二氧化氯和液氯消毒饮用水致突变性的比较¹⁾

黄君礼 李海波²⁾ 毛 宁 李百祥 吴 坤

(哈尔滨建筑大学, 150008)

(哈尔滨医科大学, 150006)

摘 要

本文运用国内外广泛应用的 Ames 试验, 对二氧化氯与液氯消毒水样进行了致突变性的比较. 结果表明, ClO_2 消毒的水样未显示出致突变性, 而液氯消毒的水样显示致突变性. 研究结果为 ClO_2 在饮用水消毒中的应用提供了科学的依据.

关键词: 二氧化氯 (ClO_2), 液氯 (Cl_2), 致突变性, 饮用水.

饮用水经液氯消毒可产生氯仿等有机卤代物, 这些有机卤代物对人体会产生危害. 研究发现, 液氯消毒的饮用水具有潜在的致癌危险^[1-3, 14]. 第三届国际水消毒会议 (1979 年) 把二氧化氯 (ClO_2) 确定为三种液氯替代消毒剂之一, 美国环保局将 ClO_2 列为替代液氯消毒剂的首选药物. 我们对此进行了较全面的研究^[4-8], 认为 ClO_2 是优良的饮用水消毒剂. 本文主要是二氧化氯消毒后饮用水中有机富集物的 Ames 试验的研究结果.

1 实验部分

1.1 主要实验材料和仪器

XAD-2 大网状树脂 (美国 SIGMA 化学试剂公司). 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, 经鉴定其特性符合要求). 大鼠肝微粒体酶 S9 混合液 (由哈尔滨医科大学毒理教研室制备).

Finnigan 4500 系列 GC/MS/DS4610B 型色-质联机 (美国 Finnigan 4500MAT 公司).

1.2 水中黄腐酸 (FA) 的提取

按文献 [9] 流程提取松花江水中的 FA, 待用.

1.3 试验条件

试验水样共有三组: (1) 松花江水分别投加 $20\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 的 ClO_2 和液氯 (为反应完全, 投加量较水厂实际预投加量稍大), 密封, 反应 8h; (2) 大庆东风水厂经液氯消毒 (a. 预投 $5\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$, 后投 $0.7\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$; b. 预投 $5\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$; c. 后投 $0.7\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$) 与后投 $\text{ClO}_2 0.7\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 常规处理 (混凝沉淀-过滤) 的饮用水样; (3) 配制含 FA $6.0\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 水样, 调节

1) 本文为国家自然科学基金资助项目. 2) 现在深圳市自来水(集团)公司工作.

pH=7, 分别投加 $18\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 的 ClO_2 和液氯 (为反应完全, 投量稍过量) 密封, 反应 24h. 每份水样富集 300L.

1.4 检测样的富集

采用 XAD-树脂, 使用前经纯化^[10], 按湿法装入富集柱中, 然后将上述每个水样以 $20\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$ 的流速过柱富集, 用重蒸的乙醚洗脱有机物, 洗脱液用经 400°C 2h 高温处理过的无水 Na_2SO_4 脱水干燥, 然后用 K-D 浓缩器低于 35°C 减压浓缩至 0.1ml, 进行 GC/MS 检测; 蒸干配成二甲基亚砷 (DMSO) 溶液, 进行 Ames 试验.

1.5 GC/MS 测试条件

色谱条件: DB-5 石英毛细管柱 (长 30m, 内径 0.2mm) 柱前压 8Psi, 进样量 $0.2\mu\text{l}$. 程序升温 (40°C — 280°C)

质谱条件: 化学离子源 EI, 灯丝电流 0.13mA, 电子能量 70eV.

1.6 Ames 试验

本试验采用带 R 因子的 TA98 和 TA100 菌株, 设加 S9 和不加 S9 活化两种试验. 阳性对照: -S9 采用 Dexon $62\mu\text{g} \cdot \text{皿}^{-1}$, +S9 采用 2-AF $5\mu\text{g} \cdot \text{皿}^{-1}$. 实验基本是按照 Ames 等人发表的^[11]、后经矢作多贵江修改的平板掺入法^[12]标准试验进行的. 每次试验各剂量设 2 个平行皿, 同样试验重复三次, 以 6 皿的平均值报道结果.

判断阳性结果的标准是: 突变率 (MR) ≥ 2 ($MR = \text{检样诱发的平均回变菌落数} / \text{自发平均回变菌落数}$); 并且具有剂量-反应关系和试验结果的复现性.

获得阳性结果所需剂量越小或相同剂量下 MR 越大, 说明该检样致突变活性越强, 反之亦然.

2 结果与讨论

2.1 二氧化氯和液氯对松花江水致突变性的影响

据以往的经验, 松花江水氯化后, 主要存在直接的致突变物^[3]. 因此, 我们只进行了不加 S9 的 Ames 试验, 其结果见表 1.

表 1 ClO_2 与 Cl_2 对松花江水中有机富集物的致突变性比较
Table 1 Comparison of mutagenicity of organo-enriched material in water from Songhua river treated by ClO_2 and Cl_2

富集水量 ($\text{l} \cdot \text{皿}^{-1}$)	TA98				TA100			
	回变菌落数 ($\text{个} \cdot \text{皿}^{-1}$)		诱变率		回变菌落数 ($\text{个} \cdot \text{皿}^{-1}$)		诱变率	
	Cl_2	ClO_2	Cl_2	ClO_2	Cl_2	ClO_2	Cl_2	ClO_2
0	16.0	16.0	1.00	1.00	104.6	104.6	1.00	1.00
0.5	23.0	18.7	1.46	1.17	104.7	104.7	1.00	1.03
1	38.0	23.7	2.38	1.48	141.6	130.1	1.35	1.24
3	38.7	15.3	2.42	0.96	6.8 ¹⁾	102.1	0.07 ²⁾	0.98
5	— ¹⁾	13.7	—	0.86	—	—	—	—

1) 抑菌, 无细菌生长. 2) 回变菌落数大大下降 (仅为 $6.8 \text{个} \cdot \text{皿}^{-1}$), 已出现明显抑菌作用.

由表 1 可见, 加液氯的松花江水样 1L 的浓集物对 TA98 菌株的 MR 为 2.38, 呈现致突变阳性. 应指出, 由于较高浓度 (消毒剂) 有明显的抑菌作用, 使突变的现象受到掩盖. 对 TA100 菌株, 受试的剂量下均为阴性结果, 说明加氯松花江水具有较强的直接致突变作用, 且以移码型致突变物为主. 而加 ClO_2 松花江水的浓集物, 剂量达 $5L \cdot ml^{-1}$, TA98 和 TA100 菌株也未出现阳性结果.

2.2 二氧化氯与液氯对饮用水致突变性的影响

对大庆东风水厂的饮用水进行后投 ClO_2 与液氯水样富集物的 Ames 试验, 其结果列于表 2. 由表 2 可见, 后投液氯水样, TA100 菌株不加与加 S9 活化, 均为阴性. TA98 菌株不加 S9 时, 3L 水接近阳性 ($MR=1.99$), 5L 水时 $MR=2.24$, 且有明显的剂量-反应关系, 呈明显阳性; 加 S9 活化后, 7L 水方显阳性 ($MR=2.11$), 致突变性降低, 说明后投液氯消毒中主要存在移码型的致突变物, 而且以直接的致突变作用为主.

相反, 后投 ClO_2 的消毒水样, TA98 和 TA100 菌株在所设的任何剂量下, 不加与加 S9 代谢活化的试验结果均为阴性 (见表 2), 说明 ClO_2 消毒的水中没有致突变活性物质. 因此, 得出 ClO_2 消毒不产生致突变物质, 而任何投加方式的液氯消毒 (预投液氯水样的 Ames 试验数据略) 均有致突变活性物质产生, 且主要为直接的致突变物质, 多为移码型.

表 2 后投 ClO_2 与液氯对饮用水致突变性的影响

Table 2 Effect of past-dosing ClO_2 and liquid chlorine on mutagenicity of drinking water

测试菌株	富集水量 ($l \cdot ml^{-1}$)	-S9				+S9			
		回变菌落数 ($个 \cdot ml^{-1}$)		诱变率		回变菌落数 ($个 \cdot ml^{-1}$)		诱变率	
		Cl_2	ClO_2	Cl_2	ClO_2	Cl_2	ClO_2	Cl_2	ClO_2
TA98	0	17.3	17.3	1.00	1.00	15.8	15.8	1.00	1.00
	1	24.0	15.8	1.39	0.91	18.3	19.9	1.16	1.26
	3	34.5	16.2	1.99	0.94	16.0	23.3	1.01	1.47
	5	38.7	19.5	2.24	1.13	27.1	25.3	1.72	1.60
	7	49.2	20.5	2.84	1.18	33.1	22.0	2.11	1.39
TA100	0	110.0	110.0	1.00	1.00	101.5	101.5	1.00	1.00
	1	102.6	99.4	0.93	0.90	97.7	128.0	0.96	1.26
	3	118.6	68.6	1.08	0.62	97.9	125.1	0.96	1.23
	5	126.6	55.4	1.15	0.50	181.3	188.8	1.74	1.86
	7	207.0	52.6	1.88	0.48	179.3	200.0	1.77	1.97

2.3 二氧化氯与液氯对水中有机卤代物形成的影响

对上述 ClO_2 与液氯处理水样的富集物进行了 GC/MS 分析, 结果列于表 3 和表 4. 由表 3 可见, 加 Cl_2 松花江水样检出 11 种有机卤代物, 占有机物含量的 5.06%; 而加 ClO_2 水样未检出有机卤代物. 从表 4 可知, 凡投液氯消毒的饮用水水样与 ClO_2 消毒比较, 不仅有有机物种类多, 含量大, 且均形成了有机卤代物 (例如 $CHCl_3$, $CHBr_3$ 等), 其中后投液氯检出卤仿等 9 种, 含量为 9.76%; 而 ClO_2 消毒的饮用水未检出有机卤代物. 这进一步证明了 ClO_2 消毒的水样未检出直接致突变物质.

表 3 加 ClO₂ 与 Cl₂ 消毒处理的松花江水中有机物情况

Table 3 Organic compounds in water from Songhua river disinfected with chlorine dioxide and liquid chlorine

消毒剂	总峰数 (个)	检索 峰数 (个)	有机 卤代物 峰数 (个)	有机 物 种数 (种)	有机物 相对百 分含量 (%)	有机卤代物种数/种				有机卤代物占有有机物的 百分含量/%			
						氯代物	溴代物	碘代物	总数	氯代物	溴代物	碘代物	总数
Cl ₂	134	86	15	57	100.71	6	4	1	11	1.96	2.88	0.23	5.06
ClO ₂	94	59	0	34	100.06	0	0	0	0	0	0	0	0

表 4 ClO₂ 与 Cl₂ 消毒的大庆东风水厂饮用水中的有机物情况Table 4 Organic compounds in drinking water from Dongfen water plant disinfected with ClO₂ and Cl₂

消毒方法	总峰数 (个)	检索 峰数 (个)	有机 卤代物 峰数 (个)	有机 物 种数 (种)	有机物 相对百 分含量 (%)	有机卤代物种数/种				有机卤代物占有有机物的 百分含量/%			
						氯代物	溴代物	碘代物	总数	氯代物	溴代物	碘代物	总数
预-后投液氯	126	98	22	54	98.87	1	11		12	0.15	26.56		26.71
预投液氯	112	74	14	44	96.84	2	6		8	2.23	14.76		16.99
后投液氯	99	57	10	48	97.11	2	7		9	3.40	6.36		9.76
后投二氧化氯	71	34	0	30	96.38	0	0		0	0	0		0

2.4 二氧化氯与液氯对黄腐酸致突变性的影响

黄腐酸 (FA) 是饮用水氯化形成氯仿等有机卤代物的主要前驱物质^[13]。为此, 我们将 ClO₂ 与液氯处理的 FA 水样进行了 Ames 试验。在不加 S9 活化时, 对 TA98 与 TA100 菌株在受试的剂量下, 一般均为阴性结果, 只是液氯处理的 FA 水样, 不加 S9 时, TA100 菌株剂量为 0.83mgFA · 皿⁻¹时, MR 接近 2, 且有一定剂量-反应关系, 可疑为阳性 (数据略)。本文只将加 S9 活化时的 Ames 试验结果列于表 5。

从表 5 数据可见, 液氯处理的 FA 水样, 对于 TA98 菌株, 加 S9 活化后剂量达 1.17 mgFA · 皿⁻¹时, MR=2.62, 且有较好的剂量-反应关系, 试验结果呈现阳性结果; 对 TA100 菌株加 S9 活化后, 转为阴性。而 ClO₂ 处理的 FA 水样, 对 TA98 与 TA100 菌株加 S9 活化后, 试验结果仍为阴性。另外, 从 ClO₂ 与液氯处理的 FA 水样中有机富集物的 GC/MS 分析结果 (数据略) 表明, 液氯处理的 FA 水样形成卤代烷等 21 种有机卤代物, 占有有机物含量的 10.89%, 而 ClO₂ 处理的 FA 水样未检出有机卤代物。

以上结果表明, 液氯与 FA 作用产生了致突变物, 即有间接移码型, 又有直接碱基置换型的, 而 ClO₂ 与 FA 作用未产生这些有害物质。

2.5 影响饮用水中致突变作用的因素及机理探讨

Ames 试验是检测受试物诱发鼠伤寒沙门氏菌组氨酸营养缺陷型突变菌株 (his⁻) 回复突变成野生型 (his⁺) 的能力。饮用水的致突变性, 一方面来源于消毒处理过程中产生的有机副产物, 另一方面则是源水中可能就存在的诱变物, 视水源性质而定, 其中前者起主导作用。

表 5 ClO_2 与液氯消毒对 FA 致突变性的影响 (+S9)Table 5 Effect of ClO_2 and liquid chlorine on mutagenicity of fulvic acid (FA) from water (+S9)

测试菌株	检样量 ¹⁾ (mgFA · 皿 ⁻¹)	加 ClO_2 FA		加 Cl_2 FA	
		回变菌落数 ²⁾ (个 · 皿 ⁻¹)	诱变率	回变菌落数 ²⁾ (个 · 皿 ⁻¹)	诱变率
TA98	0.17	23.2 ± 4.36	1.29	17.2 ± 4.6	1.11
	0.50	25.2 ± 7.82	1.40	17.3 ± 5.4	1.12
	0.83	26.0 ± 3.16	1.44	24.8 ± 7.9	1.61
	1.71	18.8 ± 5.22	1.04	40.3 ± 5.6	2.62
	自发回变	18.0 ± 5.24	1.00	15.4 ± 4.4	1.00
	阳性对照	1012 ± 94	56.22	597.5 ± 23.1	38.80
TA100	0.17	111.4 ± 10.3	1.06	106.2 ± 9.2	1.00
	0.50	103.0 ± 12.0	0.98	109.0 ± 10.4	1.02
	0.83	108.2 ± 9.9	1.03	106.8 ± 17.2	1.00
	1.71	80.6 ± 3.58	0.77	88.8 ± 11.9	0.83
	自发回变	104.8 ± 12.7	1.00	106.5 ± 5.9	1.00
	阳性对照	678 ± 102	6.47	958.0 ± 51.2	9.00

1) 按 FA 量计, 2) 回变菌落数用均数加减标准差表示。

2.5.1 消毒形成的有机卤代物的致突变作用

在本研究中, 上述水样的 GC/MS 分析结果表明, 液氯消毒处理的松花江水、大庆东风水厂饮用水和 FA 水样均产生了 5—27% 的有机卤代物, 其中包括卤仿、卤代酮、卤代醛和卤代酚等; 而 ClO_2 消毒处理的这些水样均未形成有机卤代物。另有试验证明, 这些有机卤代物为诱变剂^[2,3,14-16]。由此可见, 液氯消毒水样的致突变性来源于形成的有机卤代物, 而 ClO_2 消毒不形成有机卤代物, 因此, 也未显示出致突变性。

有机卤代物的致突变性, 来源于其特定的活性基因——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, 在体内易与酶系统结合, 通过改变 DNA 链上碱基的化学成分、取代 DNA 链上碱基类似物、对 DNA 链上的碱基进行烷化或嵌入 DNA 的链上这四种作用, 实现其碱基置换型或移码型的致突变作用。如, 与一溴脱氧尿嘧啶核苷可以取代 DNA 链上的胸腺嘧啶, 双氯甲烷能直接与 DNA 链上的碱基进行烷化作用。

2.5.2 消毒剂对源水中致突变物的去除作用

ClO_2 的氧化能力很强, 除对水中 Fe^{2+} , Mn^{2+} , S^{2-} , CN^- 和酚类等污染物有很好的去除效果外, 还对 NO_2^- 、多环芳烃、亚硝胺类、黄曲霉素、芥子气类等诱变剂和致癌物均有较好的氧化降解去除能力。如, 可将苯并 (a) 芘氧化为无致癌的醌式结构, 当水中投加 $8.4\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 的 ClO_2 , 苯并 (a) 芘的去除率可达 80%。这是液氯消毒所达不到的。

2.6 说明几个问题

(1) 高浓度消毒剂 (尤其 ClO_2), 已出现抑菌现象 (表 1, 表 5), 表明对细胞有毒性作用, 对健康有无影响, 还需进一步探讨。

(2) 本文主要考察并比较两种消毒剂 ClO_2 和液氯对同一水样的致突变效应, 没有进行原水的致突变试验。研究结果表明: 一方面 ClO_2 处理的水样, Ames 试验均未显示出阳性, 说明即使原水中可能有致突变物, ClO_2 消毒还有较好的去除能力。

(3) 表 2 中投加 ClO_2 , TA100+S9, $MR=1.97 (7\text{L} \cdot \text{皿}^{-1})$, 且有剂量-反应关系, 是否可疑致突性, 还需进一步探讨或通过生物学试验进一步验证。

3 结论

(1) ClO_2 处理的松花江水未显示出致突变性, 而液氯处理的松花江水显示移码型的直接致突变性。

(2) ClO_2 消毒的大庆东风水厂饮用水未显示出致突变性, 而液氯消毒有较强的直接致突变性。

(3) ClO_2 处理的 FA 水样未产生致突变性, 而液氯处理的 FA 水样产生了间接移码型的和碱基置换型的致突变作用。

因此, 应用 ClO_2 消毒, 能有效控制水中致突变物的生成, 这样就可以显著改善水质, 提高人类的健康水平。

本研究中哈尔滨医科大学甘卉芳教授给予大力支持、帮助和指导, 在此一并致谢。

参 考 文 献

- [1] Kool H J et al., CRC Critical Reviews in Environment. Control, 1982, 12 (4) : 307—352
- [2] 徐风丹等, 我国典型地区饮水中致突变性的表征. 环境科学, 1994, 15 (3) : 1
- [3] 朱振岗, 甘卉芳, 松花江有机污染物致癌危险性研究. 中国环境科学, 1985, 5 (3) : 7—12
- [4] 黄君礼, 曹亚凤, 王学风, 二氧化氯对氯仿形成的影响. 环境化学, 1994, 13 (5) : 466—473
- [5] 黄君礼, 王学风等, 二氧化氯对水中无机污染物的去除效果研究. 环境化学, 1996, 15 (1) : 80—89
- [6] Huang Junli, Li Chunlan, Wang Xuefeng et al., Effect of Chlorine Dioxide of Removal of Phenolic Compounds from Water. Water Quality International '96 18th IAWQ Biennial Conference (1996, Singapore) Conference Preprint Book, 5 : 33—40
- [7] Huang Junli, Wang li, Ren Nangi et al., Disinfection Effect of Chlorine Dioxide on Bacteria in Water. Water Research, 1997, 31 (3) : 607—613
- [8] Huang Junli, Wang li, Ren Nangi et al., Disinfection Effect of Chlorine Dioxide on Viruses, Algae and Animal Planktons in Water. Water Research, 1997, 31 (3) : 455—460
- [9] 彭安, 王文华, 水体腐殖酸及其络合物. 环境科学学报, 1981, 1 (2) : 126
- [10] 王维伟, 环境样品的 GC/MS 分析. 质谱学报, 1988, 9 : 68
- [11] Ames B N et al., Methods for Detecting Carcinogens and Mutagens with the Salmonella/Mammalian—Microsome Mutagenicity Test. Mutation Research, 1975, 31 : 347—364
- [12] 矢作多贵江, 蛋白质 核酸 酵素, 1975, 20 : 1178—1189
- [13] 黄君礼, 氯化黄腐酸形成氯仿的反应历程. 环境化学, 1991, 10 (6) : 1—14
- [14] 李海波, 二氧化氯的发生技术及其处理饮用水的致突变研究. 哈尔滨建筑大学硕士学位论文, 1996
- [15] Jahn R Meier et al., Identification of Mutagenic Compounds Formed during Chlorination of Humic Acid. Mutation Research, 1988, 157 : 111—222
- [16] 万伯健, 卫生毒理学. 辽宁科技出版社, 1992

1997 年 4 月 1 日收到。

COMPARISON OF MUTAGENICITY OF DRINKING WATER DISINFECTED WITH CHLORINE DIOXIDE AND LIQUID CHLORINE

Huang Junli Li Haibo Mao Ning

(Harbin University of Architecture & Engineering, Harbin, 150008)

Li Baixiang Wu Kun

(Harbin Medical University, Harbin, 150006)

ABSTRACT

In this paper, comparative test on mutagenicity of water samples disinfected with chlorine dioxide and liquid chlorine were carried out by an extensive using Ames test at home and abroad. The results showed that the mutagenicity of water disinfected with chlorine dioxide wasn't tested, in contrast, water samples disinfected with liquid chlorine were showed mutagenicity.

Keywords: chlorine dioxide, liquid chlorine, mutagenicity, drinking water.