号:**1003-6504(2004)06-0001-03

在芳香胺中,有一类容易导致滥用的中枢神经兴奋剂类精神药品,其中最具代表性的是苯丙胺又称安非他明 Amphetamine(AMP)。苯丙胺是液体,很不稳定,因此常被制成硫酸盐(Amphetamine- $H_2SO_4$ )。药用苯丙胺有片剂、胶囊、糖浆等成品。非法走私的苯丙胺一般为白色粉末,无臭,略有苦辣味。自从 1887 年,Edelmann 在研究麻黄素的药理作用和分子结构时首次合成了其衍生物苯丙胺后<sup>[1]</sup>,与苯丙胺相关的系列化合物不断出现。由于苯丙胺具有中枢神经兴奋作用和呼吸道的解痉作用,因此在其问世初期被广泛应用于医疗,后由于不法药商的大肆宣传和海洛因吸食者的迅速传播而被人们滥用,并在世界范围内广泛流行,发展十分迅速,世界反毒专家一致认为在 21 世纪,冰毒(甲基苯丙胺)很可能取代海洛因而成为全球滥用最广泛的毒品,随着滥用人群的迅速增长,不仅给社会带来了严重的危害,同时也造成了严重的环境问题<sup>[2]</sup>。

目前,关于苯丙胺类物质毒性的研究主要集中在动物上<sup>[3]</sup>,对藻类的生长效应和毒性效应的研究尚未见报道。本文就苯丙胺对微囊藻的毒性及其生物有效性进行研究,并研究了不同 pH 值时苯丙胺对微囊藻生长效应的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 微囊藻的纯化

微囊藻种由中科院水生生物研究所提供,于 HGZ 培养基中接种,在恒温、光照条件下进行培养,重复 2~3 次,即得到较纯的实验用藻种。

### 1.2 试剂

**基金项目:**国家自然科学基金(20177018); 国家市技术研究发展计划 863(2001AA641030); 云南省政府重大攻关课题资助

**作者简介:**高豫娟(1975--),女,助理工程师,学士,研究方向污染生态化学。

苯丙胺硫酸盐,纯度>98%,购自公安部物证研究所。用无菌水配制成浓度为 20mg/L 的储备液,避光保存。

### 1.3 仪器

722 型光栅分光光度计(上海申化仪表自控公司);

HP400G 型恒温光照培养箱(武汉艺华计算机技术发展中心);

电热手提压力蒸汽消毒器(上海医用核子仪器厂)。

### 1.4 微囊藻培养条件

所用培养基为 HGZ 培养基,恒温光照培养箱,培养温度为  $28 \pm 1^\circ C$ 、光照 3500lx、光暗比 12:12。

### 1.5 微囊藻吸光度—浓度标准曲线的绘制

取不同藻细胞浓度的藻液,以 722 型分光光度计于 650nm 处测其吸光度,再用血球计数板计算其浓度,得到吸光度—浓度标准曲线(见图 1)

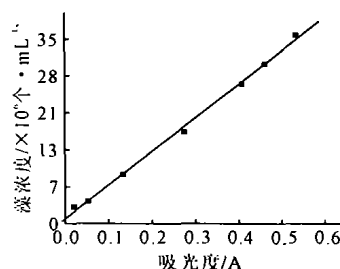


图 1 微囊藻浓度—吸光度工作曲线

### 1.6 苯丙胺对铜绿微囊藻生长效应动力学曲线测定

用 HGZ 液体培养基和 AMP- $H_2SO_4$  储备液配制成分别含 AMP- $H_2SO_4$  为 0.05、0.5、5mg/L 的处理培养液各 50mL,置于 250mL 锥形瓶中,分别设置 pH 值为 8 和 6 的两组,同时各设一组对照空白样。在高压灭菌中于  $121^\circ C$  灭菌 30min 后,在每个锥形瓶中分别接入 1mL 约  $1 \times 10^4$  个/mL 处于对数生长期的藻液,

在  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ 、光照强度 2000lux、光暗比为 12h/12h 的条件下培养。每天摇动样品 4 次并交换各锥形瓶的位置。接种后每隔 24h 取适量的藻液，用分光光度计在波长为 650nm 处测量藻细胞的吸光度值。将所测的吸光度值用微囊藻的吸光度—浓度标准曲线换算成藻细胞浓度。

### 1.7 苯丙胺对铜绿微囊藻的毒性实验

采用国家环保总局《化学品测试准则》中的“藻类生长抑制实验”方法进行培养，选择 250mL 锥形瓶，测试液体积为 60mL。在藻的指数生长期即浓度达  $10^5 - 10^6$  个/mL 时加入测试物。根据预实验结果，采用等对数浓度梯度，确定苯丙胺的浓度 (mg/L) 对数为 0.9, 1.1, 1.3, 1.5, 1.7。自接种起，每天定期摇动 3 次，每 24h 取样测定藻液在 650nm 处的吸光度。

## 2 结果与讨论

### 2.1 藻细胞浓度—吸光度工作曲线的测定结果

实验得到一元线性回归藻细胞浓度—吸光度工作曲线方程为  $Y = 0.284 + 31.5X$ ，其中， $Y$  为藻细胞浓度 ( $\times 10^6$  个/mL)， $X$  为吸光度。相关系数为 0.999，显著性水平  $P < 0.0001$ 。

### 2.2 不同 pH 值时苯丙胺对铜绿微囊藻生长的效应

#### 2.2.1 pH6 时苯丙胺对铜绿微囊生长的效应

在 pH6 的系统加入不同浓度的苯丙胺后铜绿微囊藻的生长情况如图 2 所示。

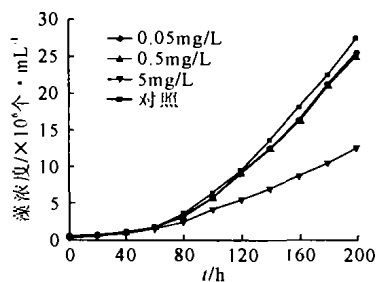


图 2 pH6 时 AMP 对微囊藻的生长动力学曲线

从图 2 可以看出，在弱酸性条件下，低浓度苯丙胺在铜绿微囊藻生长的前期略表现出促进效应，后期则稍有抑制；5mg/L 的苯丙胺则主要表现为抑制作用。

#### 2.2.2 pH8 时苯丙胺对铜绿微囊生长的效应

在 pH8 的系统加入不同浓度的苯丙胺后铜绿微囊藻的生长情况如图 3 所示。从图 3 可以看出，在弱碱性条件下，当浓度为 0.05mg/L 时，苯丙胺在微囊藻生长的前期 (120h 以前) 表现出促进效应，后期则表现出抑制效应；当浓度为 0.5mg/L 时，在其生长前期也表现出促进效应，后期则以抑制效应为主，而浓度为 5mg/L 的苯丙胺只表现出抑制效应。

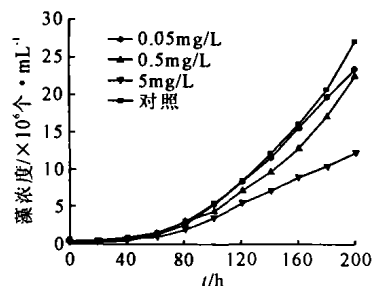


图 3 pH8 时 AMP 对微囊藻的生长动力学曲线

### 2.3 同 pH 值时苯丙胺对铜绿微囊藻生长效应的动力学研究

由图 3~1 和图 3~2 可知，在实验时段内，铜绿微囊藻的生长曲线是指数函数曲线，可用指数函数方程拟合。

假设方程为： $y = Ae^{kt}$ ，

取对数得： $\ln y = \ln A + kt$  (1)

式中， $y$ —藻浓度 ( $\times 10^6$  个/mL)； $A$ —指前因子 ( $\times 10^6$  个/mL)； $t$ —时间 (h)； $k$ —铜绿微囊藻的生长速率常数 ( $\text{h}^{-1}$ )。

将实验所得数据用 2.3 中方程 (1) 拟合，得到铜绿微囊藻的生长动力学参数列于表 1 和表 2。

表 1 pH6 时苯丙胺对铜绿微囊藻生长效应的动力学参数 (27°C) (mg/L)

	生长速率常数 $k$	指前因子 $A$	相关系数 $r$
对照	0.0216	0.54	0.988
0.05	0.0216	0.50	0.987
0.5	0.0217	0.48	0.987
5	0.0178	0.50	0.975

表 2 pH8 时苯丙胺对铜绿微囊藻生长效应的动力学参数 (27°C) (mg/L)

	生长速率常数 $k$	指前因子 $A$	相关系数 $r$
对照	0.0217	0.48	0.991
0.05	0.0220	0.43	0.987
0.5	0.0222	0.37	0.983
5	0.0180	0.47	0.984

比较 pH6 时苯丙胺各种浓度下的铜绿微囊藻的生长速率常数可见， $k_{0.5} > k_{0.05} \approx k_{\text{对照}} > k_5$ ，即在弱酸性条件下，低浓度的苯丙胺并未影响铜绿微囊藻的生长；而高浓度的苯丙胺则抑制了铜绿微囊藻的生长。

比较 pH8 时苯丙胺各浓度下的铜绿微囊藻的生长速率常数可见， $k_{0.5} > k_{0.05} > k_{\text{对照}} > k_5$ ，即在弱碱性条件下，低浓度的苯丙胺促进铜绿微囊藻的生长；而高浓度的苯丙胺则抑制其生长。

比较 pH6 和 pH8 的生长速率常数还可以看到，后者均比前者较大，说明铜绿微囊藻更适合在微碱条

(下转第 57 页)

这样一个宏大的课题,笔者很难做到面面俱到。笔者认为,除以上几个方面以外,尽快制定目前尚属立法空白而又事关国计民生的有关放射性污染防治、荒漠防治、湿地保护等专门性法律;以及采取有效的措施,建立人民检察院对环境资源法律监督的机制,进一步完善行政机关、权力机关对环境资源法律实施的监督,尤其是充分发挥人民群众、社会团体的监督作用,鼓励社会公众积极参与等对于完善我国环境资源法制都是十分必要的。笔者相信,随着我国“依法治国,建设社会主义法治国家”战略方略的实施,我国环境资源法制定会迎来美好的明天。

(上接第2页)

件下生长。

#### 2.4 苯丙胺的急性毒性效应

按藻细胞浓度-吸光度工作曲线换算为藻细胞浓度。按下式处理数据:生长速率  $r = \ln N_1 - \ln N_0 / (t_1 - t_0)$  式中  $N_0$  和  $N_1$  均为  $t_0$  和  $t_1$  时的细胞数,  $t_0$  为起始时间,  $t_1$  为测定时间。

$$\text{阻碍率}(\%) = \frac{r(b) - r(\text{tox})}{r(b)} \times 100$$

式中  $r(b)$  为对照组的生长速率,  $r(\text{tox})$  为有测试化合物存在的生长速率。用生长阻碍率( $x$ )与对数浓度( $y$ )作一元线性回归,求出 24h, 48h, 72h, 96h 的  $EC_{50}$  值。实验结果见表 3。

表 3 苯丙胺对铜绿微囊藻的毒性实验回归方程及  $EC_{50}$  (mg/L) 值

时间(h)	回归方程	r	$EC_{50}$
24	$y = 0.926x + 0.927$	0.988	24.52
48	$y = 1.491x + 0.472$	0.988	16.51
72	$y = 1.120x + 0.472$	0.990	10.76
96	$y = 1.307x + 0.329$	0.982	9.599

从表 3 可以看出,苯丙胺对铜绿微囊藻的毒性随时间的延长而增加,说明苯丙胺对微囊藻细胞的生长产生了不可逆的破坏作用,即藻类细胞受毒害,脱色,生长完全受到抑制。

实验结果表明,在弱酸性条件下,低浓度的苯丙胺对铜绿微囊藻的生长基本没有影响,而在弱碱性条件下,低浓度的苯丙胺都能促进铜绿微囊藻的生长,且浓度为 0.5mg/L 的促进效应  $> 0.05\text{mg/L}$  的对照组,说明在浓度小于一定阈值时,苯丙胺的浓度越大,促进作用也越大;高浓度的苯丙胺无论在酸性还是碱性环境中,都明显抑制藻的生长。也就是说,低浓度的苯丙胺对铜绿微囊藻表现出某些刺激效应,而高浓度的苯丙胺则表现出毒性效应,且苯丙胺对铜绿微囊藻的毒性

#### [参考文献]

- [1] 钱易,唐孝炎. 环境保护与可持续发展[M]. 北京:高等教育出版社,2000. 235-240.
- [2] 吕钟梅. 环境法新视野[M]. 北京:中国政法大学出版社,2000. 141-147.
- [3] 金瑞林. 环境法学[M]. 北京:北京大学出版社,1999. 165-168.
- [4] 韩德培. 环境保护法教程[M]. 北京:法律出版社,1998. 104.

(收稿:2003-10-17;修回:2003-12-28)

效应随时间的延长而加强。苯丙胺在低浓度时表现出的这种促进作用可能是由于微囊藻能利用苯丙胺作为其生长的碳源和氮源所致<sup>[6]</sup>;也可能是由于苯丙胺在藻细胞膜与水环境接触的界面上产生某种效应,促进了微囊藻对环境中的营养物质的吸收所致;苯丙胺在高浓度时所表现出的毒性效应则可能是因为有机污染物破坏了微囊藻的细胞膜<sup>[7-9]</sup>,使细胞膜的透性增加,环境中的有毒物质能顺利进入细胞,与某些生命活性物质发生反应,加大了对藻类的毒害。也可能是较高浓度的苯丙胺引起藻细胞内活性氧的大量产生,进而引起膜脂过氧化及细胞伤害,抑制藻细胞生长<sup>[10-11]</sup>。比较 pH=8 和 pH=6 时的生长情况还可以看到,碱性条件下各浓度组微囊藻的生长常数均大于酸性条件下的对照组,说明在苯丙胺胁迫条件下,铜绿微囊藻并未改变其适宜在碱性环境中生长的特点。

#### [参考文献]

- [1] Lake CR, Quirk RS. CNS stimulants and the look-alike drugs[J]. Psychiatr Clin North Am, 1984, 7: 689.
- [2] 何颂跃. 冰毒危害与毒品犯罪惩罚[M]. 北京:人民法院出版社,1999.
- [3] 郭东文,郑继旺. 大鼠注射甲基苯丙胺的条件性位置偏爱效应及其受体机制[J]. 北京医科大学学报,1999, 31(3): 235-238.
- [4] 李建宏,袁俊,等. 酚对极大螺旋藻生长的影响[J]. 水生生物学报,2001, 25(3): 294-296.
- [5] 沈国兴,严国安,彭金良,等. 农药对藻类的生态毒学研究 II [J]. 环境科学进展,1999, 7(6): 131-140.
- [6] 唐学玺,李永祺,黄健. 对硫磷对扁藻和杜氏藻膜脂的过氧化与脱脂化伤害[J]. 海洋与湖沼,1999, 30(3): 295-299.
- [7] 唐学玺,李永祺. 久效磷对海洋微藻毒性极力的初步研究[J]. 环境科学学报,1998, 18(2): 204-207.
- [8] 唐学玺,李永祺. 3种有机磷对三角褐指藻活性氧伤害的差异化研究[J]. 环境科学学报,1999, 19(5): 579-581.

(收稿:2003-10-28;修回:2003-12-08)