

基于 CellSense 生物传感器的垃圾渗滤液毒性分析

王学江, 张峰华, 王虹, 赵红宁, 赵建夫, 夏四清

(同济大学环境科学与工程学院, 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海 200092)

摘要:采用基于大肠杆菌(*E. coli*)的 CellSense 生物传感器, 对上海某垃圾填埋场渗滤液处理系统垃圾渗滤液原液(1 号)、兼性塘(2 号)、曝气氧化塘(3 号)、矿化垃圾生物床(4 号)和 FeC 内电解(5 号)各处理单元的水质毒性进行跟踪分析. 结果表明, 在该垃圾渗滤液的处理过程中, 由于渗滤液的基质作用和难降解有机物生成的毒性中间产物等的影响, 处理工艺中部分单元的水质毒性出现升高现象. CellSense 生物传感器分析得上述 1~5 号单元的水质综合毒性分别为 90%(EC_{10})、80%(EC_{30})、60%(EC_{50})、80%(EC_{50})和 2%(EC_{50}), 毒性分析结果与对应的 COD 和氨氮等指标无明显相关性.

关键词:生物传感器; 毒性; 重金属; 有机物; 垃圾渗滤液

中图分类号: X830.2 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)11-3377-05

Toxicity Assessments of Landfill Leachate Based on CellSense Biosensor

WANG Xue-jiang, ZHANG Feng-hua, WANG Hong, ZHAO Hong-ning, ZHAO Jian-fu, XIA Si-qing

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract: The toxicity of landfill leachate of domestic wastes in different treatment unites landfill leachate pretreatment (No. 1), facultative lagoon (No. 2), aerated lagoon (No. 3), mineralized refuse bioreactor (No. 4) and catalysis iron inner electrolysis (No. 5) of leachate treatment process in Shanghai was determined based on CellSense biosensor with *E. coli*. The results showed that the toxicity of the effluent in different treatment unites for landfill leachate increased during the treatment process due to the influence of matrix effect and intermediate toxic products of refractory organic matters. The toxicity of the effluent from No. 1 to No. 5 unites are 90% (EC_{10}), 80% (EC_{30}), 60% (EC_{50}), 80% (EC_{50}) and 2% (EC_{50}), respectively. This showed no significant correlation with their corresponding COD and ammonia nitrogen concentrations.

Key words: biosensor; toxicity; heavy metals; organic matters; landfill leachate

在我国, 垃圾填埋是一种主要的垃圾处理方式, 城市垃圾在填埋过程中和填埋场封场后都会伴随着垃圾渗滤液的产生. 垃圾渗滤液是一种高浓度的有机废水, 成分非常复杂, 其中的有机物多为芳烃、烷烃、烯烃类、酸类、酯类、醇、酚类、胺及酰胺类等, 有些已被确认为可疑致癌物、促癌物和辅助致癌物^[1~6], 渗滤液中还含有大量致病菌群和一些重金属, 若不妥善处理, 会对周围生态环境造成多方面的危害^[7~11]. 近年来, 随着越来越多的有毒污染物进入环境, 其对生物体的毒性效应开始受到人们的广泛关注. 迄今为止, 国内外已研究开发了以微生物的发光、细胞生长、呼吸、ATP 水平、酶活性变化等生理指标为指征的多种毒性评价方法^[12~19], 其中, 基于生物传感器的微生物毒性测试方法在环境监测领域倍受重视.

CellSense 生物传感器是一种新型的水质毒性分析系统, 因具有便携、快速、灵敏和在线分析等特点, 受到了人们的关注. 本研究首次采用自制的 *E. coli* 型 CellSense 生物传感器, 对上海某垃圾填埋场渗滤

液处理系统各个处理单元出水的毒性进行了跟踪分析, 考察了 CellSense 生物传感器在实际废水综合毒性分析中的应用性能, 以期为其在我国环境监测中的推广应用提供参考.

1 材料与方法

1.1 CellSense 生物传感器毒性分析系统

CellSense 生物传感器毒性分析系统(英国 Eurodon 公司)是一种基于氧化还原介质的全细胞电流型微生物传感器. 它的工作原理是: 固定于传感器工作电极表面微生物的呼吸作用产生的电子通过氧化还原介质作用, 实现其在微生物细胞和电极表面之间的传递, 从而形成生物电流信号被系统以检测出来. 当毒性污染物存在时, 微生物细胞呼吸作用因

收稿日期: 2008-12-23; 修订日期: 2009-03-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(20707014); 国家高技术研究发展计划(863)重大项目(2009AA06XK1483190); 上海市基础研究重点项目(08JC1418900)

作者简介: 王学江(1974~), 男, 博士, 副教授, 主要研究方向为水污染控制与生物传感器环境监测技术, E-mail: wangxj@tongji.edu.cn

受到毒性抑制作用,从而表现为电流强度的变化,根据待测污染物对生物电流影响的程度来判断毒性的强弱,采用的评价指标为半数有效浓度(50% effective concentration, EC_{50}).它可通过选择固定特定

敏感指示微生物对不同污染物(污染源)的毒性做出评价. CellSense 生物传感器工作原理示意图和微生物电极见图 1.

1.2 微生物电极制备

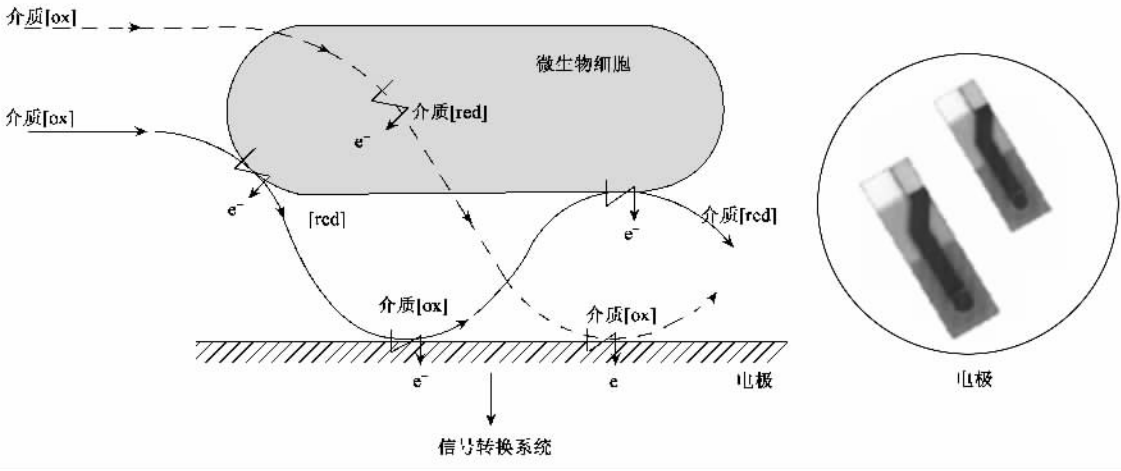


图 1 CellSense 生物传感器工作原理及电极
Fig. 1 Principle of CellSense biosensor and electrodes

取一定量 *E. coli* Top10 纯菌株接种于 200 mL LB 培养基溶液中,在恒温摇床中 30℃, 150 r/min 转速条件下培养 24 h 后,在 5 000 r/min 下离心 30 min,用 0.85% NaCl 溶液洗涤菌体 3 次,在 10 000 r/min 下离心 5 min,得到湿菌体,保存于冰箱(−40℃)待用.

取 0.5 g 上述湿菌体,加入 200 μL 0.85% NaCl 溶液,用灭菌牙签将菌体和水溶液搅匀,用移液枪汲取 7 μL 均匀涂于电极工作区域表面,室温晾干;用双面胶纸(3M 公司)将聚碳酸酯膜(孔径 0.4 μm, Whatman)密封在菌体表面,制得微生物电极,置于冰箱 4℃ 保存.

1.3 CellSense 生物传感器毒性分析方法

将上述制得的微生物电极放置于含 0.85% NaCl 的呼吸基质中活化 30 min,将经活化的微生物电极浸入装有 10 mL 呼吸基质的平底玻璃瓶中,待 CellSense 生物传感器毒性分析系统稳定 5~10 min 后,加入一定量 *p*-苯醌氧化还原介质(图 2 中 a 处),待电信号稳定约 15 min,分别加入不同浓度的待测水样进行毒性测试(图 2 中 b 处).此过程中,CellSense 生物传感器计算系统将自动记录微生物电极输出电流的变化曲线(见图 2).根据电流抑制曲线,可计算出不同浓度对应的抑制率大小.

毒理学指标 EC_{50} 值通过基于米门方程的双曲线函数拟合进行计算,抑制率和抑制物质浓度之间关系表达式如公式(1)所示.

$$\mu = \frac{\mu_{\max} \cdot c}{k + c} \tag{1}$$

式(1)中, μ 为抑制率, $\mu_{\max}$ 为估算所得的最大抑制率, k 为常数, c 为抑制污染物浓度(或体积分数, %).

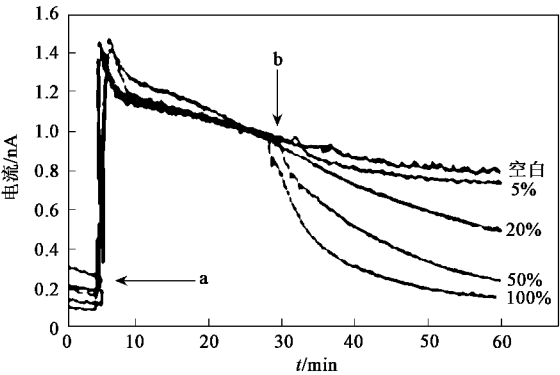


图 2 CellSense 生物传感器毒性分析电流抑制曲线示意
Fig. 2 Typical toxicity analysis current curves of CellSense biosensor

1.4 水样采集

上海某垃圾填埋场目前每天消纳垃圾 6 000~9 000 t,该垃圾填埋场渗滤液处理工艺流程见图 3,其中:矿化垃圾生物反应床和 FeC 内电解处理工艺为中试试验单元.各处理单元具体工艺参数如下.

(1)垃圾填埋层所产生的渗滤液经收集系统汇合到调节池,设计停留时间约为 70~90 d,渗滤液在

调节池中经长时间的厌氧降解,使 COD 由 $2 \times 10^4 \sim 5 \times 10^4$ mg/L 降至 5 000 ~ 8 000 mg/L.

(2)调节池出水进入兼性塘,兼性塘设计水力停留时间为 30 ~ 50 d,使 COD 进一步降低至 3 000 ~ 4 000 mg/L.

(3)兼性塘出水进入曝气塘进一步去除渗滤液中的 COD 和 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$,曝气塘停留时间为 30 d,处理出水的 COD 降至 1 000 mg/L 左右, $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 降至 200 ~ 300 mg/L,曝气塘出水经市政污水管道输送进入城市污水厂做进一步处理.

分析水样取自该垃圾填埋场渗滤液处理工艺主要处理各单元出水,分别为:1 号,垃圾渗滤液原液;2 号,兼性塘出水;3 号,曝气塘出水;4 号,矿化垃圾生物反应床出水;5 号,FeC 内电解工艺出水.

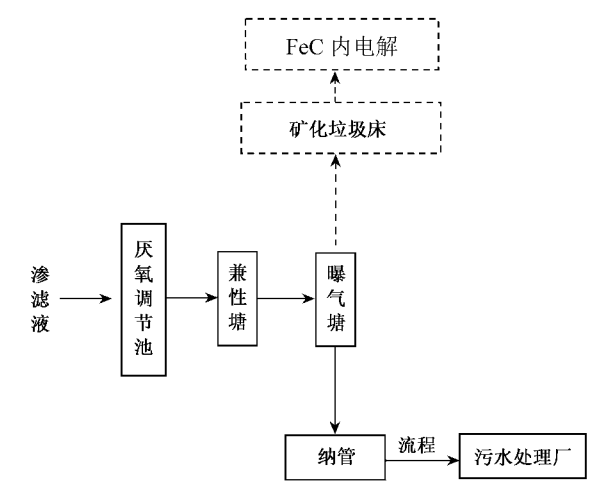


图 3 垃圾渗滤液处理工艺流程

Fig.3 Flow sheet for landfill leachate treatment process

2 结果与分析

基于 *E. coli* 型 CellSense 生物传感器对 1 ~ 5 号水质的毒性分析见图 4. 从中可看出,该垃圾渗滤液处理工艺各单元出水对 *E. coli* 的毒性作用存在一定的差异性. 在 1 ~ 4 号单元的水质毒性分析中,当高稀释比渗滤液加入时,该生物传感器检测的呼吸电流信号明显升高,表现出对 *E. coli* 代谢过程具有一定的促进作用,随着渗滤液加入浓度的升高,其中含有的毒性物质对 *E. coli* 的活性开始呈现一定的抑制作用. 如在 3 号处理单元中,当渗滤液添加比低于 30% 时,测得 *E. coli* 的呼吸电流信号呈现出明显增强趋势,当渗滤液添加比分别达到 60%、80% 和 100% 时,其对 *E. coli* 呼吸电流的抑制率分别为 71%、73% 和 76%. 同时,由图 4 可以看出,与其他

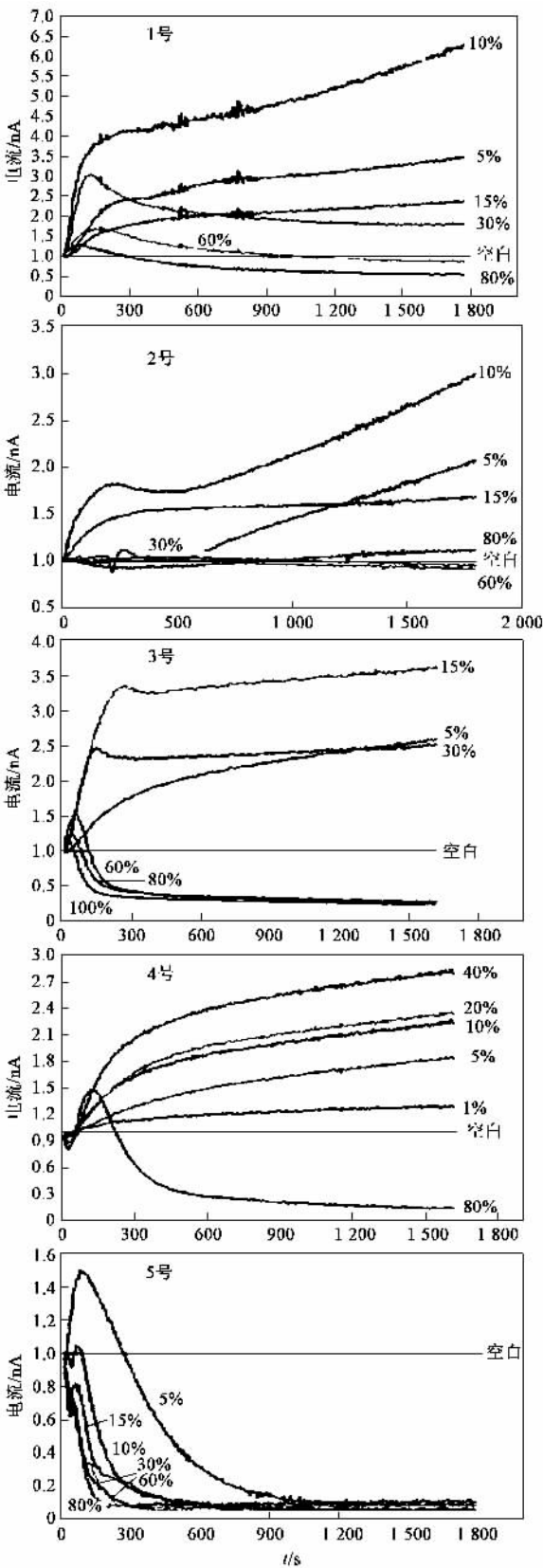


图 4 基于 *E. coli* 型 CellSense 生物传感器的垃圾渗滤液毒性分析

Fig.4 Toxicity test of landfill leachate using CellSense biosensor with *E. coli*

4 个单元水质相比,5 号处理单元出水对 *E. coli* 的毒性作用最强,当渗滤液添加比为 5% 时,其对 *E. coli* 呼吸活性的抑制率已高达 92%。*E. coli* 型 CellSense 生物传感器的分析得该垃圾渗滤液处理工艺各单元的水质毒性顺序为 5 号(EC_{50} , 2%) > 3 号(EC_{50} , 60%) > 4 号(EC_{50} , 80%) > 1 号(EC_{30} , 90%) > 2 号(EC_{10} , 80%)(见表 1)。

3 讨论

事实上,该垃圾填埋场主要消纳的是生活垃圾,相对于其它同时兼纳工业垃圾的填埋场来说,其渗滤液毒性物质成分相对较少^[20]。该垃圾填埋场渗滤液的 GC-MS 和 ICP 分析结果见表 1^[21]。从中可以看出:其中的有机物主要包括一些常见的烷烃、烯烃类以及醇类(胆固醇)等物质,同时,由于生活垃圾中的微量重金属溶出率不高^[22,23],在 1~4 号单元水体中的重金属离子的含量较低(见表 2)。这样,在重金属浓度变化不大的情况下,由于垃圾渗滤原液(1 号)中共存的易于生物降解有机物对 *E. coli* 活性的基质作用,使得其水质综合毒性仅比后继的兼性塘(2 号)出水的高。而对于 2 号处理单元,其进水经过调节池厌氧水解作用,其中难降解的大分子有机物通过水解作用部分降解为小分子有机物^[22],从而引起对 *E. coli* 的基质作用增大,因此其水质综合毒性较 1 号的低。然而,随着后续工艺处理的进行,渗滤液中易于生物降解的有机物逐渐被生物分解利用,COD 浓度逐渐降低,导致渗滤液的基质作用减弱,且部分难降解有机物逐渐生成毒性较强的中间产物,如李鸿江等^[24]对该垃圾渗滤液处理工艺中曝气塘(3 号)和矿化垃圾床(4 号)出水的 GC-MS 分析中,检测出较高浓度的邻苯二甲酸二辛酯等毒性物质,导致后继 3 号和 4 号处理单元水质的综合毒性较 1 号和 2 号的强。李鸿江等^[25]在对矿化垃圾床处理单元(4 号)的研究中,发现 3 号处理单元的出水经矿化垃圾床处理后,大部分有机污染物被降解,如邻苯二甲酸二辛酯的浓度得到明显降低,且几种重要的重金属离子如 Zn、Pb、Ni、Cr、Cu 等的浓度也有明显下降甚至被完全去除(见表 2),4 号水质的这些变化很好的地解释了其毒性较 3 号低的原因。楼紫阳等^[26]在对 FeC 内电解处理单元(5 号)的研究中,发现经 FeC 内电解工艺处理后,渗滤液中的有机物在进一步降低的同时,Fe 含量亦有较大比例升高(见表 2)。由此可以推断,5 号水质综合毒性明显升高主要是由于高浓度的 Fe 引起的。

表 1 渗滤液样品固相萃取后的 GC-MS 分析结果

Table 1 GC-MS analytical results of leachate samples		
物质	中文名	分子式
Colchicine	秋水仙素	C ₂₂ H ₂₅ NO ₆
Eucalyptol	桉叶醇	C ₁₀ H ₁₈ O
1,3- Benzenedia mine-4-methoxy	甲氧基间苯二胺	C ₇ H ₁₀ N ₂ O
Pempidine	潘必定	C ₁₀ H ₂₁ N
Triethyl phosphate	磷酸三乙酯	C ₆ H ₁₅ O ₄ P
Oleyl alcohol	油醇	C ₁₈ H ₃₆ O
Undecylenic acid	十一烯酸	C ₁₁ H ₂₀ O ₂
Phenol-p-tert-butyl	丁基酚	C ₁₀ H ₁₄ O
Folic acid	维生素 M	C ₁₉ H ₁₉ N ₇ O ₆
17-Methyltestosterone,	甲睾酮	C ₂₀ H ₃₀ O ₂
Phenol Bis[2,6-bis (1,1'-dimethylethyl)]	2,6-二叔丁苯酚	C ₁₄ H ₂₂ O
1,2-Benzenedicarboxylic acid dinonyl ester	对苯二甲酸甲酯	C ₂₆ H ₄₂ O ₄
Headenace	十六烷	C ₁₆ H ₃₄
Phenol-2-methyl-5-methylethyl	5-甲基-2-甲基酚	C ₁₀ H ₁₄ O
Carotene	胡萝卜素	C ₄₀ H ₅₆
Phenol 4,4'-(methylethylidene) bis	4,4'-甲基对二苯酚	C ₁₅ H ₁₆ O ₂
Squalane	低凝点高级润滑油	C ₃₀ H ₆₂
Cholesterol	胆固醇	C ₂₇ H ₄₆ O

该垃圾填埋场渗滤液处理工艺各单元出水水质情况如表 2,由各单元出水水质的 EC_{50} 对应的 COD 和氨氮指标可以看出,该垃圾渗滤液处理工艺各单元出水的水质毒性与对应的 COD 和氨氮等指标不具有明显的相关性。

表 2 渗滤液处理工艺中各单元出水水质

Table 2 Characters of effluents from different treatment process of landfill leachate					
项目	1 号	2 号	3 号	4 号	5 号
EC_{50} (体积分数)/%	90(EC_{30})	80(EC_{10})	60	80	2
COD/mg•L ⁻¹	54 651	7 744	3 773	458	385
NH ₄ ⁺ -N/mg•L ⁻¹	3 143	2 053	808	34	23
重金属含量/mg•L ⁻¹					
Zn	0.38	0.38	0.30	0.02	1.18
Pb	0.71	0.67	0.62	0.34	0.08
Ni	0.33	0.3	0.2	0.12	0.14
Fe	3.01	2.99	2.94	未检出	42.40
Cr	0.23	0.24	0.2	未检出	—
Cu	0.17	0.14	0.10	0.04	0.12
Al	3.01	2.47	2.24	1.18	8.36
pH	7.13	8.07	8.66	7.78	7.31

4 结论

(1)基于 *E. coli* 的 CellSense 生物传感器分析表明,该垃圾渗滤液的处理过程中,由于渗滤液中有有机物基质效应的减小和难降解有机物生成的毒性较强中间产物等的影响,处理工艺中部分单元的水质综

合毒性出现升高现象.

(2)该垃圾渗滤液处理工艺各单元出水的水质毒性与其对应的 COD 和氨氮等指标不具有明显的相关性.

(3)在 FeC 内电解处理单元中,由于 FeC 内电解工艺引入高浓度的铁离子等金属离子,致使其对 *E. coli* 的生物毒性作用明显增强.

(4)制备的 *E. coli* 型 CellSense 生物传感器在能客观、真实地反映污水水质的综合毒性变化情况,具有良好的应用性能.

参考文献:

[1] 张于峰, 邓娜, 李新禹, 等. 城市生活垃圾方法及效益评价 [J]. 自然科学进展, 2004, **14**: 863-868.

[2] 庄相宁, 谷庆宝, 李秀金, 等. 铁-镁-铝无机复合絮凝剂用于垃圾渗滤液预处理的研究 [J]. 农业环境科学学报, 2005, **5**: 79-83.

[3] Looser M O, Parriaux A, Bensimon M. Landfill underground pollution detection and characterization using inorganic traces [J]. Water Res, 1999, **33**: 609-616.

[4] Chandra S, Chauhan L K, Pande P N, *et al.* Cytogenetic effects of leachates from tannery solid waste on the somatic cells of *Vicia faba* [J]. Environ Toxicol, 2004, **19**: 129-133.

[5] 周少奇, 钟红春, 胡永春. 聚铁混凝-Fenton 法-SBR 工艺对成熟垃圾场渗滤液深度处理的研究 [J]. 环境科学, 2008, **29** (8): 2201-2205.

[6] 于云江, 王红梅, 赵秀阁, 等. 垃圾渗滤液所致大鼠肝毒性研究 [J]. 毒理学杂志, 2008, **22**(1): 38-39.

[7] Wang X J, Chen L, Xia S Q, *et al.* Changes of Cu, Zn, and Ni chemical speciation in sewage sludge co-composted with sodium sulfide and lime [J]. J Environ Sci, 2008, **20**: 156-160.

[8] 董军, 赵勇胜, 张伟红, 等. 生活垃圾渗滤液中重金属在不同氧化还原带中的衰减 [J]. 中国环境科学, 2007, **27**(6): 743-747.

[9] 徐润林, 莫燕. 垃圾渗滤液浇灌对红壤原生动动物群落的影响 [J]. 应用与环境生物学报, 2001, **7** (1): 41-44.

[10] 董军, 赵勇胜, 张伟红. 渗滤液污染羽中污染物和氧化还原灵敏性物质的分布 [J]. 环境科学, 2008, **29**(9): 2613-2617.

[11] 赖经妹, 李平, 吴锦华, 等. 混凝对老龄垃圾渗滤液的毒性削减试验研究 [J]. 工业用水与废水, 2008, **39**(5): 26-29.

[12] Wang H, Wang X J, Zhao J F, *et al.* Toxicity assessment of heavy metals and organic compounds using CellSense biosensor with *E. coli* [J]. Chin Chem Lett, 2008, **19**: 211-214.

[13] 于海, 何苗, 蔡强, 等. 检测水中急性毒性污染物的发光细菌光纤传感器的研究 [J]. 环境科学, 2008, **29**(2): 375-379.

[14] 卢培利, 张代均, 张欣, 等. 混合呼吸仪评估 pH 值和重金属对污泥活性的抑制 [J]. 中国环境科学, 2008, **28**(5): 422-426.

[15] Dalzell D J B, Christofi N. An ATP luminescence method for direct toxicity assessment of pollutants impacting on the activated sewage sludge process [J]. Wat Res, 2002, **36**: 1493-1502.

[16] 陈朗, 宋玉芳, 张薇, 等. 土壤镉污染毒性效应的多指标综合评价 [J]. 环境科学, 2008, **29**(9): 2606-2612.

[17] 王伟, 叶瞰旻, 王琪, 等. 适用于焚烧飞灰卫生填埋场共处置的浸出毒性鉴别程序研究 [J]. 环境科学, 2007, **28** (12): 2867-2872.

[18] 王斌, 余刚, 黄俊, 等. 应用 ICE 和 PCA 方法评价硝基芳烃的综合毒性 [J]. 环境科学, 2007, **28**(8): 1774-1778.

[19] 董玉瑛, 雷炳莉, 王壮, 等. 废(污)水的理化指标及其对发光细菌的毒性分析 [J]. 中国给水排水, 2008, **24**(21): 96-98.

[20] Veronica R, Emma N, Monica O, *et al.* Leaching of contaminants from untreated pine bark in a batch study: Chemical analysis and cototoxicological evaluation [J]. J Hazard Mater, 2009, **163**: 1096-1100.

[21] 楼紫阳. 填埋场渗滤液性质演化过程研究 [D]. 上海: 同济大学, 2007. 135-140.

[22] 楼紫阳, 柴晓利, 牛冬杰, 等. 老港填埋场渗滤液性质随工艺变化研究 [J]. 环境污染与防治, 2005, **27**(6): 443-447.

[23] 马利民, 陈玲, 赵建夫, 等. 污泥土地利用对土壤中重金属形态的影响 [J]. 生态环境, 2004, **13**(2): 151-153.

[24] 李鸿江, 张文海, 朱英, 等. 矿化垃圾处理渗滤液中有机污染物的 GC-MS 研究 [J]. 有色冶金设计与研究, 2007, **28**(2-3): 184-186.

[25] 李鸿江, 赵由才, 张文海, 等. 矿化垃圾去除渗滤液中有有机物及金属离子的研究 [J]. 中国给水排水, 2008, **24**(19): 106-108.

[26] 楼紫阳, 吴革军, 张晓均, 等. FeC 内电解处理渗滤液尾水研究 [J]. 有色冶金设计与研究, 2007, **28**(2-3): 237-240.