

温度较低,水滴的蒸发可能进一步降低燃烧室温度,而影响充分的燃烧。

由于柴油发动机内非均相燃烧的复杂性,所以尚无多环芳烃甚至颗粒物形成的定量模型。Badger<sup>[6]</sup>认为燃料烃在热解、脱氢过程中产生的自由基可形成聚合体,即所谓苯并(a)芘或其他多环芳烃的自由基聚合模型<sup>[6,7]</sup>已相当广泛地被接受,但是Badger的试验是在氮气中进行的,最近Rubey等<sup>[8]</sup>的报告指出:多环芳烃短时间(例2秒钟)且在750°C以上的高温下与空气接触即能几近全部热解,对燃烧室有关因素的进一步基础研究将可能阐明不同条件下B(a)P排放的内在规律。

试验表明直喷式燃烧室型柴油机使用掺水柴油可以节省油料<sup>[9]</sup>,例6130Q型柴油机可节油2—10%,4100B型柴油机在高负载时节油量略低于4—8%,而涡流式燃烧室柴油机例495G则未能收到节油的效果。简言之,在某些柴油机上使用掺水柴油是一项节能减污的好措施。

致谢:戴广茂先生、金祖亮同志对本文英文稿提出宝贵意见。董淑萍、马瑞京、崔文

烜等同志协助文稿整理,乳化油系声学所林仲茂小组提供,功率测定系北京农机学院有关室组协助进行。特此一并致谢。

### 参 考 文 献

- [1] Quillian, R. D. (Newsletter), *Chemical Week* Aug. 2, p. 33, 1978.
- [2] Cook, D. H., Law, C. K., *Combustion Science & Technology*, **18**, 217—221 (1978).
- [3] 纪崇甲,掺水燃料的试验研究,掺水燃料与燃烧学术会议文集(1982)能源出版社, p. 1—28, 1985年。
- [4] 姚渭溪、何宇联、李玉琴,环境化学,1(1),88(1982)。
- [5] 姚渭溪、何宇联、李玉琴,环境化学,2(2),22(1983)。
- [6] Badger G. M., Kimber, R. W. L. and Novotny, J., *Aus. J. Chem.*, **17**, 778—786 (1964).
- [7] Crittenden, B. D. and Long, R., "The mechanisms of Polynuclear aromatic compounds in combustion systems in Carcinogenesis" in *A Comprehensive Study*, Vol.1, PAH, edited by Freudenthal, R. and Jones, P. D. 1976 Raven Press, New York. p. 209—223.
- [8] Rubey, W. A., Hall, D. L., Torres, J. L., Belinger, B., Carnes, R. A., *The Thermal Decomposition Behavior of selected PAH*. in *The Seventh International Symposium on PAH*, edited by M. Cook, Battelle Press, Columbus, Ohio. pp. 1047—1056.
- [9] 林仲茂、马玉龙、房福全、马元述,压电超声柴油掺水乳化设备的研制,掺水燃料与燃烧学术会议文集(1982), 124页,能源出版社,1985年。

## 氟化物与多氯联苯联合的酶效应

王英彦 汤大友

(北京市环境保护科学研究所)

动植物细胞遗传学的离体实验证明,氟化物具有致突变活性<sup>[1,2]</sup>。哺乳动物的整体实验证明,在体内不具有致突变活性<sup>[3]</sup>,氟化物在体内外的致突变性实验结果互相矛盾。在与强的致突变型致癌物的联合实验中,培养人体细胞实验证明,对乙烯亚胺类物质诱发染色体畸变有抑制作用,氟化物显示与其

单独染毒时不同的生物行为,表现非常显著的拮抗作用。

化学致癌物除少数为直接型外,如N-甲基-N-硝基-N-亚硝基胍(MNNG),大多数是间接型前致癌物,在有机体内需要酶促激活成为亲电子的“近似致癌物”。再经几个阶段代谢,进一步激活形成“终末致癌物”。与

此同时,前致癌物和近似致癌物却经受反向的酶促代谢失活形成解毒产物。在正常的有机体功能状态下,双向的酶促反应平衡,不诱发肿瘤。但是,一旦平衡反应倾向激活时,将生成中间代谢平衡形式,与细胞中生物大分子 DNA 结合,进入肿瘤的启动阶段,致癌基因开始活跃。因此,氟化物抑制致突变性或致癌性的作用,除凭借 Holland<sup>[4]</sup> 氟化物细胞毒性研究中有关影响细胞通透性的实验结果,阐释阻碍活化型致癌物达到并作用于靶系统外,首先需要考虑的是对诱导酶平衡体系的影响,即激活与失活的动态平衡中氟化物的作用。目前关于二种或以上致癌物在联合酶学实验中彼此拮抗抑制的报道愈益多见<sup>[5,6]</sup>。鉴此,本文选择与多氯联苯作联合实验,以观察在诱导混合功能氧化酶(MFO)过程中氟化物的酶学行为,为分析联合的细胞遗传学效应实验中发生抑制作用的原因提供新的酶学资料。

## 一、材料和方法

### (一) 仪器

聚四氟乙烯杆玻璃匀浆器 Thomas.  
高速离心机 (HI-SPIN-21) MSE.  
微量可调吸液管 Tustor, 10—1000  $\mu$ l.  
恒温振荡水浴 自制 120 次/min.  
荧光分光光度计 (MPF-4) Hitachi.

### (二) 试剂

多氯联苯 (Aroclor 1254) Analabs, USA.

玉米油 精制品,北京长城联合企业.

橄榄油 化学纯,北京化工厂.

氟化钠 分析纯,北京化工厂.

氯化钾等渗溶液 1.15%, 含 5mmol 乙二胺四乙酸 (EDTA).

三羟甲基氨基甲烷 (Tris) Serva, P. A., 配制以下两种溶液:

Tris-HCl 缓冲液<sup>#1</sup> 0.075mol, 含 3mmol 氯化镁, pH 7.4.

Tris-HCl 缓冲液<sup>#2</sup> 0.05mol, 含 0.25 mol 蔗糖, 和 5.4 mmol EDTA.

还原型辅酶 II (NADPH·Na 盐) Boehringer.

6-磷酸葡萄糖 (G-6-P) Boehringer.

苯并芘 (BaP) Ames 教授赠. 配为 2 mmol 丙酮溶液 (500mg/l).

连二亚硫酸钠(保险粉) 上海硫酸厂.

一氧化碳 北京分析仪器厂.

丙酮 分析纯,北京化工厂.

己烷 分析纯,北京化工厂.

硫酸喹啉 Boehringer.

### (三) 实验动物

大白鼠, Wistar 种, 70—80g/只, 中国医学科学院动物饲养中心供应.

### (四) S<sub>1</sub> 分部制备

1. 动物诱导 大鼠驯养 3 天后, 分成四组, 每组 3 只: (1) Aroclor 1254 油剂组, 腹腔注射, 剂量为 500mg/kg 体重. (2) 氟化钠水溶液组, 口腔灌注, 剂量为 16mg/kg 体重. (3) 联合投药组, 以上两种药物平行给药. (4) 橄榄油, 玉米油, 双蒸水等空白对照组, 和加入氟化钠 (16mg/kg 体重) 油剂组. 以上各组均诱导 5 天, 处理前 12 小时断食, 供饮水.

2. 试样制备 大鼠直接断头. 剖腹迅速取出肝脏, 放入盛冷冻氯化钾溶液的小烧杯(预重)中, 将组织剪碎, 洗涤三次, 再用 Tris<sup>#2</sup> 液洗二次, 按称重所得肝重, 以 1:3 (重量比) 加入 Tris<sup>#2</sup> 液, 倾入匀浆器内, 上下匀浆 8 次. 匀浆于 9000  $\times$  g 下离心 15min, 用滤纸片撇去表面油脂. 取线粒体后上清液 (S<sub>1</sub> 分部) 分装待用. -20 $^{\circ}$ C 或 -70 $^{\circ}$ C 冰箱中保存.

### (五) 各项测定

1. 蛋白质测定 Lowry 法<sup>[7]</sup>.

2. 细胞色素 P<sub>450</sub> 测定 Estabrook 改进法<sup>[8]</sup>, 测定一氧化碳结合后的连二亚硫酸钠示差光谱, 以排除血红蛋白的过多干扰.

3. 芳烃羟化酶 (AHH) 活性测定 Neb-

ert-Gelboin 法<sup>[9]</sup>。取 10ml 具塞平底试管,按下列顺序加入。

(1) 反应混合液 0.65ml, 即 Tris #1 液, 其中含 NADPH 0.5mmol, G-6-P 5mmol, KCl 0.15mol, MgCl<sub>2</sub> 0.01mmol. (2) S<sub>9</sub> 分部 0.2ml. (3) 双蒸水 0.14ml. (4) 40μl 底物丙酮溶液, 含 BaP 80μ mol (80nmole).

以上最终体积为 1.0ml. 37℃ 下振荡 30 min 反应需氧, 应暴露于空气。加入冷冻丙酮-己烷 (1:3.25 体积比) 混合液, 4.25ml 终止反应. 37℃ 下振荡萃取 10min. 取出有机相液 1.0ml, 以 3.0ml 1mol 浓度氢氧化钠溶液萃取 2min. 用荧光分光光度计对所取的下层碱液测定三羟苯芘 (3(OH)BP), 其条件是:

Energe 型数字显示器

电压 780mV

灵敏度 0.3 × 4

激发波长 394nm 狭缝 10

发射波长 515nm 狭缝 2

每次测定前用 0.1 mol 硫酸配制的硫酸喹啉溶液校正荧光强度, 以保持各次测值的重现性。而后测定样品和空白对照管。采用荧光强度/mg 蛋白质/h 为表示单位。

## 二、结果和讨论

### (一) 油剂的选择

橄榄油和玉米油在诱导实验中是常用的诱导剂的溶剂。7,12-二甲基苯并 (a) 蒽诱发大鼠乳腺癌实验证明, 不同的油剂对诱癌率的影响不同, 例如两者的诱癌率分别为 87 和 98%, 橄榄油略低于玉米油<sup>[9]</sup>。为此, 在以混合功能氧化酶系统酶活力为指标, 观察氯化物的诱导酶行为之前, 对以上的两种油剂的诱导活力有必要先行比较, 以备择用。表 1 所列结果经 t 检验表明, 在 P<sub>450</sub> 比含量和 AHH 酶活力上橄榄油组和玉米油组, 各自与双蒸水对照组, 及两种油剂组之间实验结果的差别均不显著 (P > 0.05), 说明

两种油剂作酶诱导的溶剂时, 两项指标均处于低的水平。

但是, 当两种油剂各自加入 Aroclor 1254 或氟化钠-Aroclor 1254 时, 却显示一些变动。实验结果列于表 2, t 检验表明, Aroclor 1254-橄榄油组与橄榄油组相比, 在 P<sub>450</sub> 比含量上, 两组间差别不显著 (P > 0.05); 在 AHH 酶活力上, 两组间差别非常显著。氟化钠-Aroclor 1254 橄榄油组与橄榄油组间差别, 在 P<sub>450</sub> 比含量上是显著 (P < 0.05), 在 AHH 酶活力上是非常显著 (P < 0.01)。Aroclor 1254-玉米油组与玉米油组相比, 在 P<sub>450</sub> 比含量和 AHH 酶活力上差别均不显著 (P > 0.05); 而氟化钠-Aroclor 1254 玉米油组与玉米油组相比, 差别均显著 (P < 0.05)。

表 1 橄榄油和玉米油诱导 P<sub>450</sub> 比含量和 AHH 酶活力的比较

指 标	橄榄油	玉米油	双蒸水
平均 P <sub>450</sub> 比含量 (nmol/mg 蛋白质) ±SE*	0.22	0.07	0.10
平均 AHH 酶活力 (荧光强度/ mg 蛋白质/h) ±SE*	0.79	1.31	0.69
	0.10	0.15	0.09

\* 标准误。

根据上述的两点实验结果, 本文选用橄榄油作为溶剂, 有益于实验现象的观察。

### (二) 氯化钠诱导混合功能氧化酶的强度

氯化钠水溶液组, 其诱导的 P<sub>450</sub> 比含量和 AHH 酶活力的水平不高。与双蒸水, 橄榄油和玉米油等三个对照组比较, 如表 3 所示, 彼此相差不大 (P > 0.05)。与 Aroclor 1254 油剂对照组比较, 在 P<sub>450</sub> 比含量上比橄榄油组略低, 而比玉米油组约低 3 倍; 在 AHH 酶活力上均低 3 倍左右。由此说明, 氯化钠本身诱导混合功能氧化酶的功能水平甚低, 在诱导酶系统激活和失活的动态平衡中不发生多大的影响, 即使有也是微弱的。

表 2 多氯联苯和氟化钠-多氯联苯在两种油剂中诱导活力的比较

指 标	Aroclor 1254		氟化钠-Aroclor 1254	
	橄榄油	玉米油	橄榄油	玉米油
平均 $P_{450}$ 比含量 (nmol/mg 蛋白质)	0.33	0.72	1.26	0.73
±SE*	0.03	0.19	0.11	0.19
显著性水平 ( $t$ 检验)	$P>0.05$	$P>0.05$	$P<0.05$	$P<0.05$
平均 AHH 酶活力(荧光强度/mg 蛋白质/h)	4.44	4.45	4.09	5.56
±SE*	0.48	1.13	0.24	0.72
显著性水平 ( $t$ 检验)	$P<0.01$	$P>0.05$	$P<0.01$	$P<0.05$

\* 标准误.

表 3 氟化钠与双蒸水、橄榄油、玉米油、多氯联苯之间诱导活力的比较

指 标	氟化钠 水溶液	双蒸水	橄榄油	玉米油	Aroclor 1254	
					橄榄油	玉米油
平均 $P_{450}$ 比含量 (nmol/mg 蛋白质)	0.25	0.10	0.22	0.07	0.33	0.72
±SE*	0.05	0.01	0.03	0.01	0.03	0.19
平均 AHH 酶活力(荧光强度/mg 蛋白质/h)	1.62	0.69	0.79	1.31	4.44	4.45
±SE*	0.46	0.09	0.10	0.15	0.48	1.13

\* 标准误.

表 4 氟化钠对 Aroclor 1254 诱导的  $P_{450}$  比含量和 AHH 酶活力的影响

指 标	氟化钠剂量 (mg/kg 体重)					
	0.0	0.5	2.0	4.0	8.0	160
平均 $P_{450}$ 比含量 (nmol/mg 蛋白质)	0.11	0.20	1.01	0.89	1.04	1.57
±SE*	0.01	0.05	0.22	0.17	0.08	0.09
平均 AHH 酶活力(荧光强度/mg 蛋白质/h)	3.65	5.13	4.43	4.23	3.73	3.30
±SE*	0.38	0.93	0.96	0.45	0.01	0.14

\* 标准误.

### (三) 氟化钠和 Aroclor 1254 的联合作用

氟化钠-Aroclor 1254 橄榄油组的数值和 Aroclor 1254 橄榄油组的数值各自减去橄榄油对照组的数值的差值列于表 4, 显示两种化学物质联合染毒时混合功能氧化酶的效应, 即反映氟化钠对由 Aroclor 1254 诱导剂诱发该酶活力的影响. 比较分析表明, 在  $P_{450}$  比含量上, 当氟化钠剂量增至 2.0mg/kg 体重时, 比含量上升, 随后持于近似的水平; 在 AHH 酶活力上, 当氟化钠剂量从 0.0 增

至 0.5 mg/kg 体重时, AHH 酶活力从 3.65 增加到 5.13 荧光强度/mg 蛋白质/h, 此后随剂量的增加而平缓地下降, 到氟化钠剂量为 16mg/kg 体重时, 降低到 Aroclor 1254 橄榄油对照组的水平之下(图 1). 另外, 当氟化钠-Aroclor 1254 橄榄油组与 Aroclor 1254 橄榄油组相减时, 差值很小. 在  $P_{450}$  比含量, 其绝对值范围为 0.01—0.096 nmol/mg 蛋白质, 而在 AHH 酶活力, 为 0.11—1.05 荧光强度/mg 蛋白质/h, 两项指标的数值波动都很狭, 反映氟化钠在以上联合实验中对诱导酶

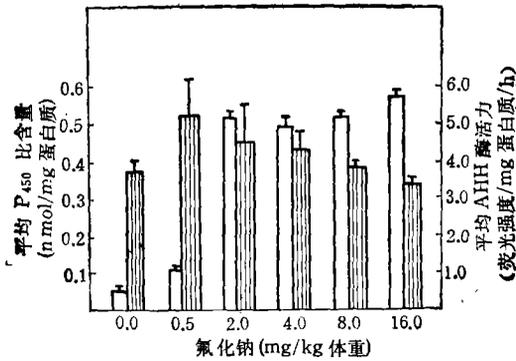


图1 不同剂量氟化钠在与 Aroclor 1254 联合诱导实验中对 P<sub>450</sub> 比含量和 AHH 酶活力的影响

□ P<sub>450</sub> 比含量    ▨ AHH 酶活力

活力强度的作用不明显。总之，氟化钠在联合酶学实验中对于 Aroclor 1254 诱导活力不发生显著的抑制或增强作用。

综上所述，氟化钠在单独和联合的实验中对混合功能氧化酶活力都不发生明显的影响，表明诱导能力低下，与氟化钠在整体动物单独染毒时诱发微核强度低相一致；而与在联合染毒时显著地抑制强致癌物致微核活性的现象不相一致。这一方面反映氟化钠既不影响 AHH 酶系中任何中间环节，也不影响激活(增毒)或失活(解毒)的整个酶作用过

程。另一方面反映氟化钠在整体动物发生的遗传效应上，不论单独或联合的，都不影响混合功能氧化酶。总之，氟化物的抗致突变或抗癌性，通过改变诱导酶活力而发生抑制效应的可能性不大。

通过本实验室有关氟与强致癌物联合的细胞遗传学<sup>[10]</sup>和酶学的实验，初步提示欲进一步了解氟化物的抗致突变性，或许先需从膜毒理学研究着手，因为抗性效应可能发生在作用物的运动阶段，更可能是在与膜发生接触的过程中。

参 考 文 献

[1] 贺维顺等,环境科学学报, 3(2), 94(1983).  
 [2] 刘爱华等,环境科学学报, 4(2), 387(1984).  
 [3] Kram, D. et al., *Mut. Res.*, 57, 51 (1978).  
 [4] Holland, R. I. et al, *Fluoride*, 12, 167(1979).  
 [5] Рубенчик, Б. Л., *Литание, Канцероген и Рак*, Глава 8, стр. 84-156, Наука Думка, 1979.  
 [6] DigioVanni, J. et al., *Carcinogenesis*, Vol. 5, pp. 262-310, Slag, T. J. Eds. Raven Press, 1980.  
 [7] Lowry, O. H. et al., *J. Biochem.*, 75, 265 (1951).  
 [8] Malsubara, T., *Anal. Biochem.* 75, 596(1976).  
 [9] Nebert, D. W. et al., *J. Biol. Chem.*, 243, 6242 (1968).  
 [10] 王英彦等,环境科学学报 6(2), 239(1986).

(上接第 90 页)

护。

此项研究得到了无锡市环境保护监测所陶大钧同志和本所陈定茂同志的热情帮助，在此一并致谢。

参 考 文 献

[1] Burnkam, A. K., et al., *Anal. Chem.*, 44, 139 (1972).  
 [2] Dressler, M., *J. Chromatogr.*, 165, 167(1979).  
 [3] McIntyre, A. E. and Lester, J.N., *The Science*

*of the Total Environment*, 27, 201(1983).  
 [4] Dahlgran, J. R. and Abrams, L., *J. High Resolt. Chromatogr. Chromatogr. Commun.*, 5, 656 (1982).  
 [5] 阎长泰等,环境化学, 1, 372(1982).  
 [6] 阎长泰等,环境化学, 2, 39(1983).  
 [7] National Institute for Occupational Safety and Health, Registry of Toxic Effects of Chemical Substances, NTIS, New York(1981-1982).  
 [8] 史安祥等,国外水和空气质量标准, 418 页, 中国建筑工业出版社, 北京, 1979年.