

• 论著 •

巢湖水有机污染物的遗传毒性及对饮用水水质的影响

王 维¹, 赵 影², 黄晓沐¹, 王志强¹, 杨志平²

(1. 安徽省疾病预防控制中心, 安徽 合肥 230061; 2. 安徽省卫生监督所, 安徽 合肥 230022)

【摘要】背景与目的: 探讨巢湖水有机污染物的遗传毒性及其对饮用水水质的影响, 为综合评价巢湖水的污染状况提供科学依据。材料与方法: 用 Ames 试验、微核试验、单细胞凝胶电泳(SCGE)试验组合, 分别对巢湖源水及以其为水源的自来水厂各生产过程水样及出厂水样中的有机提取物进行了研究。结果: Ames 试验提示水源水有可疑致突变性(直接、间接), 经高锰酸钾处理及混凝沉淀不能消除, 经二次加氯的出厂水仍有间接致突变性存在。微核试验表明巢湖源水、水厂滤前水、滤后水、出厂水有机污染物 10 μg/g 剂量组在金鲤鱼的红细胞微核率均有增高; SCGE 试验提示巢湖源水、水厂滤前水、滤后水、出厂水有机污染物引起的金鲤鱼的红细胞慧星细胞率均有升高。结论: 巢湖水有机污染物具有可疑致突变性, 其对饮用水水质及人群健康的影响应该引起高度的重视。

【关键词】巢湖; 有机污染物; 饮用水; 遗传毒性

中图分类号: R994.6

文献标识码: A

文章编号: 1004-616X(2004)06-0352-03

Genotoxicity Organic Pollutants of Chaohu Lake and Effects on Drinking Water Quality

WANG Wei¹, ZHAO Ying², HUANG Xiao-mu¹, et al

(1. Anhui Center for Disease Control and Prevention, Hefei Anhui 230061, China; 2. Anhui Institute for Health Inspection and Supervision, Hefei 230022, China)

【ABSTRACT】BACKGROUND & AIM: To evaluate the genotoxicity of water organic pollutants of Chaohu Lake and the effects on drinking water quality. MATERIAL AND METHODS: Ames test, micronucleus test and single-cell gel-electrophoresis(SCGE) test were carried out in the water samples from Chaohu Lake water and the finished water plants which use water source from Chaohu Lake. RESULTS: Ames test indicated that the raw water presented suspectable mutagenicity which couldn't be eleminated by coagulation and chlorination. The rates of red cell micronucleus were increased significantly at dose level of 10 μg/g. The result of SCGE showed that the frequencies of comet cells in headwater, unfiltrated water, filtrated water and product water groups were significantly higher than that of negative group. CONCLUSION: The water organic pollutants of Chaohu Lake has potential mutagenicity. We should pay more attention to its genotoxicity and the effects on drinking water quality which related public health.

【KEY WORDS】Chaohu Lake; organic pollutants; genotoxicity; drinking water

巢湖是我国五大淡水湖之一, 是沿湖几百万居民的生活饮用水源。近十几年来, 随着现代工农业的发展, 生产废水及生活污水大量排入湖中, 使其富营养化程度日益加剧, 藻类大量繁殖, 水华(藻类集聚物)频繁爆发。有研究报道藻类的分解代谢产物, 有可能形成大量的致突变物^[1,2]。本研究采用一系列的遗传毒理学的试验组合, 检测不同的遗传学终点, 分

别对巢湖源水及以其为水源的自来水厂各生产过程水样及出厂水样中的有机提取物进行了研究, 为了解巢湖水的致突变物污染状况, 综合评价巢湖水污染及其对饮用水水质的影响提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 水样的采集和处理 水样按 Junk' s 方法^[3]以

XAD-2 树脂浓集, 设五个样点: A. 巢湖源水 (水厂取水口处), B. 经过高锰酸钾预处理的源水, C. 滤前水 (经过混凝沉淀处理的沉淀池后水样), D. 滤后水 (经过一次加氯处理) E. 出厂水 (经过二次加氯处理)。每个样点取 3 个平行样, 各平行样均采集 500 L, 过柱滤速为 50~60 ml/min。乙醚洗柱, 去除洗脱液中的水分, 制成干品称重, 以二甲基亚砷 (DMSO) 配成 10 mg/ml 待测液。以 100 L 双蒸水按上述方法处理之干品溶于 1 ml DMSO 中作为试剂对照, 待测液和试剂对照置于 4 °C 冰箱保存备用。

1.2 水样有机提取物的致突变性检测

1.2.1 Ames 试验^[1]

组氨酸缺陷型沙门氏菌 (TA₉₇、TA₉₈、TA₁₀₀、TA₁₀₂ 菌株) S₉ 由上海市劳动卫生研究所毒理室提供, 实验前对二者进行鉴定, 各项特征合格。采用平板掺入法, 分别在加与不加 S₉ 活化系统的条件下进行。经过预试验确定为 500 μg/皿, 正式试验设立 0.5、5、50、500 μg/皿 4 个剂量组。同时设立空白对照、溶剂对照、阳性对照 [分别用叠氮钠 (NaN₃)、敌克松 (Dexon)、2-氨基苊 (2-AF)], 每组 3 个平皿, 做两次独立试验。试验结果以回变菌落数表示, 当受检物回变菌落数/溶剂对照的回变菌落数 (MR) ≥ 2, 且有剂量反应关系, 并可重复者判为阳性结果。

1.2.2 鱼的红细胞微核试验

选用健康鲤鱼, 体重 10~15 g, 体长 10 cm 左右。实验前先将金鲤放养在 500 L 去氯清洁水的鱼池中, 水温 20 °C~25 °C, 适应一周。每组 5 尾金鲤, 采用 30 h 给药法染毒: 将水样有机浓集物待测液的原液、5 倍稀释液、10 倍稀释液分别以微量注射器按 1 μL/g 鱼重量注射于鱼背肌, 每剂量组 5 尾鱼, 两次染毒间隔 24 h, 第二次染毒后 6 h 断尾取外周血, 常规制片, 甲醇固定, Giemsa 染色。每组计数 4 000 个清晰完整、染色良好的有核红细胞, 计算微核率 (%)。微核判断标准: 位于有核红细胞的胞浆中, 与主核完全分开, 边缘清晰光滑, 染色结构与主核一致, 大小为主核的 1/4 以下。数据处理采用二项分布检验。

1.2.3 单细胞凝胶电泳试验 (SCGE 试验)

采用 SCGE 试验, 对巢湖源水和水厂处理源水、滤前水、滤后水、出厂水中的有机提取物引起的鱼红细胞 DNA 的损伤效应进行了研究。染毒法同微核试验, 最后制成一定浓度的细胞悬液, 用于 SCGE 试验。SCGE 试验基本按照本室改进的王民生介绍的方法操作, 即将包埋于琼脂糖中的红细胞经裂解和碱化处理, 在 pH 13 的缓冲液中进行电泳。电泳过程中, 核中带负电荷的 DNA 断片向阳极方向迁移, 形成彗星样拖尾。计数彗星细胞的百分率。荧光显微镜: 波长 525

表 1 巢湖水样有机浓集物的 Ames 试验结果

Table 1 Results of organic pollutants of Chaohu lake on Ames test

Groups	Dose μg · plate ⁻¹	TA ₉₇		TA ₉₈		TA ₁₀₀		TA ₁₀₂	
		- S ₉	+ S ₉	- S ₉	+ S ₉	- S ₉	+ S ₉	- S ₉	+ S ₉
Revestants	-	159.00	148.75	27.25	37.00	161.50	74.75	229.50	473.00
Head water	0.5	122.25	182.50	24.50	41.25	159.00	167.50 *	-	-
	5.0	122.75	171.79	27.75	31.25	161.75	123.00	211.25	354.50
	50.0	156.25	201.50	30.25	42.00	155.00	123.00	213.25	388.00
	500.0	227.50	293.50	50.00	31.25	162.75	141.50	-	133.00
Treated Head water (KMnO ₄)	0.5	123.75	172.75	26.25	34.25	162.50	106.75	135.25	378.00
	5.0	132.50	118.25	29.75	34.00	165.75	181.50 *	198.50	353.00
	50.0	125.00	154.75	28.25	40.25	153.75	198.50 *	204.00	345.00
Unfiltrated water	500.0	179.50	229.25	45	26.50	216.75	144.00	-	240.50
	0.5	154.00	146.00	24.50	29.00	164.50	131.25	265.75	437.00
	5.0	113.25	145.00	19.75	28.25	177.25	152.75 *	207.50	300.50
	50.0	167.00	143.00	31.50	26.25	142.75	108.75	232.00	296.00
Unfiltrated water (Chlorination once)	500.0	33.50	204.25	-	46.25	-	155.50 *	-	170.00
	0.5	383.00 *	171.25	44.75	47.75	243.00	113.25	-	310.00
	5.0	492.00 *	136.00	50.25	35.25	262.00	123.75	-	377.25
	50.0	407.25 *	160.50	30.50	31.25	281.00	157.00 *	-	374.00
Product water (Chlorination twice)	500.0	310.00	145.50	58.50 *	33.75	267.00	160.00 *	-	447.00
	0.5	174.75	135.25	24.00	42.00	227.25	103.25	243.75	291.75
	5.0	176.50	111.25	21.75	26.00	261.00	105.50	434.00	367.75
Product water (Chlorination twice)	50.0	167.00	144.00	26.25	28.50	236.00	80.00	244.00	331.00
	500.0	222.75	145.00	30.50	52.25	231.50	151.75 *	197.00	-
	2.5	-	-	-	-	> 2 000	-	-	-
Dexon	50.0	> 2 000	-	> 2 000	-	-	-	> 2 000	-
2-AF	10.0	-	> 2 000	-	> 2 000	-	> 2 000	-	> 2 000

* MR ≥ 2, there are several vacancies in the table for the sample is not big enough.

nm, 200 倍放大倍数下计数, 400 倍下拍照。采用 0.7 % LMPA, 0.7 % NMPA, 10 % NMPA, 溴化乙锭 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 染色; 电泳条件: 电压 25 V, 电流强度 300 mA, 电泳 30 min。数据统计分析用卡方检验。

2 结果

2.1 Ames 试验 结果见表 1。

2.1.1 不加 S_9 活化系统 巢湖源水对 TA_{98} 菌株可疑阳性: 其 MR 值虽小于 2, 但有剂量反应趋势。滤后水(一次加氯) 500 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 剂量组对 TA_{98} 的 $MR > 2$, 滤后水在 0.5、5、50 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 剂量组对 TA_{97} 菌株的 $MR > 2$, 但均未发现剂量反应关系, 提示可疑阳性。

2.1.2 加 S_9 活化系统 巢湖源水 0.5 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 剂量组对 TA_{100} 菌株 $MR > 2$, 经过高锰酸钾预处理的源水 50 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 剂量组对 TA_{100} 的 $MR > 2$, 滤前水 5、500 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 组对 TA_{100} 的 $MR > 2$, 但均未见剂量反应关系。滤后水对 TA_{100} 产生诱变作用, 未见明显的剂量反应关系。出厂水 500 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 剂量组对 TA_{100} 的 $MR > 2$, 但未见剂量反应关系。

2.2 鱼外周血有核红细胞微核试验 由表 2 可见, 巢湖源水、水厂滤前水、出厂水的有机提取物 10 $\mu\text{g}/\text{g}$ 剂量组微核率与阴性对照组相比均有显著性增高, 并有一定剂量-效应趋势。由于样品不足, 未做经过高锰酸钾处理的巢湖源水的微核实验。

表 2 水样有机提取物鱼外周血微核试验结果

Table 2 Effect of organic pollutants of Chaohu lake on rate of golden fish micronucleus

Groups	Dose $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	No. of PCE Contained micronucleus	Rate ($\times 10^{-2}$)
Head water	10	17	4.25 ^{***}
	2	11	2.75
	1	7	1.75
Unfiltrated water	10	13	3.25 [*]
	2	7	1.75
	1	6	1.50
Filtrated water	10	12	3.00
	2	10	2.50
	1	9	2.25
Product water	10	19	4.75 ^{**}
	2	15	3.75 [*]
	1	6	1.50
Negative (H_2O)		5	1.25
Positive (CP)	60 mg/kg	27	6.75

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; Number of PCE in every group is 4000, and number of animals 5.

2.3 鱼外周血有核红细胞单细胞凝胶电泳试验 水样有机提取物引起金鲤外周血有核红细胞 DNA 损伤见表 3。

在荧光显微镜下, 试剂对照组有少量细胞出现 DNA 迁移, 而绝大多数细胞均无迁移, 表现为一个椭圆形的呈红黄色荧光的核, 阳性对照组 (CP) 的细胞

表 3 水有机提取物引起金鲤外周血有核红细胞 DNA 损伤
Table 3 Effect of organic pollutants of Chaohu lake on DNA damage of solden

Groups	Dose	No. of cells observed	No. of Comet cells observed	Freauency of Comet cells ($\times 10^{-2}$)
	$\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$			
Head water	10	131	75	57.25 ^{***}
Treated headwater	10	150	74	49.33 ^{***}
Unfiltrated water	10	76	21	27.63 ^{***}
Filtrated water	10	129	54	41.86 ^{***}
Product water	10	100	44	44.00 ^{***}
DMSO	10	66	10	15.15
H_2O	10	136	13	9.56
CP	60 mg/kg	107	47	43.93 ^{**}

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

近半数出现 DNA 迁移, 与试剂对照组相比, 差异有显著性 ($P < 0.01$)。本研究中水样有机提取物均可引起鱼红细胞 DNA 损伤, 其中巢湖源水引起彗星细胞的百分率高达 57.25 %, 滤前水最低为 27.6 %, 出厂水经过二次加氯彗星细胞百分率上升至 44.0 %, 提示经过水厂处理的巢湖源水, 致 DNA 损伤的作用未见消失。

3 讨论

巢湖水近年来污染严重, 仅南淝河排入的污水量已高达每日几十万吨, 使其富营养化程度加剧, 藻类等浮游生物大量繁殖, 有研究提示藻类本身及其代谢产物是直接的致突变物, 由于氯化消毒和水体的有机污染, 形成以氯仿为代表的三卤甲烷, 具有致突变性, 影响到饮用水的水质安全, 已成为一个广泛关注的环境卫生问题^[4,5]。

本研究的 Ames 试验提示: 水源有可疑致突变性(直接、间接), 经高锰酸钾处理及混凝沉淀不能消除。一次加氯后致突变性似有加强, 为间接致突变性。经二次加氯的出厂水仍有间接致突变性存在。微核试验主要测试染色体断裂等现象, 有的研究表明, 鱼的微核试验可能作为水质监测项目之一^[6,7]。我们选用鲤鱼微核来评价巢湖水及水厂水样的有机提取物的潜在遗传毒性, 采用肌肉注射染毒法, 方法简便、经济, 剂量准确, 可克服水样浓集提取困难繁琐、有机提取物量少的不足, 结果表明, 巢湖源水及水厂滤前水有间接致突变性, 滤后水组未见微核率显著升高, 经过二次加氯处理后的出厂水仍存在间接致突变性, 与 Ames 试验结果一致。SCGE 试验用于检测水样有机提取物的遗传毒性, 较 Ames 试验敏感^[8]。本次试验检测各受试组彗星细胞百分率与损害分级, 结果提示巢湖水具有潜在致突变性, 经水厂处理后, 致 DNA 损伤作用一度有所下降, 但经二次加氯后, 彗星细胞百分率又有回升, 表明水厂对水的处理不能

本研究发现,杜仲对小鼠的急性经口 LD₅₀均大于 160.0 g/kg,属无毒类;细胞毒性试验结果表明,在所设试验剂量范围内杜仲在较高剂量下对 CHO 和 CHL 细胞都表现出一定的毒性作用;遗传毒性试验均为阴性结果。

参考文献:

[1] 江苏新医学院编. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科技出版社, 1986. 1032.

(上接 348 页)

GSH 和 SOD 是体内抗氧化系统的重要组成部分,具有保护细胞膜,清除体内自由基等多种生物学效应,其测定方法简单,结果真实可靠,其含量越高反映体内的抗氧化活性越高。抗氧化特性是许多肿瘤化学预防药物发挥作用的重要机制之一,本实验结果提示姜黄水提液有可能通过提高体内抗氧化酶活性和自由基清除剂水平,保护机体免受化学致癌物产生的氧自由基的攻击,起到化学预防作用。同时本实验还观察到,随着姜黄给药剂量的增高姜黄水提液提高体内 GSH 和 SOD 水平的能力并未增加,提示姜黄水提液提高体内抗氧化能力有一定的有效剂量范围,故在实际应用中应注意选择适宜的剂量。

目前,用于肿瘤治疗和预防的药物,在抗癌的同时对正常组织细胞也有毒性作用,可引起继发肿瘤以及肝、肾毒性及骨髓抑制,消化道反应,脱发等不良反应,而迄今未发现姜黄有明显的毒副作用,由于纯姜黄素提纯工艺复杂,价格昂贵,不适于在大量人

(上接 354 页)

群中使用,限制了其应用范围。本试验研究表明姜黄水提液与纯姜黄素在保护机体免受过氧化自由基损伤方面效果是相同的,无明显毒副作用,同时可以节省成本,具有明显的经济效益,用于肿瘤高发地区人群早期化学预防,有一定的开发利用前景。

消除巢湖水致 DNA 损伤作用。提示对巢湖源水经混凝、活性炭吸附及沉淀处理后其 DNA 损伤作用有所下降,但氯化消毒可增加水中有机提取物的 DNA 损伤作用,与国内有关报道一致^[9]。由于未进行定量指标的检测,要准确地反映巢湖水有机提取物对鱼红细胞的 DNA 损害效应,有待我们做进一步的研究。

参考文献:

[1] 王红兵,朱惠刚. 我国若干湖泊中蓝藻毒素的遗传毒性研究[J]. 中国公共卫生学报, 1995, 14(6): 339-340.
[2] 吴南翔,杨寅楣,金 锋,等. Z 流域水质致突变性研究

[2] 王彩兰. 杜仲叶中无机元素动态含量测定[J]. 微量元素与健康研究, 1997, 14(4): 33.
[3] 阴 健. 中药现代研究与临床应用(1)[M]. 北京: 学苑出版社, 1993. 39.
[4] 南京药学院编写组. 中草药学(上册)[M]. 南京: 江苏科技出版社, 1976. 391.
[5] 卫生部. 保健食品检验与评价技术规范[S], 2003.
[6] 杨景山. 医学细胞化学与细胞生物技术[M]. 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1996.

(福建医科大学预防医学 98 级实习生许涛、何庆峰参加部分实验工作)

参考文献:

[1] 韩 锐. 抗癌药物研究与实验技术[M]. 北京: 协和医科大学 中国医学科学院出版社, 1997. 13.
[2] 冯仁丰. 实用医学检验录[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1996. 151.
[3] 丁克祥, 钟水先, 姚树人. 刺玫果冲剂对 SOD 活性的影响[J]. 老年学杂志, 1989, 9(6): 353.
[4] 陈 宏, 张振书. 姜黄的药理作用研究概况[J]. 国外医学中医中药分册, 1996, 18(6): 3-7.
[5] 肖小河, 苏中武, 乔传卓. 姜黄属药用植物研究进展[J]. 中草药, 1997, 28(2): 114-118.

[J]. 环境与健康杂志, 2001, 18(4): 227-230.
[3] 黄晓沐, 王国钦. 巢湖源水和饮用水的诱变性研究[J]. 环境与健康杂志, 1994, 11(1): 6-9.
[4] 鲁文清, 越 飞, 陈秀娜, 等. 氯化饮水中有机提取物对大鼠和人肝肿瘤细胞(HepG2)的遗传毒性及脂质过氧化作用[J]. 卫生研究, 1999, 28(6): 326-328.
[5] 孙建英, 杜雪飞, 贾力敏, 等. 不同消毒方法对自来水中有机浓集物致突变性影响. 环境与健康杂志, 2001, 18(3): 160-161.
[6] 唐小江. 用鱼的红细胞微核试验评价三氟氯氰聚酯的遗传毒性[J]. 职业医学译丛, 2000, 1: 8-10.
[7] 王玉鹏. 微核试验方法及在环境监测中应用的发展趋势[J]. 环境与健康杂志, 1999, 16(6): 378-379.
[8] 吴 静. 外来化合物常规毒理学检测的新终点及新方法[J]. 国外医学卫生学分册, 2000, 27(4): 232-234.
[9] 张遵真, 田怀军, 衡正昌, 等. 水中有机提取物对 V79 细胞 DNA 损伤的研究[J]. 环境与健康杂志, 1999, 16(1): 10-12.