· 实验研究 ·

三氯生致泥鳅生理及遗传毒性作用*

陈建军[1], 豆晓飞[1], 刘海津[2], 杨雪洁[1], 潘春梅[1], 常重杰[1]

摘　要: 目的　观察添加剂三氯生急性毒性、遗传毒性以及生理毒性作用。**方法**　以泥鳅为受试对象, 观察三氯生在不同浓度和不同处理时间内对泥鳅急性毒性、遗传毒性及生理毒性作用, 分别观察染毒后泥鳅死亡数, 计算红细胞微核率和肝脏中谷草转氨酶(GOT)和谷丙转氨酶(GPT)活性。**结果**　与对照组比较, 随着三氯生染毒浓度升高和染毒时间延长, 红细胞微核率呈明显增高趋势, 浓度为 2.765 mg/L 时, 微核率达到最大, 染毒后 12、24、48、72 h 微核率分别为(0.020 6 ± 0.000 6)‰、(0.029 3 ± 0.001 5)‰、(0.040 6 ± 0.001 1)‰、(0.044 3 ± 0.001 5)‰, 随着时间推移不断增加。与对照组比较, 泥鳅肝脏中 GOT 和 GPT 活性随染毒时间延长而逐渐降低, 其敏感期出现在浓度为 1.92 mg/L 时。**结论**　三氯生对泥鳅有显著的遗传毒性与生理毒性。

关键词: 三氯生; 泥鳅; 微核; 谷草转氨酶; 谷丙转氨酶

中图分类号: R 99　**文献标志码:** A　**文章编号:** 1001-0580(2013)07-1014-03　DOI: 10.11847/zgggws2013-29-07-24

Genetic and physiological toxicity of Irgasan DP300 in *Misgurnus anguillicacdatus*

CHEN Jian-jun*, DOU Xiao-fei, LIU Hai-jin, et al (* *Department of Molecular Cytogenetics, College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang, Henan Province* 453007, China)

Abstract: Objective　To study genetic and physiological toicity of Irgansan DP300 in *Misgurnus anguillicaudatus*. **Methods**　*Misgurnus anguillicaudatus* was exposed to different concentrations of Irgasan DP300 for different times. The mortality, micronucleus rate of red blood cells, and the activities of glutamic-oxaloacetec transaminase (GOT) and glutamic-pyruvic transaminase (GPT) in the liver of *Misgurnus anguillicaudatus* were determined. **Results**　The micronucleus rate of red blood cells significantly increased with the increase of Irgansan DP300 concentration. The maximum micronucleus rate was the highest for the concentration of Irgasan Dp300 at 2.765 mg/L. Additionally, the micronucleus rate also increased with the prolongation of exposure time and varied from 0.0206 ± 0.0006% to 0.0443 ± 0.0015%. However, the activities of GOT and GPT gradually decreased with the prolongation of exposure time with a sensitive period for the concentration of Irgasan DP300 at 1.92 mg/L. **Conclusion**　Irgasan DP300 exhibits significant genotoxicity and physiological toxicity in *Misgurnus anguillicaudatus*.

Key words: Irgasan DP300; *Misgurnus anguillicaudatus*; micronuclei; GOT; GPT

三氯生作为杀菌消毒物质被广泛用于香皂、漱口水、化妆品、洗涤用品、头发定型水等个人护理品、医用器械的消毒以及纺织品(尤其是内衣等贴身衣物)出厂前消毒、抗菌处理[1]。水环境中三氯生由于浓度较低, 其毒性作用不明显。但在一定条件下, 三氯生能转化为其他物质, 而这些物质的毒性已经引起人们的关注[2]。本研究采用三氯生染毒泥鳅, 观察不同浓度及作用时间泥鳅红细胞微核率及肝脏转氨酶活性变化, 探讨低浓度三氯生对泥鳅遗传毒性和生理毒性, 为合理使用三氯生, 减少对环境、水生生物乃至人类自身造成危害, 从而为保护环境和维持生物多样性提供科学依据[3]。

1　材料与方法

1.1　实验动物及饲养　泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)(新乡市鸿达水产品市场), 体长 12 ~ 15 cm, 体重 11.5 ~ 15.5g。实验前用曝气的自来水驯养 1 周, 每天换水 1 次。挑选外观健康的正常个体进行实验。实验在规格为 6L 的水盆中进行。实验用水为充分曝气后的自来水, pH 6.7 ~ 7.0, 溶氧量 5.5 ~ 7.5 mg/L, 水温 25 ℃左右, 时间为 5 d。

1.2　急性毒性试验　将三氯生水溶液制成 0.625、1.250、2.500、5.000、10.000 mg/L 5 个系列浓度。每个浓度投放 10 尾健康泥鳅, 每 24 h 换 1 次三氯生水溶液。连续观察 12、24、48、72 h 泥鳅死亡情况。采用寇氏法(Karber)计算半数致死浓度。

1.3　遗传毒性试验　设置 1.600、1.920、2.304、2.765、3.320 mg/L 染毒组对照组, 每个浓度 4 L 水。挑选健康泥鳅, 每盆 15 尾。每隔 24 h 换 1 次三氯生水溶液。染毒后 1、2、3、4、5 d 各取 1 次材料, 每个浓度随机取 3 尾泥鳅。断尾部取血, 制成血涂片, 自然晾干。甲醇固定 15 min, Gimsa 染色 10 min, 晾干。光学显微镜和荧光显微镜下观察, 找到微核细胞并拍照。每尾泥鳅镜检 10 000 个红细胞,

* **基金项目:** 河南省科技厅基础与前沿研究项目(112300413218)
作者单位: 1. 河南师范大学生命科学学院分子细胞遗传研究室, 河南 新乡 453007; 2. 河南师范大学化学与环境科学学院
作者简介: 陈建军(1975 -), 男, 内蒙古四子王旗人, 副教授, 博士, 研究方向: 鱼类生理及生殖生物学。
通讯作者: 常重杰, E-mail: changzhongjie@tom.com

计算红细胞微核率,以千分率表示(‰)。

1.4　生理毒性试验(肝组织酶活力测定)　取肝脏,用生理盐水冲洗,吸干,按肝脏与生理盐水质量比 1.00:0.85 添加生理盐水,常规方法剪碎、研磨,分别于 2 500、3 500 r/min 条件下离心取上清,待测。谷草转氨酶(glutamic-oxaloacetic transarn inase, GOT)和谷丙转氨酶(glutamic-pyruvic tianssminas, GPT)活力分别用谷草转氨酶和谷丙转氨酶试剂盒(赖氏法)测定,组织蛋白含量用考马斯亮蓝法测定(试剂盒为南京建成有限责任公司产品)。

1.5　统计分析　所有数据采用 Excel 2003 软件进行分析处理,采用 SPSS 11.5 软件进行统计分析,组间比较采用方差分析。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　三氯生对泥鳅急性毒性作用　结果显示,三氯生染毒浓度在 0.625 ~ 1.250 mg/L 时,整个观察期间泥鳅无死亡。当浓度达 2.500 mg/L 时,染毒后 48 h,有 1 尾泥鳅死亡,死亡率 10%。随三氯生浓度加大泥鳅死亡数量不断增加,当剂量达到 10.000 mg/L、染毒时间 72h 死亡率达 100%。计算得出 24、48h 的半数致死浓度分别为 6.597 8、6.156 0 mg/L,由此推算得到三氯生安全浓度为 1.607 7 mg/L。

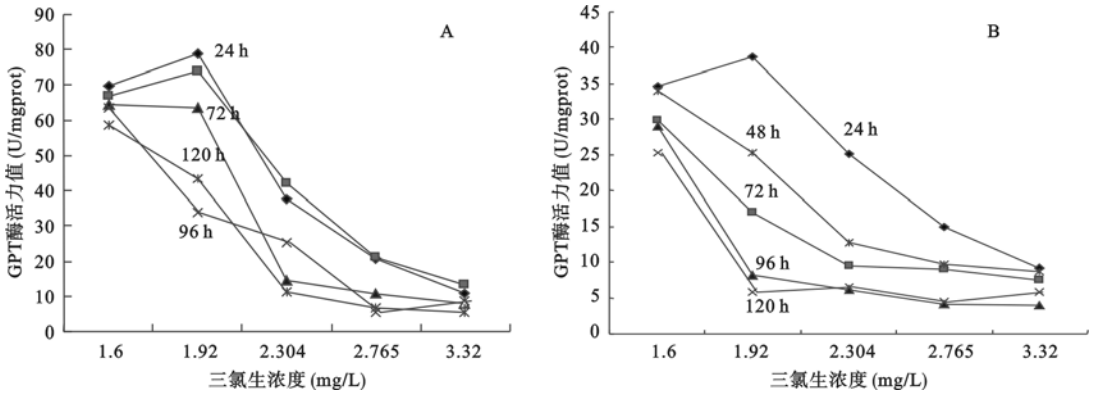
2.2　三氯生对泥鳅遗传毒性作用(表 1)　当作用时间在 12 h,随着三氯生浓度升高红细胞微核率也增高,在浓度为 2.765 mg/L 时达到峰值,浓度为 3.320 mg/L 时微核率明显下降;而在同一浓度下,时间越长诱发的红细胞微核率越高。

2.3　三氯生对泥鳅肝组织中 GPT、GOT 活力影响(图 1)　与对照组比较,随着作用时间延长,染毒浓度增加,GPT 呈先上升后下降趋势,当浓度达到 3.320 mg/L 时,GPT 下降到最低。GPT 变化最敏感期出现在浓度为 1.920 mg/L,随后 GPT 活性下降,但浓度 > 2.765 mg/L 时,下降速度明显变缓(图 1A)。GOT 变化趋势,除第 1 d 酶活力轻微上升外,其余时段均呈明显下降趋势,当浓度 > 2.304 mg/L 时,下降速度明显变缓(图 1B)。

表 1　三氯生诱发泥鳅红细胞微核细胞率(‰)

组别(mg/L)		处理时间(h)			
		12	24	48	72
对照组		0.0057 ± 0.0006	0.0103 ± 0.0006	0.0160 ± 0.0017	0.0187 ± 0.0005
三氯生	1.600	0.0090 ± 0.0020	0.0157 ± 0.0015	0.0193 ± 0.0015	0.0203 ± 0.0015
	1.920	0.0144 ± 0.0050[a]	0.0223 ± 0.0021[a]	0.0223 ± 0.0005[a]	0.0247 ± 0.0021[a]
	2.304	0.0197 ± 0.0006[a]	0.0300 ± 0.0010[a]	0.0353 ± 0.0005[a]	0.0377 ± 0.0006[a]
	2.765	0.0206 ± 0.0006[a]	0.0293 ± 0.0015[a]	0.0406 ± 0.0011[a]	0.0443 ± 0.0015[a]
	3.320	0.0130 ± 0.0010[a]	0.0193 ± 0.0005[a]	0.0333 ± 0.0005[a]	0.0353 ± 0.0025[a]

注:与对照组比较,a $P<0.05$。



注:A:GPT 活力变化曲线图;B:GOT 酶活力变化曲线图。

图 1　三氯生对泥鳅肝脏中 GPT、GOT 活力影响

3　讨　论

泥鳅的红细胞体积较大,易于观察微核,并且由于其分布广,易取材,对污染物灵敏度高等特点,成为检测环境污染较理想的生物指示器之一[3]。多种化学物暴露都可以诱导生物体产生微核。本研究结果表明,三氯生对泥鳅具有一定诱变作用,经三氯生水溶液处理后,诱发微核率明显上升。本研究结

果显示不同浓度三氯生水溶液对泥鳅红细胞微核率的影响存在明显差异,在供试浓度范围内,各染毒组诱发的红细胞微核细胞率均与其浓度呈正相关,随着浓度增大红细胞微核率也逐渐增大。并且,红细胞微核细胞率与染毒时间具有明显相关性,染毒时间越长,泥鳅红细胞微核细胞率也越大,具有一定时间效应。

谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)是一类广泛存在于动物细胞线粒体中的重要氨基酸转移酶,其活性变化是反映肝细胞受损伤的敏感指标[4]。本研究结果显示,随着三氯生浓度增加,肝组织中 GOT、GPT 活力呈先上升后降低趋势,表明当三氯生初次进入肝脏时,肝脏 GPT 和 GOT 酶活力迅速上升;但随着毒性时间延长,其解毒能力逐渐减弱,使得 GOT 和 GPT 酶活力开始下降,肝组织受到三氯生损伤,抑制了肝组织中 GOT、GPT 活力。

参考文献

[1] Fiss EM, Ruie KL, Vikesland PJ. Formation of chloroform and other chlorinated byproducts by chlorination of triclosan containing antibacterial products [J]. Environmental Science Technology, 2007, 4 1(7): 2387 - 2394.

[2] Lin L, Zeng XL, Zhang J. Effect of profenofos poisioning on liver lipid peroxidation and liver function in rabbits[J]. Clinical Rehabilitation of China, 2004, 8(21): 4380 - 4381.

[3] 陈细香,卢昌义,黄荣昌. 五种洗发剂对泥鳅血红细胞微核及核异常的诱导[J]. 淡水渔业, 2007, 37(5): 19 - 22.

[4] 岳媛媛,肖珍,陈建军,等. 制药废水致泥鳅遗传及生理毒性作用[J]. 中国公共卫生, 2009, 25 (6): 717 - 718.

收稿日期:2012-03-19　　(解学魁编辑　韩仰欢校对)

中国公共卫生 CPH

· 实验研究 ·

芒果叶总黄酮含量及抗氧化作用测定*

王晓波,刘冬英,邹志辉,李文武

摘　要:目的　研究芒果叶总黄酮(MLF)的体外抗氧化作用。**方法**　采用超声辅助乙醇浸提方法提取芒果叶中的黄酮类化合物,评价芒果叶总黄酮的体外清除自由基能力及抗脂质过氧化活性。**结果**　芒果叶提取物中总黄酮的含量为 38.35%,对羟自由基和超氧阴离子自由基具有一定的清除能力;维生素 C 和芒果叶总黄酮对羟自由基的半数清除浓度(IC50)分别为 0.546 9、2.973 9 mg/mL,对超氧阴离子自由基清除的 IC50 分别为 0.253 0、3.861 2 mg/mL,清除能力与浓度有明显的量效关系;芒果叶总黄酮浓度(x)与抑制率(y)之间拟合曲线,得出回归方程为:$y = 5.263\,9 \ln(x) + 50.947$, $R^2 = 0.982\,1$,表明芒果叶总黄酮在 1 ~ 10 mg/mL 剂量范围内能有效抑制肝组织自发性脂质过氧化。**结论**　芒果叶总黄酮具有清除自由基及抗脂质过氧化和红细胞溶血作用。

关键词:芒果叶;总黄酮;体外抗氧化

中图分类号:R285.5　**文献标志码**:A　**文章编号**:1001-0580(2013)07-1016-03　DOI:10.11847/zgggws2013-29-07-25

Anti-oxidant effect of total flavonoids from mango leaves *in vitro*

WANG Xiao-bo*, LIU Dong-ying, ZOU Zhi-hui, et al (* *Department of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, Guangdong Pharmacy College, Guangzhou, Guangdong Province* 510310, China)

Abstract: Objective　To study the anti-oxidant effect of total flavonoids from mango leaves *in vitro*. **Methods** The flavonoids were extracted by ethanol with ultrasonic from mango leaves. The spectrophotometry method was used to determine the content of the flavonoids and the anti-oxidant effect on hydroxyl radicals, superoxide anions and lipid peroxidation in liver and erythrocyte hemolysis were determined. **Results**　The flavonoids content of mango leaves extracts was 38.35% and the extracts had scavenge effects on hydroxyl radicals and superoxide anions. The concentrations of extracts causing 50% inhibition of hydroxyl radicals and superoxide anions wee 2.973 9 mg/mL and 3.861 2 mg/mL, respectively. The extracts (1 - 10 mg/mL) significantly inhibited malondialdehybe and spontaneous lipid oxidation in mouse liver, and erythrocyte hemolysis induced by H_2O_2. And the inhibitory effect showed a concentration dependant relationship. **Conclusion**　The flavonoids of mango leaves have effect of scavenging radicals and anti-lipid oxidation and inhibition hemolysis of erythrocyte.

Key words: mango leaves; total flavonoids; antioxidant *in vitro*

有研究表明,芒果叶含芒果苷、异芒果苷、槲皮素等多种化学成分[1]。芒果富含黄酮类物质,对人

* **基金项目**:教育部预防医学特色专业建设点基金(高教函[2008]21 号)

作者单位:广东药学院公共卫生学院营养与食品卫生系,广东 广州 510310

作者简介:王晓波(1961 -),女,吉林长春人,教授,硕士,研究方向:食物营养与天然物质功效成份。