

饮水中有机浓集物的致突变性鉴定*

徐凤丹 刘景兰

(中国医学科学院卫生研究所)

国外,尤其美国,在饮水中有机物的分离鉴定,饮水中有机浓集物致突变性鉴定以及饮水污染与人类癌症关系方面做了许多工作^[1-2],但是我国尚未见有关饮水中有机物致癌、致突变可能性的报道.为了在饮水中有机物的浓集方法和致突变鉴定方面进行探讨,我们选择有机物污染较重并以地面水为主要水源的某市自来水厂,于1981年8月初分别在所属A厂和B厂浓集出厂水样,

应用 Ames 试验测定饮水中有机浓集物的致突变性,现将实验方法和结果介绍如下:

材 料 和 方 法

一、浓集水样和样品处理

1. 吸附剂——大孔树脂 XAD-2 的纯化
Amberlite XAD-2 (英国 BDH 化学公司分装, Rohn 和 Haas 公司生产), 先经蒸馏水泡洗, 再依次经甲醇-乙腈-乙醚索氏提取, 每

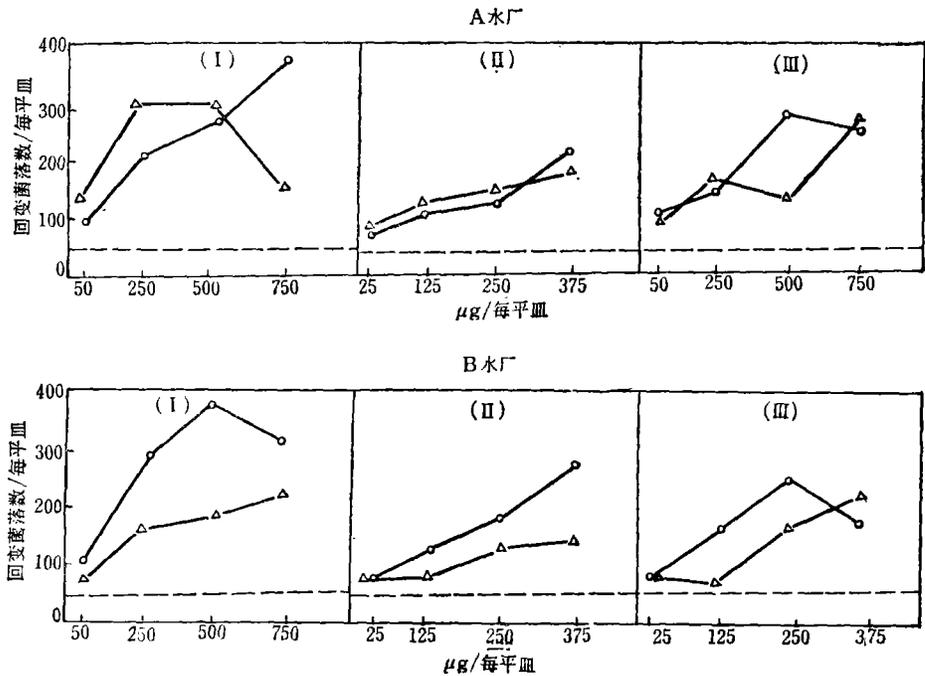


图1 某市自来水厂出厂水(I—III批)总有机浓集物对TA98菌株致突变作用的剂量-反应曲线
△——加入 S9 ○——未加入 S9

种溶剂回流 8 小时, 提取完毕泡入甲醇液中备用.

* 郭润荣同志协助采样.

2. 吸附 采用特制采样玻璃柱 ($\phi 25 \times 140\text{mm}$), 每柱 XAD-2 的柱高为 10 厘米, 安装在出厂水龙头上, 控制水流速为 250 毫升/分左右. 按每厘米 XAD-2 树脂流过 40 升水确定采样终点.

3. 洗脱 采完样的树脂柱, 按照本室洗脱方法^[3], 依次用 30% (v/v) 丙酮-甲醇混合液、丙酮和二氯甲烷分别洗脱, 每种洗脱液分别接收, 密封储藏于 4°C 冰箱内. 上述所用丙酮、甲醇和二氯甲烷均经全玻璃蒸馏器重蒸.

4. 浓缩 洗脱液在 40°C 加热器上吹氮气, 残渣放入干燥器内, 恒重后配制成一定浓度的溶液, 通常用二甲基亚砜 (DMSO) 作溶剂.

二、致突变性测定

按照 Ames 试验平板掺入法检测致突变

性^[4]. 本研究采用 TA98 和 TA100 两种试验菌株. 用多氯联苯 (PCB) 诱导大鼠的肝匀浆 (S9) 作为体外活化系统. 每个待测物至少重复三次实验, 如果待测物回变菌落数超过自发回变菌落数两倍以上, 并有剂量-反应关系者, 则判为阳性.

实 验 结 果

实验 I 自来水厂出厂水中总有机浓集物的致突变性测定

我们分别测定了 A 水厂和 B 水厂三批样品总有机浓集物对 TA98 和 TA100 菌株的致突变作用, 了解两水厂出厂水有机浓集物致突变性特征和强度. 两个水厂三批样品总有机浓集物对 TA98 和 TA100 菌株的致突变作用剂量-反应曲线分别如图 1 和 2 所示.

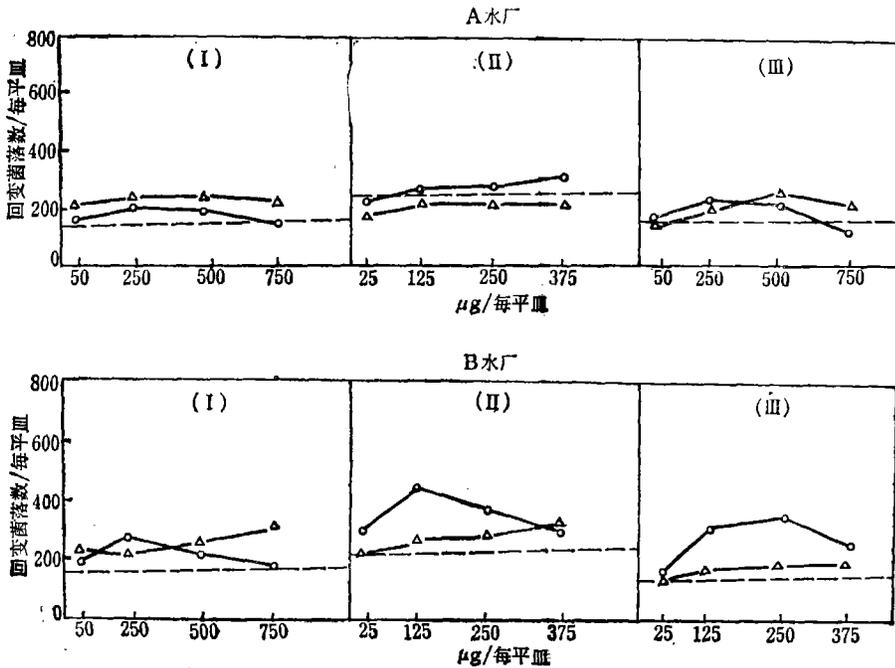


图 2 某市自来水厂出厂水中总有机浓集物对 TA100 菌株致突变作用的剂量-反应曲线
 ▲——加入 S9 ○——未加入 S9

从图 1 和图 2 可见, 该市两个水厂出厂水中有机浓集物对 TA98 菌株有致突变作用, 包括直接作用和代谢活化后作用, 但是对

TA100 菌株无致突变作用.

现将某市两个水厂三批出厂水样品总有机浓集物的含量及其比活性列表如下:

表 1 某市自来水厂出厂水中有机浓集物的含量及其比活性

水 厂 \ 指 标	样品批号	浓集物的含量 (mg/l)	浓集物的比活性 (回变数/mg)	水样的比活性 (回变数/l)	二倍于自发回变 相当于浓集物 的量 (mg)	二倍于自发回变 相当于水样量 (l)
A 水厂	I	0.19	357	68	0.24	1.24
	II	0.21	443	93	0.16	0.77
	III	0.25	395	97	0.19	0.76
B 水厂	I	0.25	633	158	0.13	0.53
	II	0.31	480	149	0.15	0.48
	III	0.33	700	228	0.11	0.32

表 2 不同洗脱组份浓集物的含量及其致突变强度

水 厂 \ 洗脱组份 \ 指 标	含 量 (mg/l)	浓集物的比活性 (回变数/mg)	水样比活性 (回变数/l)	占水样的总活性 百分比(%)	
A 厂	30%丙酮-甲醇	0.15	226	33	22
	丙 酮	0.08	1475	118	77
	二氯甲烷	<0.01	340	2	1
B 厂	30%丙酮-甲醇	0.19	180	34	16
	丙 酮	0.12	1404	169	79
	二氯甲烷	<0.01	2128	10	5

从表 1 可看出, B 水厂出厂水中有机物的含量、有机浓集物的比活性及其水样的比活性均比 A 水厂为高。A 水厂出厂水大约 0.7—1.2 升水、B 水厂大约 0.3—0.5 升水即可出现阳性结果。

实验 II 某市自来水厂出厂水中有机物不同洗脱组份的致突变性测定

本研究中总有机浓集物由 30% 丙酮-甲醇、丙酮和二氯甲烷三部分洗脱浓集物构成。为了解各组份的致突变性,我们分别以 A 水厂和 B 水厂第 III 批样品为代表,采用阳性突变株 TA98 进行测定,并按照上述实验中的指标汇总如表 2。

从表 2 可见, A、B 水厂出厂水中有机浓集物致突变活力,主要集中于丙酮组份,30% 丙酮-甲醇组份次之,二氯甲烷组份,无论就其含量及其水样比活性均可以忽略不计。

讨 论

根据我们对某市自来水厂出厂水中有机浓集物致突变研究,说明该市自来水中含有移码型突变物,具有明显的直接致突变作用。据 McMahon^[5] 见解,移码型突变物与碱基置换型突变物之间存在差别,移码型突变物显示较大的分子量,极性小,具有比碱基置换型突变物更平面分子,作用机制不同于碱基置换型突变物。这对进一步分离、鉴定饮水中活性有机组份提供线索。

Loper^[6] 等观察了某些浓集物样品,在放置几个月后,其生物检验致突变特性是可重复的。根据他们的经验,生物检定的浓集物不应干燥放置,而应储存在少量有机溶剂中。我们的样品保存是采用洗脱原液或浓缩液密封并置于 4℃ 冰箱中。样品测定前,再行浓缩。我们做了样品稳定性试验,初步认为这

种保存方法是可行的。例如, B厂30%丙酮-甲醇浓集物开始测定时,样品的比活性为180回变数/毫克浓集物,保存5个月左右仍为180回变数/毫克说明样品的致突变活性几个月之内可保持相对稳定。

根据本研究可以得出以下结论:

1. 本研究所采用的吸附、洗脱和浓缩方法是进行饮水中有机浓集物致突变性研究可行的适用的方法。

2. 某市自来水厂出厂水中有机浓集物对TA98菌株有致突变作用,含有移码型突变物。

3. 某市自来水厂出厂水中有机浓集物的

30%丙酮-甲醇、丙酮和二氯甲烷三种洗脱组份都有致突变性,致突变活力以丙酮组份为主,30%丙酮-甲醇组份次之,二者活性比为3:1,二氯甲烷组份可以忽略不计。

参 考 文 献

- [1] Grimm-Kibalo, S. M. *et al.*, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **26**, 188 (1981).
- [2] Wilkins, J. R., *Am. J. Epidemiology*, **110**(4),
- [3] 周世伟等,环境化学, **1**(2), 39 (1983), 420 (1979).
- [4] Ames, B. N. *et al.*, *Mut. Res.*, **31**, 347 (1975).
- [5] McMahon, R. E. *et al.*, *Cancer, Res.*, **39**, 682 (1979).
- [6] Loper, J. C. *et al.*, *J. Toxicol. Environ. Health*, **4**, 919 (1978).
- [15] Rosenzweig, W. D. *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **40**(4), 649—696 (1980).
- [16] Babich, H. *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **38**(3), 506—513 (1979).
- [17] Stratton, G. W. *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **38**(3), 537—543 (1979).
- [18] Duxbury, T. *et al.*, *FEMS Microbiol. Lett.*, **11**(2—3), 217—220 (1981).
- [19] Thormann, D. *et al.*, *Veroff Inst. Meeresforsch. Bremerhaven*, **17**(2), 163—188 (1979).
- [20] Forsberg, C. W. *et al.*, *Can. J. Microbiol.*, **24**(3), 298—306 (1978).
- [21] Babich, H. *et al.*, *Can. J. Microbiol.*, **25**(11), 1252 (1979).
- [22] Jones, G. E. *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **38**(5), 800—805 (1979).
- [23] Bhat, P. K. *et al.*, *Curr. Sci.*, **48**(12), 571—573 (1979).
- [24] Iverson, W. P. *et al.*, Microbial Metabolism of Heavy Metals, in *Water Pollution Microbiology*, Vol. II, R. Mitchell, Ed. (pp. 201—232, 1978).
- [25] Morozzi, G. *et al.*, *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionsky, Hyg.*, I, Abt. B. **167**(5—6), 478—488 (1978).
- [26] Kul'sky, L. A., *Kolloidn. Zh.*, **42**(4), 755—758 (1980).
- [27] Brunker, R. L., *Microbios*, **26**(105/6), 147—152 (1979).
- [28] Bitton, G. *et al.*, *Microbiol. Ecol.*, **4**(2), 119—125 (1978).

(上接第74页)

参 考 文 献

- [1] 王德铭,环境保护, **3**, 26—27 (1980).
- [2] Bewley, R. J. F., *J. G. Microbiology*, **110**(2), 247—254 (1979).
- [3] Bewley, R. J. F., *Appl. Environ. Microbiol.*, **40**(6), 1053—1059 (1980).
- [4] Smith, W. H. *et al.*, *Microbiol. Ecology*, **3**(3), 231—239 (1977).
- [5] Greszta, J. *et al.*, *Ekol. Pol.* **27**, 397 (1979).
- [6] Babich, H. *et al.*, *Adv. Appl. Microbiol.*, **23**, 55—117 (1978).
- [7] Goulder, R. *et al.*, *Mar. Pollut. Bull.*, **10**(6), 170—173 (1979).
- [8] Lester, J. N. *et al.*, *Water Res.*, **13**, 1055 (1979).
- [9] Houba, C. *et al.*, *Microbiol. Ecol.*, **6**, 55 (1980).
- [10] Bagdasarian, G. A. *et al.*, *Gig. Sanit.*, **7**, 59—62 (1980).
- [11] Singleton, F. L. *et al.*, *Water Res.*, **11**(8), 639—642 (1977).
- [12] Babich, H. *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **36**(6), 906—914 (1978).
- [13] Balicka, N. *et al.*, *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionsky, Hyg.*, II, **132**, 607—612 (1977).
- [14] Dean, A. C. R. *et al.*, *Microbios*, **24**(95), 51—64 (1979).