

饮水水中典型有机卤代物体外致突变性研究^{*}

黄君礼

李海波

(哈尔滨建筑大学市政与环境工程学院 150008) (深圳市自来水集团有限公司 518046)

甘卉芳 吴 坤

(哈尔滨医科大学公共卫生学院 150006)

摘 要 运用 Ames 试验, 对氯消毒饮用水中产生的典型的 8 种有机卤代物 (CHCl_3 、 CHBr_3 、 CHCl_2Br 、 CHClBr_2 、 $\text{CCl}_3\text{CH}(\text{OH})_2$ 、 CH_2ClCOOH 、 CCl_3COOH 、 $\text{C}_6\text{H}_3\text{Cl}_2\text{OH}$) 进行了致突变试验. 结果表明, 除 CH_2ClCOOH 和 CCl_3COOH 外, 其余 6 种有机卤代物均具有致突变作用.

关键词 有机卤代物, 致突变性, 饮用水消毒, Ames 试验.

Mutagenicity of Typical Organo-halogenated Compounds from Drinking Water

Huang Junli

Li Haibo

(Harbin Univ. of Arch. & Eng., 150008) (Shenzhen Water Supply(Group) Co Ltd, 518046)

Gan Huifan Wu Kun

(Harbin Medical University, 150006)

Abstract The mutagenicity of 8 kinds (CHCl_3 、 CHBr_3 、 CHCl_2Br 、 CHClBr_2 、 $\text{CCl}_3\text{CH}(\text{OH})_2$ 、 CH_2ClCOOH 、 CCl_3COOH 、 $\text{C}_6\text{H}_3\text{CH}_2\text{OH}$) of organo-halogenated compounds from drinking water disinfected with liquid chlorine was studied by using reliable experiment of Ames test. The results showed that the test 6 kinds of organo-halogenated compounds all have mutation, except for CH_2ClCOOH and CCl_3COOH .

Keywords liquid chlorine, organo-halogenated compound, mutagenicity, drinking water.

饮用水液氯消毒已有近百年的历史, 国内水厂普遍采用液氯消毒处理饮用水. 然而近年来研究发现, 氯与水中的微量有机物反应生成了有机卤代物. 如三卤甲烷、氯乙酸、氯代酚和氯代醛等(水中常含有 Br^- , Cl_2 将 Br^- 氧化为 Br_2 , Br_2 能与有机物反应生成溴代物). Symons 等人对美国 80 个主要城市氯消毒饮水的调查中, 发现普遍存在较高浓度的三卤甲烷^[1]; 我国 24 个大中城市的饮水普查中也均检出了大量卤仿^[2]; USEPA 在全美范围的饮水检测中, 被检出的 289 种化合物有 111 种有机卤代物, 占 38%^[3]; 在氯消毒的大庆东风水厂饮水中, 笔者亦检出了 10%–27% 的有机卤代物, 其中包括卤仿. 已有资料证明, 卤仿有致癌作用. 国外大

量文献亦报道了一些有机卤代物对人体的各种毒害作用, 国内文献未见文中选取的 8 种有机卤代物的 Ames 试验结果报道. 本文对这 8 种有机卤代物进行了体外致突变研究.

1 研究方法

1.1 主要试验材料

(1) 鼠伤寒沙门氏菌 TA98 和 TA100 菌株(美国加利福尼亚大学 Ames 实验室提供), 菌株鉴定合格, 其各种特性符合要求.

^{*} 国家自然科学基金资助课题(Project of Supported by National Natural Science Foundation of China)

黄君礼: 男, 59 岁, 教授, 博士生导师

收稿日期: 1997-05-10

(2) 大鼠肝微粒体酶 S9 混合液, 由哈医大毒理学教研室配制。

(3) 受试物采用化学纯品, 分别为:

三氯甲烷 (CHCl_3), 纯度为 99.5%; 三溴甲烷 (CHBr_3), 纯度为 98.0%; 一溴二氯甲烷 (CHCl_2Br), 纯度 700 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 二溴一氯甲烷 (CHClBr_2), 纯度 900 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 水合三氯乙醛 ($\text{CCl}_3\text{CH}(\text{OH})_2$), 纯度 $\geq 99.5\%$; 一氯乙酸 (CH_2ClCOOH), 纯度 $\geq 99.5\%$; 三氯乙酸 (CCl_3COOH), 纯度 $\geq 99\%$; 2, 4-二氯酚 ($\text{C}_6\text{H}_3\text{Cl}_2\text{OH}$), 纯度 $\geq 96\%$ 。

1.2 Ames 试验方法

Ames 试验采用鼠伤寒沙门氏菌 TA98 和 TA100 2 种菌株, 设有阴性对照(自发回变)和阳性对照, 分别进行了不加 S9 混合液和加入 S9 混合液活化 2 种试验, 实验基本是按照 Ames 等人 1975 年发表的文献[4], 后经矢作多贵江修改的平板掺入法^[5]标准试验进行的。每次试验各设 2 个平行样, 试验重复 3 次, 计算每皿回复突变菌落数, 最后统计出 6 皿的平均回变菌落数, 判断阳性结果的标准是: ①诱变率 $\text{MR} \geq 2$ ($\text{MR} = \text{检样诱发的平均回变菌落数} / \text{自发平均回变菌落数}$); ②具有明确的剂量-反应关系和试验结果的重现性。

2 结果与讨论

2.1 CHCl_3 的 Ames 试验结果

由表 1 可见, CHCl_3 不加 S9 的 TA98 和 TA100 菌株在剂量为 500 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 时 $\text{MR} > 2$, 且有明显的剂量-反应关系, 试验呈阳性结果; 当加入 S9 代谢活化后, TA98 菌株在同一剂量下仍呈阳性, 且 MR (4.18) 大于不加 S9 的 MR (2.49), 说明代谢产物的致突变性增强, 而 TA100 加 S9 活化后转为阴性结果。以上表明, CHCl_3 既是移码型和碱基置换型的直接致突变物, 又是移码型的间接致突变物, 且间接诱变作用大于直接的。

2.2 CHBr_3 的 Ames 试验结果

由表 1 可见, CHBr_3 TA100 菌株不加 S9 与加 S9 活化, MR 均小于 2, 试验结果为阴性;

而 TA98 菌株, 不加 S9 与加 S9, 剂量达 500 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 时, MR 分别为 2.04 和 3.58, 且有明确的剂量-反应关系, 结果呈阳性。说明 CHBr_3 为直接和间接的移码型诱变物, 且间接的诱变性强于直接的。

2.3 CHCl_2Br 和 CHClBr_2 的 Ames 试验结果

试验结果分别见表 1 (检样不足, 未做+ S9 试验), 二者对 TA98 和 TA100 菌株均有明确的剂量-反应关系, 当剂量达 150 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 或 50 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 时即 MR 大于 2, 试验呈阳性结果。说明 CH_2Br 和 CHClBr_2 具有很强的直接致突变作用。从呈现阳性所需的剂量看, CHCl_2Br 和 CHClBr_2 的直接致突变活性均明显大于 CHCl_3 和 CHBr_3 (CHCl_3 和 CHBr_3 呈阳性结果所需剂量为 500 $\mu\text{g}/\text{皿}$); 另外, CHCl_2Br 的致突变活性, 碱基置换型的大于移码型的, CHBr_3 的致突变活性, 移码型的大于碱基置换型的。

2.4 $\text{CCl}_3\text{CH}(\text{OH})_2$ 的 Ames 试验结果

由表 1 可见, TA98 菌株, 剂量高达 5000 $\mu\text{g}/\text{皿}$, 不加与加 S9 活化, 试验结果均为阴性; 而 TA100 菌株, 不加与加 S9, 剂量为 2500 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 时均呈阳性结果 (MR 均大于 2, 有剂量-反应关系), 同时可看出加 S9 活化后诱变活性有所加强。以上说明水合三氯乙醛为碱基置换型诱变剂, 且间接的诱变活性强于直接的。另外, 从显示阳性所需的剂量看, $\text{CCl}_3\text{CH}(\text{OH})_2$ 的致突变性小于 CHCl_3 和 CHBr_3 。

2.5 CHClCOOH 和 CCl_3COOH 的 Ames 试验结果

结果见表 1, 二者对 TA98 和 TA100 菌株, 不加 S9 与加 S9 活化, MR 均小于 2, 剂量即使增至 5000 $\mu\text{g}/\text{皿}$, 结果仍为阴性。这说明 CHClCOOH 和 CCl_3COOH 没有致突变作用。

2.6 $\text{C}_6\text{H}_3\text{Cl}_2\text{OH}$ 的 Ames 试验结果

结果见表 1, 对 TA98 菌株, 不加与加 S9, 试验均为阴性结果; 对 TA100 菌株, 不加 S9 时呈阴性, 当加 S9 活化后, 剂量达 500 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 时转为阳性 ($\text{MR} = 2.45$, 存在剂量-反应关系), 说明 $\text{C}_6\text{H}_3\text{Cl}_2\text{OH}$ 是间接的碱基置换型致突变物。

2.7 Ames 试验结果归纳

将 8 种有机卤代物的 Ames 试验结果归纳列于表 2. 除 CHClCOOH 和 CCl_3COOH , 其余 6 种有机卤代物均有直接或间接的致突变作用, 有的为移码型, 有的为碱基置换型(详见表 2), 其致突变活性次序为: CHClBr_2 、 CHCl_2Br > CHBr_3 、 $\text{CHCl}_3 \approx \text{C}_6\text{H}_3\text{Cl}_2\text{OH}$ > $\text{CCl}_3\text{CH}(\text{OH})_2$.

2.8 有机卤代物致突变机理探讨

有机卤代物的致突变作用, 来源于其特定的活性基团卤素. 卤素有较强的吸电子效应, 可使有机卤代物分子极性增强, 在体内易和酶系统结合, 一般通过以下几种方式实现其碱基置换型和移码型的致突变作用^[6]:

(1) 有机卤代物取代 DNA 链上的碱基类

表 1 水中 8 种有机卤代物的 Ames 试验结果

样 品	样 品 加入量 / $\mu\text{g} \cdot \text{皿}^{-1}$	TA98 菌株				TA100 菌株			
		- S9		+ S9		- S9		+ S9	
		平均回变 MR		平均回变 MR		平均回变 MR		平均回变 MR	
		菌落数		菌落数		菌落数		菌落数	
(1) CHCl_3	0.5	14.6	1.09	22.8	1.13	105.3	0.99	163.1	1.32
	5	14.7	1.10	30.3	1.50	99.8	0.94	144.2	1.17
	50	16.2	1.21	32.8	1.62	106.1	1.00	132.1	1.07
	500	33.4	2.49	84.5	4.18	253.1	2.38	108.2	0.88
(2) CHBr_3	0.5	16.0	1.19	26.5	1.31	109.7	1.04	165.9	1.34
	5	16.2	1.21	34.4	1.70	92.3	0.87	141.1	1.14
	50	18.4	1.37	33.0	1.63	144.8	1.37	162.4	1.31
	500	27.3	2.04	72.3	3.58	185.9	1.76	168.2	1.36
(3) CHCl_2Br	0.5	12.3	0.92			104.3	0.99		
	5	13.0	0.97	(—) ¹⁾		84.9	0.80	(—)	
	50	15.6	1.16			214.2	2.03		
	150	31.1	2.32			280.1	2.65		
(4) CHClBr_2	0.5	16.2	1.21			108.9	1.03		
	5	24.0	1.79	(—) ¹⁾		140.0	1.33	(—)	
	50	29.7	2.22			112.7	1.07		
	150	45.8	3.42			251.6	2.38		
(5) $\text{Cl}_3\text{CH}(\text{OH})_2$	0.5	12.0	0.96	(—)		85.4	0.99	(—)	
	5	12.1	0.97	(—)		103.6	1.20	(—)	
	50	16.2	1.30	18.5	0.95	114.1	1.32	163.4	1.27
	500	17.6	1.41	18.7	0.96	154.6	1.79	213.6	1.66
	2500	15.9	1.27	19.7	1.01	182.7	2.11	419.0	3.25
	5000	22.3	1.78	20.5	1.05	184.1	2.12	233.8	1.81
(6) CH_2ClCOOH	0.5	11.2	0.89	17.0	0.87	78.4	0.91	146.3	1.13
	5	11.0	0.88	16.7	0.86	71.4	0.82	125.1	0.97
	50	13.3	1.06	16.1	0.83	96.6	1.12	163.4	1.27
	500	11.8	0.94	19.3	0.99	105.1	1.21	138.0	1.07
	2500	12.0	0.96	(—)		98.7	1.14	(—)	
	5000	5.1	0.41	(—)		(—)		(—)	
(7) CCl_3COOH	0.5	13.0	1.04	13.3	0.68	88.9	1.03	147.0	1.15
	5	12.4	0.99	19.7	1.01	93.1	1.08	133.0	1.03
	50	11.8	0.94	15.0	0.77	89.3	1.03	141.8	1.10
	500	13.5	1.08	17.6	0.99	93.8	1.08	175.8	1.36
	2500	13.6	1.09	(—)		120.9	1.19	(—)	
	5000	8.0	0.64	(—)		(—)		(—)	
(8) $\text{C}_6\text{H}_3\text{Cl}_2\text{OH}$	0.5	11.5	0.92	21.7	1.11	78.4	0.91	121.3	0.94
	5	13.2	1.06	12.6	0.65	81.9	0.95	127.5	0.99
	50	11.8	0.94	19.3	0.99	97.6	1.13	214.6	1.66
	500	10.5	0.84	20.0	1.03	84.3	0.97	316.4	2.45
	2500	(—)		(—)		81.2	0.94	(—)	
自发回变									
(1) (2) (3) (4)		13.4	1.00	20.2	1.00	105.7	1.00	123.5	1.00
(5) (6) (7) (8)		12.5	1.00	19.5	1.00	86.8	1.00	129.0	1.00
阳性对照: - S9 时应用 $\text{Dex on62}\mu\text{g/皿}$ + S9 时应用 $2\text{-AF5}\mu\text{g/皿}$, 每次试验均呈明显阳性结果.									

1) (—) 表示未做

表 2 水中 8 种典型有机卤代物的致突变类型及活性归纳¹⁾

样品名称	直接诱变剂(- S9)		间接诱变剂(+ S9)	
	移码型(T A 98)	碱基置换型(T A 100)	移码型(T A 98)	碱基置换型(T A 100)
CHCl ₃	是(+ +)	是(+ +)	是(+ +)	不是
CHBr ₃	是(+ +)	不是	是(+ +)	不是
CHCl ₂ Br	是(+ + +)	是(+ + +)		
CHClBr ₂	是(+ + +)	是(+ + +)		
CCl ₃ CH(OH) ₂	不是	是(+)	不是	是(+)
CH ₂ ClCOOH	不是	不是	不是	不是
CCl ₃ COOH	不是	不是	不是	不是
C ₆ H ₃ Cl ₂ OH	不是	不是	不是	是(+ +)

1) + 、 + + 、 + + + 分别表示剂量为 2500μg/ 皿、500μg/ 皿、50μg/ 皿或 150μg/ 皿时出现阳性结果, 即+ 越多, 致突变活性越强

似物. 如 5-溴脱氧尿嘧啶核苷(Brdu) 可以取代 DNA 链上的胸腺嘧啶.

(2) 有机卤代物对 DNA 链上的碱基进行烷基化. 如双(2-氯乙基) 硫化物和双氯甲醚能直接与 DNA 链上的碱基进行双烷化作用.

(3) 某些有机卤代物可以嵌入 DNA 双螺旋结构的相邻多核苷酸链上或 DNA 单链的碱基之间.

3 结论

(1) 水中典型的 8 种有机卤代物, 除 CH₂ClCOOH 和 CCl₃COOH 外, 其余 6 种均具有致突变性.

(2) CHCl₃ 和 CHBr₃ 及其代谢产物为移码型的诱变剂, CH₂Cl₃ 又是碱基置换型的直接诱变剂.

(3) CHCl₂Br 和 CHClBr₂ 既是移码型的直接诱变剂, 又是碱基置换型的间接诱变剂.

(4) CCl₃CH(OH)₂ 及代谢产物是碱基置

换型诱变剂.

(5) C₆H₃Cl₂OH 为碱基置换型的间接诱变剂.

(6) 6 种有机卤代物的致突变活性顺序为: CHClBr₂、CHCl₂Br > CHBr₃、CHCl₃ ≈ C₆H₃Cl₂OH> CCl₃CH(OH)₂.

参 考 文 献

1 James M, Symons et al. . Journal AWWA, 1975, **67**(11): 634- 647

2 黄君礼等. 国内主要水厂卤仿的调查. 环境化学, 1987, **6**(4): 80- 86

3 Okun D A Amer. Journal of Public Health, 1976, **66**(9): 639

4 Ames B N et al. . Method for detecting carcinogens and mutagens with the salm onella/ m amma-lianmicrosome mu- tagenicity test. Mutation Research, 1975, **31**: 347- 364

5 矢作多贵江. 蛋白质核酸 酵素, 1975, **20**: 1178

6 万伯健主编. 卫生毒理学. 沈阳: 辽宁科技出版社, 1992: 221—222