

# 基于 SOS/umu 试验评价人工湿地污水回用致癌风险

丛佳<sup>1</sup>, 李绪鹏<sup>1</sup>, 赵乐军<sup>2</sup>, 金星龙<sup>1</sup>

(1. 天津理工大学 环境科学与安全工程学院, 天津 300384; 2. 天津市市政工程设计研究院, 天津 300392)

**摘要:** SOS/umu 试验能够快速、准确地检测水体中污染物产生的遗传毒性效应。利用 SOS/umu 试验对污水处理厂出水在人工湿地净化过程中产生的遗传毒性效应进行了测试。试验中两组水样的阳性对照 4-硝基喹啉-1-氧化物当量浓度分别从 312 和 389 ng/L 下降至 42 和 45 ng/L, 去除率分别为 86.5% 和 88.4%, 净化后两湿地出水的个体致癌年风险值在  $9.01 \times 10^{-13} \sim 8.13 \times 10^{-12}$  之间, 均远低于美国环保局提出的最大可接受水平。污水处理厂出水经人工湿地净化后遗传毒性效应显著降低, 作为景观用水时致癌风险在可接受范围内。

**关键词:** 人工湿地; 污水再生回用; SOS/umu 试验; 遗传毒性; 致癌风险评价

**中图分类号:** TU992.3 **文献标识码:** C **文章编号:** 1000-4602(2018)07-0080-05

## Carcinogenic Risk Assessment of Wastewater Reuse in Constructed Wetland Based on Genotoxic Activities Using SOS/umu Test

CONG Jia<sup>1</sup>, LI Xu-peng<sup>1</sup>, ZHAO Le-jun<sup>2</sup>, JIN Xing-long<sup>1</sup>

(1. School of Environmental Science and Safety Engineering, Tianjin University of Technology, Tianjin 300384, China; 2. Tianjin Municipal Engineering Design & Research Institute, Tianjin 300392, China)

**Abstract:** The SOS/umu test can quickly and accurately assess the genotoxicity of pollutants in water. The genotoxicity of water samples from constructed wetlands was investigated using SOS/umu test. The results demonstrated that, in two groups of water samples, 4-NQO equivalent concentrations fell to 42 ng/L and 45 ng/L from 312 ng/L and 389 ng/L, and the removal rate reached 86.5% and 88.4%, respectively. The annual carcinogenic risks of the purified wastewater from constructed wetland were  $9.01 \times 10^{-13} \sim 8.13 \times 10^{-12}$ , which were substantially lower than the maximum acceptable level specified by USEPA. The test showed that genotoxicity of wastewater was reduced significantly during constructed wetland purification, and the carcinogenic risk when used as landscape water was acceptable.

**Key words:** constructed wetland; wastewater reuse; SOS/umu test; genotoxicity; carcinogenic risk assessment

多个国家和城市将污水作为一种稳定的非传统水资源,再生利用比例逐年增加,普遍用于河道补

基金项目: 天津市技术创新引导专项(16YDLJSF00030); 天津市科技计划项目(14TXXSYJC00453); 天津市高等学校创新团队项目(TD13-5021)

通信作者: 金星龙 E-mail: xljin7911@126.com

给、农田灌溉、喷洒道路、绿化景观、冲厕等。然而,污水中约有 22% 的污染物是具有“三致”效应的遗传毒性物质,长期低剂量接触这些物质会增加患癌风险,因此污水厂出水的遗传毒性成为评价污水再生回用是否安全的重要指标之一。

由于水环境中遗传毒性物质种类较多且浓度很低,传统的化学检测方法很难综合评价水体的遗传效应,生物毒性测试能够检测多种物质共存下的综合毒性效应,广泛应用于水体安全评价中。常用的遗传毒性生物测试方法主要有 Ames 试验<sup>[1]</sup>、SOS/umu 试验<sup>[2]</sup>和微核试验<sup>[3]</sup>等。其中 SOS/umu 试验利用细菌中造成 DNA 受损的化学物质诱导产生的  $\beta$ -半乳糖苷酶基因与 umuC 基因相融合,根据生成的  $\beta$ -半乳糖苷酶的数量,即可判断 DNA 受损的程度<sup>[4]</sup>。与 Ames 试验和微核试验相比,SOS/umu 试验所需菌种少、操作简单、敏感、廉价,且与 Ames 试验有较好的一致性<sup>[5]</sup>。目前 SOS/umu 试验已广泛用于测试饮用水消毒副产物<sup>[6]</sup>、地表水<sup>[7]</sup>和污水处理厂出水<sup>[8]</sup>的遗传毒性效应。

人工湿地将水处理技术与自然净化相结合,对污水厂出水进行生态修复以达到污水深度净化的目的。笔者对北方某生态湿地公园和某人工湿地净化工程内各处理单元的水样进行了遗传毒性测试,选用 4-硝基喹啉-1-氧化物(4-NQO)作为阳性对照。4-NQO 是一种具有强遗传毒性的物质,不仅能诱导细胞凋亡,引起细胞线粒体膜大量损伤,而且细胞凋亡百分率呈现 4-NQO 浓度和时间依赖性,通过线性计算可利用 4-NQO 浓度表示污染物的致毒效果。通过探讨人工湿地对遗传毒性物质的去除能力,评价污水再生回用过程中的致癌风险。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

主要仪器:高压灭菌锅(DSX-280B)、紫外可见分光光度计(Cary50)、水浴振荡器(SHA-C)、微孔板恒温振荡器(HWF200)、全波长酶标仪(Multi-skan Spectrum)等。

主要试剂:二氯甲烷、甲醇、正己烷(均为 HPLC 级),4-NQO(分析纯),DMSO(ACS 级),显色剂 ONPG(分析纯)等。

### 1.2 样品采集与前处理

样品 S1~S5 采自北方某生态湿地公园(简称 L 湿地)。L 湿地的水源来自工业园区污水处理厂出

水,该污水处理厂主体工艺为 A/O 工艺。L 湿地处理规模为  $1.75 \times 10^4 \text{ m}^3/\text{d}$ ,水源经配水、曝气及初步表流作用后进入潜流湿地,利用潜流湿地的水生植物根系及其中的厌氧菌群对污水内所含有害成分进行吸附和分解,随后进入景观湖区,利用大量水生植物增大表流湿地面积,对处理过的水体进一步净化,最后在出水口前设置生物栅,截留和过滤出水中可能会出现藻类和杂质,以免堵塞后续提升泵(见图 1)。L 湿地的湿生植物以千屈菜为主,挺水植物有芦苇、香蒲、水葱、菖蒲和黄花鸢尾<sup>[9]</sup>。

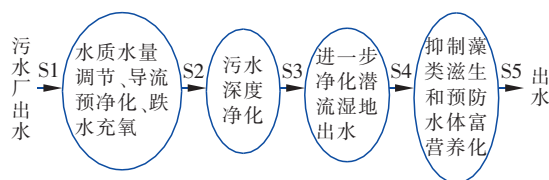


图 1 L 湿地净化流程及采样点分布

Fig. 1 Schematic diagram of water purification and sampling points for L wetland

样品 K1~K4 采自北方某人工湿地(简称 T 湿地)。T 湿地是将河道水系循环、生态景观功能有机结合为一体的水系统工程(见图 2)。水源主要来自所处工业园区内某污水厂,主要采用曝气、沉砂、序批式活性污泥法等工艺处理污水,出水水质符合生活杂用水的水质标准和 RO 反渗透系统的进水要求。T 湿地首先将污水厂出水进行曝气沉砂、气浮除藻、消毒预处理,主要是去除河道进水中部分泥沙和藻类,净化水质,为人工湿地配水提供足够水头的水源。湿地处理单元设计采用潜流形式,表面种植具有净化作用的水生或湿生植物,如芦苇、香蒲、野燕麦、狼尾草等。底部采用渗透过滤性较好的填充物质,是去除水中污染物的主要场所<sup>[10]</sup>。

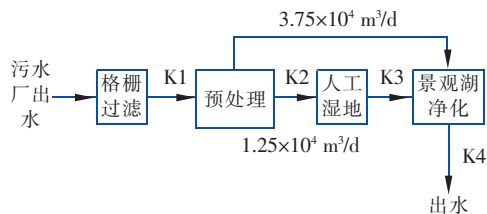


图 2 T 湿地净化流程及采样点分布

Fig. 2 Schematic diagram of water purification and sampling points for T wetland

每个采样点取 4 L 水样,迅速运回实验室并用玻璃纤维滤膜过滤(GF/F, 47 mm);通过事先用甲

醇、二氯甲烷和超纯水活化好的 OASIS HLB 固相萃取柱(500 mg, 6 mL)进行富集, 分别用 5 mL 甲醇/二氯甲烷(体积比为 1:1)、5 mL 正己烷/二氯甲烷(体积比为 1:9)和 5 mL 正己烷进行洗脱并在氮气流下吹干, 用二甲基亚砜(DMSO)定容, 于  $-20^{\circ}\text{C}$  下保存。

### 1.3 SOS/umu 试验

试验菌种为鼠伤寒沙门氏菌 TA1535/PSK1002 菌株, 由中科院生态环境中心魏东斌研究员提供, 操作步骤参照文献[4]: 将菌种用 TGA 培养基复苏,  $37^{\circ}\text{C}$  下隔夜振荡培养后用 TGA 稀释, 试验前培养 1.5 h, 试验时菌液在 595 nm 处的吸光度( $\text{OD}_{595}$ )为 0.7~0.8。板 A(96 孔)中分布有不同水样、阳性对照(4-NQO)、阴性对照(DMSO 稀释液)和空白对照, 每组 4 个平行。A 板结束培养后, 每孔用培养基稀释 10 倍到 B 板, 继续培养。B 板结束培养后用酶标仪测定  $\text{OD}_{595}$ , 然后从 B 板每孔吸取 30  $\mu\text{L}$  到 C 板相应位置, 并立即加入 120  $\mu\text{L}$  B-buffer 和 40  $\mu\text{L}$  ONPG 溶液混合振荡 0.5 h, 结束后加入反应终止液(1 mmol/L 的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液), 用酶标仪测定  $\text{OD}_{415}$ 。测试过程中未加入 S9 代谢活化剂。

### 1.4 数据处理方法

#### ① 诱导率

将测得的数据参考文献[11]利用公式(1)、(2)进行计算, 得到诱导率  $I_R$ , 即遗传毒性物质诱导生成  $\beta$ -半乳糖苷酶的情况,  $I_R > 2$  可判断为致突变阳性结果。

$$G = \frac{A_{595T} - A_{595B}}{A_{595N} - A_{595B}} \quad (1)$$

$$I_R = \frac{A_{415T} - A_{415B}}{A_{415N} - A_{415B}} \times \frac{1}{G} \quad (2)$$

式中,  $G$  为生长因子,  $G > 0.5$  的数据可用于计算  $I_R$ ;  $A_{595T}$ 、 $A_{595B}$ 、 $A_{595N}$  和  $A_{415T}$ 、 $A_{415B}$ 、 $A_{415N}$  分别为待测样品、空白对照、阴性对照分别在 595 nm 和 415 nm 处的吸光度。

#### ② 4-NQO 毒性当量浓度

将测试水样转换为 4-NQO 当量浓度( $\text{TEQ}_{4-\text{NQO}}$ )以比较不同水样的遗传毒性。绘制阳性对照和水样的剂量— $I_R$  曲线, 得到斜率  $K$ 。图 3 为 4-NQO 的剂量— $I_R$  曲线,  $K$  为 0.056 8。根据阳性对照和待测样品的剂量— $I_R$  曲线斜率的比值来表示水样的  $\text{TEQ}_{4-\text{NQO}}$ , 单位为 ng/L。

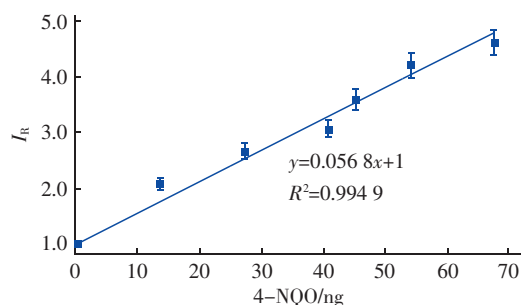


图3 4-NQO 的剂量—效应曲线

Fig.3 Dose-effect curve of positive control 4-NQO

#### ③ 个体致癌年风险

参照文献[12]计算成年人(体质量为 70 kg、寿命为 70 年)暴露于某个可能致癌的环境下平均每年的致癌风险结果  $P_a$ , 见式(3)。

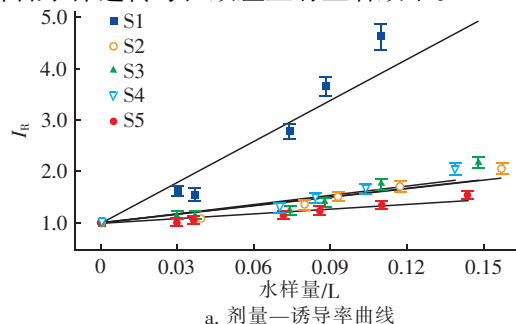
$$P_a = \frac{1 - e^{-d_i \times q_i}}{70} \quad (3)$$

式中,  $d_i$  = (再生水暴露量  $\times \text{TEQ}_{4-\text{NQO}}$   $\times$  年暴露次数) / (365 d  $\times$  70 kg), 代表单位体质量的日均暴露剂量, mg/(kg  $\cdot$  d);  $q_i$  为致癌强度系数, kg/(d  $\cdot$  mg), 通过查找 USEPA 的综合风险信息数据库(IRIS)可知 4-NQO 的致癌强度系数为 0.369 kg/(d  $\cdot$  mg)。

## 2 结果与分析

### 2.1 遗传毒性分析

对 L 湿地进行测试后得到的遗传毒性诱导率结果见图 4。污水处理厂出水 S1 的  $\text{TEQ}_{4-\text{NQO}}$  达到了 312 ng/L, 经过第一步净化跌水充氧后遗传毒性大幅下降, S2 点的  $\text{TEQ}_{4-\text{NQO}}$  为 66 ng/L。通过潜流湿地净化环节的 S3 与 S4 点  $\text{TEQ}_{4-\text{NQO}}$  数值略有上升, 考虑到 S3 与 S4 的实际采样点水流动性差, 与周围游客接触范围大, 水体中偶有生活垃圾出现, 因此水质情况有所下降, 但波动不大。格栅出水 S5 水质进一步提升,  $\text{TEQ}_{4-\text{NQO}}$  下降到 42 ng/L, 可见 L 湿地在降低水体遗传毒性效应有显著效果。



a. 剂量—诱导率曲线

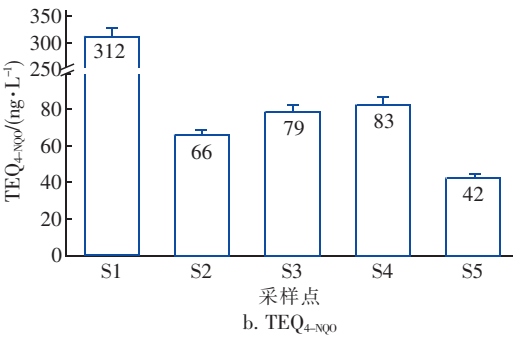


图 4 L 湿地采样点剂量—诱导率曲线与  $TEQ_{4-NQO}$   
Fig. 4 Dose -  $I_R$  curve and  $TEQ_{4-NQO}$  of L wetland samples

T 湿地水样的遗传毒性诱导率测试结果如图 5 所示。预处理环节水体遗传毒性略有下降,K2 的  $TEQ_{4-NQO}$  仅从 379 ng/L 降为 287 ng/L,湿地和景观湖净化出水 K4 的  $TEQ_{4-NQO}$  大幅度下降,达到 45 ng/L,遗传毒性效应去除效果显著。

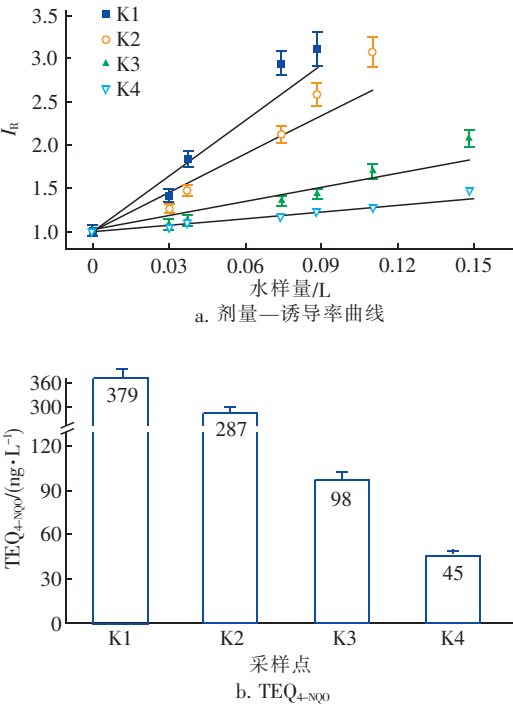


图 5 T 湿地采样点剂量—诱导率曲线与  $TEQ_{4-NQO}$   
Fig. 5 Dose -  $I_R$  curve and  $TEQ_{4-NQO}$  of T wetland samples

L 湿地进水点与出水点的遗传毒性当量分别与 T 湿地的相近,可见两个污水处理厂出水的遗传毒性物质含量相似,这与污水厂的处理工艺有关;经过 L 和 T 两个人工湿地的净化,对遗传毒性物质的去除率分别高达 86.5% 和 88.4%,可见湿地底部填充物质和植物根系的微生物对水中遗传毒性物质有很

好的去除效果。

2.2 致癌风险评价

为便于计算,将水体中遗传毒性物质均以阳性参照物 4 - NQO 表达,暴露次数和暴露量为每周两次,每次 1 mL,居民平均体质量为 70 kg,平均寿命为 70 年,致癌强度系数为  $0.369 \text{ kg}/(\text{d} \cdot \text{mg})^{[13]}$ 。水样个体致癌年风险结果如表 1 所示。污水处理厂出水经过两个人工湿地的净化后,风险值大幅下降,均远低于国际辐射防护委员会(ICRP)推荐的化学致癌物质最大可接受年风险水平  $5.0 \times 10^{-5}[12]$ 。在类似的研究中,魏亮亮等人发现,二级出水在梯田地区进行地下水回灌后,饮用致癌风险为  $4.58 \times 10^{-8}$ ,较二级出水的年致癌风险低 1 个数量级<sup>[14]</sup>,致癌风险明显减小。

表 1 采样点  $TEQ_{4-NQO}$  及其风险值  
Tab. 1  $TEQ_{4-NQO}$  and carcinogenic risks of samples

采样点	$R^2$	拟合方程	$TEQ_{4-NQO}/$ ( $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ )	个体致癌年风险
S1	0.974 2	$Y = 26.397x + 1$	312	$6.694 63 \times 10^{-12}$
S2	0.994 3	$Y = 5.593x + 1$	66	$1.416 17 \times 10^{-12}$
S3	0.990 6	$Y = 5.728x + 1$	79	$1.695 11 \times 10^{-12}$
S4	0.993 7	$Y = 6.006x + 1$	83	$1.780 94 \times 10^{-12}$
S5	0.997 2	$Y = 3.063x + 1$	42	$9.012 \times 10^{-13}$
K1	0.986 2	$Y = 21.551x + 1$	379	$8.132 26 \times 10^{-12}$
K2	0.988 4	$Y = 14.985x + 1$	287	$6.158 2 \times 10^{-12}$
K3	0.995 4	$Y = 5.561x + 1$	98	$2.102 8 \times 10^{-12}$
K4	0.998 8	$Y = 2.554x + 1$	45	$9.655 72 \times 10^{-13}$

3 结论

利用 SOS/umu 试验对两个人工湿地的水样进行了测试,发现人工湿地对污水处理厂出水中遗传毒性物质的去除率分别达到了 86.5% 和 88.4%,两组出水  $TEQ_{4-NQO}$  分别降至 42 和 45 ng/L,据此计算出个体致癌年风险在  $9.01 \times 10^{-13} \sim 8.13 \times 10^{-12}$  之间,低于美国环保局提出的最大可接受水平。可见,污水处理厂出水经人工湿地净化后遗传毒性效应显著降低。

参考文献:

[ 1 ] Jolibois B, Guerbet M, Vassal S. Detection of hospital wastewater genotoxicity with the SOS chromotest and Ames fluctuation test [ J ]. Chemosphere, 2003, 51 ( 6 ) : 539 - 543.  
[ 2 ] Tian Z, Oda Y, Zhang Y, et al. Use of a new enzyme extraction system to improve the sensitivity of SOS/umu



- test and application to environmental samples[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2015, 94(3): 370–375.
- [3] 刘瑞祥, 齐永平, 吕敏. 蚕豆根尖细胞微核技术检测合成氨工业水的遗传毒性[J]. 生物技术, 2007, 17(1): 58–60.
- Liu Ruixiang, Qi Yongping, Lv Min. Study on detecting the genetic toxicity of synthesis ammonia industrial waste by vicia faba root-tip cell micronucleus technique[J]. Biotechnology, 2007, 17(1): 58–60 (in Chinese).
- [4] NEN ISO 13829–2000, Water Quality—Determination of the Genotoxicity of Water and Waste Water Using the umu-test[S]. Geneva: International Organization for Standardization, 2000.
- [5] Mcdaniels A E, Reyes A L, Wymer L J, *et al.* Comparison of the salmonella (Ames) test, umu tests, and the SOS chromotests for detecting genotoxins[J]. Environ Mol Mutagen, 1990, 16(3): 204–215.
- [6] Zhang S H, Miao D Y, Tan L, *et al.* Comparative cytotoxic and genotoxic potential of 13 drinking water disinfection by-products using a microplate-based cytotoxicity assay and a developed SOS/umu assay[J]. Mutagenesis, 2016, 31(1): 35–41.
- [7] Lei B, Kang J, Wang X, *et al.* The toxicity of sediments from Taihu Lake evaluated by several *in vitro* bioassays[J]. Environ Sci Pollut Res, 2015, 22(5): 3419–3430.
- [8] Wu Q Y, Li Y, Hu H Y, *et al.* Removal of genotoxicity in chlorinated secondary effluent of a domestic wastewater treatment plant during dechlorination[J]. Environ Sci Pollut Res, 2012, 19(1): 1–7.
- [9] 闻铁, 苏志龙, 丁晔, 等. 天津市临港经济区生态湿地公园的设计及运行[J]. 中国给水排水, 2014, 30(14): 42–45.
- Wen Tie, Su Zhilong, Ding Ye, *et al.* Design and operation of ecological wetland park in Lingang Economic Zone of Tianjin City[J]. China Water & Wastewater, 2014, 30(14): 42–45 (in Chinese).
- [10] 万宁, 石凤林, 张惠源, 等. 中国北方地区人工湿地冬季运行效果分析[J]. 城市环境与城市生态, 2014, 27(3): 43–46.
- Wan Ning, Shi Fenglin, Zhang Huiyuan, *et al.* Analysis of operational efficiency of constructed wetlands in winter in northern China[J]. Urban Environmental & Urban Ecology, 2014, 27(3): 43–46 (in Chinese).
- [11] 柳清, 张丽萍, 刘文君, 等. umu 试验研究饮用水氯和氯胺消毒过程中遗传毒性的变化以及消毒条件的影响[J]. 环境科学, 2010, 31(1): 93–98.
- Liu Qing, Zhang Liping, Liu Wenjun, *et al.* Genotoxicity of drinking water during chlorine and chloramine disinfection and the influence of disinfection conditions using the umu-test[J]. Environmental Science, 2010, 31(1): 93–98 (in Chinese).
- [12] 仇付国, 王敏. 城市污水再生利用化学污染物健康风险评估[J]. 环境科学与管理, 2007, 32(2): 186–188, 194.
- Qiu Fuguo, Wang Min. Health risk assessment associated with chemical pollutants in reuse wastewater[J]. Environmental Science and Management, 2007, 32(2): 186–188, 194 (in Chinese).
- [13] 朱舟, 顾炜旻, 安伟, 等. 基于 umu 遗传毒性效应的饮用水致癌风险评价的尝试[J]. 生态毒理学报, 2008, 3(4): 363–369.
- Zhu Zhou, Gu Weimin, An Wei, *et al.* Carcinogen risk assessment of drinking water based on genotoxic activities using SOS/umu test[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2008, 3(4): 363–369 (in Chinese).
- [14] 魏亮亮, 赵庆良, 薛爽, 等. 二级出水经地下水回灌后的梯级利用及安全评价[J]. 中国给水排水, 2012, 28(19): 78–83.
- Wei Liangliang, Zhao Qingliang, Xue Shuang, *et al.* Step utilization of secondary effluent based on artificial groundwater recharge and safety risk assessment[J]. China Water & Wastewater, 2012, 28(19): 78–83 (in Chinese).



作者简介: 丛佳(1991–), 女, 黑龙江海伦人, 硕士研究生, 研究方向为水体安全评价。

E-mail: congjia0302@hotmail.com

收稿日期: 2017–10–12