

Initial Study on Acute Toxicity of Two Chlorination Disinfection by-Products (CDBPs) against *Paramecium Caudatum*

Xiaoshan Li, Feifei Chen, Yanchao Wang, Nenghong Wang, Tianle Tang*

Environmental Science, School of Tropical and Laboratory Medicine, Hainan Medical University, Haikou Hainan
Email: [*tll-0114@163.com](mailto:tll-0114@163.com)

Received: Jun. 30th, 2015; accepted: Jul. 10th, 2015; published: Jul. 15th, 2015

Copyright © 2015 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Chlorination is widely applied to disinfect drinking water in China. However, a series of chlorinated disinfection by-products (CDBPs) are formed when chlorine reacts with organic matters in water health. Many CDBPs can cause health hazards for human, for example, cancers and mutagenic and reproductive toxicity. For the study of disinfection by-products in some wastewater toxicity, this study used the harmful by-products, chloroform (CHCl_3) and methyl bromide (CHBr_3) in disinfection wastewater, as poison materials. In single acute toxicity test and joint toxicity test, the acute toxicity and joint toxicity of CHCl_3 and CHBr_3 to paramecium were studied. The results show that, when the two toxicants work separately, toxic effects increase along with the increasing concentration. The median lethal concentration (LC_{50}) of CHCl_3 in 1 h was $1585.27 \mu\text{g/L}$ and that of CHBr_3 was $656.37 \mu\text{g/L}$, and it showed a synergistic effect when combining two poisons. Since paramecium is sensitive to the toxicity of the two poisons, it can be used to evaluate the toxicity of CHCl_3 and CHBr_3 .

Keywords

CHCl_3 , CHBr_3 , *Paramecium Caudatum*, Acute Toxicity

*通讯作者。

两种含氯消毒副产物对草履虫急性毒性效应初探

李晓珊, 陈菲菲, 王彦超, 王能红, 唐天乐*

海南医学院热带医学与检验医学院环境科学专业, 海南 海口

Email: t1-0114@163.com

收稿日期: 2015年6月30日; 录用日期: 2015年7月10日; 发布日期: 2015年7月15日

摘要

氯化消毒是我国普遍采用的城市污水消毒措施, 然而, 氯化消毒的同时, 氯与水中的有机物发生反应生成一系列的卤代烃类化合物, 即氯化消毒副产物。经研究证实大部分氯化消毒副产物具有致癌、致突变、生殖毒性效应。为研究消毒废水中一些副产物的毒性, 本研究采用消毒废水中的有害副产物三氯甲烷(CHCl_3)和三溴甲烷(CHBr_3)为毒物材料, 以草履虫为受试生物, 对其种群进行单一急性毒性和联合毒性实验, 探究 CHCl_3 和 CHBr_3 对草履虫的急性毒性和联合毒性。实验结果表明, 两种毒物单独作用时, 随着浓度增大, 毒性作用也增大, CHCl_3 的1 h半致死浓度(LC_{50})为1585.27 $\mu\text{g/L}$, CHBr_3 的1 h半致死浓度(LC_{50})为656.37 $\mu\text{g/L}$, 两种毒物共同作用时表现为协同作用。由于草履虫对两种毒物毒性较为敏感, 其可作为 CHCl_3 和 CHBr_3 的毒性评价生物。

关键词

三氯甲烷, 三溴甲烷, 草履虫, 急性毒性

1. 引言

氯化消毒一直是国内外城市给水处理中广泛采用的消毒手段, 目的在于消灭水中微生物, 防止介水传染性疾病的传播。氯化消毒具有灭藻、除臭、除味和去色的功能, 杀菌效果好、除菌及虫卵彻底、高效持续、价格低廉、使用方便等优点, 迅速被世界各国广泛应用。但是, 消毒剂可与天然水体中腐殖质有机物发生反应, 生成以卤代有机物为代表的消毒副产物(chlorination disinfection by products, CDBPs)。长期饮用含此类副产物的水可能会对人体有害[1]。1974年, Rook和Bellar分别报道了氯化消毒后会形成三卤甲烷和其他卤化物等系列氯化消毒副产物, 其中主要是三卤甲烷(THMs), 包括三氯甲烷、三溴甲烷等, 会对人体健康构成潜在的威胁[2]-[4]。1976年, 美国国家癌症协会研究发现, CHCl_3 对人体的危害主要作用于中枢神经系统, 造成肝和肾损害, 已被流行病学证实 CHCl_3 对动物具有致癌作用。饮用水、医院废水等都要经过氯化消毒环节, 在此过程中产生的氯化消毒副产物已被证实有致癌、致畸、致突变的危害[5]。本研究团队经过前期调查检测发现, 海南某三甲医院废水经过消毒后消毒副产物三氯甲烷的浓度在2014年6、9、12月份浓度分别为154、467、199 $\mu\text{g/L}$; 三溴甲烷的浓度在6、9、12月份浓度分别101、332、196 $\mu\text{g/L}$ 。过去研究主要集中于消毒副产物对人体的危害上, 但其对环境的潜在威胁在过去并不受到人们的重视, 所以对其副产物的研究具有很高的数据积累意义, 为今后的深入研究提供数据支持。

草履虫(*Paramecium caudatum*)是原生动动物门纤毛纲的代表动物,分布广泛,其具有结构典型、易培养、繁殖快、观察方便等特点。环境的微小变化可导致其形态、行为、结构等改变,故其可作为环境指示生物之一。草履虫运动迅速,能与周围介质充分接触,对毒物更为敏感,与纯化学手段相比,更能形象的反应环境污染物的毒理效应。近年草履虫常作为受试生物进行急性毒性实验,研究重金属、农药等污染问题,反应污染物毒性,为合理使用农药、治理环境污染等提供科学依据[6] [7]。本课题以草履虫为研究对象,探究了两种毒性物质对其种群的急性毒性影响,旨在发现其毒性效应存在显著的剂量效应关系,为草履虫在水体环境监测中的进一步应用提供参考。

2. 耗材和方法

2.1. 耗材

2.1.1. 材料

草履虫、稻草

2.1.2. 试剂

三氯甲烷、三溴甲烷、均为分析纯试剂

2.1.3. 仪器

SMARTe-320 一体化数码显微镜(重庆奥特光学仪器有限公司), SMZ-DM320 数码体视显微镜(重庆奥特光学仪器有限公司), RS-60S 超声波细胞粉碎机(宁波荣顺科技仪器厂), YP1201N 电子天平(上海精密科学仪器有限公司), BSG-400 光照培养箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂)。

烧杯、锥形瓶、长颈漏斗、凹玻片、盖玻片、载玻片、移液枪、毛细玻璃管、玻璃棒、剪刀、纱布、滤纸、EP 管、万用电炉、解剖针。

2.2. 方法

2.2.1. 实验设计

本实验草履虫取自海南医学院人工湖,通过培养、纯化,以 CHCl_3 、 CHBr_3 为毒物,通过设计浓度梯度毒性实验,记录草履虫的死亡情况,绘制半致死浓度曲线,利用 GraphPad Prism 5.0 和 SPSS 17.0 统计分析。

2.2.2. 草履虫培养

1) 稻草培养液的制备:取 20 g 被剪短为 2~3 cm 的稻草,置于 1000 mL 水中,加热煮沸 15 min, pH 为 7 左右,蒙上双层纱布,在室温下放置 24 h 备用[8]。

2) 草履虫的培养:取海南医学院人工湖枯枝落叶较多处的湖水,经纱布过滤,浓缩,置于锥形瓶中,加稻草培养液,于光照培养箱(25 °C60%光照)中培养 3~6 d,即有大量草履虫出现。

3) 草履虫纯化:取含有草履虫的上层培养液加入新鲜培养液继续培养 5 d,如此反复更换培养液 4~5 次后,即可得到纯的草履虫。

2.2.3. 染毒剂量设计

在正式实验之前,分别用 CHCl_3 和 CHBr_3 对草履虫进行 1 h 单一毒性预实验,得出用 CHCl_3 对草履虫暴露 1 h 的绝对致死剂量为 2779.17 $\mu\text{g/L}$ 、最小致死剂量为 1005.18 $\mu\text{g/L}$;用 CHBr_3 对草履虫暴露 1 h 的绝对致死剂量为 1559.34 $\mu\text{g/L}$ 、最小致死剂量为 260.31 $\mu\text{g/L}$ 。根据此范围,采用简化寇氏法设计两种毒物的浓度梯度组,并设空白对照,每个浓度梯度三组平行。 CHCl_3 的浓度梯度组为:0、1005.18、1295.27、

1667.74、2052.14、2779.17 $\mu\text{g/L}$ ； CHBr_3 的浓度梯度组为：0、260.31、404.37、624.24、967.85、1559.34 $\mu\text{g/L}$ 。联合作用采用 2×2 析因设计[9]，即 799.67 $\mu\text{g/L}$ $\text{CHBr}_3 + 1389.54 \mu\text{g/L}$ CHCl_3 ，799.67 $\mu\text{g/L}$ $\text{CHBr}_3 + 647.63 \mu\text{g/L}$ CHCl_3 ，202.184 $\mu\text{g/L}$ $\text{CHBr}_3 + 1389.54 \mu\text{g/L}$ CHCl_3 ，202.18 $\mu\text{g/L}$ $\text{CHBr}_3 + 647.63 \mu\text{g/L}$ CHCl_3 ，共四种联合方式。

2.2.4. 染毒

用相应浓度的毒物将数好的草履虫冲入 EP 管中，用黑色袋子将其盖住，避光放置一小时后观察。

吸取 EP 管中溶液于凹玻片上，利用解剖镜观察草履虫存活个体数。再取纯培养液冲洗 EP 管并吸出观察是否有存活草履虫。

2.2.5. 数据处理

本实验数据表示方法为均数 \pm 标准偏差，采用 GraphPad Prism 5.0 和 SPSS 17.0 统计软件对两种毒物的急性毒性实验数据统计分析，根据百分率与概率单位对照表，将死亡率转换成概率单位；概率单位为 Y，浓度对数为 X。应用 SPSS 软件对概率单位(Y)与浓度对数(X)进行回归分析，得到回归方程 $Y = aX + b$ ，计算 LC_{50} [10]。P < 0.05 表示存在显著差异，用*表示；P < 0.01 表示存在极显著差异，用**表示。

析因分析中，P < 0.05 表示 $\text{CHCl}_3 + \text{CHBr}_3$ 间有交互作用，联合作用呈协同作用或拮抗作用；P \geq 0.05 表示 $\text{CHCl}_3 + \text{CHBr}_3$ 间无交互作用，其联合作用呈相加作用。

3. 结果

3.1. 草履虫

用蓝墨水染色在显微镜下观察到的草履虫形态如图 1 所示。

3.2. CHCl_3 的急性毒性作用

对 CHCl_3 对草履虫 1 h 的急性毒性实验结果如表 1 所示，采用 SPSS 17.0 统计软件对实验结果进行统



Figure 1. The morphology of paramecium caudatum
图 1. 草履虫形态

Table 1. The acute toxicity of CHCl_3 to *P. caudatum* (1 h)

表 1. CHCl_3 对草履虫急性毒性实验结果(1 h)

组别	剂量 C ($\mu\text{g/L}$)	lgC	死亡个数	死亡率	概率单位/Y
1	0	0	0	0	/
2	1005.18	3.00	1.33 ± 0.58	11 ± 2.65	3.77
3	1295.27	3.12	3.33 ± 0.57	27.67 ± 3.06	3.42
4	1667.74	3.22	7.33 ± 1.53	59.33 ± 8.08	5.23
5	2052.14	3.13	10.67 ± 0.58	80.33 ± 4.16	5.84
6	2779.16	3.44	12.00 ± 1.73	100	/

计分析, 结果显示, 回归系数为 0.002, 相伴概率差异具有统计学意义, 说明相关性很强[11]; 拟合优度 Chi-square 检验 $\chi^2 = 0.677$, $P = 0.954$, 说明样本来自总体分布, 没有异质性因素, 模型拟合良好。得到回归方程 $y = -3.268 + 0.002x$, 通过观察置信区间 CHCl_3 对草履虫的 1 h 半致死浓度 LC_{50} 为 $1585.27 \mu\text{g/L}$, LC_{50} (F 检验) 95% 的可信限为 $1473.86 \sim 1698.66 \mu\text{g/L}$, 5% 致死浓度 LC_5 为 $787.48 \mu\text{g/L}$, 95% 致死浓度 LC_{95} 为 $2383.06 \mu\text{g/L}$ 。

CHCl_3 对草履虫死亡率的影响如图 2 所示, CHCl_3 浓度与死亡率成梯度增长, 在设计的暴露组中, 各浓度组与对照比较均具有极显著差异 ($P < 0.01$)。

3.3. CHBr_3 的急性毒性作用

CHBr_3 对草履虫 1 h 急性毒性实验结果表 2 所示, 采用 SPSS17.0 统计软件对实验结果进行统计分析, 结果显示回归系数为 0.003, 相伴概率差异具有统计学意义, 说明相关性很强。得到回归方程 $y = -1.705 + 0.003x$ 。 CHBr_3 对草履虫的 1 h 半致死浓度 LC_{50} 为 $656.37 \mu\text{g/L}$, LC_{50} (F 检验) 95% 的可信限为 $403.69 \sim 1000.12 \mu\text{g/L}$, 5% 致死浓度为 LC_5 为 $23.34 \mu\text{g/L}$, 95% 致死浓度 LC_{95} 为 $1289.41 \mu\text{g/L}$ 。

CHBr_3 对草履虫死亡率影响如图 3 所示 CHBr_3 浓度与死亡率成梯度增长, $260.32 \mu\text{g/L}$ CHBr_3 浓度暴露组与空白对照组比较无显著性差异 ($P > 0.05$)。说明低浓度 CHBr_3 对草履虫伤害很小, 后四组与空白对照组比较有极显著性差异 ($P < 0.01$), 说明草履虫对大于 $404.36 \mu\text{g/L}$ CHBr_3 非常敏感。

3.4. 联合毒性试验

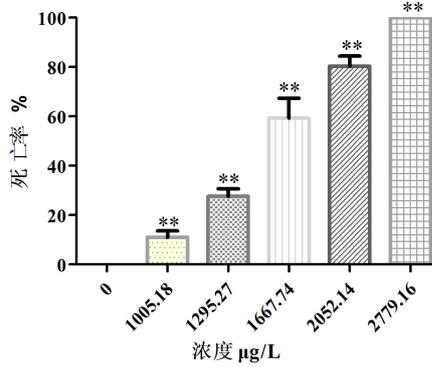
$\text{CHCl}_3 + \text{CHBr}_3$ 对草履虫的联合毒性试验结果见表 3。通过查找 CHCl_3 急性毒性置信区间可得 $1389.58 \mu\text{g/L}$ 的死亡率为 35%, $647.63 \mu\text{g/L}$ 的死亡率为 3%。查找 CHBr_3 急性毒性置信区间可得 $799.67 \mu\text{g/L}$ 的死亡率为 66%, $202.184 \mu\text{g/L}$ 的死亡率为 15%。整理单一毒性和联合毒性实验质量浓度与死亡率之间的关系见表 4。

对 $\text{CHCl}_3 + \text{CHBr}_3$ 联合作用对草履虫急性毒性作用的影响如表 4 所示, $202.18 \mu\text{g/L}$ $\text{CHBr}_3 + 647.63 \mu\text{g/L}$ CHCl_3 联合作用于草履虫后, 草履虫的死亡率为 53%; $202.184 \mu\text{g/L}$ $\text{CHBr}_3 + 1389.58 \mu\text{g/L}$ CHCl_3 联合作用于草履虫后, 草履虫的死亡率为 82%; 同样 $799.67 \mu\text{g/L}$ $\text{CHBr}_3 + 647.63 \mu\text{g/L}$ CHCl_3 、 $799.67 \mu\text{g/L}$ $\text{CHBr}_3 + 1389.58 \mu\text{g/L}$ CHCl_3 联合作用于草履虫后, 草履虫的死亡率为 100%。 $\text{CHCl}_3 + \text{CHBr}_3$ 联合染毒对草履虫的致死率明显高于单一剂量组, 差异显著 ($P < 0.05$)。析因分析结果表明: $\text{CHCl}_3 + \text{CHBr}_3$ 联合染毒对草履虫致死率交互作用明显, CHCl_3 和 CHBr_3 联合作用表现为协同作用 ($F = 8.345$, $P = 0.02$)。

3.5. 讨论

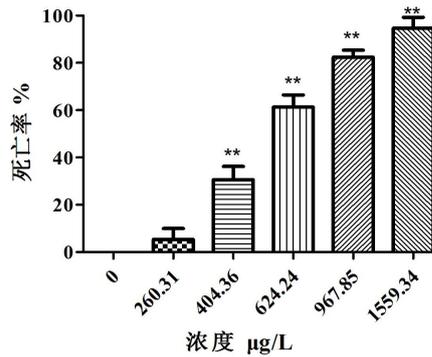
关于 CHCl_3 、 CHBr_3 毒性作用已有一些报导。沈洛夫[12]等人试验得出 CHCl_3 对盐藻的 48 h 半数有效抑制浓度 EC_{50} 为 $1.17 \mu\text{mol/L}$, CHBr_3 对盐藻的 48 h 半数有效抑制浓度 EC_{50} 为 $1.02 \mu\text{mol/L}$, 得到毒性大小 $\text{CHBr}_3 > \text{CHCl}_3$ 。金志玉[13]等人试验得出 CHCl_3 的浓度在 $0 \sim 6000 \mu\text{g/L}$ 范围内时, 微核细胞率随受试液浓度的增高而升高, 呈明显的剂量 - 反应关系。王东[14]等人研究表明在 PCR 反应体系中三氯甲烷的摩尔浓度大于等于 3.77 mol/L 时, 能完全抑制 PCR 反应。李艳霞[15]研究了 CHBr_3 对 DNA 吸收光谱的影响, 随加入 CHBr_3 的浓度逐渐增加, DNA 吸收光谱产生减色效应, 并伴随着明显的光谱红移, 这些结果表明, CHBr_3 和 DNA 之间有较强的结合作用。

本研究显示, CHCl_3 对草履虫 1 h 急性毒性作用 LC_{50} 为 $1585.27 \mu\text{g/L}$, 其浓度越高, 草履虫死亡率越高; CHBr_3 对草履虫 1 h 急性毒性作用 LC_{50} 为 $656.37 \mu\text{g/L}$, 其浓度越高, 草履虫死亡率越高。充分证明了草履虫死亡率随二者浓度的升高而增高, 呈明显的剂量 - 反应关系。本实验结果表明 CHBr_3 毒性大于 CHCl_3 , 与沈洛夫等人的研究结果一致。



注：与对照组比较**P < 0.01。

Figure 2. The concentration of CHCl₃ and Paramecium mortality histogram
图 2. CHCl₃ 浓度与草履虫死亡率柱状图



注：与对照组比较**P < 0.01。

Figure 3. The concentration of CHBr₃ and paramecium mortality histogram
图 3. CHBr₃ 质量浓度与草履虫死亡率柱状图

Table 2. The acute toxicity of CHBr₃ to *P. caudatum* (1 h)
表 2. CHBr₃ 对草履虫急性毒性实验结果(1 h)

组别	剂量 C(µg/L)	lgC	死亡个数	死亡率	概率单位/Y
1	0	0	0	0	/
2	260.31	2.42	0.67 ± 0.58	5.33 ± 4.62	3.36
3	404.36	2.61	4.00 ± 1	30.67 ± 5.51	4.50
4	624.24	2.80	7.33 ± 1.53	61.67 ± 12.58	5.28
5	967.85	2.98	10.67 ± 0.58	82.33 ± 3.06	5.92
6	1559.34	3.19	12.00 ± 0	94.67 ± 4.62	6.64

Table 3. Test result of toxicity CHCl₃ + CHBr₃ combination (1 h)
表 3. CHCl₃ + CHBr₃ 联合毒性试验结果(1 h)

组别	CHBr ₃ + CHCl ₃ 剂量 C/(µg/L)	lgC	死亡个数	死亡率%	概率单位/Y
1	799.67 + 1389.58	2.89/3.14	12.67 ± 0.58	100	/
2	799.67 + 647.63	2.89/2.81	12.33 ± 1.16	100	/
3	202.18 + 1389.58	2.31/3.14	9.33 ± 2.89	82.00 ± 8.89	4.50
4	202.18 + 647.63	2.31/2.81	7.33 ± 2.08	52.33 ± 15.63	5.28

Table 4. The test results of CHCl_3 + CHBr_3 concentration and mortality of single and combined effects (1 h)
表 4. CHCl_3 + CHBr_3 单独与联合作用浓度与死亡率试验结果(1 h)

CHCl_3 ($\mu\text{g/L}$)	CHBr_3 ($\mu\text{g/L}$)		
	0	202.18	799.67
0	0	15%	65%
647.63	3%	53%	100%
1389.58	35%	82%	100%
析因分析	F		P
CHCl_3	8.345		0.02
CHBr_3	41.397		0.00
CHCl_3 + CHBr_3	8.345		0.02

4. 结论

论通过研究 CHCl_3 、 CHBr_3 对草履虫单一急性毒性和联合毒性，得到如下结论：

1) CHCl_3 对草履虫的急性毒性实验表明，随着 CHCl_3 浓度增高，其对草履虫的毒性增大，且呈现出明显的剂量效应关系。1 h 半致死浓度 LC_{50} 为 1585.27 $\mu\text{g/L}$ ，95% 的置信区间为 1473.86~1698.66 $\mu\text{g/L}$ ；

2) CHBr_3 对草履虫的急性毒性实验表明，随着 CHBr_3 浓度增高，其对草履虫的毒性增大，且呈现出明显的剂量效应关系。1 h 半致死浓度 LC_{50} 为 656.37 $\mu\text{g/L}$ ，95% 的置信区间为 403.69~1000.12 $\mu\text{g/L}$ ；

3) 对草履虫单一急性毒性， CHBr_3 的毒性大于 CHCl_3 ；

4) 联合作用采用 2×2 析因设计，799.67 $\mu\text{g/L}$ CHBr_3 + 1389.53 $\mu\text{g/L}$ CHCl_3 ，799.67 $\mu\text{g/L}$ CHBr_3 + 647.63 $\mu\text{g/L}$ CHCl_3 ，202.18 $\mu\text{g/L}$ CHBr_3 + 1389.58 $\mu\text{g/L}$ CHCl_3 ，202.18 $\mu\text{g/L}$ CHBr_3 + 647.63 $\mu\text{g/L}$ CHCl_3 等不同剂量组合对草履虫急性毒性作用，结果表明， CHCl_3 和 CHBr_3 对草履虫联合毒性表现为协同作用。

综上所述，草履虫可作为一种敏感指示生物来评估 CDBPs 的长期危害，为水污染的减排和生境的保护提供了一种新途径。

致 谢

感谢教育部大学生创新创业训练计划项目 201211810059 的支持，以及唐天乐老师对课题的指导。

参考文献 (References)

- [1] 李谦, 周敏, 刘天洁, 范正轩, 张正东 (2013) 城镇饮用水中氯化消毒副产物形成影响因素的研究. *中国消毒学杂志*, **4**, 299-302.
- [2] Hrudey, S.E. (2009) Chlorination disinfection by-products, public health risk tradeoffs and me. *Water Research*, **43**, 2057-2092. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2009.02.011>
- [3] Richardson, S.D., Plewa, M.J. and Wagner, E.D. (2007) Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: A review and roadmap for research. *Mutation Research*, **636**, 178-242. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrrev.2007.09.001>
- [4] WHO (2000) International programme on chemical safety disinfectants and disinfectant by-products. Environmental Health Criteria 216, Geneva.
- [5] 鲁文清, 刘爱林 (2007) 饮水消毒副产物研究进展. *癌变·畸变·突变*, **3**, 181-183.
- [6] Rao, J.V., Srikantha, K. and Arepalli, S.K. (2006) Toxic effects of acephate on *Paramecium caudatum* with special emphasis on morphology, behaviour, and generation time. *Pesticide Biochemistry & Physiology*, **86**, 131-137 <http://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2006.02.005>
- [7] 张甲耀, 张甫英 (1996) 三种有机磷萃取剂对水生生物的毒性效应. *中国环境科学*, **5**, 382-385.

- [8] 韩九皋, 马惠钦, 王洪江 (2007) 草履虫培养与观察方法的探讨. *水利渔业*, **6**, 77-78.
- [9] 张蕾, 徐镜波, 杨丽 (2004) 析因试验设计在环境污染物联合毒性研究中的应用. *干旱环境监测*, **1**, 20-22.
- [10] 李霖, 王君, 刘俊 (2010) 杀菌剂多菌灵对草履虫的毒性研究. *江苏农业科学*, **5**, 493-494.
- [11] 李海龙, 张桂林, 党荣理 (2011) 应用 SPSS 软件进行杀虫剂的 KT_{50} 分析. *中国媒介生物学及控制学杂志*, **2**, 155-157.
- [12] 沈洛夫, 姜建国, 赖凤英 (2003) 卤代物对盐藻的毒性试验及比较. *四川环境*, **2**, 17-18.
- [13] 金志玉, 马松科, 杨儒道 (1997) 应用蚕豆根尖细胞微核试验研究三氯甲烷与四氯化碳的遗传毒性. *癌变·畸变·突变*, **3**, 150-153.
- [14] 王东, 宋君, 尹全 (2011) 三氯甲烷和乙醇对转基因成分检测的抑制. *中国测试*, **5**, 56-58.
- [15] 李艳霞 (2007) 饮用水消毒副产物三溴甲烷及金属离子与 DNA、蛋白质的作用研究. 硕士论文, 山西大学, 太原.