

SBS 屋面径流生物毒性分析与检测

高玉婵¹, 赵乐军², 宋现才², 金星龙^{1*}

(1. 天津理工大学环境科学与安全工程学院, 天津 300000;

2. 天津市市政工程设计研究总院, 天津 300392)

摘要: 针对屋面降雨径流水质安全问题, 以天津市某大学 SBS(改性沥青)屋顶径流为研究对象, 结合固相萃取技术, 利用发光菌急性毒性试验及 SOS/umu 遗传毒性试验等生物检测方法, 分析了 2018 年 8 月两场屋面降雨径流中生物毒性随降雨时间的变化。结果表明, 初期径流水质较差, 具有较高的急性毒性及遗传毒性, 随着时间的延长急性毒性和遗传毒性均呈现降低的趋势, 且 8 月 30 日径流样品毒性大于 8 月 19 日样品毒性; 两场降雨中不同时间段径流样品诱导率 I_R 检测结果均大于 2, 表现为致突变阳性结果, 会引发 DNA 损伤效应。研究结果为雨水水质安全评价及资源的循环利用提供了可靠数据支持。

关键词: 屋面径流; 发光菌试验; SOS/umu 试验; 急性毒性; 遗传毒性

中图分类号: X171.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2020)05-0227-04

DOI: 10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2020.05.050

Bio-toxicity analysis and detection of SBS roof runoff

GAO Yu-chan¹, ZHAO Le-jun², SONG Xian-cai², JIN Xing-long^{1*}

(1. School of Environmental Science and Safety Engineering, Tianjin University of Technology,

Tianjin 300000, China; 2. Tianjin Municipal Engineering Design & Research Institute, Tianjin 300392, China)

Abstract: Aiming at the safety of roof rainfall runoff water quality, acute toxicity and genetic toxicity in roof rainfall runoff water are investigated by using the luminescent bacteria test and the SOS/umu test associated with solid phase extraction method. The experiment is carried out at a green roof of a university in Tianjin for the rainfall respectively on August 19 and August 30, 2018. The results reveal that the roof rainfall runoff water is seriously polluted in the early stage and has high acute toxicity and genetic toxicity. With the extension of time, both the acute toxicity and the genotoxicity decrease gradually. The toxicity of the runoff rainwater samples on August 30 is higher than that of the runoff rainwater samples on August 19. For the samples collected in the two rainfall events, the induction rates I_R are bigger than 2, showing a mutation positive result, which will trigger DNA damage effects. The experimental results provide reliable data support for water quality assessment and recycling of rainwater resources.

Key words: roof runoff; luminescent bacteria test; SOS/umu test; acute toxicity; genetic toxicity

随着我国海绵城市建设相关工作的开展, 对降雨径流污染程度实施全面有效的监测可以为城市地表径流的总量、污染物总量的控制提供参考, 提高城市地表径流利用的效率和效益。但目前对于降雨径流水质监测指标主要侧重于现行国家水质质量标准中提出的单一指标(如锌、铜等)和综合指标(总耗氧量、总有机碳等)^[1]。事实上, 雨水径流中存在的污染物种类繁多, 并且相互之间存在拮抗、协同作用, 其中有毒有害物质通过在生物体内富集, 对人类健康造成间接伤害^[2]。美国等发达国家在生物毒性检测及评价标准的制定方面已相对完善, 而我国起步较晚, 且大多研究着重于污水、废水等水质的生物毒性效应, 往往忽略直接排入接纳水体的降雨径

流。高晶等^[3]在 2017 年研究了不同下垫面降雨径流遗传毒性变化, 结果显示, 屋面和道路径流遗传毒性最高分别达到 287、559 ng/L, 高于张秋亚等^[4]在 A²/O 污水处理工艺生物毒性研究中出水遗传毒性大小(170 ng/L)。因此, 降雨径流水质评价中增加生物毒性指标才能更全面、直观地反映水体的安全性。

发光菌试验和 SOS/umu 试验分别是针对样品中急性毒性和遗传毒性发展起来的生物毒性检测方法, 具有灵敏度高、简单有效等特点。前者根据水体中有毒物质会对参与发光反应的酶类活性或细菌代谢过程产生抑制作用, 而导致发光度降低的原理, 通过测定发光细菌发光强度变化程度判断水体急性毒

收稿日期: 2019-08-21; 修回日期: 2020-03-11

基金项目: 天津市技术创新引导专项项目(16YDLJJSF00030); 天津市高等学校创新团队项目(TD13-5021)

作者简介: 高玉婵(1991-), 女, 硕士生; 金星龙(1973-), 男, 教授, 研究方向为水污染控制及资源化, 通讯联系人, xinglongjin@tjut.edu.cn。

性的大小。SOS/umu 试验则是利用诱变物会导致细菌 DNA 受损而引发 SOS 反应激活 UmuC 融合基因,表达出 β -半乳糖苷酶基因活性的融合蛋白,因此通过测定该酶的活性确定受试物 DNA 受损的程度^[3],进而判断水体遗传毒性的大小。本次研究通过发光菌试验和 SOS/umu 试验分别对 2018 年 8 月 19 日和 8 月 30 日两场 SBS 屋面降雨径流的急性毒性和遗传毒性随降雨历时变化特征及产生原因进行了讨论,以期为屋顶降雨径流更为全面的水质安全评价提供理论依据。

1 材料与试验方法

1.1 试验材料

发光菌试验和 SOS/umu 试验菌种分别选择明亮发光杆菌 502 (*Photobacterium phosphoreum*) 和鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*) TA1535/PSK1002,菌种复苏后与已灭菌的 20% 丙三醇以 1:1 的比例混合均匀后分装至 1.5 mL 的离心管内置于 -20℃ 和 -80℃ 的冰箱中冻存,以待使用。

发光菌试验所用主要仪器:恒温摇床,电子分析天平,超净工作台,水质毒性快速检测仪等。主要试剂:ZnSO₄·7H₂O, Na₂HPO₄·12H₂O, DMSO (二甲基亚砜),酵母浸膏,胰蛋白胨等。SOS/umu 试验所用主要仪器:微孔板恒温振荡器,水浴振荡器,紫外可见分光光度计,酶标仪等。主要试剂:DMSO (二甲基亚砜),ONPG (β -半乳糖苷酶),4-NQO (4-硝基喹啉-1-氧化物)等^[5]。

1.2 样品采集与预处理

该实验采样点选择天津市某大学教学楼屋顶,为提高屋面的防水性能,2018 年 6 月 27 日新铺设 SBS 防水材料。自降雨开始,少量雨水被屋顶绿色植物蓄滞,大部分雨水形成径流经过对 SBS 屋面的冲刷,从两侧的出水管排放至地面,采样点则设置于 2 个出水管下方。根据《大气降水样品的采集与保存》(GB 13580.2—92)^[3]所述方法,设计样品收集的原则。8 月 19 日和 8 月 30 日降雨过程中采样间隔(min)分别为:5,5,10,10,15,15,30,30,60;15,10,5,5,10,10,15,15,30,水样收集并混合均匀后储存于采样瓶中。

样品收集完成,迅速运回实验室,先后用滤纸和玻璃纤维滤膜过滤,然后利用活化后的 OASIS HLB 固相萃取柱对水样中有毒有害物质进行富集浓缩。富集完成后,萃取柱依次加入甲醇、二氯甲烷和正己

烷进行洗脱^[6],收集洗脱液利用氮吹仪缓慢吹脱有机物至 0.9 mL,再用氮气流吹干,DMSO 定容至 200 μ L,-20℃ 条件下保存。

1.3 发光菌急性毒性试验

将冻存菌液从冰箱取出室温下融解,加入到培养基,在恒温摇床中 20℃、130 r/min 条件下连续振荡 36~48 h,待细菌复苏成功,吸取 1 mL 原培养基菌液移至新培养基,继续培养 12 h,待细菌生长至对数期进行试验,具体步骤根据 GB/T 15441—1995 中所述方法进行。

样品急性毒性大小判定常用 EC_{50} 表示,本次研究为确保试验有效性选择 Zn²⁺ 为阳性参照物^[7],将不同浓度 Zn²⁺ 及其对发光菌抑制率关系进行拟合做得标准曲线,同理得到样品对发光菌荧光抑制作用曲线,分别求得 $EC_{50-Zn^{2+}}$ (0.206 4 mg/L) 和 $EC_{50-Sample}$,通过公式(1)^[7]将两者做比转化为锌离子当量浓度 $EQC_{Zn^{2+}}$ (mg/L) 进行急性毒性定量表征。

$$EQC_{Zn^{2+}} = EC_{50-Zn^{2+}} / EC_{50-Sample} \quad (2)$$

式中, $EC_{50-Zn^{2+}}$ 为发光菌抑制率等于 50% 时锌离子浓度,mg/L; $EC_{50-Sample}$ 为发光菌抑制率等于 50% 时样品富集因子。

1.4 SOS/umu 遗传毒性试验

将冻存菌液从 -80℃ 冰箱中取出室温下融解,注入到 TGA 培养基 37℃、120 r/min 条件下水浴振荡 12 h,完成复苏,重新吸取 1 mL 原培养基菌液移至新 TGA 培养基,继续振荡 1.5 h,测其吸光度为 0.7~0.8 时,用于样品测定,具体试验步骤参见文献[7]。

生长因子 G 和诱导率 I_R 的计算方法如公式(2)、(3)^[3]所示:

$$G = (A_{595,T} - A_{595,B}) / (A_{595,N} - A_{595,B}) \quad (2)$$

$$I_R = (1/G) \times [(A_{415,T} - A_{415,B}) / (A_{415,N} - A_{415,B})] \quad (3)$$

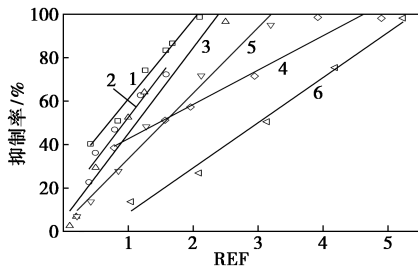
式中, $A_{595,T}$ 、 $A_{415,T}$ 、 $A_{595,B}$ 、 $A_{415,B}$ 、 $A_{595,N}$ 、 $A_{415,N}$ 分别为样品、空白对照、阴性对照在 595 nm 和 415 nm 处吸光度。

当 $G > 0.5$ 时,才可用于计算 I_R , $I_R > 2$ 时,表现为致突变阳性结果^[8]。SOS/umu 试验利用阳性参照物 4-NQO 和样品剂量-效应曲线进行线性拟合得到斜率,将其做比转化为 4-NQO 当量浓度 TEQ_{4-NQO} (ng/L) 作为判断遗传毒性大小的依据^[9]。标准物 4-NQO 剂量-效应曲线为 $y = 0.096 3x + 0.556$ ($R^2 = 0.996 1$)。

2 生物毒性试验结果与分析

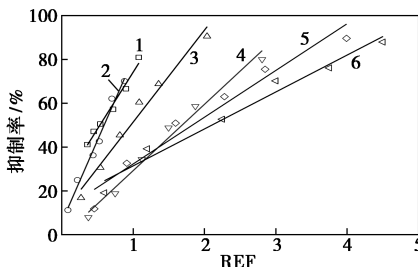
2.1 发光菌试验数据结果分析

图1展示了8月19日(降雨事件I)和8月30日(降雨事件II)不同时间段屋面降雨径流急性毒性的变化规律。如图1(a)、(b)所示,径流样品 EC_{50} 值随采样时间呈上升趋势。由图1(c)可知,降雨事件I中自径流产生开始25 min内径流样品 $EQC_{Zn^{2+}}$ 分别为0.65、0.49 mg/L,随着时间的延长,急性毒性逐渐减小,最终降至0.15 mg/L。降雨事件II中 $EQC_{Zn^{2+}}$ 整体变化具有相似特征,特别地,降雨时间至15 min时,急性毒性出现大幅度下降,后趋



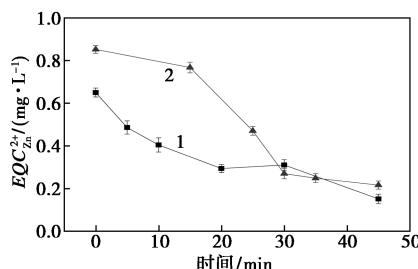
1— $R^2=0.9840, EC_{50}=0.7019$; 2— $R^2=0.9537, EC_{50}=0.9381$;
3— $R^2=0.9788, EC_{50}=0.9688$; 4— $R^2=0.9828, EC_{50}=1.6871$;
5— $R^2=0.9837, EC_{50}=1.5496$; 6— $R^2=0.9904, EC_{50}=2.9987$

(a)



1— $R^2=0.9806, EC_{50}=0.5356$; 2— $R^2=0.9850, EC_{50}=0.5947$;
3— $R^2=0.9529, EC_{50}=1.1273$; 4— $R^2=0.9558, EC_{50}=1.4662$;
5— $R^2=0.9524, EC_{50}=1.8314$; 6— $R^2=0.9738, EC_{50}=2.1036$

(b)



1—2018-08-19; 2—2018-08-30

(c)

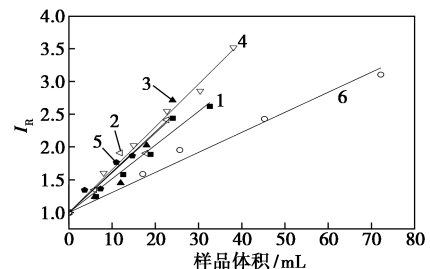
图1 两场降雨事件不同时间段屋面降雨径流急性毒性变化

于平稳。相较于降雨事件I初始径流的 $EQC_{Zn^{2+}}$ (0.65 mg/L),降雨事件II中 $EQC_{Zn^{2+}}$ (0.85 mg/L)明显增大,所含污染物总量较高。这主要是由于降雨事件II距离上次取样相隔11天,污染物在屋面长时间累积,致使屋面总污染负荷增大,且当日降雨量和降雨强度较高,径流冲刷作用明显,从而导致初始径流污染物浓度较高^[10],急性毒性较大。

2.2 SOS/umu 试验数据结果分析

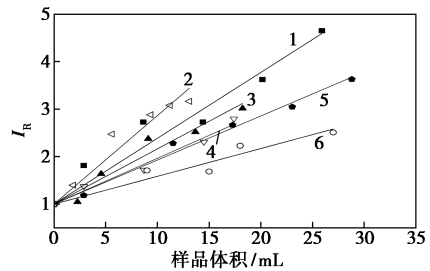
图2(a)和表1为8月19日降雨过程中各采样时间段屋面径流遗传毒性变化。由图2(a)可知,样品剂量-效应线性拟合斜率值随降雨时间的持续先增大后减小,最大为0.0702。表1中显示径流样品在降雨初期 TEQ_{4-NQO} 数值较大,后随着时间的延长逐渐降低,最小至298 ng/L。究其原因,可能是由于前期屋顶积累了大量污染物,同时空气中存在的大量污染物经降雨过程被溶解,且0~20 min期间径流对总污染物溶解作用占优势,因而遗传毒性表现为逐渐增大的趋势,后期^[1]总污染负荷减小,径流对其稀释作用明显^[11],故而20 min后遗传毒性逐渐减小,在45~55 min时降至298 ng/L。

8月30日屋面降雨径流过程中样品遗传毒性



1—0~5 min; 2—5~10 min; 3—10~20 min; 4—20~30 min;
5—35~45 min; 6—45~55 min

(a)



1—0~15 min; 2—15~25 min; 3—25~30 min; 4—30~35 min;
5—35~45 min; 6—45~55 min

(b)

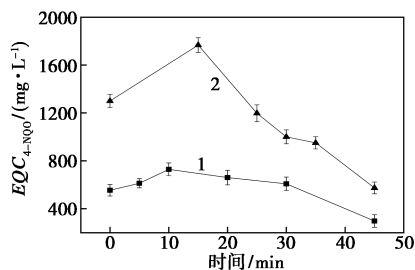
图2 8月19日和8月30日样品剂量-效应线性拟合斜率变化

的变化趋势如图 2(b) 和表 1 所示。从图 2(b) 中可以看出, 降雨过程中样品剂量-效应线性拟合斜率变化规律依然先增大后减小^[7], 最大值为 0.170 1。由表 1 可知, 自径流产生开始 25 min 内 TEQ_{4-NQO} 从 1 300 ng/L 迅速增大至 1 766 ng/L, 后随时间的延长, 屋面大部分污染物被径流冲刷, 遗传毒性出现不同幅度的降低^[12], 尤其是在 25~30 min 由 1 766 ng/L 快速降至 1 197 ng/L, 最终减小到 574 ng/L。

表 1 屋面降雨径流遗传毒性检测结果 ng/L

样品序号	2018-08-19	2018-08-30
1	554.52	1300.10
2	612.67	1766.36
3	728.97	1197.30
4	660.44	1000.00
5	608.52	950.16
6	298.03	574.25

图 3 为两场降雨事件中径流样品遗传毒性变化趋势对比图, 由图 3 可知, 两场降雨中遗传毒性的整体变化规律相似, 均在降雨初期 30 min 内达到最大值, 随后逐渐降低。同时也存在几处不同, 首先 8 月 19 日降雨过程中 TEQ_{4-NQO} 变化曲线的峰值先于降雨事件 II, 分析原因是由于降雨事件 I 降雨强度要大于后者, 相同时间条件下可以溶解较多污染物, 使得径流对污染物的溶解作用和稀释作用更快地达到平衡; 其次 8 月 30 日降雨径流各个时间段的样品的遗传毒性均明显高于 8 月 19 日降雨事件, 推测可能是由于距离上次取样间隔周期较长, 且期间两场小雨并未形成径流, 但溶解空气中的污染物会随降雨累积在屋面, 在径流产生过程中被溶解冲出屋面, 故而导致雨水样品毒性增高。



1—2018-08-19; 2—2018-08-30

图 3 两场降雨事件不同时间段屋面降雨径流遗传毒性变化

3 结论

(1) 两场降雨事件中 SBS 屋面径流均表现出急性毒性和遗传毒性, $EQC_{Zn^{2+}}$ 和 TEQ_{4-NQO} 变化范围分别为 0.15~0.65、0.21~0.85 mg/L 和 298~729、574~1 766 ng/L。

(2) 降雨径流产生开始 30 min 内 $EQC_{Zn^{2+}}$ 和 TEQ_{4-NQO} 到达峰值, 后随降雨时间的持续, 急性毒性和遗传毒性均出现不同幅度的降低, 且降雨强度越大, 降低幅度越明显。

(3) 雨水排放、处理及回用过程中, 增加生物毒性测试和相关水质评价方法可以更直观地反映水体总污染特征, 对科学评估雨水再回用的健康风险及生态风险具有重要指导意义。

参考文献

- [1] 杨茗. 城市雨水的利用方法及进展[J]. 应用化工, 2016, 45(9): 1771-1774.
- [2] 李贺, 张秋菊, 李田. 屋面径流污染物的流出类型与水质特性研究[J]. 中国给水排水, 2009, 25(9): 90-93.
- [3] 高晶, 张肖, 赵乐军, 等. 用 SOS/umu 试验评价降雨径流遗传毒性的变化[J]. 生态毒理学报, 2018, 13(2): 106-111.
- [4] 张秋亚, 马晓妍, 王晓昌, 等. 基于 A²/O 处理工艺的生活污水的成组生物毒性评价[J]. 环境科学, 2017, 38(3): 1084-1092.
- [5] Zhang Q, Miao L P, Wang X K, et al. The capacity of greening roof to reduce stormwater runoff and pollution[J]. Landscape and Urban Planning, 2015, (144): 142-150.
- [6] Ercolani G, Chiaradia E A, Gandolfi, et al. Evaluating performances of green roofs for stormwater runoff mitigation in a high flood risk urban catchment[J]. Journal of Hydrology, 2018, (566): 830-845.
- [7] 赵春桃. 基于生物毒性测试的水质安全评价方法及其应用研究[D]. 北京: 首都师范大学, 2014.
- [8] 游猛. 典型城市污水处理工艺中多种生物毒性检测及水质安全评价[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2017.
- [9] 孙凌帆, 桂林. 雨水径流中污染指标的相关性[J]. 人民黄河, 2010, 32(7): 64-65.
- [10] Tang J Y, Aryal R, Deletic A, et al. Toxicity characterization of urban stormwater with bioanalytical tools[J]. Water Research, 2013, 47(15): 5594-5606.
- [11] Zegura B, Heath E, Cernosa A, et al. Combination of in vitro bioassays for the determination of cytotoxic and genotoxic potential of wastewater, surface water and drinking water samples[J]. Chemosphere, 2009, 75(11): 1453-60.
- [12] 宋永嘉, 林卫东, 慕星. 城市建设中雨水资源利用研究[J]. 人民黄河, 2010, 32(7): 42-43. ■