

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20111215001

李晓磊, 刘树深, 朱祥伟, 等. 三氯生对青海弧菌 Q67 和人乳腺癌细胞 MCF-7 的时间毒性[J]. 生态毒理学报, 2013, 8(1): 49-54

Li X L, Liu S S, Zhu X W, et al. Time-dependent toxicities of triclosan to *Vibrio qinghaiensis* sp.-Q67 and human breast cancer cell MCF-7 [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2013, 8(1): 49-54(in Chinese)

## 三氯生对青海弧菌 Q67 和人乳腺癌细胞 MCF-7 的时间毒性

李晓磊<sup>1</sup>, 刘树深<sup>1,\*</sup>, 朱祥伟<sup>1</sup>, 张瑾<sup>1,2</sup>, 葛会林<sup>3</sup>

1. 同济大学环境科学与工程学院 长江水环境教育部重点实验室, 上海 200092
2. 安徽建筑工业学院环境与能源工程学院, 合肥 230601
3. 中国热带农业科学院分析测试中心, 海口 571101

**摘要:** 三氯生(triclosan, TCS)是一种广谱性抗菌剂, 2005年欧盟水框架指令将TCS列为一种新型污染物。目前对TCS的研究局限于急性毒性实验, 关于TCS毒性随时间的变化以及不同溶解状态下TCS的毒性差异的研究却鲜有报道。应用以96孔微板为暴露反应载体的微板毒性分析法, 添加氢氧化钠(NaOH)或使用二甲亚砜(DMSO)作为助溶剂溶解TCS, 分别测定其对青海弧菌Q67的相对发光抑制毒性(15 min急性毒性和时间毒性)和对人乳腺癌细胞MCF-7在不同暴露时间(24、48和72 h)内的细胞增殖抑制毒性。Q67的急性毒性实验结果表明, 碱性条件下TCS的毒性( $EC_{50} = 3.97 (10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$ )大于DMSO作为助溶剂时的毒性( $EC_{50} = 1.68 (10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$ )。无论碱性条件还是DMSO助溶, TCS在不同暴露时间内对Q67的时间毒性没有明显差异。在不同暴露时间下MCF-7增殖抑制率实验中, DMSO作为助溶剂时, TCS的最高实验浓度为 $1.46 (10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$ , 随着暴露时间的延长, 抑制率在24、48和72 h时分别为27.8%、44.2%和62.4%; 碱性环境时TCS的最高实验浓度为 $1.39 (10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$ , 随着暴露时间的延长, 抑制率在24、48和72 h时分别为20.2%、55.8%和73.9%。研究表明, 在DMSO和NaOH作为助溶剂的条件下, TCS对MCF-7均存在时间毒性差异, 并且NaOH碱性溶液中TCS对MCF-7的毒性远大于DMSO作为助溶剂时的毒性。

**关键词:** 三氯生; 青海弧菌; MCF-7细胞; 时间毒性

文章编号: 1673-5897(2013)1-049-06 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## Time-dependent Toxicities of Triclosan to *Vibrio qinghaiensis* sp.-Q67 and Human Breast Cancer Cell MCF-7

Li Xiaolei<sup>1</sup>, Liu Shushen<sup>1,\*</sup>, Zhu Xiangwei<sup>1</sup>, Zhang Jin<sup>1,2</sup>, Ge Huilin<sup>3</sup>

1. Key Laboratory of Yangtze River Water Environment of Ministry of Education, College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China
2. College of Environment and Energy Engineering, Anhui University of Architecture, Hefei 230601, China
3. Analysis and Testing Center, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China

Received 15 December 2011 accepted 7 March 2012

**Abstract:** A broad-spectrum antibacterial agent, triclosan (TCS) was listed in European Union Water Framework Directive (2005) as an emerging environmental pollutant. Until now, most studies focused on acute toxicity of TCS, however, few studies were performed on time-dependent toxicity of TCS and its toxicity in different solu-

收稿日期: 2011-12-15 录用日期: 2012-03-07

基金项目: 国家自然科学基金项目(20977065); 国家高技术研究发展计划(863)项目(2007AA06Z417)

作者简介: 李晓磊(1987-)男, 硕士, 研究方向为环境毒理学, E-mail: lixiaoleiabc123@163.com;

\* 通讯作者(Corresponding author) E-mail: ssluhl@263.net

tion systems. NaOH solution and dimethyl sulfoxide (DM SO) were used to dissolve TCS. Microplate toxicity analysis (MTA) was used to determine the acute (15 min exposure and time-dependent) luminescent inhibition toxicities of TCS to *Vibrio qinghaiensis* sp.-Q67 (Q67) and time-dependent proliferation inhibition toxicities to human breast cancer cell MCF-7 at different exposure times (24, 48 and 72 h). Results showed that the acute toxicity ( $EC_{50} = 3.97 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) of TCS to Q67 in DM SO is much higher than that ( $1.68 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) in NaOH solution. In time-dependent toxicity assay, there was no time-dependent toxicity difference across difference time intervals for TCS in DM SO or NaOH solution. In MCF-7 proliferation inhibition assay, the inhibition ratio of the highest TCS concentration ( $1.46 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) in DM SO was 27.8% for 24 h, 44.2% for 48 h, and 62.4% for 72 h exposure. The inhibition ratio of the highest TCS concentration ( $1.39 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) in NaOH solution was 20.2% for 24 h, 55.8% for 48 h, and 73.9% for 72 h exposure. As a result, in MCF-7 proliferation inhibition ratio assay, there was significant time-dependent toxicity difference for TCS both in DM SO and NaOH solution, and the toxicity of TCS in NaOH solution was much higher than that in DM SO.

**Keywords:** tridosan; *Vibrio qinghaiensis* sp.-Q67; MCF-7; time-dependent toxicity

三氯生(2,4,4'-三氯-2'-羟基二苯醚, TCS)是一种广谱性抗菌剂,其大规模使用已超过20年,广泛添加于个人护理品如肥皂、除臭剂、牙膏和漱口剂中<sup>[1]</sup>。2005年欧盟水框架指令将三氯生列为一种新型污染物<sup>[2]</sup>,其辛醇水分配系数( $\log K_{ow}$ )为4.76<sup>[3]</sup>,脂溶性较高,易在水生动物体内富集,产生有害的影响。美国地质调查局在1999—2000年间对30个州的139条河流进行调查,发现其中TCS是检出频率最高的PPCPs(pharmaceutical and personal care products)之一<sup>[4]</sup>。据报道,西班牙某污水处理厂中TCS最高监测浓度达到 $0.269 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[5]</sup>。美国国家环境健康中心考察了不同年龄人群的尿中TCS含量,发现74.6%的样本中含有 $2.4 \sim 3790 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的TCS<sup>[6]</sup>。TCS会对日本青鳉的摄食行为和移动速度产生有害影响<sup>[7]</sup>。TCS对费氏弧菌的15 min毒性( $EC_{50}$ )是 $0.053 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,对成虾、幼虾和虾胚胎的96 h急性毒性( $LC_{50}$ )分别是0.305、0.154和 $0.651 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[8]</sup>。Ying等<sup>[9]</sup>研究了12种抗菌剂对近头状伪蹄形藻72 h的生长毒性,发现TCS的毒性最大。

在环境科学和毒理学领域中,发光细菌与哺乳动物细胞(MCF-7)经常用于检测污染物的生物毒性<sup>[10-11]</sup>。青海弧菌Q67是一种常见的淡水发光菌,可在较宽的pH值范围内正常发光,且当测试体系pH值为5~9时,Q67可直接用于测试<sup>[12]</sup>。这是Q67作为检测生物的优点之一。污染物对青海弧菌Q67的毒性研究多集中在15 min的急性毒性<sup>[13-15]</sup>,考察暴露时间对其毒性影响的研究鲜有报道,而已有研究表明,除浓度因素的影响外,暴露时间也是影响污染物毒性的重要因素<sup>[16-18]</sup>。为了研究污染物长时间暴露对生物体产生的影响,已有学者建立了基于海洋费氏弧菌的

24 h长期毒性的研究方法<sup>[17]</sup>和Q67的长期微板毒性测试法(L-MTA)<sup>[19]</sup>。L-MTA已成功用于环嗪酮、扑灭通、嗪草酮和阿特拉津等对Q67长期毒性的研究。不过,长期和急性实验均有同样的缺点,都只考察了单个暴露时间的毒性,而没有考虑到毒性随时间变化的动态过程。另外,有研究表明,TCS会引起人体肝细胞的DNA损伤从而导致细胞的衰亡,此过程涉及到长时间的毒性累积效应和剂量效应<sup>[20]</sup>。因此,研究TCS对原核生物(如发光菌)的毒性作用同时,考察其对人体细胞产生的时间与剂量效应,更有助于比较两者之间的差异,进而有助于生态与人体健康风险的评价。

由于TCS在水中溶解度很小,设计TCS的毒性实验时必须考虑其水溶性的问题。尽管有多种助溶剂可供选择,但这些助溶剂常常会对TCS的毒性测定产生影响。其中,碱性试剂和有机溶剂是较为常用的TCS助溶剂<sup>[21]</sup>。本研究选择Q67和MCF-7作为检测生物,重点考察并比较了不同溶解条件下TCS在不同时间范围内的毒性变化,以期了解不同溶解条件下TCS的毒性大小以及2种检测生物对TCS的敏感性差异。应用微板毒性分析法测试TCS在0.1% DM SO(V/V)和 $0.004 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH溶液(pH = 9.0)条件下不同时间范围内对Q67的发光抑制毒性;采用MTS/PM S细胞增殖检测法<sup>[22]</sup>检测TCS在不同时间范围内对MCF-7的细胞增殖抑制毒性。

## 1 材料和方法(Materials and methods)

### 1.1 仪器与试剂

仪器: CASY Model TT 细胞颗粒计数仪(德国Innovatis有限公司);二氧化碳培养箱(德国路易斯企业有限公司 Binder C系列); BioTek PowerWave

XS2 型分光光度计(美国 BioTek 公司); BioTek Synergy 2 型酶标仪(美国 BioTek 公司); SW-CJHF 超净工作台(苏州佳宝净化工程设备有限公司); LRH-150Z 恒温振荡培养箱(广东医疗器械厂); Milli-Q 超纯水系统(密理博中国有限公司); Heraeus Megafuge 1.0 通用离心机(德国 Heraeus 公司)等。

试剂: 三氯生(纯度大于 98%)购自梯希爱(上海)化成工业有限公司, MTS 和 PMS 购自 Promega 公司, NaOH(纯度大于 99.5%)购自国药集团, DMSO(纯度大于 99.5%)购自 Sigma 公司。三氯生分子结构示意图见图 1。

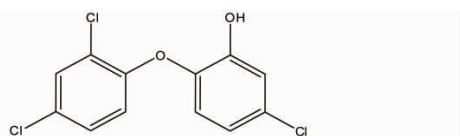


图 1 三氯生的分子结构

Fig. 1 Molecular structure of triclosan

## 1.2 检测生物

实验用菌种青海弧菌 Q67 (*Vibrio qinghaiensis* sp.-Q67) 购自华东师范大学生物系, 其培养基及培养方法参见文献[12]。实验用人乳腺癌细胞株 MCF-7 购自中国科学院上海生物细胞所, 其培养基及培养方法参见文献[23]。

## 1.3 毒性检测方法

### 1.3.1 发光菌 Q67 急性毒性

分别采用 DMSO 和 NaOH ( $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 作为助溶剂配制 TCS 储备液, 毒性实验中 DMSO 含量为 0.1% (V/V), NaOH 浓度为  $0.004 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。96 孔微板第 1 排与第 5 排 24 个孔中加入  $100 \mu\text{L}$  分别采用 0.1% DMSO 或  $0.004 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 溶液作为空白对照, 剩余的 6 排第 1 列加入  $100 \mu\text{L}$  毒物储备液, 后面 11 列按照 0.68 的稀释因子加入相应体积的三氯生储备液, 不足  $100 \mu\text{L}$  的用 0.1% DMSO 或  $0.004 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 溶液稀释至  $100 \mu\text{L}$ , 然后各孔加入  $100 \mu\text{L}$  培养好的菌悬液, 暴露 15 min 后在 Synergy 2 型酶标仪上测试相对发光单位 (RLU)。根据文献[12]进行 TCS 对 Q67 发光抑制率计算。

### 1.3.2 发光菌 Q67 时间毒性

根据 L-MTA 方法<sup>[19]</sup>, 分别采用 DMSO 和 NaOH 作为助溶剂配制 TCS 储备液, 毒性实验中 DMSO 含量为 0.1% (V/V), NaOH 浓度为  $0.004 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。96 孔微板周边 36 个孔中加入  $200 \mu\text{L}$  的蒸馏水以防止边缘效应, 在剩余的 60 孔中选择第 2、6、7 和 11 列共计 24 个孔为空白对照, 分别采用  $100 \mu\text{L}$

的 0.1% DMSO 或  $0.004 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 溶液作为空白对照, 剩余 36 个孔按照 0.68 的稀释因子设计 12 个浓度梯度, 其中第 3、4、5 列和第 8、9、10 列为两组浓度梯度平行, 每孔中三氯生的体积是  $100 \mu\text{L}$ 。中间 60 个孔加入  $100 \mu\text{L}$  培养好的菌悬液, 暴露 0.25、1、2、4、6、8、10 和 12 h 后在 Synergy 2 型酶标仪上分别测试相对发光单位 (RLU)。

### 1.3.3 MTS/PMS 细胞增殖抑制率

MTS/PMS 细胞增殖检测法已是一种成熟的检测细胞凋亡的方法<sup>[22]</sup>。对文献[22]方法略加改进后来检测 TCS 对 MCF-7 细胞的增殖抑制率。采用血清体积与培养基体积比为 1: 10 的含酚红的 1640 细胞培养基, 在  $37^\circ\text{C}$  细胞培养箱恒温培养 MCF-7 细胞 24 h, 使之生长至对数生长期, 使用胰酶消化收获细胞, 用 CASY Model TT 细胞颗粒计数仪计数。利用血清体积分数为 2% 的无酚红的 1640 培养基调整细胞浓度至  $2 \sim 4 \text{ 万个} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 每孔  $50 \mu\text{L}$  接种于 96 孔板。96 孔细胞培养板周边 36 孔加无菌水  $100 \mu\text{L}$  以防止边缘效应。实验微孔板设计与发光菌毒性实验类似, 测定 12 个浓度梯度的 TCS 对 MCF-7 细胞增殖抑制效应, 各浓度组均设 3 个平行孔。剩余的 24 个细胞微孔作为溶剂对照组。细胞贴壁 12 h 后, 每孔加入  $130 \mu\text{L}$  的血清体积与培养基体积比为 1: 10 的无酚红的 1640 培养基, 然后, 实验组加入含有不同浓度梯度的 TCS 的溶液  $20 \mu\text{L}$ , 溶剂对照组中加入  $20 \mu\text{L}$  含有 0.1% DMSO (V/V) 的无菌水或  $0.004 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 无菌水溶液。分别在培养 24、48 和 72 h 后, 加入  $20 \mu\text{L}$  的 MTS/PMS 在  $37^\circ\text{C}$  细胞培养箱恒温孵化 4h, 然后使用 BioTek PowerWave XS2 型分光光度计读取中间 60 个孔在 490 nm 处的吸光度值, 通过与对照组细胞对比, 进而计算各 TCS 处理组细胞增殖抑制率。

## 1.4 数据处理

对 Q67 的浓度-效应数据, 参照文献[10]采用 Logit 和 Weibull 函数进行非线性拟合, 并选择 RMSE (均方根误差) 较小及 r (相关系数) 较大的函数作为最佳拟合函数。

对 MCF-7 的浓度-效应数据, 使用软件 Origin 8.0 进行非线性拟合。

## 2 结果与讨论 (Results and discussion)

### 2.1 三氯生对青海弧菌 Q67 的急性毒性

三氯生在不同助溶剂条件下对青海弧菌 Q67 的浓度-效应 (急性毒性) 数据采用 Logit 函数<sup>[10,22]</sup> 进行非线性最小二乘拟合, 结果如表 1 所示。表中  $\alpha$ 、

$\beta$ 、RMSE 和  $r$  分别表示 Logit 拟合函数的位置参数、斜率参数、拟合均方根误差以及相关系数,拟合  $r$  值均大于 0.98,说明拟合效果良好。

图 2 描绘了不同助溶条件下 TCS 的浓度-效应曲线(CRC)及其 95% 置信区间,显然曲线呈现 S 型,表明随着 TCS 浓度的升高,其对 Q67 的毒性逐渐增大。TCS(NaOH)对 Q67 的 CRC 整体上在 TCS(DMSO)的 CRC 的左边,说明 TCS 在碱性条件下的毒性大于在 DMSO 助溶条件下的毒性。采用  $EC_{50}$

作为毒性大小的判别依据,碱性条件下 TCS 的  $EC_{50}$  为  $3.97 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,DMSO 作为助溶剂时其  $EC_{50}$  为  $1.68 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,毒性差异达 4 个数量级(表 1)。通过比较 2 种助溶剂条件下 TCS 的紫外-可见吸收光谱,发现吸收光谱没有明显差异,说明 TCS 共价体系并未被破坏,毒性差异可能是  $\text{OH}^-$  离子所致,即碱性环境对 Q67 的发光率产生抑制效应。具体的影响程度与浓度-效应关系有待于进一步研究。

表 1 三氯生(TCS)对青海弧菌 Q67 的拟合浓度-效应函数、统计量、 $EC_{50}$  及其 95% 置信区间

Table 1 Concentration-response functions, fitted statistics,  $EC_{50}$  and 95% confidence intervals of tridosan to *Vibrio qinghaiensis* sp.-Q67

化合物(助溶剂)	函数	$\alpha$	$\beta$	RMSE	$r$	$EC_{50}/(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	95% 置信区间/ $(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$
TCS ( $0.004 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH)	Logit	30.42	4.11	0.017	0.999	$3.97 \times 10^{-8}$	$(3.57, 4.57) \times 10^{-8}$
TCS ( $0.1\%$ DMSO)	Logit	12.23	3.24	0.065	0.983	$1.68 \times 10^{-4}$	$(0.99, 2.96) \times 10^{-4}$

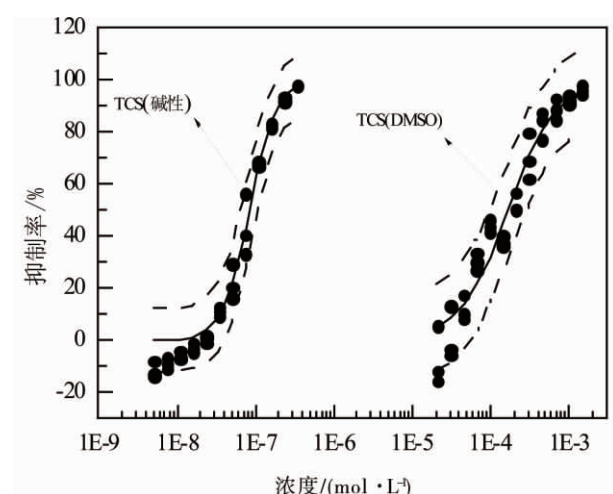


图 2 DMSO 和 NaOH 存在下三氯生(TCS)对青海弧菌 Q67 的浓度-效应曲线

注: ●: 实验值; —: 拟合曲线; - - -: 95% 置信区间

Fig. 2 Concentration-response curves of tridosan to *Vibrio qinghaiensis* sp.-Q67 in DMSO and NaOH solutions

## 2.2 三氯生对青海弧菌 Q67 的时间毒性

三氯生在不同助溶剂条件下于不同暴露时间对青海弧菌 Q67 的浓度-效应数据采用 Logit 函数<sup>[10,21]</sup>进行非线性最小二乘拟合,计算得到不同时间的  $EC_{50}$  和 95% 的置信区间,结果如表 2 所示。从 0.25 到 12 h 等 8 个时间点的  $EC_{50}$  可以看出,两种助溶条件下 TCS 对 Q67 均没有显著的时间毒性差异,这是因为 TCS 性质稳定,水溶性差,脂溶性较强,在较短的暴露时间内就已经产生较大的毒性,在之后的暴

露时间中  $EC_{50}$  值都在同一个数量级内波动。

表 2 不同暴露时间下三氯生对青海弧菌 Q67 的  $EC_{50}$  及其 95% 置信区间

Table 2  $EC_{50}$  values and 95% confidence intervals of tridosan to *Vibrio qinghaiensis* sp.-Q67 at different exposure times

时间/h	0.1% DMSO		0.004 mol·L <sup>-1</sup> NaOH	
	$EC_{50}/(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	95% 置信区间/ $(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	$EC_{50}/(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	95% 置信区间/ $(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$
0.25	$2.98 \times 10^{-4}$	$(2.36, 3.93) \times 10^{-4}$	$4.87 \times 10^{-8}$	$(4.38, 5.55) \times 10^{-8}$
1	$2.18 \times 10^{-4}$	$(1.85, 2.68) \times 10^{-4}$	$5.18 \times 10^{-8}$	$(4.53, 6.16) \times 10^{-8}$
2	$1.79 \times 10^{-4}$	$(1.39, 2.40) \times 10^{-4}$	$4.38 \times 10^{-8}$	$(3.83, 5.18) \times 10^{-8}$
4	$1.23 \times 10^{-4}$	$(1.01, 1.55) \times 10^{-4}$	$3.45 \times 10^{-8}$	$(2.76, 4.51) \times 10^{-8}$
6	$1.85 \times 10^{-4}$	$(1.57, 2.26) \times 10^{-4}$	$4.56 \times 10^{-8}$	$(3.79, 5.57) \times 10^{-8}$
8	$2.03 \times 10^{-4}$	$(1.67, 2.56) \times 10^{-4}$	$4.99 \times 10^{-8}$	$(4.09, 6.31) \times 10^{-8}$
10	$2.15 \times 10^{-4}$	$(1.91, 2.49) \times 10^{-4}$	$4.78 \times 10^{-8}$	$(4.24, 5.48) \times 10^{-8}$
12	$1.78 \times 10^{-4}$	$(1.46, 2.22) \times 10^{-4}$	$4.21 \times 10^{-8}$	$(3.52, 5.12) \times 10^{-8}$

## 2.3 三氯生对 MCF-7 细胞的时间毒性

图 3 为不同暴露时间三氯生对 MCF-7 细胞的 CRC,可以看出空白变异控制在 20% 以内,实验重复性较好。DMSO 作为助溶剂时,低浓度区域中 TCS 毒性随着暴露时间的延长变化不大, TCS 的最高实验浓度为  $1.46 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,随着暴露时间的延长,抑制率在 24、48 和 72 h 时分别为 27.8%、44.2% 和 62.4%,在高浓度区域中随着暴露时间的延长, TCS 对 MCF-7 细胞增殖的抑制率明显增加。

而在碱性环境中, TCS 的毒性随着暴露时间的延长增加显著, 当 TCS 浓度为  $1.39 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 24、48 和 72 h 的抑制率分别为 20.2%、55.8% 和 73.9%。

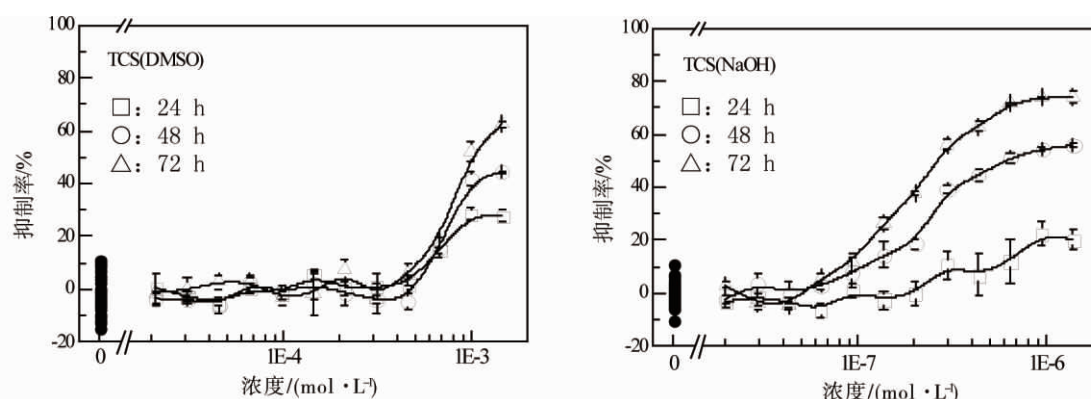


图 3 不同暴露时间下三氯生 (TCS) 对 MCF-7 的浓度-效应曲线

Fig. 3 Concentration-response curves of tridolan to MCF-7 at different exposure times

综上所述, DMSO 作为助溶剂时, TCS 对 Q67 的急性毒性 ( $EC_{50}$ ) 在  $1.23 \times 10^{-4} \sim 3.93 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  之间, 没有时间毒性差异; 而 TCS 对 MCF-7 的 24、48 和 72 h 毒性都较小, 其  $EC_{50}$  均在  $1.00 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  以上。碱性溶液环境中, TCS 不论对 Q67 还是对 MCF-7, 其毒性均远远大于 DMSO 作为助溶剂时的毒性。其中, TCS(NaOH) 对 Q67 的 15 min  $EC_{50}$  在  $3.04 \times 10^{-8} \sim 5.18 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  之间, 在 0.25 至 12 h 内不同暴露阶段的毒性没有明显差异; 而 TCS(NaOH) 对 MCF-7 的  $EC_{50}$  在  $10^{-7}$  数量级上, 24 h- $EC_{50} > 1.39 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 48 h- $EC_{50}$  为  $4.38 \times 10^{-7} \sim 6.44 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 72 h- $EC_{50}$  为  $2.03 \times 10^{-7} \sim 2.98 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。TCS 在碱性溶液环境中对 MCF-7 存在明显的时间毒性差异, 因此在评价其风险时, 必须综合考虑暴露时间、浓度及溶解液 pH 值等因素。

通讯作者简介: 刘树深(1961—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事化学计量学及其在生命和环境科学中的应用研究。

#### 参考文献:

- [1] McAvoy D C, Schatowitz B, Jacob M, et al. Measurement of tridolan in wastewater treatment systems [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2002, 21 (7): 1323 - 1329
- [2] Brun E M, Puchades R, Bonet E, et al. Selective enzyme-linked immunosorbent assay for tridolan. Application to wastewater treatment plant effluents [J].

这一现象与此前 L-MTA 法检测环境中除草剂对 Q67 的毒性规律一致<sup>[19]</sup>, 即, 毒性效应随时间会累积增强。

- Environmental Science & Technology, 2008, 42 (5): 1665 - 1672
- [3] Coogan M A, Edziyie R E, La Point T W, et al. Algal bioaccumulation of tridocarb, tridolan, and methyl-tridolan in a North Texas wastewater treatment plant receiving stream [J]. *Chemosphere*, 2007, 67(10): 1911 - 1918
- [4] Kolpin D W, Furlong E T, Meyer M T, et al. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999—2000: A national reconnaissance [J]. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36(6): 1202 - 1211
- [5] Mezcuca M, Gomez M J, Ferrer I, et al. Evidence of 2,7/2,8-dibenzodichloro-p-dioxin as a photodegradation product of tridolan in water and wastewater samples [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2004, 524(1-2): 241 - 247
- [6] Calafat A M, Ye X, Wong L Y, et al. Urinary concentrations of tridolan in the US population: 2003—2004 [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2008, 116(3): 303 - 307
- [7] Nassef M, Matsumoto S, Seki M, et al. Acute effects of tridolan, didofenac and carbamazepine on feeding performance of Japanese medaka fish (*Oryzias latipes*) [J]. *Chemosphere*, 2010, 80(9): 1095-1100
- [8] DeLorenzo M E, Keller J M, Arthur C D, et al. Toxicity of the antimicrobial compound tridolan and formation of the metabolite methyl-tridolan in estuarine systems [J]. *Environmental Toxicology*, 2008, 23(2): 224 - 232
- [9] Ying G G, Yang L H, Su H C, et al. Growth-inhibiting



- effects of 12 antibacterial agents and their mixtures on the freshwater microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2008, 27(5): 1201 – 1208
- [10] Zhang Y H, Liu S S, Song X Q, et al. Prediction for the mixture toxicity of six organophosphorus pesticides to the luminescent bacterium Q67 [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2008, 71(3): 880 – 888
- [11] Andersen H R, Vinggaard A M, Rasmussen T H, et al. Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity, and aromatase activity in vitro [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2002, 179(1): 1 – 12
- [12] 刘保奇, 葛会林, 刘树深. 测定环境污染物对青海弧菌发光强度抑制的微板发光方法研究[J]. *生态毒理学报*, 2006, 1(2): 186 – 191
- Liu B Q, Ge H L, Liu S S. Microplate luminometry for toxicity bioassay of environmental pollutant on a new type of fresh water luminescent bacterium (*Vibrio-qinghaiensis*-Q67) [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2006, 1(2): 186–191 (in Chinese)
- [13] Zhang J, Liu S S, Liu H L, et al. A novel method dependent only on the mixture information (MIM) for evaluating the toxicity of mixture [J]. *Environmental Pollution*, 2011, 159(7): 1941 – 1947
- [14] Dou R N, Liu S S, Mo L Y, et al. A novel direct equipartition ray design (EquRay) procedure for toxicity interaction between ionic liquid and dichlorvos [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2011, 18(5): 734 – 742
- [15] Zhang J, Liu S S, Liu H L. Effect of ionic liquid on the toxicity of pesticide to *Vibrio-qinghaiensis* sp.-Q67 [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 170(2B): 920 – 927
- [16] Fan F, Rozman K K. Short-term and long-term biochemical effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-P-dioxin in female long-evans rats [J]. *Toxicology Letters*, 1995, 75(1–3): 209 – 216
- [17] Backhaus T, Froehner K, Altenburger R, et al. Toxicity testing with *Vibrio fischeri*: A comparison between the long term (24 h) and the short term (30 min) bioassay [J]. *Chemosphere*, 1997, 35(12): 2925 – 2938
- [18] Schmitt H, Haapakangas H, van Beelen P. Effects of antibiotics on soil microorganisms: Time and nutrients influence pollution-induced community tolerance [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2005, 37(10): 1882 – 1892
- [19] Zhu X W, Liu S S, Ge H L, et al. Comparison between the short-term and the long-term toxicity of six triazine herbicides on photobacteria Q67 [J]. *Water Research*, 2009, 43(6): 1731 – 1739
- [20] 李林朋, 马慧敏, 胡俊杰, 等. 三氯生和三氯卡班对人体肝细胞 DNA 损伤的研究[J]. *生态环境学报*, 2010, 19(12): 2897 – 2901
- Li L P, Ma H M, Hu J J, et al. The genotoxicity of triclosan and tridocarbam in human hepatocyte L02 cell [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2010, 19(12): 2897 – 2901 (in Chinese)
- [21] Bhargava H N, Leonard P A. Triclosan: Applications and safety [J]. *American Journal of Infection Control*, 1996, 24(3): 209 – 218
- [22] Malich G, Markovic B, Winder C. The sensitivity and specificity of the MTS tetrazolium assay for detecting the in vitro cytotoxicity of 20 chemicals using human cell lines [J]. *Toxicology*, 1997, 124(3): 179 – 192
- [23] Tanos V, Brzezinski A, Drize O, et al. Synergistic inhibitory effects of genistein and tamoxifen on human dysplastic and malignant epithelial breast cells in vitro [J]. *European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology*, 2002, 102(2): 188 – 194 ◆