

用 Ames 试验检测水源水和自来水中的遗传毒性

方 东, 梅卓华, 楼 霄, 章 弼

(南京市环境监测中心站, 江苏 南京 210013)

摘 要: 用鼠伤寒沙门氏菌/哺乳动物微粒体酶系的 Ames 试验, 研究了不同季节的水源水及管网自来水中的遗传毒性。以 XAD-2 树脂为吸附剂, 以丙酮-甲醇的混合液为洗脱液, 浓缩水样中的有机物, 并对部分阳性水样进行有机成分的定性分析。结果发现: 13 个水样中有 7 个样品在不需代谢活化系统 S9 的情况下, 可诱导鼠伤寒沙门氏菌碱基移码型菌株的回复突变; 不同水样在不同季节有不同的诱导作用; 同时通过 GC/MS 方法分析, 发现阳性水样中存在有多种美国 EPA 所列的 129 种优先污染物及其他属于黑名单上的有毒有害物质, 表明水源水与自来水的品质已受到污染。

关键词: Ames 试验; GC/MS; 水源水; 自来水; 遗传毒性

中图分类号: X 832 文献标识码: A 文章编号: 1006-2009(2000)01-0020-03

Determination of Genetic Toxicity of Source Water and Drinking Water by AMES Test

FANG Dong, MEI Zhuo-hua, LOU Xiao, ZHANG Bi

(Nanjing Municipal Environmental Monitoring Center, Nanjing, Jiangsu 210013, China)

Abstract: Genetic toxicity of source water and drinking water in different seasons was researched by Ames test with the application of Salmonella/microsomal enzyme of mammal. After the adsorption of organics with XAD-2 as adsorbant and acetone-methanol as desorbant, organics in positive samples were identified. The results showed that 7 of 13 samples led reversion mutation of base-shift mutagenesis without metabolic activation S9, and different samples from different seasons had different leading function. GC/MS analysis showed that positive samples had pollutants in US EPA 129 priority pollutants or other lists of priority pollutants, which meant the water was polluted.

Key words: Ames test; GC/MS; Source water; Drinking water; Genetic toxicity

据统计目前全球可饮用的水源水不足水体的 7%。自国内外学者先后发现自来水和水源水中存在致突变性有机污染物以来, 有关的流行病学调查结果也显示饮水中有机物污染与人类某些癌症有一定相关^[1-3]。因此, 对水中有害有机污染物进行调查并对其遗传毒性的研究已迫在眉睫, 甚至有人提出水源水是否含有遗传毒性物质, 应是评价水质的主要指标^[4,5]。现以树脂 XAD-2 为吸附剂进行水样富集, 应用鼠伤寒沙门氏菌/哺乳动物微粒体酶系的 Ames 试验手段, 对水源水等水中的有机污染物的遗传毒性进行研究, 使用 GC/MS 法进行部分阳性水样中有机污染物的组分分析, 以了解水质的一般状况。

1 材料与方 法

1.1 水样的采集与处理

分别在枯、丰、平三期采集水源水样品及水厂水源水。采样量为 60 L。新鲜水样经过滤后立即进入 XAD-2 树脂为吸附剂的柱子富集, 控制流速在 30 mL/min~40 mL/min, N₂ 吹干, 以丙酮-甲醇

混合液洗脱, 将提取液在 45℃~50℃水浴上挥发蒸干, 用二甲亚砜(DMSO)定容至 4 mL 备用。

1.2 Ames 试验^[6]

选用鼠伤寒沙门氏菌 TA98 和 TA100 为试验菌株(由上海市肿瘤研究所提供), 经活性鉴定菌株合格。试验按平板渗入法^[7], 加酶活化系统 S9 混合液(0.3 mL)或不加 S9 混合液, 以二甲亚砜(DMSO)为阴性对照, 加入 S9 混合液的阳性对照选用 2-氨基芴(2-AF, 20 μg/皿); 不加 S9 的则选用 4-硝基喹啉(4-NQNO, 0.5 μg/皿), 样品设置的浓度分别为 1.5 L/皿、0.3 L/皿、0.06 L/皿、0.012 L/皿。按经验法则, 试验结果每皿回复突变菌群数为溶剂对照的 2 倍或以上, 有重复性, 且具剂量-反应关系曲线($P < 0.01$)者, 则可判断为阳性结果。

1.3 水样有机物组分的定性分析

采用色谱、质谱联机 GC/MS(GCQ Finnigan MAT, 美国)法对部分阳性水样进行有机物成分的

收稿日期: 1999-06-25; 修订日期: 1999-09-16

作者简介: 方东(1966-), 男, 上海人, 工程师, 本科, 已发表论文 10 篇。

定性分析(EPA525 法)。

表 1 Ames 试验结果($X \pm s$)

样品	浓度 L/皿	TA98				TA100			
		- S 9	结果	+ S 9	结果	- S 9	结果	+ S 9	结果
1	1.5	52 ± 7.36	+	-----	-----	166 ± 7.07	-	187 ± 15.7	-
	0.3	31 ± 12.0	-	-----	-----	122 ± 4.04	-	145 ± 12.7	-
	0.06	29 ± 9.60	-	-----	-----	112 ± 2.65	-	140 ± 0.71	-
	0.012	28 ± 9.50	-	-----	-----	139 ± 7.07	-	140 ± 4.24	-
2	1.5	63 ± 14.8	+	-----	-----	122 ± 18.2	-	150 ± 13.1	-
	0.3	32 ± 12.8	-	-----	-----	122 ± 13.8	-	156 ± 9.57	-
	0.06	24 ± 10.4	-	-----	-----	118 ± 13.4	-	141 ± 13.2	-
	0.012	19 ± 5.40	-	-----	-----	119 ± 12.7	-	122 ± 12.2	-
3	1.5	48 ± 7.64	+	-----	-----	114 ± 20.5	-	123 ± 15.9	-
	0.3	30 ± 11.1	-	-----	-----	110 ± 0.71	-	120 ± 4.04	-
	0.06	29 ± 13.8	-	-----	-----	124 ± 4.58	-	107 ± 5.66	-
	0.012	21 ± 12.2	-	-----	-----	162 ± 23.2	-	115 ± 16.3	-
4	1.5	66 ± 27.5	+	-----	-----	133 ± 13.1	-	159 ± 9.24	-
	0.3	45 ± 7.20	-	-----	-----	124 ± 4.95	-	121 ± 11.1	-
	0.06	35 ± 8.45	-	-----	-----	107 ± 12.7	-	119 ± 0.71	-
	0.012	28 ± 8.38	-	-----	-----	149 ± 8.08	-	105 ± 5.40	-
5	1.5	24 ± 2.00	-	60 ± 5.29	-	172 ± 0.71	-	104 ± 5.66	-
	0.3	22 ± 2.83	-	56 ± 6.35	-	149 ± 8.49	-	92 ± 4.24	-
	0.06	19 ± 4.72	-	46 ± 4.24	-	164 ± 11.8	-	92 ± 2.83	-
	0.012	19 ± 2.52	-	69 ± 0.00	-	165 ± 11.8	-	83 ± 1.41	-
6	1.5	37 ± 8.19	-	86 ± 9.07	-	165 ± 4.58	-	112 ± 6.56	-
	0.3	17 ± 2.52	-	53 ± 8.73	-	113 ± 9.90	-	96 ± 8.74	-
	0.06	12 ± 2.65	-	50 ± 3.79	-	102 ± 3.06	-	90 ± 7.81	-
	0.012	12 ± 0.00	-	60 ± 2.12	-	95 ± 7.94	-	115 ± 9.16	-
7	1.5	62 ± 15.9	+	-----	-----	119 ± 3.52	-	133 ± 15.2	-
	0.3	35 ± 17.3	-	-----	-----	126 ± 15.6	-	104 ± 11.8	-
	0.06	28 ± 8.82	-	-----	-----	112 ± 12.5	-	97 ± 9.27	-
	0.012	30 ± 8.44	-	-----	-----	115 ± 1.41	-	84 ± 5.57	-
8	1.5	66 ± 15.0	+	-----	-----	125 ± 7.07	-	90 ± 2.14	-
	0.3	37 ± 9.44	-	-----	-----	105 ± 15.0	-	92 ± 2.12	-
	0.06	34 ± 12.0	-	-----	-----	102 ± 11.7	-	86 ± 4.18	-
	0.012	24 ± 8.50	-	-----	-----	114 ± 0.71	-	82 ± 6.67	-
9	1.5	28 ± 8.62	-	80 ± 4.72	-	77 ± 13.4	-	87 ± 3.51	-
	0.3	19 ± 5.13	-	48 ± 0.71	-	47 ± 0.00	-	90 ± 0.00	-
	0.06	17 ± 5.57	-	62 ± 5.03	-	51 ± 8.49	-	88 ± 4.58	-
	0.012	17 ± 6.02	-	62 ± 16.3	-	43 ± 7.57	-	84 ± 8.49	-
10	1.5	42 ± 3.74	-	62 ± 7.13	-	58 ± 11.5	-	95 ± 3.36	-
	0.3	28 ± 13.2	-	60 ± 3.41	-	62 ± 10.0	-	91 ± 5.72	-
	0.06	26 ± 8.16	-	49 ± 8.11	-	50 ± 11.3	-	84 ± 7.79	-
	0.012	24 ± 9.29	-	48 ± 7.86	-	47 ± 2.12	-	80 ± 7.91	-
11	1.5	50 ± 3.02	+	-----	-----	59 ± 4.04	-	119 ± 11.5	-
	0.3	36 ± 11.0	-	-----	-----	56 ± 2.83	-	101 ± 12.6	-
	0.06	29 ± 5.72	-	-----	-----	49 ± 9.24	-	95 ± 9.56	-
	0.012	21 ± 1.41	-	-----	-----	46 ± 7.21	-	86 ± 7.42	-
12	1.5	35 ± 2.89	-	83 ± 19.1	-	63 ± 16.3	-	104 ± 12.8	-
	0.3	17 ± 1.53	-	48 ± 1.41	-	53 ± 6.66	-	73 ± 5.03	-
	0.06	19 ± 2.89	-	83 ± 8.96	-	65 ± 0.00	-	88 ± 9.50	-
	0.012	17 ± 1.41	-	52 ± 2.12	-	41 ± 9.54	-	96 ± 3.54	-
13	1.5	25 ± 4.16	-	56 ± 2.83	-	61 ± 11.5	-	108 ± 0.71	-
	0.3	24 ± 0.00	-	56 ± 4.62	-	48 ± 13.6	-	97 ± 3.21	-
	0.06	17 ± 2.65	-	58 ± 11.3	-	52 ± 5.66	-	85 ± 4.73	-
	0.012	18 ± 3.00	-	55 ± 2.83	-	47 ± 8.49	-	101 ± 14.1	-
阴性对照		22 ± 4.82	-----	64 ± 2.12	-----	108 ± 3.23	-----	110 ± 7.09	-----
2-AF	20 μg/皿	-----	-----	2 126 ± 11.4	+	-----	-----	1 344 ± 10.5	+
NQNO	0.5 μg/皿	1 832 ± 8.56	+	-----	-----	915 ± 9.69	+	-----	-----

注:(+)表示阳性,(-)表示阴性,(-----)表示不需做。

2 结果与讨论

2.1 试验结果

2.1.1 Ames 试验。Ames 试验结果见表 1。从表 1 可见: 13 个富集水样在加有 S 9 混合液时对 TA98 和 TA100 不产生致突变作用; 在不加有 S 9 混合液时对 TA100 也没有产生致突变作用, 但是水样 1、2、3、4、7、8 和 11 则对 TA98 有诱变作用, 属于移码型碱基突变。

2.1.2 部分阳性水样有机污染物分析。根据 GC/MS 对部分阳性水样定性分析结果, 发现这些水样大都含有如: 甲酰胺类、苯并噻唑类、引唑类、苯甲酸、苯并酸、甲苯、多氯联苯、丁化羟基甲苯, 2, 6-二氯苯等苯类、二氯酚、2, 4-二辛基酚等酚类、酞酸二丁酯、邻苯二甲酸二甲酯、3, 4-二氯甲基-5-羟基-5(H) 咪喃(MX) 等具有遗传毒性的阳性物质。

2.2 讨论

Ames 试验是短期检测水质“三致”作用常用的方法^[8], Ames 试验是传统、经典的方法, 长期被采用, 具备测试结果较佳的特点, 是经国际性认证的很好的体外测试系统^[9], 其反应终点是基因突变。该研究采用此检测方法, 对水源水和自来水中有机物进行遗传毒性调查中, 显示出一些富集水样存在有一定可疑的致突变作用。

2.2.1 Ames 试验结果表明, 在大量含有有机物质的水样中, 富集水样 1、2、3、4、7、8 和 11 在最高浓度 1.5 L/皿时, TA 98 菌株较为敏感, 在不需要 S 9 代谢活化系统的情况下, 表现出了较强的致突变性, 且大都具有良好的剂量-反应关系曲线 ($P < 0.01$), γ 值范围在 0.935~0.997 间, 因此可以判定为阳性水样。而全部水样无论加或不加 S 9 混合液均对 TA 100 未呈现出致突变性, 试验结果为阴性, 这表明阳性水样属于碱基移码突变型。同时从检出阳性结果的水源水的采样季节性来看, 在枯水期测试的 3 家水厂和自来水样品全部有阳性检出, 平水期测定有致突变作用的水厂有 2 家, 占 2/3; 丰水期水质相对较好, 6 个样品中仅一家水厂被检出阳性。由于自来水采用了氯消毒工艺, 此过程中产生卤代烃和氯酚等引起基因突变的物质, 使得在调查中也呈阳性结果。

国内外学者对水源水所作的大量研究表明, 水样中具有遗传毒性的物质的诱变作用主要是移码型^[3,4]。对于诱变作用, 一般认为致癌物较易诱发移码突变, 其原因在于移码型较置换型不易被修

复, 且诱发突变物易为细胞所破坏, 此次调查中 Ames 试验结果与上述研究基本一致, 阳性水样也均为移码突变型。

2.2.2 通过 GC/MS 对部分存在有可疑阳性的水样中有机组分的分析, 可以发现阳性水样中存在较多的有机污染物, 其中一些为美国 EPA 所列的 129 种优先控制污染物或其他国家列入黑名单上的有毒有害物质, 如: 2, 6-二氯苯、多氯联苯、甲苯、酞酸二丁酯、邻苯二甲酸二甲酯及 3, 4-二氯甲基-5-羟基-5(H) 咪喃(MX) 等, 具有较强的“三致”作用, 有害于人群健康。这些污染物的存在也是造成这次调查中富集水样在各种遗传毒理学试验中出现一定的阳性检出率的主要原因。

2.2.3 在该试验结果中, Ames 试验为阳性的富集水样剂量一般出现在最高浓度 1.5 L/皿, 据许世琼^[10]水质致突变分级法: Ames 试验平均最低致突变水样量 (MADM) 在 0.1 L/皿~2.0 L/皿时, 水质的卫生评价为中度污染。因此, 参照此分级法, 此次调查中的水源水和自来水呈阳性时的水质属于中度~较严重污染。同时, 该试验认为富集水样量的多少对试验结果有重要影响, 而国内外还没有确定的富集量, 可以从几十升至几百升不等, 也没有相对统一的分级标准, 因此非常有必要建立国内统一的水源水水质遗传毒性研究方法 with 分级标准。

[参考文献]

- [1] Novak J, Zlulicky J, Kubelka V, et al. Analysis of Organic constituents Present in Drink Water[M]. J. Chromatogr, 1973, 76: 45.
- [2] 朱惠刚. 水中有机化学污染物对人体影响评价[J]. 中国环境科学, 1987, 7(4): 67.
- [3] 朱惠刚, 蒋颂辉. 水源水及自来水致突变性研究[J]. 中国环境科学, 1984, 4(4): 71.
- [4] 冯 雷. SOS 显示法检测黄浦江不同江段水中有机污染物的遗传毒性[J]. 复旦大学学报(自然科学版), 1990, 29(2): 98.
- [5] 钱黎明. 用 Ames 试验和 SOS 显色法研究水源水有机提取物的遗传毒性[J]. 癌变、畸变、突变, 1994, 6(11): 25.
- [6] 国家环保局《水生生物监测手册》编写组. 水生生物监测手册[M]. 南京: 东南大学出版社, 1993.
- [7] Maron DM, Ames BN. Revised methods for the Salmonell & Mutagenicity test[J]. Mutat Res, 1983, 113-173.
- [8] 张俊然, 朱惠刚. 遗传毒理学短期测试方法的发展及在检测饮用水方面的应用[J]. 上海环境科学, 1986, 15(2): 38.
- [9] Quillardet p. Mutation[J]. Research, 1985, 147: 79.
- [10] 许世琼. 水质致突变性评价基准初探[J]. 上海环境科学, 1989, (7): 9.

本栏目责任编辑 董思文