

# Ames 试验在水质检测方面的应用

林朝晖

(广州市自来水公司 广州 510160)

**摘要:** 近年来, 水体污染日趋严重, 各国学者从氯化后饮水中分离出多种致突变、致癌物质。为此我们采用 Ames 试验, 对珠江流域主要取水点的水源水和对应自来水中的有机致突变物污染情况进行了研究。研究表明, 部分取水点的有机致突变物污染较严重, 并且氯化消毒后自来水的致突性大于水源水的致突性。因而, 加强饮水中致突变物质的检测, 改进净水消毒剂和净水流程很有必要。

**关键词:** 鼠伤寒沙门氏菌, 野生型, 突变型, 致突变, 氯化消毒

**中图分类号:** Q93    **文献标识码:** A    **文章编号:** 0253-2654 (2002) 03-0066-04

**收稿日期:** 2001-04-25, **修回日期:** 2001-06-30

## THE APPLICATION OF AMES TEST IN THE EXAMINATION OF WATER

LIN Zhao-Hui

(Guangzhou Water Supply Company, Guangzhou 510160)

**Abstract:** In recently, the pollution in water is more and more serious. Scientists detected some carcinogens in the chlorinated drink water. We detected the mutation of the source water and its chlorinated drink water in the Pearl River by the Ames test. The study shows some samples have high mutation, and the mutation of the chlorinated drink water is higher than that of source water. As a result, it is necessary to study the mutation of drink water and improve the drink water disinfecting and producing technique.

**Keyword:** Salmonella typhimurium, Wild species, Mutant, Mutation, Chlorinate

饮用水与健康关系密切, 正常人每天必须饮用 2~3L 水以维持生命所需。近年来, 随着经济的发展、人口骤增, 水体污染日趋严重, 各国学者先后从氯化后饮水中分离出多种致突变、致癌物质, 根据一系列饮水与肿瘤的流行病学调查显示, 饮水污染与肿瘤死亡率之间有一定的相关关系, 饮水中的致突变物质污染日益引起人们的重视<sup>[1]</sup>。为保障供水水质, 1999 年 1 月, 我们采用 Ames 试验, 对珠江流域的 8 个主要取水点的水源水和对应自来水中的有机致突变物污染情况进行了研究。

Ames 试验是检测具有遗传毒性的化合物对 DNA 碱基损伤的一种灵敏、快速、简便的方法。其原理主要为人工诱变鼠伤寒沙门氏菌菌株使其操纵子基因点突变, 形成组氨酸营养缺陷型突变菌株。这种菌株不能合成组氨酸, 因而在无组氨酸的培养基上不能生长。当在具有致突变性化学物质的作用下 (有的需要肝微粒体酶的活化), 可使突变型沙门氏菌回复为野生型, 表现为即使在无组氨酸的培养基上也能生长。由此根据受试物可以使突变型沙门氏菌菌株在无组氨酸的培养基上的生长能力来衡量该物质的致突变能力。

## 1 试验方法

### 1.1 测试菌种的选择与鉴定

我们采用美国加州大学 Ames 实验室提供的鼠伤寒沙门氏菌株 TA98 和 TA100 两种菌株。其特点敏感性强, 特性变异小且不易丢失。可分别检出移码型突变物和碱基置换型突变物。由于菌种有紫外线抗性基因突变、深粗糙型突变、易错误修复系统, 增加了菌种的敏感性, 因此在实验前应严格鉴定这几种特性保证实验结果的可信性, 菌种鉴定结果均符合要求。

### 1.2 水样的处理

进行水中致突变物质检测时, 水样的浓集往往是成功的关键。目前, 国外采用的水样浓集方法甚多, 其中树脂吸附法操作简便并具有吸附量大、对不同物质有效的特点而广泛使用。由于水中致突变物质多为中性或极性很小, XAD-2 树脂对这类物质吸附效果最佳, 因此我们采用 XAD-2 树脂作吸附剂。市售 XAD-2 树脂需用重蒸馏水洗去所含氯化物, 再用丙酮、乙醚、甲醇分别回流 8h 后装柱, 每根玻璃柱装 20mL 树脂。

由于正常人每天必须饮用 2~3L 水, 因此我们选择 2L 水样的浓集物为最高受试浓度, 每个水样需取 60L, 以 30mL/min 的流速过柱。水样过柱后, 吸附于树脂上的致突变物质用 90mL 丙酮洗脱。洗脱液放入真空离心浓缩器中 45℃ 挥干, 浓缩物用适量二甲

基亚砷溶解, 定容至 3 mL, 经无菌抽滤后, -30℃冰箱保存备用。使用时, 稀释至 1/2, 1/4浓度各 0.1mL, 相当于水样 2.0L、1.0L、0.5L。

### 1.3 试验步骤

试验采用标准平皿法, 每皿加入受试浓缩液 0.1mL, 阳性对照选用公认的致突变物质稀释成不同浓度。非活化(不加肝微粒体酶 S9)者, TA98 用 100µg/mL 的 2-AF, TA100 用 1µg/mL 的叠氮化钠; 活化(加 S9)者, TA98 和 TA100 均用 100µg/mL 的 2-AF。阴性对照为二甲基亚砷。各浓度待测物做 3 个平行测定, 37℃培养两天后用自动菌落计数器计算每皿的回变菌落数, 记录平均值及标准偏差。回变菌落数为阴性对照的两倍或以上, 有剂量反应关系、标准偏差不超过均数的 20%, 即可判为致突变阳性<sup>[2]</sup>。

### 1.4 数据处理

由于在测试浓度范围内, 虽有剂量反应关系, 回变菌落数不一定能达到阴性对照的两倍以上。为比较各水样致突变性的强弱, 我们对各水样的致突变回归系数作显著性检验, 求出其平均最低致突变水样量。即回变菌落数为阴性对照的两倍时, 加入的受试水样体积<sup>[3]</sup>。水样的平均最低致突变水样量值越小, 致突变性越强。反之, 值越大, 致突变性越弱。

## 2 结果

从测试结果来看, 全部水样在测试浓度范围内, TA100 菌株在加或不加 S9 时均未诱导回变菌落数增加。在测试浓度范围内, B、E 源水在加或不加 S9 时, TA98 菌株不能诱导回变菌落数增加。在 TA98 + S9 的情况下, A、C、D、F、G、H 源水在中剂量或高剂量出现了回变菌落数增加, 且回变菌落数为阴性对照的两倍或以上。而在 TA98-S9 的情况下, A、C、D、G、H 源水在中剂量或高剂量出现了回变菌落数增加, 且为阴性对照的两倍或以上。各点的自来水水样中, 除 B、E 自来水在加或不加 S9 时, TA98 菌株不能诱导回变菌落数增加外, 其余各点的自来水水样均可直接和间接地诱导 TA98 的回变。各水样平均最低致突变水样量如表 1 所示。

## 3 分析

表 1 各水样平均最低致突变水样量 (L/皿)

采样地点	水源水			自来水		
	TA98 + S9	TA98-S9	均值	TA98 + S9	TA98-S9	均值
A	1.80	1.53	1.67	0.79	1.04	0.92
B	2.63	2.39	2.51	2.59	2.08	2.34
C	1.39	1.39	1.39	1.07	1.63	1.35
D	0.62	0.61	0.92	0.74	1.13	0.94
E	2.31	2.14	2.23	2.23	2.21	2.22
F	1.71	2.07	1.89	1.17	1.27	1.22
G	1.73	1.08	1.42	1.58	1.18	1.38
H	0.69	0.74	0.72	1.80	1.53	1.65

### 3.1 各取水点的水源水和对应自来水中的有机致突变物诱变类型

3.1.1 珠江流域的 8 个主要取水点的水源水和对应自来水中的有机致突变物, 在测试浓度范围内, 不能诱发碱基置换型突变。

3.1.2 在测试浓度范围内, B、E 源水不能诱发碱基移码型突变。

3.1.3 A、C、D、F、G、H 源水在测试浓度范围内具有间接致突变作用, 在肝微粒体酶(S9)的活化下, 能诱发碱基移码型突变。

3.1.4 A、C、D、G、H 源水在测试浓度范围内具有直接致突变作用, 不需肝微粒体酶

(S9)的活化,能诱发碱基移码型突变。

3.1.5 除B、E点外,其余各点的自来水水样在测试浓度范围内均可直接和间接地诱导TA98的回变,诱发碱基移码型突变。

### 3.2 各取水点的水源水和对应自来水水样致突变性的比较

为了更直观地对各点水样致突变性的强弱进行比较,我们把各点水样的平均最低致突变水样量值作图比较如图1。

从图1可以看出,除远离市区的B点和E点外,各取水点的水源水和对应自来水水样在测试浓度范围内,鼠伤寒沙门氏菌/哺乳动物微粒体酶试验均能得出阳性结果。水源水水样的致突变性大小顺序排列为:H>D>C>G>A>F>E>B。自来水水样的致突变性大小顺序排列为:A>D>F>C>G>H>E>B。

从水源水水样的致突变性大小顺序排列来看,越靠近市区,其致突变能力越强。这说明,市区污染物的排放,是水源水中有机致突变物的主要来源。

自来水水样的致突变性大小顺序排列与水源水有所差异,是因为H点由于污染过于严重而发生水臭,不得不投加活性炭粉去除臭味。活性炭粉对有机致突变物有很好的吸附作用,从而使该点自来水水样的致突变性大为降低。A、F两点水源水中有机致突变物在氯化后致突变能力大为增强,也使该两点自来水水样的致突变性提高。

### 3.3 水源水和氯化消毒后自来水水样致突变性的比较

从图1可以看出,除投加活性炭粉的H点外,氯化消毒后自来水水样致突变性比相应水源水水样要高,这说明氯化消毒过程中氯与源水中的各种有机物发生的反应,产生了有机致突变物质。

## 4 讨论

通过采用Ames试验,对珠江流域的8个主要取水点的水源水和对应自来水中的有机致突变物污染情况进行研究。我们发现该试验是一个有效测定水环境污染致突变性的初筛系统,可推测其潜在致癌的可能性,准确率相当高。它能反映水体中多种物质联合作用的效应,比分开测定水中单一化合物更具有实际意义。但该试验也还存在一些不足,如有10%的假阳性结果;试验方法简便,但影响因素多,重现性不理想;细菌试验和动物致癌性试验有很好的定性相关,但难以确定其定量相关;该试验为体外实验,对水质的评价尚需流行病学调查作为依据。这就需要我们进一步研究,不断改善,使其成为水质检测和评价的有效手段。这次研究发现,珠江流域的主要取水点的水源水和对应自来水中的有机致突变物污染较为严重。为达到改善水质,维护人民健康的目的,加强对水源水和自来水中的有机致突变物污染情况的研究很有必要。由于水质污染日趋严重,控制污染物的排放,加强饮用水源的环境保护,开发优质的新水源已成为一项刻不容缓的任务。应改进传统的水处理工艺,提高净水过程中对水中有机致突变物的去除能力。例如,投加活性炭粉对有机致突变物有很好的吸附作用。使用新型消毒剂如臭氧、二氧化氯等取代氯消毒,可防止氯化消毒过程中氯与源水中的

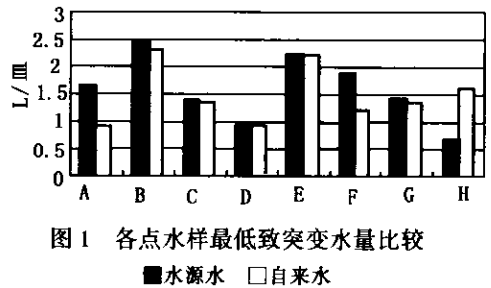


图1 各点水样最低致突变水量比较

■水源水 □自来水

各种有机物反应产生有机致突变物质。

### 参 考 文 献

- [1] Van Lelyveld H. *Water Supply Health*. New York, 1981, 135 ~ 153.
- [2] Ames, B N. *Mutation Res.* 1975, (31): 347 ~ 364.
- [3] 朱惠刚, 蒋颂辉. *中国环境科学*, 1984, 8 (4): 71 ~ 74.