2017 年 第 12 卷
第 3 期,327-335

生 态 毒 理 学 报
Asian Journal of Ecotoxicology

Vol. 12, 2017
No.3, 327-335

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20170115005
侯昌成, 赵玲, 尹平河, 等. 垃圾渗滤液中典型内分泌干扰物质(EDCs)细胞毒性分析[J]. 生态毒理学报,2017, 12(3): 327-335
Hou C C, Zhao L, Yin P H, et al. Cytotoxicity analysis of typical endocrine disrupting chemicals (EDCs) in landfill leachate [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(3): 327-335 (in Chinese)

垃圾渗滤液中典型内分泌干扰物质(EDCs)细胞毒性分析

侯昌成[1], 赵玲[1,*], 尹平河[2,#], 陆钢[1]

1. 暨南大学环境学院,广州环境暴露与健康重点实验室,广东环境污染与健康重点实验室,广州 510632
2. 暨南大学生命科学技术学院,暨南大学分析测试中心,广州 510632

收稿日期: 2017-01-15 **录用日期:** 2017-04-20

摘要: 垃圾渗滤液的人类健康风险评估日益受到人们重视,也成为研究热点。本文采用一种新型高级氧化技术 UV-Fenton 处理渗滤液,并用人体乳腺癌细胞(MCF-7)评估处理过程中渗滤液原液以及渗滤液中典型内分泌干扰物质(EDCs)的细胞毒性,对垃圾渗滤液中 EDCs 的细胞毒性和变化规律进行了研究。结果表明渗滤液中的邻苯二甲酸二丁酯(DBP)、双酚 A(BPA)、壬基酚(NP)是产生细胞毒性的主要物质,其毒性大小为 DBP>BPA>NP。在同样的氧化降解过程中显示出不同毒性变化规律,通过 GC-MS 分析,结果显示 UV-Fenton 过程中产生了大量的中间产物,这也是引起毒性变化的主要原因。实验结果也说明垃圾渗滤液细胞毒性可以通过 UV-Fenton 过程有效去除。

关键词: 垃圾渗滤液; 内分泌干扰物质; 人体乳腺癌细胞; 细胞毒性; 高级氧化过程; UV-Fenton; 中间产物
文章编号: 1673-5897(2017)3-327-09 **中图分类号:** X171.5 **文献标识码:** A

Cytotoxicity Analysis of Typical Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs) in Landfill Leachate

Hou Changcheng[1], Zhao Ling[1,*], Yin Pinghe[2,#], Lu Gang[1]

1. School of Environment, Guangzhou Key Laboratory of Environmental Exposure and Health, Guangdong Key Laboratory of Environmental Pollution and Health, Jinan University, Guangzhou 510632, China
2. College of Life Science and Technology, Research Center of Analysis and Test, Jinan University, Guangzhou 510632, China

Received 15 January 2017 **accepted** 20 April 2017

Abstract: Recently, the health risk assessment on the landfill leachate has attracted increasing attentions and has become a research focus. In the present study, a novel advanced oxidation technology (UV-Fenton technology) was adopted to treat the leachate, and the cell toxicity of raw leachate and typical EDCs in the leachate in the treatment process has been evaluated by using human breast cancer cells (MCF-7). The results indicated that di-butyl phthalate (DBP), bisphenol A (BPA) and nonylphenol (NP) in the leachate were main substances which have significant cytotoxicity on MCF-7 cells. The toxicity variations of these three chemicals were different in the same oxidative degradation process, and the toxicity order was DBP > BPA > NP. According to the GC-MS analysis re-

基金项目: 国家自然基金项目(51508228,U113303,41676110);广东省产学研项目(2013B090600009);广东省科技计划项目(2014A020217007)
作者简介: 侯昌成(1991-),男,硕士研究生,助理研究员,研究方向为固体废物处理处置和生态毒理学评价,E-mail: chas_hou@163.com;
* **通讯作者**(Corresponding author),E-mail: zhaoling@jnu.edu.cn
\# **共同通讯作者**(Co-corresponding author),E-mail: tyinph@jnu.edu.cn

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

sults, a great amount of intermediate products have been produced in UV-Fenton process, which may be a major reason that induced toxicity variations. The results implied that UV-Fenton technology is an effective method to reduce toxicity of landfill leachate.

Keywords: landfill leachate; endocrine disrupting chemicals; MCE-7; cytotoxicity; advanced oxidation process; UV-Fenton; intermediate product

垃圾渗滤液是指垃圾填埋场中垃圾本身含有的水分、进入填埋场的雨雪水及其他水分,扣除垃圾、覆土层的饱和持水量后,并经历垃圾层和覆土层而形成的一种高浓度的有机废水[1]。以前少量产生,直接并入市政污水管网,但因含高浓度无机物和有机物,尤其常常含有重金属和持久性有机污染物(POPs)等有毒有害难生化难降解的污染物,很容易引起市政污水处理体系的瘫痪,影响污水处理厂的正常运行[2]。并且里面含有内分泌干扰物质(EDCs),对人类身体健康和对生态系统都存在极大的威胁[3]。内分泌干扰物质是一类能干扰人体内分泌系统的外源性化学物质,目前已知的已经有100多种,比如邻苯二甲酸酯类(PAEs)、雌激素酮(E1)、双酚A(BPA)、壬基酚(NP)、雌二醇(E2)等[4]会引起患癌症的几率增加,最主要的还会使人的生殖行为发生异常,通过遗传影响下一代的健康[5]。

随着垃圾填埋场运行时间的增长,垃圾渗滤液中EDCs的产生量会逐年积累,现在广州运行超过10年的垃圾填埋场有3家,每年产生大量的垃圾渗滤液。目前对于垃圾渗滤液中EDCs还有没针对性的去除办法,现在常见的对垃圾渗滤液中污染物无选择性的处理方法有生化法、物理化学方法、膜过滤法、高级氧化方法等[6-9]。对于处理的指标通常也是常见的水质指标氨氮、总氮、总磷、COD等,可详见于垃圾渗滤液出水水质指标《生活垃圾填埋场污染控制标准(GB 16889—2008)》,从标准中可以清楚查到关于现有和新建生活垃圾填埋场水污染物排放浓度限值。结合目前的研究热点可以看出对垃圾渗滤液的研究都是偏向提高处理效率,而忽略了最重要的毒性评价过程[10-12]。即使经过了以上的水处理过程,还可能存在这样的问题:常规水质指标都达标后,出水是否就没有细胞毒性,对人类身体健康和生态环境没有潜在威胁。王桂芳等[13]研究了用活性炭、Fenton、UV-Fenton方法初步处理垃圾渗滤液后,仍然会检测到细胞毒性和遗传毒性。Ahmed等[4]也证实即使经过处理后,确实还会有细胞毒性物质残留。而且渗滤液中成分极其复杂,里边的内分泌干扰物质对人体的危害往往也不是某一种单独作用的结果,需要一种新的评价方法来弥补传统标准的不足。本文选用人体乳腺癌细胞(MCF-7)来评价垃圾渗滤液的综合细胞毒性。用细胞毒性直接评估处理过程中毒性变化,这对人类健康风险评价具有重要指导意义。Soto等[14]在1995年首次用细胞毒性来检测表征环境污染物。Conley等[15]检测了饮用水经过净化后,水中细胞毒性的变化。Belhaj等[16]也发现即使经过处理的污水中也可能会存在细胞毒性。Aghajanpour-Mir等[17]直接用MCF-7检测分析了双酚A的细胞毒性。本文选用的MCF-7细胞有雌激素受体(CRs)可以全面地反映水样中综合内分泌干扰物质的毒性[18-19]。并且采用了目前应用最广泛的高级氧化技术UV-Fenton技术,对垃圾渗滤液中典型内分泌干扰物质进行分阶段的氧化实验,用人体乳腺癌细胞(MCF-7)评价处理过程中垃圾渗滤液细胞毒性的变化。用气相色谱质谱联用技术(GC/MS)分析了降解过程中可能存在的中间产物,探究引起细胞毒性变化的根本原因。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 垃圾渗滤液的采集

实验用渗滤液采自广州市某垃圾填埋场,占地约23.11万m^2,1988年开始运行,2002年停止运行封场。现阶段垃圾渗滤液产生量约为2 $t\cdot d^{-1}$[20]。2016年3、4、5、6月在该垃圾填埋场渗滤液汇总出口处收集,收集后存储于4 ℃低温环境下。

渗滤液的物化参数如pH、导电性、色度和浊度等,采用一台多功能水质监测仪器(GDYS-201M, Little Swan Instruments Co. Ltd)进行现场检测[13]。

1.2 渗滤液的高级氧化实验

UV-Fenton氧化反应实验在一个2 L的封闭容器中进行,装置正中央中配备低压汞灯(深圳Dohill公司,0.25 $w\cdot cm^{-2}$),底部配备低速搅拌器[21]。取1 L垃圾渗滤液样品,用浓硫酸调节pH到2,0.45 μm滤膜过滤,然后加入2 g $FeSO_4\cdot 7H_2O$,使其浓度达到2 $g\cdot L^{-1}$后,紫外灯预热5 min后加入样品开始氧化,分别在0、5、10、15、30、60 min取出50 mL反应

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

水样做进一步检测。

1.3　渗滤液中典型 EDCs 的 GC/MS 表征

3 种典型 EDCs 分别选择邻苯二甲酸二丁酯(DBP) 、双酚 A(BPA) 、壬基酚(NP) 。DBP 的萃取采用液液萃取,BPA 和 NP 的检测方法参考陈茹等[23] 并做相应改进,取 20 mL 渗滤液样品,用屈臣氏水稀释到 500 mL,加入氯化钠防止乳化,每次加入 20 mL 二氯甲烷萃取 3 次,收集 3 次萃取的有机相,经无水硫酸钠干燥后收集用旋转蒸发仪 35 ℃蒸至小于 1 mL,经 2 次正己烷溶剂置换。在 10 mm×300 mm 的玻璃层析柱底部加入玻璃棉,然后由下至上逐一添加 1 ~ 2 cm 的无水硫酸钠,8 g 活化硅胶(100 目) ,1 ~ 2 cm 无水硫酸钠,过程中防止气泡产生。先用 20 mL 正己烷淋洗,然后加入提取液,用 10 mL 二氯甲烷/正己烷(3/7, V/V) 洗脱,弃去淋洗液,然后 40 mL 二氯甲烷/正己烷(8/2, V/V) 洗脱,收集淋洗液,正己烷溶剂置换,等待上机检测[23] 。

检测条件为: 色谱柱(DB-5 ms, 30 m×0.25 mm ×0.25 μm) ,进样口温度 280 ℃,载气流速 0.97 mL·min^{-1},进氧量 1 μL,无分流进样。升温程序起始温度 100 ℃然后 10 ℃·min^{-1}升到 200 ℃,保持 2 min,再以 15 ℃·min^{-1}升到 280 ℃。溶剂延迟 3 min,离子源温度 220 ℃,接口温度 280 ℃[24-26] 。实验同时用 XAD-8 (Sigma-3025-U, Amberlite, USA) 树脂分离腐殖酸(HA) ,检测细胞毒性[27-28] 。

模拟 EDCs 溶液的配制,3 种标准品都是购自 A ChemTek, Inc. (Worcester, USA) ,用甲醇先溶解配成 100 mg·L^{-1}的标准储备液体,然后溶解稀释到屈臣氏纯水中,浓度与上述渗滤液中检测到的浓度相等。氧化过程与 1.2 步中垃圾渗滤液的高级氧化过程完全一样,并加空白(纯水) 试验。

1.4　渗滤液和模拟液的细胞毒性实验

细胞培养: 细胞毒性试验是在暨南大学医学院试验中心完成,MCF-7 细胞购自中山大学医学院附属医院。细胞传代培养,贴壁后,置于 37 ℃、5% CO_2的细胞培养箱中培养,并冻存保种[29] 。

细胞毒性实验: 1.3 步萃取的以及模拟配制的 3 种典型 EDCs 分别用二甲基亚砜(DMSO) 作溶剂置换,用细胞培养液倍比稀释至含 DMSO 0.1%(体积分数) 以下开始细胞暴露毒性实验,并用 E2 做阳性对照组。实验分为实验组(细胞 + 染毒溶液 + 培养基 + MTT + DMSO) ,空白对照组(细胞 + 培养基 + MTT + DMSO) ,负对照组(培养基 + MTT + DMSO) 共同培养在一个 96 孔板里,培养 48 h 后,加入 20 μL MTT 试剂,继续培养 4 ~ 6 h 后弃上清,加入 150 μL DMSO 溶解[30] 。MTT 和 DMSO 仅仅在最后检测显色阶段加入,用荧光酶标仪(Multiskan MK3, Thermo Fisher, USA) 分别检测实验组、空白对照组和负对照组在波长 490 nm 时的吸光度,最终计算 MCF-7 增殖效应(proliferation effect, PE) 值,即细胞毒性值。当 PE 值大于 100%时,值越大表示毒性越大; 当 PE 值小于 100%时,值越小,表示毒性越大。计算公式如下:

$$PE = (\text{实验组数据} - \text{负对照组数据}) / (\text{空白对照组数据} - \text{负对照组数据}) \times 100\%$$

1.5　数据分析

用于检测细胞毒性的 MCF-7 细胞暴露染毒时间为 48 h,每个处理组设置 3 组平行实验,测定细胞毒性的细胞都在一块 96 孔板上完成。测定结果都表示为平均值±标准偏差,用 SPSS 软件进行单因素方差分析,并用 ANOVA 检验显著性差异水平($P<0.05$) 。

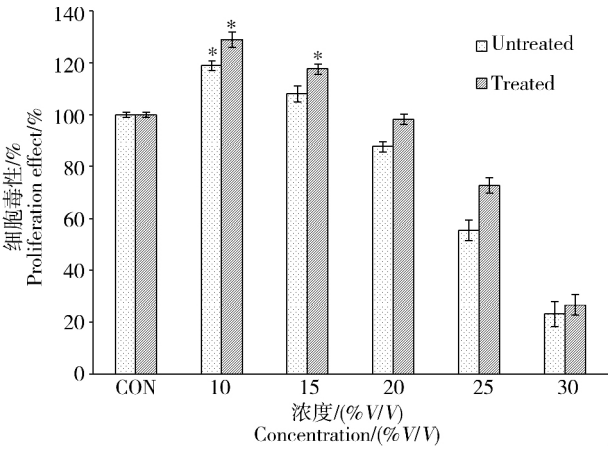

图 1　处理前后垃圾渗滤液对 MCF-7 的细胞毒性

注: UV-Fenton 处理时间 10 min; MCF-7 暴露时间 48 h; CON 为空白对照。* $P<0.05$。

Fig. 1　Proliferation effect of leachate on MCF-7 cells before and after the UV-Fenton treatment

Note: treatment time is 10 min; exposure time of MCF-7 is 48 h; CON stands for control group. * $P<0.05$.

2　结果(Results)

2.1　垃圾渗滤液氧化前后的细胞毒性对比

垃圾渗滤液经过 UV-Fenton 处理前后的细胞毒性结果如图 1 所示,对照组中垃圾渗滤液的浓度为 0%,表现出正常细胞的生长状况,理论上正常细胞的细胞毒性值为 100%。

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

氧化处理前随着浓度(V/V)的增加,细胞首先在10%、15%浓度的时候表现出明显的增殖毒性,大小分别为120%和109%,尤其是10%的时候表现出显著性差异。浓度大于20%以后,细胞毒性小于100%,即抑制细胞的增殖,并且随浓度的增加抑制作用明显增加,浓度30%时达到最大,其细胞毒性值为24%。经过氧化处理后,细胞毒性有时会比处理前有所上升,如浓度在10%和15%时处理后表现出更强的细胞毒性,然后随浓度增大趋向于正常增殖水平100%;从图1中可以看出,经过氧化处理后,含渗滤液大于20%时,细胞抑制作用经氧化处理后在减弱,即细胞毒性减弱。

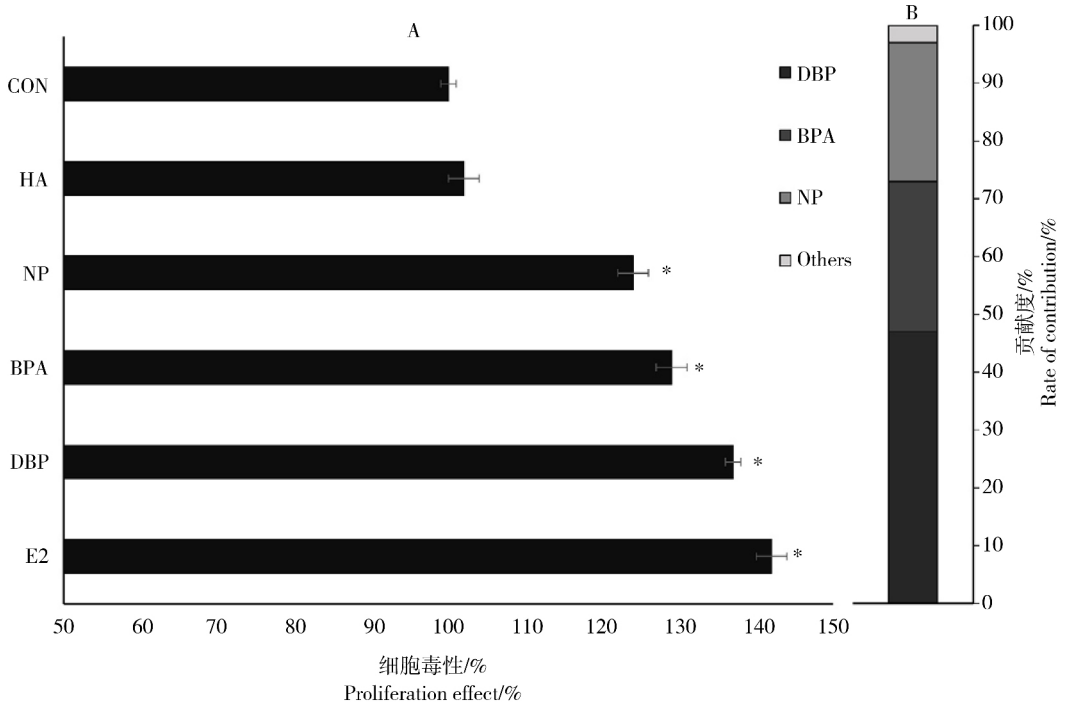

图2 渗滤液中典型污染物细胞毒性分析

注:A图,不同污染物的细胞毒性;B图,3种典型污染物细胞毒性贡献率。CON为空白对照;HA为腐殖酸;E2为雌二醇,作阳性对照。* P<0.05。

Fig. 2 Analysis of proliferation effect of typical pollutants in leachate

Note: A, proliferation effect of typical pollutants in leachate; B, analysis of the effect contribution of each typical pollutant to PE of leachate. CON stands for control group; HA stands for humic acid; E_2 stands for estradiol used as positive control. * P<0.05.

表1 渗滤液基本理化参数

Table 1 Physicochemical parameters of leachate in this study

参数 Parameters	处理前 Before UV-Fenton treatment	处理后 After UV-Fenton treatment
色度/PtCo Chromaticity/PtCo	5 600	26
酸碱度 pH	7.9	9
浊度/NTU Turbidity/NTU	3 500	25
导电性/(mS·cm^{-1}) Conductivity/(mS·cm^{-1})	22.7	17.9
化学需氧量/(mg·L^{-1}) COD_{Cr}/(mg·L^{-1})	2 189	113
腐殖酸/(mg·L^{-1}) Humic acid/(mg·L^{-1})	965	n.d.
邻苯二甲酸二丁酯/(μg·L^{-1}) Dibutyl phthalate (DBP) /(μg·L^{-1})	215	n.d.
双酚A/(μg·L^{-1}) Bisphenol A (BPA) /(μg·L^{-1})	17.6±1.3	n.d.
壬基酚/(μg·L^{-1}) Nonylphenol (NP) /(μg·L^{-1})	26.8±0.9	n.d.

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2　渗滤液中典型 EDCs 的分析

(1) 处理前后水质参数分析

垃圾渗滤液中典型 EDCs 以及基本参数分析见表 1,本实验中垃圾渗滤液经过初步超滤,但色度较深达到 5 600 PtCo,COD 也高达 2 189 mg·L^{-1},这就说明含有很多有机污染物,3 种典型内分泌干扰物质中 DBP 含量最高,达到 215 μg·L^{-1},另外 BPA、NP 也分别达到了 18 μg·L^{-1}和 27 μg·L^{-1}。经过 UV-Fenton 高级氧化处理后 3 种 EDCs 的浓度都达到了检测限以下,不能被检出。

(2) 细胞毒性贡献率分析

对垃圾渗滤液中典型的内分泌干扰物质分别做 MCF-7 的细胞暴露实验,结果如图 2 所示,对照组增值率为正常值 100%,腐殖酸(HA) 跟对照组比没有显著性差异,NP、BPA、DBP 都表现出了明显的细胞毒性,NP 值最低,为 121%; BPA 其次,为 126%; 细胞毒性最高的是 DBP,为 136%,其中阳性对照为 141%。说明渗滤液中这 3 类 EDCs 都有明显的细胞毒性。以它们超出 100%的部分计算它们在渗滤液的贡献率,3 种 EDCs 的贡献率分别为 DBP 46%、BPA 28%、NP 23%。

2.3　模拟 EDCs 的细胞毒性分析

对垃圾渗滤液中 3 种典型 EDCs 分别做 UV-Fenton 过程中的细胞毒性检测,结果如图 3、4、5。从图 3 中可以看出 0 min 时的 NP 细胞毒性值最高,达到了 115%,其后随着高级氧化处理时间的增长,细胞毒性值不断降低,说明毒性一直在下降,当处理到 30 min 的时候,已经没有明显的细胞毒性,60 min 时,达到正常水平 100%左右。

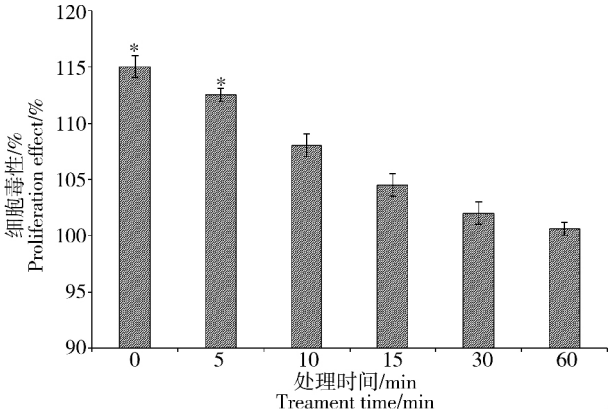

图 3　氧化处理时间对 NP 细胞毒性的影响(* P<0.05)

Fig. 3　The proliferation effect of NP with different UV-Fenton treatment time (* P<0.05)

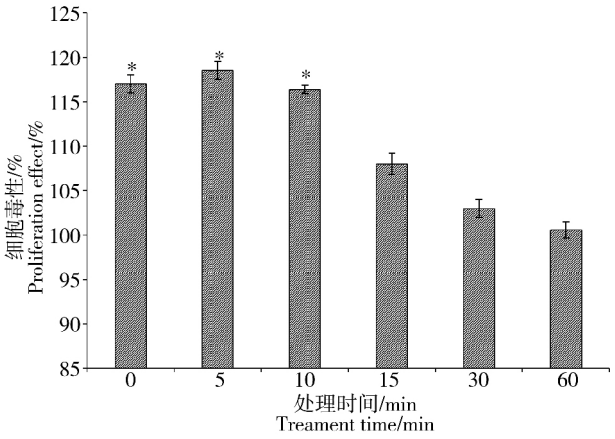

图 4　氧化处理时间对 BPA 细胞毒性的影响(* P<0.05)

Fig. 4　The proliferation effect of BPA with different UV-Fenton treatment time (* P<0.05)

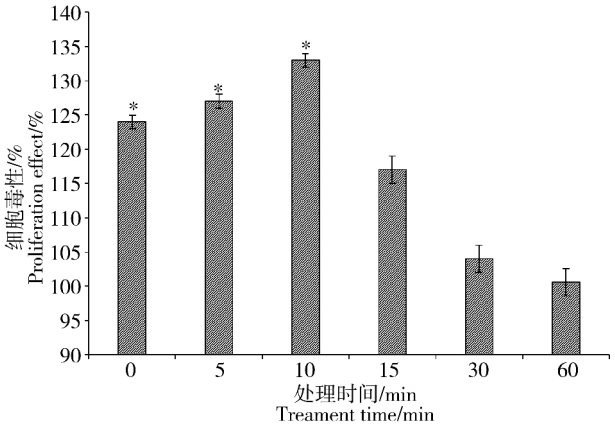

图 5　氧化处理时间对 DBP 细胞毒性的影响(* P<0.05)

Fig. 5　The proliferation effect of DBP with different UV-Fenton treatment time (* P<0.05)

BPA 的氧化过程显示出与 NP 不同的趋势,如图 4 所示: 氧化前 10 min 的 MCF-7 细胞毒性维持在 0 min 的水平,基本保持不变,其中最高值出现在 5 min 的 119%,高于 NP 的最大细胞毒性值 115%,15 min 时开始明显下降到 109%,直到 60 min 时不表现出细胞毒性。

与前两者不同,DBP 的细胞毒性在 10 min 时有一个峰值,达到 132%。如图 5 所示,从 0 min 的 124%开始,到 10 min,细胞毒性表现出上升的趋势,15 min 时后迅速下降到 118%,到 30 min 基本稳定,60 min 时显示正常增殖水平。从图中看出 DBP 的细胞毒性下降阶段主要集中在 10~30 min 之间。垃圾渗滤液中 3 种典型 EDCs 对 MCF-7 细胞毒性大小为 DBP>BPA>NP。

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

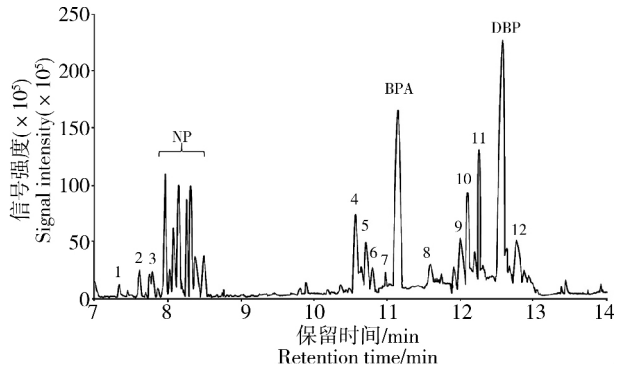

图 6 3 种典型内分泌干扰物(EDCs)氧化过程中间产物分析

注: UV-Fenton **处理时间 10** min; **峰 1~12 为中间产物。**

Fig. 6 Intermediates analysis of three typical endocrine disrupting chemicals (EDCs) in leachate by GC/MS

Note: degradation time is 10 min; peak 1-12 are the different intermediates.

2.4 氧化过程的中间产物分析

用 UV-Fenton 处理垃圾渗滤液中 3 种典型 EDCs 10 min 后,通过 GC/MS 技术分析降解过程中物质变化情况,结果如图 6 所示。可以看出,除了原来 3 种物质,色谱图中出现了很多新色谱峰 1~12,说明在降解 10 min 后产生了一些新的中间产物,结合质谱图分析,推断出中间产物中含有邻苯二甲酸二乙酯、羟基苯乙酮、羟基苯甲醛、羟基苯甲酸、甲酸、苯酚等毒性更高的物质。随着氧化时间的增长,这些中间产物被降解掉,最终转化为无毒无害的二氧化碳和水。

3 讨论(Discussion)

研究已表明垃圾渗滤液确实存在细胞毒性,浓度高时候会抑制细胞的生长,本实验中垃圾渗滤液原液浓度在 10%(V/V)的时候(图 1),对乳腺癌细胞产生了明显的细胞毒性,当浓度达到 20%(V/V)时,就表现出了细胞抑制效应,这与王桂芳等[3]的研究中,垃圾渗滤液浓度 20%(V/V)时候细胞活性受到明显抑制的结果相吻合。垃圾渗滤液的成分非常复杂,里面含有的有毒有害有机物有 100 多种,综合分析垃圾渗滤液中的本底物质与典型 EDCs 发现,渗滤液里主要有机组成成分大致可分为腐殖酸(HA)、邻苯二甲酸酯类(PAEs)、多环芳烃(PAHs)、烷基酚、双酚 A 等,其中 DBP、BPA、NP 是在渗滤液中被普遍检出的、含量相对较高的 3 类典型的 EDCs[2, 31-35]。Asakura 等[36]对日本某垃圾填埋场渗滤液的研究表明,双酚 A 和 DBP 的浓度特征显著,高出地表水中的 10 倍、30 倍。本实验中 DBP 已经达到 215 μg·L^{-1}(表 1),研究表明,这类物质在即使在 μg·L^{-1}~ng·L^{-1}水平,也能对人类和野生动物内分泌系统产生严重后果。

渗滤液模拟液的 MCF-7 细胞毒性实验结果发现(图 2),腐殖酸类物质是不具有细胞毒性的,NP、BPA、DBP 可以对细胞产生明显的细胞毒性(E2 作为阳性对照),其贡献率分别为 DBP 46%、BPA 28%、NP 23%,说明在渗滤液中处理过程中应该优先控制邻苯二甲酸酯类物质的含量,其次是 BPA,最后是直链类的烷基酚类化合物。

通过具体的氧化过程毒性试验(图 3、4、5),可以发现垃圾渗滤液中 3 类典型 EDCs 对 MCF-7 细胞的毒性变化过程。对于结构简单的 NP,UV-Fenton 产生的羟基自由基(·OH)比较容易把它氧化,降解为无毒的小分子化合物,所以降解过程中,毒性变化曲线也比较简单,细胞毒性规律呈现一直下降的趋势,最终在 60 min 的时候对细胞不表现出明显的细胞毒性。BPA 和 DBP 结构相对复杂[37],结果呈现出与 NP 截然不同的细胞毒性规律。BPA 前 10 min 毒性与 0 min 相比基本没发生什么变化,维持在 118%的水平,可能因为其结构复杂,羟基自由基短时间内无法氧化彻底,随着时间的累积,到 15 min 后,BPA 开始大量分解,细胞毒性也开始急剧下降到 109%,到 60 min 达到生物安全不显示细胞毒性。DBP 的毒性变化过程更复杂,从 0 min 的 124%,经过 5 min 时候的 128%,最终到达 10 min 时候的峰值 132%,这个过程无法用前面的降解过程来解释清楚。

借助 GC/MS 技术,我们萃取了降解过程中 10 min 时候的样品进行分析(图 6),结果发现除了 0 min 时刻的 3 种典型 EDCs,中间多了很多杂质峰,分析结果发现,虽然 BPA 降解过程前阶段浓度有下降,但是转变成的新物质羟基苯甲醛等中间产物仍然具有细胞毒性,所以毒性基本不发生变化,DBP 降解产生的邻苯二甲酸二乙酯和其他中间产物比 DBP 具有更高的细胞毒性,所以虽然经过降解浓度减少,但是细胞毒性却表现出上升的趋势。在复杂有机物降解过程中毒性的变化过程是不确定的,众所周知的苯酚变苯醌后毒性更强。综合图 3、4、5 我们发现虽然 3 类典型的 EDCs 都是具有细胞毒性的,但是经过 UV-Fenton 高级氧化过程处理 60 min 后,都可以达到细胞毒性安全[38-39]。

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

本实验的研究结果表明,垃圾渗滤液原液存在明显的细胞毒性,浓度低于 15%(V/V) 时产生细胞增殖毒性,大于 20%(V/V) 时,显示细胞抑制毒性,并且随着浓度的增加抑制毒性增加。垃圾渗滤液中 3 种典型的 EDCs 的细胞毒性呈现出 DBP>BPA>NP 的规律,并随着 UV-Fenton 高级氧化处理时间的增长降低,在实际氧化过程中应优先考虑邻苯二甲酸酯类污染物的氧化,处理足够的时间,保证达到生物安全性。

通讯作者简介: 赵玲(1965—) ,女,教授,主要研究方向为海洋赤潮危害与治理,固体废物处理处置和生态毒理研究,发表学术论文 50 余篇。

共同通讯作者简介: 尹平河(1959—) ,男,教授,暨南大学水生生物(重点学科) 专业博士生导师, 长期从事环境污染和赤潮治理的研究,曾先后多次获得各种奖励,发表学术论文 100 多篇。

参考文献(References) :

[1] Amor C, De Torres-Socias E, Peres J A, et al. Mature landfill leachate treatment by coagulation/flocculation combined with Fenton and solar photo-Fenton processes [J]. Journal of Hazardous Materials, 2015, 286: 261-268

[2] Long Y Y, Xu J, Shen D S, et al. Effective removal of contaminants in landfill leachate membrane concentrates by coagulation [J]. Chemosphere, 2017, 167: 512-519

[3] Wang G, Lu G, Zhao J, et al. Evaluation of toxicity and estrogenicity of the landfill-concentrated leachate during advanced oxidation treatment: Chemical analyses and bioanalytical tools [J]. Environmental Science & Pollution Research, 2016, 23(16) : 16015-16024

[4] Ahmed M B, Zhou J L, Ngo H H, et al. Progress in the biological and chemical treatment technologies for emerging contaminant removal from wastewater: A critical review [J]. Journal of Hazardous Materials, 2017, 323: 274-298

[5] Sole A, Matamoros V. Removal of endocrine disrupting compounds from wastewater by microalgae co-immobilized in alginate beads [J]. Chemosphere, 2016, 164: 516-523

[6] Arlos M J, Liang R, Hatat-Fraile M M, et al. Photocatalytic decomposition of selected estrogens and their estrogenic activity by UV-led irradiated TiO_2 immobilized on porous titanium sheets via thermal-chemical oxidation [J]. Journal of Hazardous Materials, 2016, 318: 541-550

[7] Chiu J M Y, Degger N, Leung J Y S, et al. A novel approach for estimating the removal efficiencies of endocrine disrupting chemicals and heavy metals in wastewater treatment processes [J]. Marine Pollution Bulletin, 2016, 112(1-2) : 53-57

[8] Hu X L, Wang X F, Ban Y X, et al. A comparative study of UV-Fenton, UV-H_2O_2 and Fenton reaction treatment of landfill leachate [J]. Environmental Technology, 2011, 32(9) : 945-951

[9] Ghosh P, Gupta A, Thakur I S. Combined chemical and toxicological evaluation of leachate from municipal solid waste landfill sites of Delhi, India [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2015, 22(12) : 9148-9158

[10] 邱松凯, 范举红, 黄开坚, 等. 臭氧-曝气生物滤池深度处理垃圾焚烧渗滤液可行性研究 [J]. 中国环境科学, 2014(10) : 2513-2521
Qiu S K, Fan J H, Huang K J, et al. A study on municipal waste leachate treatment with ozonation-biological aerated filter [J]. China Environmental Science, 2014 (10) : 2513-2521 (in Chinese)

[11] 李娜, 李小明, 杨麒, 等. 微波/活性炭强化过硫酸盐氧化处理垃圾渗滤液研究 [J]. 中国环境科学, 2014, 34(1) : 91-96
Li N, Li X M, Yang Q, et al. Landfill leachate treatment by microwave-enhanced persulfate oxidation process using activated carbon as catalyst [J]. China Environmental Science, 2014, 34(1) : 91-96 (in Chinese)

[12] 姜彦超. MBR+NF+RO 工艺处理垃圾渗滤液的研究 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2015: 3-7
Jiang Y C. The study of landfill leachate treatment by MBR+NF+RO process [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2015: 3-7 (in Chinese)

[13] Wang G F, Lu G, Yin P H, et al. Genotoxicity assessment of membrane concentrates of landfill leachate treated with Fenton reagent and UV-Fenton reagent using human hepatoma cell line [J]. Journal of Hazardous Materials, 2016, 307: 154-162

[14] Soto A M, Sonnenschein C, Chung K L, et al. The e-screen assay as a tool to identify estrogens: An update on estrogenic environmental pollutants [J]. Environmental Health Perspectives, 1995, 103(Suppl 7) : 113-122

[15] Conley J M, Evans N, Mash H, et al. Comparison of in vitro estrogenic activity and estrogen concentrations in source and treated waters from 25 US drinking water treatment plants [J]. Science of the Total Environment, 2017, 579: 1610-1617

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

[16] Belhaj D, Athmouni K, Jerbi B, et al. Estrogenic compounds in Tunisian urban sewage treatment plant: Occurrence, removal and ecotoxicological impact of sewage discharge and sludge disposal [J]. Ecotoxicology, 2016, 25(10): 1849-1857

[17] Aghajanpour-Mir S M, Zabihi E, Akhavan-Niaki H, et al. The genotoxic and cytotoxic effects of bisphenol-A (BPA) in MCF-7 cell line and amniocytes [J]. International Journal of Molecular and Cellular Medicine, 2016, 5(1): 19-29

[18] 刘倩. 典型环境内分泌干扰物对 MCF-7 细胞的增殖毒性及初步机理探讨 [D]. 上海: 上海大学, 2013: 17-20
Liu Q. Effects of typical environmental endocrine disrupting chemicals on MCF-7 cell proliferation and analysis of the mechanism [D]. Shanghai: Shanghai University, 2013: 17-20 (in Chinese)

[19] Bhatt S, Stender J D, Joshi S, et al. Oct-4: A novel estrogen receptor-alpha collaborator that promotes tamoxifen resistance in breast cancer cells [J]. Oncogene, 2016, 35(44): 5722-5734

[20] 索俊昌, 赵玲, 尹平河, 等. MCF-7 细胞评价老龄渗滤液经 IME-Fenton 处理后酚类提取物的雌激素效应 [J]. 环境科学学报, 2016, 36(3): 1121-1128
Suo J C, Zhao L, Yin P H, et al. Estrogen effect of MCF-7 cells on phenols extracts after IME-Fenton treatment of aged landfill leachate [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2016, 36(3): 1121-1128 (in Chinese)

[21] 赵琳. 气相色谱—质谱联用技术测定食品中邻苯二甲酸酯类的研究 [D]. 开封: 河南大学, 2013: 11-13
Zhao L. Determination of phthalate acid esters in food by gas chromatography-mass spectrometry [D]. Kaifeng: Henan University, 2013: 11-13 (in Chinese)

[22] 陈茹. 珠江河口水体和沉积物中壬基酚和辛基酚的分布特征及风险评价 [D]. 广州: 暨南大学, 2014: 13-17
Chen R. Distribution characteristics and risk assessment of nonylphenol and octylphenol in water and sediments from riverine runoff of the Pearl River Delta [D]. Guangzhou: Jinan University, 2014: 13-17 (in Chinese)

[23] 阳陈. 水中环境激素—邻苯二甲酸酯类的检测及降解研究 [D]. 南京: 南京理工大学, 2007: 12-19
Yang C. Study on the determination and degradation of environmental hormones—Phthalic acied esters [D]. Nanjing: Nanjing University of Science and Technology, 2007: 12-19 (in Chinese)

[24] Suzuki T, Yaguchi K, Suzuki S, et al. Monitoring of phthalic acid monoesters in river water by solid-phase extraction and GC-MS determination [J]. Environmental Science & Technology, 2001, 35(18): 3757-3763

[25] 李婷. 珠江河口水体和沉积物中 6 种邻苯二甲酸酯污染及初步风险评价 [D]. 广州: 暨南大学, 2014: 22-25
Li T. Pollution levels and risk assessment of 6 priority phthalate esters in water and sediments from estuaries of the Pearl River Delta [D]. Guangzhou: Jinan University, 2014: 22-25 (in Chinese)

[26] Li P, Mei Z, Cai W S, et al. Rapid analysis of phthalic acid esters in environmental water using fast elution gas chromatography with mass spectrometry and adaptive library spectra [J]. Journal of Separation Science, 2014, 37(13): 1585-1590

[27] Song Q, Zhang Y, Yan L, et al. Risk assessment of the endocrine-disrupting effects of nine chiral pesticides [J]. Journal of Hazardous Materials, 2017, 338: 57-65

[28] Su Wei Poh M, Voon Chen Yong P, Viseswaran N, et al. Estrogenicity of glabridin in Ishikawa cells [J]. Plos One, 2015, 10(3): e0121382

[29] Rasmussen T H, Nielsen J B. Critical parameters in the MCF-7 cell proliferation bioassay (e-screen) [J]. Biomarkers, 2002, 7(4): 322-336

[30] Liu Z H, Lu G N, Yin H, et al. Removal of natural estrogens and their conjugates in municipal wastewater treatment plants: A critical review [J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(9): 5288-5300

[31] Molins-Delgado D, Diaz-Cruz M S, Barcelo D. Ecological risk assessment associated to the removal of endocrine-disrupting parabens and benzophenone-4 in wastewater treatment [J]. Journal of Hazardous Materials, 2016, 310: 143-151

[32] Oturan N, van Hullebusch E D, Zhang H, et al. Occurrence and removal of organic micropollutants in landfill leachates treated by electrochemical advanced oxidation processes [J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(20): 12187-12196

[33] Gallo M V, Ravenscroft J, Carpenter D O, et al. Endocrine disrupting chemicals and ovulation: Is there a relationship? [J]. Environmental Research, 2016, 151: 410-418

[34] Volker J, Castronovo S, Wick A, et al. Advancing biological wastewater treatment: Extended anaerobic conditions enhance the removal of endocrine and dioxin-like activities [J]. Environmental Science & Technology, 2016, 50(19): 10606-10615

[35] He P J, Zheng Z, Zhang H, et al. PAEs and BPA removal in landfill leachate with Fenton process and its re-

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

lationship with leachate DOM composition [J]. Science of the Total Environment, 2009, 407(17): 4928-4933

[36] Asakura H, Matsuto T. Experimental study of behavior of endocrine-disrupting chemicals in leachate treatment process and evaluation of removal efficiency [J]. Waste Management, 2009, 29(6): 1852-1859

[37] Kaise A, Ohta K, Endo Y. Design, synthesis, and anti-proliferative activity of 1-(4-methoxyphenyl)-12-hydroxymethyl-p-carborane derivatives [J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2016, 122: 257-263

[38] Kwon J, Oh K S, Cho S Y, et al. Estrogenic activity of hyperforin in MCF-7 human breast cancer cells transfected with estrogen receptor [J]. Planta Medica, 2016, 82(16): 1425-1430

[39] Zingue S, Tchoumtchoua J, Ntsa D M, et al. Estrogenic and cytotoxic potentials of compounds isolated from Millettia macrophylla benth (Fabaceae): Towards a better understanding of its underlying mechanisms [J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2016, 16(1): 421

◆

?1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net