

# 5 种洗发剂对泥鳅红细胞微核的影响

陈细香<sup>1,2</sup>, 卢昌义<sup>1</sup>, 黄荣昌<sup>2</sup>

(1. 近海海洋环境科学国家重点实验室(厦门大学), 福建厦门 361005;

2. 泉州师范学院化学与生命科学学院, 福建泉州 362000)

**摘要:** 为探究低浓度污染物对环境和人类健康的危害, 采用红细胞微核和核异常测试法研究了五种不同品牌、不同体积分数的洗发剂对泥鳅 (*Misgurnus anguillicaudatus*) 红细胞微核的影响。结果显示, 洗发剂所诱导的泥鳅红细胞微核率在品牌与体积分数上均存在极显著差异 ( $P < 0.01$ ), 而且与两者之间的交互作用有关 ( $P < 0.01$ )。试验表明目前常用的洗发剂大多具有致突变活性, 尤其飘柔、舒蕾两种洗发剂致突变活性更强。

**关键词:** 泥鳅 (*Misgurnus anguillicaudatus*); 红细胞; 微核; 洗发剂; 诱变

**中图分类号:** Q 172; X 171.5

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1000-6907-(2007)05-0019-04

## Effects of Five Shampoos on Micronuclei in Erythrocytes of *Misgurnus anguillicaudatus*

CHEN Xi-xiang<sup>1,2</sup>, LU Chang-yi<sup>1</sup>, HUANG Rong-chang<sup>2</sup>

(1. State Key Laboratory of Marine Environmental Science (Xiamen University), Xiamen, Fujian 361005;

2. School of Chemistry &amp; Biology Science, Quanzhou Normal University, Quanzhou, Fujian 362000)

**Abstract:** To investigate the harm of the pollution at low concentration to the environment and human being, the effects of five shampoos on micronuclei in erythrocytes of each *Misgurnus anguillicaudatus* were studied by using micronuclei and nuclear anomalies tests. The fish was exposed in various concentrations of shampoos of 5 brands for 3 d respectively. Smears of blood samples were prepared. The results showed that each shampoo in various concentrations could all significantly increase the frequency of micronuclei respectively. There was statistically significant difference among shampoos at brand and concentration. And the micronuclei increased significantly with the interaction between the concentration and brand for shampoo-exposed individuals. The test indicated that most shampoos, especially Rejoice and Sleek, had mutagenic activity.

**Key words:** *Misgurnus anguillicaudatus*; erythrocytes; micronucleus; shampoo; induction

洗发剂是以清洁护发为目的的个人清洗用品, 由多种成分组成, 其配方组分包括表面活性剂、调理剂、防腐剂和香精等, 其中一些物质具有一定的致突变性<sup>[1,2]</sup>。洗发剂、浴液等使用的表面活性剂主要是脂肪醇聚氧乙烯醚硫酸盐 (AES), 二恶烷是生产该类表面活性剂时产生的副产物, 生产洗发剂 (香波)、浴液时二恶烷可能随原料进入其中<sup>[3]</sup>。而二恶烷结构与目前已知的硝基致癌物类似, 对肝细胞有致癌活性<sup>[4]</sup>。十二烷基硫酸钠 (SDS) 也是一

种常见的阴离子表面活性剂, 广泛应用于液体洗涤剂及化学试剂的工业生产<sup>[5]</sup>。水体中的表面活性剂对鱼类的存活力、繁殖力等有明显的负面影响<sup>[5-7]</sup>, 对抗氧化酶等指标也会产生不同程度的影响作用<sup>[8-12]</sup>, 毒性较大<sup>[13]</sup>。

各种工业合成洗涤剂的大量生产和使用极大地方便了人们的生活, 但也带来了环境污染问题, 对人类或其他生物体造成了危害。目前, 作为水毒理学的一个重要组成部分——水生生物毒性试验已成

收稿日期: 2007-04-20

资助项目: 国家自然科学基金 (40476040); 福建省自然科学基金 (D0410006)

第一作者简介: 陈细香 (1972-), 女, 福建莆田人, 讲师, 博士研究生, 主要从事环境生态学研究。E-mail: cxx02@xmu.edu.cn

通讯作者: 卢昌义。E-mail: lucy@xmu.edu.cn

为评价化学物质对水生生物影响和水体污染的一种重要手段<sup>[14]</sup>，其中比较简便迅捷、敏感准确的检验方法为微核测定法。该方法已被广泛应用于评价各种理化因子的致癌、致突变效应及环境监测等。本实验选取对水环境中低含量污染物敏感的泥鳅 (*Misgurnus anguillicaudatus*) 作为试验动物，采用红细胞微核和核异常测试法就常见的五种洗发剂对泥鳅的红细胞遗传毒效应进行探究，以探讨洗发剂对环境污染和人类健康的影响，同时为保护水源、治理污染提供科学依据，为同类污染物对海洋底栖动物影响的研究提供参比资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 试剂

(1) 飘柔滋润去屑洗发露 (Rejice): 中外合资广州宝洁有限公司

(2) 舒蕾双重护理洗发露 (Slek): 丝宝精细化工 (武汉) 有限公司

(3) 拉芳植物精华洗发液 (laFang): 中外合资广东拉芳集团

(4) 丹芭碧水份滋润洗发露 (Tobaby): 广州丹芭碧化妆品有限公司

(5) 隆力奇蛇胆去屑洗发水 (Longliqi): 江苏隆力奇生物科技股份有限公司

#### 1.1.2 试验动物

试验动物泥鳅 (*Misgurnus anguillicaudatus*) 购自福建泉州新门街菜市场，体长 8.1 ~ 11.5 cm，体重 2.5 ~ 4.5 g，试验前暂养在经曝气的符合饮用水标准的自来水中，每日投喂食物 (金鱼饵料)，每 24 h 换水一次，试验时挑选健康活泼和体表无损的个体进行染毒处理，整个试验期间的水温 23 ~ 25。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 染毒

试验在 5 L 饲养缸内进行，在预试验 (以泥鳅在饲养阶段不出现行为、外形等明显异常为标准) 的基础上，将每种洗发剂配制成体积分数为 0.2%、1.0%、5.0% 3 个试验组，另设一不加洗发剂的对照组，每组均设置 3 个平行处理。每组均投放 5 尾泥鳅 (挑选健康活泼、体表无寄生虫个体进行实验)，试验过程不断充气，每 24 h 换一次等体积分数的洗发剂。

#### 1.2.2 血涂片制备

泥鳅在不同品牌、不同体积分数的洗发剂中染毒 3 d 后取出，断尾取血，制备血涂片。涂片晾干后，甲醇固定 10 min，用磷酸缓冲液 (pH 6.8) 稀释的 Giemsa 液 (体积比 9:1) 染色 15 ~ 25 min，蒸馏水冲洗，晾干。

#### 1.2.3 血涂片观察

血涂片置于 Olympus 显微镜下观察、照相，每尾随机观察 2 000 个左右红细胞，统计其微核细胞率，结果以千分率 (%) 表示。

$$\text{微核细胞率} = \frac{\text{带有微核的细胞数}}{\text{观察的细胞总数}} \times 1000\%$$

#### 1.2.4 数据统计及分析

实验结果用 SPSS 10.0 统计软件进行统计处理，采用双因素方差分析和 Duncan 法检验不同品牌、不同体积分数的洗发剂引起的显著性差异。P < 0.05，认为是差异显著；P < 0.01，认为是差异极显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 洗发剂对泥鳅红细胞微核率的诱导效应

泥鳅正常红细胞多呈椭圆形，其主核一般在细胞正中央，卵圆形或圆形，核膜清晰。泥鳅红细胞因洗发剂诱发产生的微核位于胞质中，为完全与主核分开的圆形或椭圆形微核，大小约在主核的 1/3 以下，微核的染色深度与主核一致或略浅于主核。泥鳅红细胞除形成微核以外，还出现各种核异常的情况，包括核质外凸、核内空泡等 (图 1)。经洗发剂处理后，泥鳅红细胞的微核细胞率比对照组有明显升高 (表 1)。

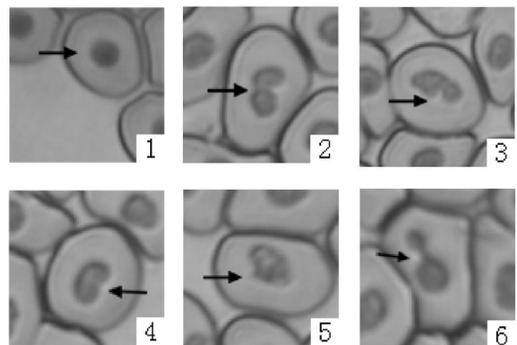


图 1 泥鳅外周血细胞 (×1000)

1. 正常红细胞 2. 双核 3. 核碎裂  
4. 核质内凹 5. 核质外凸 6. 微核

Fig. 1 The peripheral blood cell morphology of *M. anguillicaudatus* (×1000)

血涂片观察结果 (表 1) 显示，五种不同品牌的洗发剂均能诱发泥鳅红细胞微核的形成，具有核损

伤作用，是一种较强的诱变剂，这可能与洗发剂的成分有关<sup>[1,2]</sup>。

表 1 洗发剂诱发泥鳅红细胞微核的观察结果

Tab. 1 Results of micronucleus in loach erythrocytes induced by shampoos

洗发剂	体积分数 (%)	观察细胞 (个)	微核细胞 (个)	微核率 (‰)	
飘柔	0.2	9945	58	5.83	
		10015	59	5.89	
		9989	58	5.81	
		10014	79	7.89	
	1.0	9992	79	7.91	
		10004	79	7.90	
		9929	91	9.17	
		10012	92	9.19	
	5.0	9929	91	9.17	
		10007	58	5.80	
舒蕾	0.2	9983	57	5.71	
		9977	58	5.81	
		9997	69	6.90	
		10004	64	6.40	
	1.0	10007	67	6.70	
		10015	77	7.69	
		9994	76	7.60	
		9985	77	7.71	
	5.0	9942	46	4.63	
		10002	44	4.40	
拉芳	0.2	9962	48	4.82	
		9819	58	5.91	
		9989	58	5.81	
		10009	61	6.09	
	1.0	10023	64	6.39	
		9923	62	6.25	
		9893	65	6.57	
		9939	46	4.63	
	5.0	9969	46	4.61	
		9989	46	4.61	
丹芭碧	0.2	9983	57	5.71	
		10003	56	5.60	
		9981	58	5.81	
		10051	70	6.96	
	1.0	9991	71	7.11	
		9951	67	6.73	
		9939	47	4.73	
		9959	48	4.82	
	5.0	9939	48	4.83	
		10098	59	5.84	
隆力奇	0.2	10008	58	5.80	
		9959	58	5.82	
		9935	64	6.44	
		10015	65	6.49	
	1.0	9935	64	6.44	
		10005	29	2.90	
		9995	22	2.20	
		9996	25	2.50	
	对照				

双因素方差分析 (表 2) 表明，洗发剂诱导的泥鳅红细胞微核率在洗发剂的体积分数以及品牌上均

存在极显著差异 ( $P < 0.01$ )，而且与两者的交互作用也有关 ( $P < 0.01$ )。

表 2 洗发剂诱发泥鳅红细胞微核率的双因素方差分析

Tab. 2 Two-ways ANOVA of the micronucleus rates in loach erythrocytes induced by shampoos

变差来源	平方和	自由度	均方	F
品牌	133.04	5	26.61	821.57**
体积分数	30.49	2	15.24	470.70**
品牌 × 体积分数	9.30	10	0.93	28.73**
误差	1.17	36	0.03	
总和	174.00	53		

注：\*\*  $P < 0.01$ 。

### 2.2 各品牌洗发剂诱发红细胞微核率的结果比较

多重比较 (表 3) 分析表明，各品牌洗发剂的试验组微核率与对照组之间差异均达到极显著水平 ( $P < 0.01$ )。飘柔分别与拉芳、隆力奇、丹芭碧间差异极显著 ( $P < 0.01$ )；舒蕾与拉芳间差异极显著 ( $P < 0.01$ )，而与隆力奇、丹芭碧间差异显著 ( $P < 0.05$ )；拉芳与隆力奇、拉芳与丹芭碧、隆力奇与丹芭碧两两之间的诱变效应的差异不显著 ( $P > 0.05$ )；飘柔与舒蕾两种洗发剂之间的诱变效应差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

表 3 不同品牌洗发剂诱发红细胞微核率多重比较

Tab. 3 Multiple comparison of the effects of micronucleus rates in loach erythrocytes induced by shampoos of different brands

品牌	对照	拉芳	隆力奇	丹芭碧	舒蕾
飘柔	3.64**	1.97**	1.94**	1.89**	0.83
舒蕾	2.81**	1.14**	1.11*	1.06*	
丹芭碧	1.75**	0.08	0.05		
隆力奇	1.70**	0.03			
拉芳	1.67**				

注：\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$ 。

以上分析表明试验所用的五种品牌的洗发剂均能极显著诱发泥鳅红细胞微核的产生，尤其是飘柔和舒蕾两种洗发剂，说明它们具有极强的致突变活性。王鹏等<sup>[3]</sup>的调查结果表明，国产香波、浴液中二恶烷检出率及含量均高于进口、合资企业浴液中的二恶烷，可本研究却显示中外合资的飘柔洗发剂致突变活性最强，这或许是因为洗发剂的致突变机理不仅与二恶烷有关，还与其他成分相关，这有待于进一步实验证实。本试验说明洗发剂成分复杂，对环境的影响不容忽视。

### 2.3 各洗发剂不同体积分数诱发泥鳅红细胞微核

## 率的结果比较

洗发剂的体积分数对泥鳅红细胞微核的诱发效应存在极显著差异(表 2),进一步多重比较(表 4)显示,在试验设计的体积分数范围之内,泥鳅红细胞微核率随体积分数的增加而显著上升。0.2%的洗发剂对泥鳅红细胞微核的诱发效应与对照组之间的差异显著( $P < 0.05$ ),说明低体积分数洗发剂即对泥鳅红细胞微核产生诱发效应,这应引起注意。1.0%和 5.0%的洗发剂对泥鳅红细胞微核的诱发效应与对照组之间的差异极显著( $P < 0.01$ );1.0%与 0.2%的洗发剂的诱发效应之间的差异极显著( $P < 0.01$ ),而与 5.0%的洗发剂对泥鳅红细胞微核的诱发效应差异不显著( $P > 0.05$ ),说明并非体积分数(浓度)越高,其诱发效应越强。这可能是其中某些诱变成分剂量过高,反而抑制了细胞正常的分裂活动,这与汤新慧<sup>[15]</sup>的分析结果是相似的。

表 4 不同体积分数洗发剂诱发红细胞微核率多重比较  
Tab. 4 Multiple comparison of the effects of micronucleus rates in loach erythrocytes induced by shampoos at different concentrations

体积分数 (%)	0.0	0.2	1.0
5.0	2.78**	1.83**	0.72
1.0	2.06**	1.11**	
0.2	0.95*		

注: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

## 3 小结

试验结果表明,不同品牌不同体积分数的洗发剂能对泥鳅的遗传物质造成毒害。但由于我们生活中污染物的排放浓度不高,这种变化通常不表现为急性中毒事件,因此不容易觉察而往往容易被人们所忽视。但实际上,它可能会对水生生物和人类健康产生危害,而取材方便、操作简单、观察迅速、效果显著的微核试验法即可检测到这种潜在的危害。在试验中,泥鳅在低浓度(体积分数为 0.2%)洗发剂中其红细胞即表现为明显的微核现象,因而可以利用泥鳅等对低毒敏感的水生生物对较低排放量的污染物进行检测。

以上探究表明,目前常用的洗发剂大多具有致突变活性,尤其飘柔、舒蕾等这两种洗发剂具有更

强的致突变活性。

## 参考文献:

- [1] 朱卫, 藺国敬, 张贵民. 个人洗护用品配方原理及应用技术(D)——洗发香波的配方原理及其性能评价[J]. 日用化学工业, 2004, 34(5): 323~326.
- [2] 钟志威. 洗发香波的配制及几个常见问题[J]. 科技资讯, 2006, (1): 150~151.
- [3] 王鹏, 柳玉红, 高燕琳, 等. 香波、浴液等化妆品中二恶烷含量调查[J]. 环境与健康杂志, 2002, 19(1): 37~38.
- [4] Mary FA, Joseph CA, Comeliahoch-Liget. Studies on the carcinogenic activity of protein denaturing agents: hepatocarcinogen of dioxane[J]. J Natl Cancer Inst, 1965, 35(6): 949~954.
- [5] Rosety M, Ordonez F J, Rosety-Rodriguez M, et al. Acute toxicity of anionic surfactants sodium dodecyl sulphate (SDS) and linear alkylbenzene sulphonate (LAS) on the fertilizing capability of gilt-head (*Spanus aurata* L.) sperm[J]. Hist Histopathol, 2001, 16(3): 839~843.
- [6] Grant R L, Acosta D. Prolonged adverse effects of benzalkonium chloride and sodium dodecyl sulfate in a primary culture system of rabbit corneal epithelial cells[J]. Fundam Appl Toxicol, 1996, 33(1): 71~82.
- [7] Kobuke Y. Environmental risk evaluation for anionic surfactants based on the characteristics of appearance of high concentration in rivers[J]. Water Sci Tech, 2002, 46(11~12): 263~268.
- [8] Wu J F, Yu Z M, Song X X, et al. Comparative researches on effects of sodium dodecylbenzene sulfonate and sodium dodecyl sulfate upon *Lateolabrax japonicus* biomarker system[J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2005, 20(3): 465~470.
- [9] Melo S L R, Nipper M. Sediment toxicity tests using the burrowing amphipod *Tiburonella viscana* (Amphipoda: Platyischnopidae)[J]. Ecotoxicol Environ Safety, 2007, 66(3): 412~420.
- [10] 郑琰晶, 陈琳, 陈燕平, 等. 十二烷基硫酸钠对水生生物体的急性毒性影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(增刊): 496~498.
- [11] 丁诗华, 孙翰昌, 陈大庆, 等. 阴离子表面活性剂十二烷基硫酸钠对草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 抗氧化功能的影响[J]. 海洋与湖沼, 2006, 37(2): 111~117.
- [12] 刘波, 俞志明, 宋秀贤, 等. 阴离子表面活性剂 SDS 和 SDBS 对紫贻贝生化指标的影响研究[J]. 环境科学, 2007, 28(1): 165~169.
- [13] Sirisattha S, Momose Y, Kitagawa E, et al. Toxicity of anionic detergents determined by *Saccharomyces cerevisiae* microarray analysis[J]. Water Res, 2004, 38(1): 61~70.
- [14] 周永欣, 章宗涉. 水生生物毒性试验方法[M]. 北京: 农业出版社, 1989.
- [15] 汤新慧. 洗发香波诱发蝌蚪红细胞微核的研究[J]. 上海环境科学, 1999, 4(4): 185~188.