

Se(IV)和 Te(IV)对钝顶螺旋藻的急性毒性和联合毒性

唐全民, 郑文杰, 杨 芳, 白 燕, 涂 芳, 郭振江

(暨南大学 化学系, 广东 广州 510632)

摘要:用化学品对藻类毒性测试的标准试验方法,分别研究了硫属元素 Se(IV)和 Te(IV)单组分对钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)的毒性效应,用相加指数法评价了 Se(IV)和 Te(IV)双组分对螺旋藻的联合毒性效应。结果表明,Te(IV)对螺旋藻的毒性大于 Se(IV),其 $EC_{50,96h}$ 分别为 125.2 mg/L 和 36.1 mg/L;Se(IV)和 Te(IV)的联合毒性效应为拮抗作用,其 $EC_{50,96h}$ 为 103.1 mg/L。

关键词: 硒;碲;钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*);毒性;相加指数法

中图分类号: Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3096 (2007) 03-0018-04

硒(Se)是人体内的必需微量元素,具有极其重要的生物医学功能,硒的过量和缺乏与多种疾病的发生息息相关^[1,2]。研究表明,有机硒较无机硒毒性低,生物活性和生物利用度高,是安全高效的补硒制剂^[2]。而螺旋藻是营养丰富的功能性保健食品,且具有生长速度快、生长周期短、培养简便可工业化生产等优点^[3,4],因而被认为是无机硒进行生物有机化的理想载体。

迄今已有不少关于以螺旋藻为载体对无机硒进行生物有机化以及无机硒对螺旋藻的生物效应的报道^[5-11]。有关研究表明,硒对螺旋藻具有低质量浓度下促进和高质量浓度下抑制的双重生物效应。但是不同研究者因其研究目的不同,所采用的方法和培养条件也不尽相同,对结果亦未进行统计方法处理,因而缺乏可比性,有时甚至得出相反的结论,因此,很有必要用藻类测试化学品毒性的标准方法对硒的毒性进行系统的研究。

与硒同族的碲(Te)迄今仍被当作对大多数生物有毒的毒性元素^[12],然而也发现某些有机碲化合物也具有重要的生物活性^[13]。碲在工业上日益广泛的应用,使大气和水环境中的碲含量不断上升,碲的生物效益和毒性问题引起了人们的关注。另一方面,碲的矿产资源和矿物学研究表明,碲通常与硒的矿物共存,富硒的自然环境中,往往也有较高的碲含量^[14]。因而关于硒和碲联合毒性效应的研究更

有必要,更有实际意义。有关研究结果将有助于阐明元素周期律与元素生物效应变化规律之间的关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料

钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)取自暨南大学水生生物研究所。Se(IV)和 Te(IV)分别由亚硒酸钠(Na_2SeO_3)和亚碲酸钠(Na_2TeO_3)提供,配成含 Se(IV)10g/L 和 Te(IV)10g/L 的储备液。采用新鲜配制的 Zarrouk 培养液^[15]。所用试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 螺旋藻培养和 Se(IV)和 Te(IV)的添加方式

将处于对数生长期的螺旋藻接种于 250 mL 三角瓶内,起始藻液光密度 A_{560nm} 值为 0.1。按 1.2.2 设计的质量浓度梯度添加 Se(IV)、Te(IV),最终使每瓶含不同质量浓度 Se(IV)、Te(IV)的藻液 60 mL,用脱脂棉封口,置于光照培养箱中培养。

收稿日期:2004-07-16;修回日期:2005-01-20

基金项目:教育部重点项目(01141);广州市科技项目(2001-J-010-01)

作者简介:唐全民(1966-),男,理学硕士,从事微生物技术研究,E-mail: tzhwj@jnu.edu.cn

培养条件：温度 30 ± 1 ；光强 5 000 lx，光照周期 L/D = 14 h/10 h；pH8~9；静止培养，每隔 6 h 摇动 1 次。以上操作均在无菌条件下进行。

1.2.2 Se(IV)、Te(IV) 质量浓度的选择

根据预试验结果，采用等对数浓度梯度设计单组分 Se(IV)和 Te(IV)的质量浓度对数梯度均为 0, 32, 56, 100, 180, 320, 560 mg/L。混和双组分 Se(IV)+Te(IV)按照质量浓度比 1:1 设计联合毒性实验的质量浓度梯度。

1.2.3 测定和数据处理方法

每天同一时间用 752 型光栅分光光度计于波长 560 nm 处测定吸光度 A，以此作为生物量指标。每次实验的每个质量浓度组均设 3 个平行，取其平均值。

用几率单位法计算单组分 Se(IV)和 Te(IV)以及双组分 Se(IV)+Te(IV)对螺旋藻的半数有效浓度 $EC_{50.96h}$ ，采用相加指数法 (Addition Index) 来评价联合毒性^[16]。

2 结果与讨论

2.1 Se(IV)和 Te(IV)单组分及其双组分对钝顶螺旋藻的毒性效应

图 1 为 Se(IV)和 Te(IV)单组分及其双组分对螺旋藻的生长动力学曲线。可以看出，高于 32mg/L 的 Se(IV)和 Te(IV)单组分及其双组分对螺旋藻的生长具明显毒性效应。

按照上面的几率单位法求出几率单位与质量浓度对数回归方程，并对方程进行 χ^2 检验，然后算出的半数有效浓度 $EC_{50.96h}$ ，结果如表 1。Se(IV) 和 Te(IV)单组分及其双组分对螺旋藻的 $EC_{50.96h}$ 分别为 125.2, 36.1 和 103.1mg/L。可见 Te(IV)对螺旋藻的毒性约为 Se(IV)的 3~4 倍。

关于 Se(IV)对螺旋藻毒性效应的研究结果和以往报道的结果有较大差异，有关情况见表 2。由于这些文献并未严格用藻类测试化学品毒性方法试验并利用 $EC_{50.96h}$ 进行毒性的定量处理和比较，有关结果不具有可比性。从表 2 也可看出螺旋藻对 Se(IV)的耐受性还与实验时的藻细胞密度有关，而藻密度与接种藻密度、培养条件密切相关。藻细胞密度越高，对 Se(IV)的耐受性越大，因此使用 $EC_{50.96h}$ 数据时必须注意实验时的藻细胞密度差异。

关于高浓度的硒对螺旋藻生长的抑制可能是硒与硫存在一定差异所致。硒一旦过多取代蛋白质中

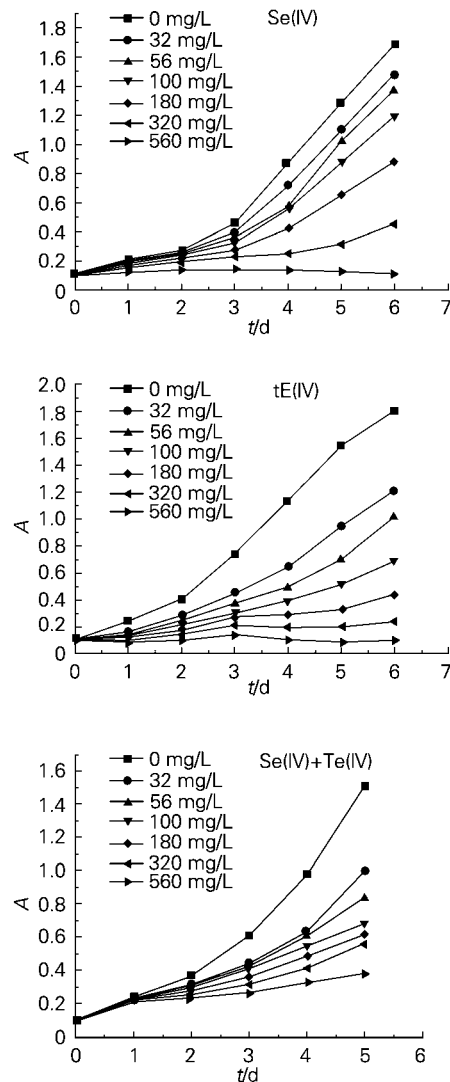


图 1 Se(IV)和 Te(IV)单组分及其双组分对螺旋藻的毒性效应
Fig.1 Toxic effects of single and double components of Se(IV)and Te(IV) on *Spirulina platensis*

的硫，可能引起蛋白质结构和功能的改变。徐辉碧^[1]认为硒的这种双重作用与活性氧的形成有关。硒化合物在低浓度下以清除自由基倾向为主，而高浓度硒以产生自由基倾向为主。作者最近关于 Se(IV)对离体藻蓝蛋白分子的作用研究结果表明，Se(IV)对藻蓝蛋白分子的氧化损伤可能是一种重要的毒性作用。

表 1 Se(IV)、Te(IV)及其双组分对螺旋藻的 EC_{50, 96h} 值

Tab.1 Values of EC_{50, 96h} of single and double components of Se(IV)and Te(IV) to *Spirulina platensis*

组分	回归方程	<i>r</i>	EC _{50, 96h} (mg/L)	95%置信区间
Se(IV)	$m = 8.71 - 1.77 \log p$	-0.99	125.2	106.6 ~ 147.1
Te(IV)	$m = 7.12 - 1.36 \log p$	-0.99	36.1	28.6 ~ 45.6
Se(IV)+ Te(IV)	$m = 6.68 - 0.84 \log p$	-0.98	103.1	85.1 ~ 120.2

表 2 Se(IV)对螺旋藻毒性效应和培养条件

Tab.2 Reported toxic effect of Se(IV) on *Spirulina platensis*

抑制生长质量浓度 (mg/L)	致死质量浓度 (mg/L)	培养条件					文献
		接种藻光密度	温度 ()	光照强度 (lx)	时间 (h)	培养瓶与藻液体积分数	
50	500	0.1	30	3 500	12	250/200	[19]
150	450	0.1	30	4 000	24	1 000/800	[18]
200	700	0.05	30	2 500	12	500/200	[7]
360	644	0.4	28	2 000	24	250/150	[17]
411.00	908.04	0.25	30 ~ 33	10 000	24	光反应器	[6]

关于碲的毒性机理目前未完全阐明，通常认为其机理与硒相似，碲取代含巯基的蛋白中的硫，对含巯基酶进行干扰而产生毒性作用。另外，有的研究者认为碲的毒性在于碲取代含硒酶谷胱甘肽过氧化酶 (GSH-Px) 中的硒^[20]；有的认为碲的毒性可能是由于其强氧化性，碲及其代谢产物使细胞脂质过

氧化^[13]。

2.2 双组分 Se(IV) + Te(IV)对螺旋藻的联合毒性效应评价

用相加指数法对双组分 Se(IV)和 Te(IV)对螺旋藻的联合毒性效应进行评价，结果见表 3。由评价结果可见，联合毒性指数 I_A 等于-0.81，小于 0，为拮抗作用。

表 3 Se(IV)和 Te(IV)双组分对螺旋藻的联合毒性效应评价

Tab.3 Assessment of the joint toxicity of Se(IV) and Te(IV) to *Spirulina platensis*

联合毒性	单组分	单组分 EC _{50, 96h}	双组分 EC _{50, 96h}	I_A	评价
Se(IV)+Te(IV)	Se(IV)	125.2	103.1	-0.81	拮抗作用
	Te(IV)	36.1			

作者曾观察到，在固定 Te(IV)的质量浓度在 200 mg/L 时，逐步增加 Se(IV)的质量浓度，它们对螺旋藻的联合毒性效应由拮抗作用转为协同作用^[8]；低 S(IV)和低 Se(IV)双组分对螺旋藻的生长表现为协同促进作用，S(IV)对较高浓度的 Se(IV)因吸收和代谢的竞争而具有解毒作用^[21]。本实验表明，在实验浓度范围和 Se(IV)和 Te(IV)的配比浓度内，Se(IV)对 Te(IV)也与 S(IV)对 Se(IV)相似，具有缓解作用。这可能与同属元素之间性质相似，在螺旋藻中的代谢存在竞争有关，具体机理目前并不清楚。

化学品对生物的联合毒性作用是很复杂且富有挑战性的问题。由于生物体生存的客观环境实际上是多种元素组分共存、多种因素制约的复杂体系，因此，研究各种化学品不同元素、化合物的联合毒性作用乃至联合生物效应，具有理论意义和实际意义。

参考文献：

- [1] 徐辉碧,黄开勋.硒的化学、生物化学及其在生命科学中的应用[M].武汉:华中理工大学出版,1994.152-167.
- [2] 郑文杰,欧阳政.植物有机硒的化学及其医学应用[M].广州:

- 暨南大学出版社,2001.6-26.
- [3] 陈峰,姜悦.微藻生物技术[M].北京:中国轻工业出版社,1999.103-138.
- [4] 郑文杰,贺鸿志,黄峙,等.硒砷胁迫对两种螺旋藻生长的影响[J].海洋科学,2003,27(10):73-78.
- [5] 郑文杰,贺鸿志,黄峙,等.螺旋藻富集转化硒研究进展[J].中国生物工程杂志,2003,23(1):57-60.
- [6] 徐晶,陈婉华,谢应先,等.亚硒酸钠浓度对螺旋藻生长及富硒量的影响[J].土壤肥料,1996,6:38-46.
- [7] 陈必链,庄惠如,余望,等.钝顶螺旋藻对锌和硒生物富集作用的研究[J].食品与发酵工业,1998,24(6):27-29.
- [8] 郑文杰,贺鸿志,黄峙,等.S、Se 和 Te 对两种螺旋藻生长的影响[J].生态科学,2002,21(3):213-216.
- [9] 周志刚,李富朋,刘志礼,等.三种螺旋藻及其蛋白质、多糖和脂类结合硒的研究[J].海洋与湖沼,1997,28(4):363-370.
- [10] 俞达辉,刘少明.钝顶螺旋藻对不同无机硒的吸收研究[J].海洋学报,2000,22(2):137-141.
- [11] 郑文杰,余景,杨芳,等.两种螺旋藻在不同生长阶段的硒胁迫效应[J].生态科学,2003,22(4):305-309.
- [12] 胡莉萍,吕京,等.砷及其化合物的毒性研究进展[J].卫生毒理学杂志,2002,16(2):120-123.
- [13] Summerw AO, Jacob Y G. A. Plasmid-determined resistance to tellurium compounds[J]. *J Bacterial*, 1977, 129:276-281.
- [14] 李子全.稀有金属应用(下)[M].北京:冶金工业出版社,1985.7.
- [15] 徐洁红,郭宝江.螺旋藻培养液的筛选[J].华南师范大学学报(自然科学版),1996,4:32-34.
- [16] 周永欣,章宗涉.水生生物毒性实验方法[M].北京:农业出版社,1989:114-122.
- [17] 李志勇,郭祀远,李琳,等.采用鼓泡柱式光生物反应器培养螺旋藻的研究[J].食品工业科技,1998,5:18-21.
- [18] 黄峙,向军俭,郑文杰,等.钝顶螺旋藻富集转化硒及硒在藻体中的分布[J].植物生理学通讯,2001,37(1):12-14.
- [19] 王大志,程兆第,高亚辉.硒对钝顶螺旋藻生长的影响及其在细胞中的积累和分布[J].台湾海峡,1998,17(4):433-438.
- [20] Garberg P, Engman L, Tolmachev V, *et al*. Binding of tellurium to hepatocellular selenoproteins during incubation with inorganic tellurite: consequences for the activity of selenium-dependent glutathione peroxidase[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell biology*, 1999,31:291-301.
- [21] 黄峙,郑文杰,向军俭,等.硒砷比值对钝顶螺旋藻有机化硒的影响及藻体中硒的形态、价态构成[J].海洋科学,2002,26(5):60-62.

Acute toxicity and joint toxicity of Se(IV) and Te(IV) on *Spirulina platensis*

TANG Quan-min, ZHENG Wen-jie, YANG Fang, BAI Yan, TU Fang, GUO Zhen-jiang

(Department of Chemistry, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Received: Jul., 16, 2004

Key words: selenium; tellurium; *Spirulina platensis*; toxicity; additive index

Abstract: The toxicity of selenium and tellurium to *Spirulina platensis* was investigated with a standard experiment method of evaluating chemicals' toxic effects on algae. The joint toxicity of selenium and tellurium to *S. platensis* was assessed with additive index. The results showed that the toxicity effect of Se(IV) on *S. platensis* was heavier than that of Te(IV). The values of $EC_{50,96h}$ were 125.2 mg/L and 36.1 mg/L, respectively. The joint toxicity was antagonistic, the value of $EC_{50,96h}$ was 103.1 mg/L.

(本文编辑:张培新)