

湖泊沉积物对 17 β -雌二醇的降解效能

何芳¹, 李富生², Akira Yuasa², 王立国¹

(1. 济南大学 资源与环境学院, 济南 250022;

2. 日本国立岐阜大学 流域圈科学研究中心, 岐阜 501-1193, 日本)

摘要:沿湖泊沉积物垂直高度取表层(SL, 0~2 cm)、中层(ML, 14~16 cm)、底层(BL, 28~30 cm)3层底泥微生物为对象,研究了湖泊沉积物对 17 β -雌二醇(17 β -estradiol, E2)的生物降解效能。结果表明:无论在好氧还是厌氧条件下,E2及其副产物雌激素酮(estrone, E1)的降解行为与沉积物沉积深度和环境温度有密切关系:底泥沉积深度愈深,E2降解速率愈低;在微生物活性温度范围内,环境温度愈高,E2降解速率愈高。好氧条件下,湖泊沉积物中E2降解反应的 k 值为 0.002~0.120 h⁻¹·g⁻¹·L;厌氧条件下, k 值为 0.002~0.057 h⁻¹·g⁻¹·L。由于诱导驯化及有机物竞争关系减小等原因,向反应体系中再次添加E2后,其 k 值增大约34%。湖泊沉积物中硝化细菌的存在对E2降解具有促进作用。

关键词:湖泊;沉积物;17 β -雌二醇;生物降解;降解速率

中图分类号:X703.1 文献标志码:A 文章编号:1674-4764(2012)04-0125-06

Efficiency of Biodegradation of 17 β -Estradiol by Lake Sediment

HE Fang¹, LI Fusheng², AKIRA Yuasa², WANG Ligu¹

(1. College of Resources and Environment, University of Jinan, Jinan 250022, P. R. China;

2. River Basin Research Center, Gifu University, 1-1 Yanagido, Gifu 501-1193, Japan)

Abstract: Batch experiments using sediment mud liquors spiked with 17 β -estradiol (E2) were performed. The sediment mud liquors were prepared from the sliced surface (SL, 0~2 cm), middle (ML, 14~16 cm) and bottom (BL, 28~30 cm) layers of sediment cores collected in a lake, respectively. By measuring the concentration profiles of E2 and its biotransformation compound, estrone (E1), the great dependency of E2's degradation behavior upon the vertical position of the sediment and temperature was clearly demonstrated under both aerobic and anaerobic conditions: the degradation rate decreased with the increase of sediment depth and increased with higher temperature. In addition, by assuming a first-order rate reaction, the disappearance rate constant (k) of E2 under the aerobic condition was estimated to in the range of 0.002~0.120 h⁻¹·g⁻¹·L, while under the anaerobic condition in the range of 0.002~0.057 h⁻¹·g⁻¹·L. Because of microorganism domestication and competition reduction of organic compounds, k was increased by about 34% after re-spiking E2. The addition of ammonia to the experiment under aerobic condition seemed to be responsible for promoting disappearance of E2 from solutions.

Key words: lake; sediment; 17 β -estradiol; biodegradation; degradation rate

收稿日期:2012-01-06

基金项目:国家自然科学基金(21107031);山东省优秀中青年科学家奖励基金(BS2010HZ003)

作者简介:何芳(1975-),女,副教授,主要从事环境研究,(E-mail)chm_hef@ujn.edu.cn。

在诸多天然类固醇雌激素中,17 β -雌二醇(E2)被认为是最具潜在影响、作用最强烈且在水环境中普遍存在的一种,其质量浓度低至 ng/L 级时仍对水生生物繁殖、生态安全乃至人类健康造成极大的潜在威胁^[1-2]。生活污水是水环境中 E2 的重要来源,污水处理厂进水中 E2 的质量浓度达到 13.9~136 ng/L^[3-4],由于不同活性污泥处理工艺和使用年限、曝气池中菌密度、操作方式和运行条件的不同,E2 在出水中的浓度差别很大,对受纳水体造成极大的安全隐患^[5-8]。但目前关于河流、湖泊等天然受纳水体中 E2 的研究却鲜有报道^[9-10];且由于 E2 具有一定的脂溶性特征^[11],易在水体沉积物中蓄积,沉积物中富含硝化菌、反硝化菌、硫酸盐还原菌、甲烷菌等微生物^[12]会与 E2 发生物理的、化学的和生物的相互作用,其作用结果对天然水体水质自然净化起着决定性的作用。

以日本境内某湖泊为研究对象,该湖泊兼具饮用、灌溉水源、水产水运、开展旅游和改善生态环境等多种功能,具有非常重要的代表性。以该湖泊沉积物中微生物为菌源,探讨温度、DO、底泥沉积深度等环境因子对 E2 降解过程的影响,旨在完善现有各污水处理厂的操作、运行工艺参数及实际工程应用于 E2 污染水体治理,有效提高 E2 的去除效率。

1 材料与方 法

1.1 研究区简介

湖泊沉积物取自日本岐阜境内的长良湖泊,该湖泊总面积 1 516 km²,流域面积 45 458 km²,平均水深 2.41 m。注入河流 22 条,集流面积 29 115 km²。

由于湖泊微生物的种类受水质、污水排放情况等的影 响,因此对该流域的土地使用情况及污水排放情况从上游至下游设置 6 个微区进行调查,取样及调查地点和结果分别见图 1、表 1。

1.2 沉积物采集及处理

含有微生物的沉积物样品取自日本岐阜县境内的某一湖泊,在湖泊中心部位无扰动采集 30 cm 厚

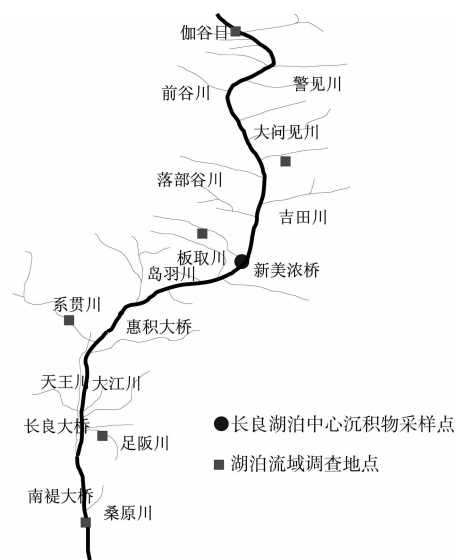


图 1 长良湖泊研究区域和采样点

表 1 湖泊流域土地利用及污染源概况

调查地点	概况
1)	上游,以森林为主,存在零星农田。
2)	以森林为主,附近有生活污水排放口。
3)	中游,主要以农耕地为主,有市街区排水注入。
4)	附近有食品厂、化纤厂等,有下水道污水注入。
5)	有化工、印染企业等,有下水道污水注入。
6)	下游,多条支流在此交汇,有工厂排水及市区生活污水注入。

的表层及沉积物柱芯,按 2 cm 间隔分截,取其表层(SL,0~2 cm)、中层(ML,14~16 cm)、底层(BL,28~30 cm)3 个沉积层底泥,分别置于 50 mL 离心管中,3 000 r/min 离心分离 5 min,离心管底部沉积物作为实验中菌源。底泥及间隙水的性质见表 2。

1.3 标准溶液

试验所用 E2 和 E1 购自日本的 Wako Pure Chemical Industries, Ltd.,根据不同的用途分别配制成标准溶液及试验用溶液。为保证 E2 为外部添加唯一有机碳源,试验用 E2 溶液是在 Milli-Q 超纯水中溶解的。

表 2 沉积物样品特征

样品	底泥特征					间隙水水质/(mg·L ⁻¹)				
	含水率/%	基于离心后沉积物/%				PO ₄ -P	NH ₄ -N	NO ₃ -N	NO ₂ -N	DOC
		VSS	C	N	P					
SL	63.4	12.6	3.07	0.32	2.20	0.41	3.78	0.25	0.02	21.2
ML	57.9	11.2	2.31	0.20	1.71	0.21	16.84	0.03	0.05	45.6
BL	49.5	10.2	1.80	0.13	1.33	0.27	14.59	0.05	0.02	37.8

1.4 批次生物降解试验

3个沉积层底泥分别用 Milli-Q 超纯水配制成相同浓度的水样 400 mL,放入已经灭菌的 500 mL 三角烧瓶中,再一起放入振荡式培养器内。在振荡式培养器搅拌(120 r/min,避光)进行的同时定量加入 E2 开始试验,并在预定的时间取样。试验分别控

制不同的反应因子:温度(20 °C、5 °C)、DO(振荡搅拌维持好氧条件 DO 值 8.5 mg/L 左右;培养器内连续通入湿润氮气维持厌氧条件 DO 小于 0.1 mg/L)、沉积底泥中存在的硝化细菌是否对 E2 降解具有促进作用及微生物诱导驯化作用对 E2 降解速率的影响,具体试验条件见表 3。

表 3 E2 批次降解试验条件

编号	底泥样品	E2/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	温度/°C	氧气条件	NH ₄ -N/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) (好氧条件)
Run 1	SL	30	20	好氧/厌氧	
Run 2	ML	30	20	好氧/厌氧	
Run 3	BL	30	20	好氧/厌氧	
Run 4	SL	30	20	好氧/厌氧	1
Run 5	SL	30	5	好氧/厌氧	
Run 6	ML	30	5	好氧/厌氧	
Run 7	BL	30	5	好氧/厌氧	
Run 1'	SL	15.9~16.6	20	好氧/厌氧	
Run 4'	SL	15.9~16.6	20	好氧/厌氧	0.8

287.5 hr
后再添加
定量 E2

1.5 样品预处理及分析

不同时间从反应器中取出的混合液(约 10 mL),3 000 r/min 离心分离 3 min 后,取上清液用 0.45 μm 醋酸纤维滤膜过滤,并按甲醇:滤液=10:90 的体积比例加入甲醇,LC-MS 测定溶液液相中 E1、E2、E3 的浓度变化。分析仪器及测定条件见文献[13]。

2 结果与讨论

2.1 水温对 E2 降解反应的影响

由图 2 可见,20 °C 时 E2 从液相中消失的速率远高于 5 °C 的场合。反应进行 96 h 时,培养温度为 20 °C 的反应器液相中 E2 达到检出限以下,而约 24% 的 E2 仍然存在于培养温度为 5 °C 的反应体系中;温度对副产物 E1 的影响与 E2 相同。同样,在厌氧反应条件下,温度高时 E2 降解速率也大于温度低时 E2 的降解速率,说明环境温度高时由于微生物活性相对较高,所以 E2 降解速率相应提高^[14]。

2.2 底泥沉积深度对 E2 降解反应的影响

图 3(a)、(b)为典型的 E2、E1 浓度随上、中、下湖泊底泥沉积深度逐渐增加与反应时间的变化图。可见,随上、中、下底泥层沉积深度的增加,E2 降解速率依次递减。上层底泥中 E1 浓度急剧增加后快速降低,而中层、下层底泥中 E1 增加和降低的速度相对缓和。同好氧条件场合不同,厌氧条件下,生成

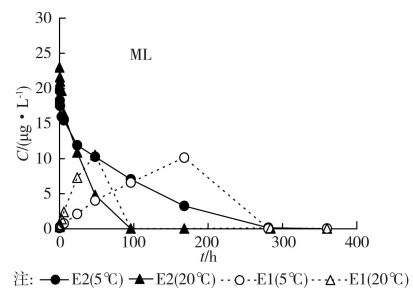


图 2 好氧条件下温度对 E2、E1 浓度的影响
(Run 2, Run 6)

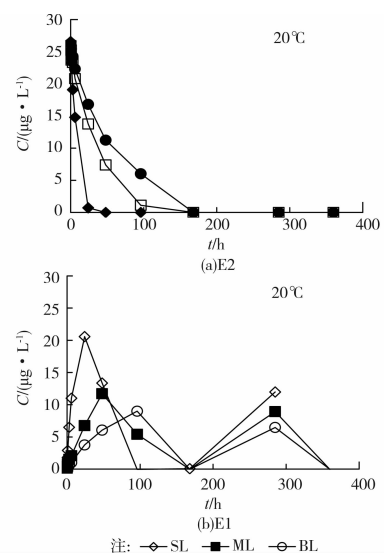


图 3 厌氧条件下底泥沉积深度对 E2、E1 浓度的影响
(Run 1, Run 2, Run 3)

的 E1 在一定的反应时刻(上层为试验开始 96 h 后,中层、下层为试验开始 168 h 后)从液相中完全消失,反应进行至 285 h 时 E1 浓度再次上升到达一个峰值,到反应结束时 E1 从液相中消失。

2.3 溶解氧对 E2 降解反应的影响

由图 4 可见,好氧(DO 浓度为 8.5 mg/L 左右)条件下随反应时间增加,液相中 E2 浓度降低,反应初期 E2 浓度急剧降低,24 h 后 E2 在液相中的浓度仅为 0.25 $\mu\text{g}/\text{L}$ 随反应进行,液相中 E1 浓度逐渐升高,6 h 后 E1 浓度上升到 17.56 $\mu\text{g}/\text{L}$,后又缓慢降低,反应 48 h 时,E1 达到检出限以下;在整个反应过程中未检出 E3;厌氧(DO 浓度在 0.1 mg/L 以下)条件下,E2 降解速率明显低于好氧条件。反应 6 h 仅约 31% 的 E2 消失,96 h 后液相中 E2 仍为

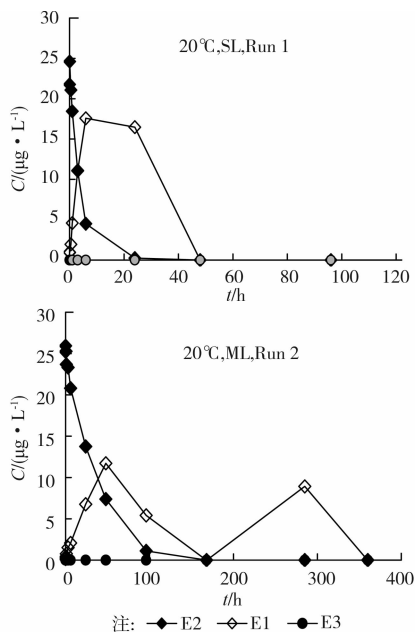


图 4 好氧(左)、厌氧(右)条件下 E2 的衰减及副产物 E1、E3 浓度的变化

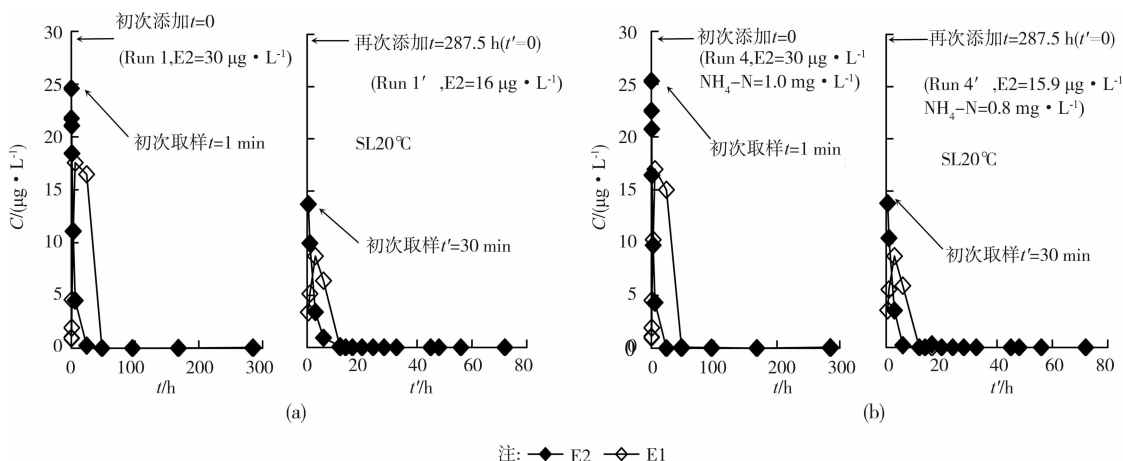


图 5 好氧条件下 E2、NH₄-N 再添加对 E2、E1 浓度的影响

1.12 $\mu\text{g}/\text{L}$ 且 E2 脱氢反应生成的 E1 随反应时间进行浓度降低后又逐渐增加,后再降低,最终从液相中完全消失,厌氧反应过程中未检出 E3,此现象与文献[13]中报道的一致。

2.4 硝化细菌及微生物驯化作用对 E2 降解反应的影响

研究表明^[15-16],含有硝化细菌的硝化污泥对雌激素具有较好的去除作用。为了探讨湖泊沉积物中存在的硝化细菌是否对 E2 降解具有促进作用及雌激素对环境微生物的诱导驯化作用,试验中以样品 Run 1 和 Run 4 为对象,在第一轮反应进行约 290 h (E2 从反应体系液相中完全消失)后,向该反应器中继续添加适量 E2,样品 Run 4 在添加 E2 的同时添加适量 NH₄-N,实验条件见表 3,图 5 表明了 E2 再添加及 NH₄-N 的添加对 E2 降解反应的影响,表 4 列出了其相应的反应速率常数。

由图 5 结合表 4 可见,试验开始 287.5 h 后再添加 E2 的反应体系(Run 1': $k = 0.181$ (1/h)/(g/L))与最初添加 E2 的反应体系(Run 1: $k = 0.12$ (1/h)/(g/L))相比较,其 k 值增大大约 34%。这可能是由以下几点因素导致的:再次向体系中添加 E2 之后,1)由于可以以 E2 为营养源进行新陈代谢,体系中存在的对 E2 有降解能力的微生物数量增加了;2)E2 对沉积底泥中存在的微生物产生了一个诱导驯化过程;3)随反应时间的进行,沉积底泥中存在的与 E2 有竞争降解关系的有机物的量减少了。另外,再添加 E2 时同时添加 NH₄-N 的反应体系 Run 4' ($k = 0.250$ (1/h)/(g/L))与未添加 NH₄-N 的反应体系 Run 1' ($k = 0.181$ (1/h)/(g/L))相比较,其 k 值增大大约 38%。可见向体系中添加 NH₄-N 导致沉积底泥中硝化细菌数量的增加,加速了 E2 的降解速度,也证实了文献中提及的硝化细

表4 好氧及厌氧条件下E2的反应速率常数及相关系数

编号	底泥样品	温度/°C	好氧条件			厌氧条件	
			NH ₄ -N/ (mg·L ⁻¹)	$k/(h^{-1}\cdot g\cdot L^{-1})$	R^2	$k/(h^{-1}\cdot g\cdot L^{-1})$	R^2
Run 1	SL	20		0.120	0.92	0.057	0.99
Run 2	ML	20		0.010	0.96	0.011	0.98
Run 3	BL	20		0.005	0.99	0.005	0.91
Run 4	SL	20	1	0.127	0.91	0.056	0.99
Run 5	SL	5		0.047	0.98	0.019	0.91
Run 6	ML	5		0.004	0.80	0.003	0.96
Run 7	BL	5		0.002	0.92	0.002	0.94
Run 1'	SL	20		0.181	1.00	0.111	0.98
Run 4'	SL	20	0.8	0.250	0.96	0.181	0.99

菌的存在能大大提高污泥对雌激素物质的降解能力。

2.5 湖泊沉积物中E2的生物降解动力学解析

根据一级反应动力学模型,对不同沉积深度湖泊沉积物在不同环境微条件下对E2的生物降解实验数据进行分析,以沉积底泥的干燥质量为基准,得到不同条件下E2的反应速率常数,分析结果见表4。

可以看出,无论在好氧还是厌氧条件下,随着底泥沉积深度的增加,E2的降解速率依次递减。对于表层底泥,20℃时,好氧反应条件下 k 为 $0.120 h^{-1}\cdot g\cdot L^{-1}$,厌氧反应条件下 k 为 $0.057 h^{-1}\cdot g\cdot L^{-1}$;5℃时,好氧反应条件下 k 为 $0.047 h^{-1}\cdot g\cdot L^{-1}$,厌氧反应条件下 k 为 $0.019 h^{-1}\cdot g\cdot L^{-1}$,即 $k_{\text{好氧}} \approx 2k_{\text{厌氧}}$;对于中层底泥, $k_{\text{好氧}} \approx k_{\text{厌氧}}$;对于底层底泥, $k_{\text{好氧}} = k_{\text{厌氧}}$ 。上述数据结合表2,可以看出,由于试验所用上、中、下层沉积物沿湖泊垂直方向的距离仅为30 cm,其相应地VSS,N,P,C等沉积指标值相差无几,因此推测E2降解速率的差异可能主要是由不同深度的沉积底泥层中含有的好氧性微生物和厌氧性微生物的种类和数量的差异导致的;此外,由于环境温度对微生物活性具有较大影响,因此从表4可见,处于相同垂直高度的湖泊沉积底泥20℃时E2降解速率比5℃时增加2.5~3.7倍。关于湖泊沉积物中微生物的种类、数量的区别及其与周围环境包括取样点水质、污水排放情况等的关系,将在后续文章中介绍。

3 结论

1) 在湖泊沉积物培养体系中,好氧条件下,中间产物E1直接被体系中存在的生物酶氧化,逐渐从液相中完全消失;而厌氧条件下,E1随反应时间进行浓度降低后又逐渐增加,后再降低直至从液相中

完全消失。

2) 无论在好氧还是厌氧条件下,随着底泥沉积深度的增加,E2降解速率依次递减。在微生物的活性温度范围内,适当提高培养温度,可大大增加E2降解速率。

3) 好氧条件下,E2的 k 值为 $0.120 \sim 0.002 h^{-1}\cdot g^{-1}\cdot L$;厌氧条件下,E2的 k 值为 $0.057 \sim 0.002 h^{-1}\cdot g^{-1}\cdot L$ 。由于诱导驯化及有机物竞争关系减小等原因,向反应体系中再次添加E2后,其 k 值增大约34%。向体系中添加NH₄-N导致硝化细菌数量的增加,加速了E2的降解,其 k 值增大约38%。

参考文献:

- [1] Hintemann T, Chneider C, Scholer H F, et al. Field study using two immunoassays for the determination of estradiol and ethinylestradiol in the aquatic environment [J]. Water Research, 2006, 40(12): 2287-2294.
- [2] Urase T, Kikuta T. Separate estimation of adsorption and degradation of pharmaceutical substances and estrogens in the activated sludge process [J]. Water Research, 2005, 39(7): 1289-1300.
- [3] 阳春,胡碧波,张智. 类固醇雌激素在生活污水处理中的去除过程[J]. 中国给水排水, 2008, 24(10): 11-15. YANG Chun, HU Bibo, ZHANG Zhi. Removal of steroid oestrogens during sewage treatment [J]. China Water and Wastewater, 2008, 24(10): 11-15.
- [4] Butwell A J, Gardner M J, Gordon W S J, et al. Scoping study for a national demonstration programme on EDC removal [M]. UK: UKWIR, 2005: 25-30.
- [5] Ternes T A, Kreckel P, Mueller J. Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment

- plants-II. Aerobic batch experiments with activated sludge [J]. *Science of the Total Environment*, 1999, 225:91-99.
- [6] Joss A, Andersen H, Ternes T, et al. Removal of estrogens in municipal wastewater treatment under aerobic and anaerobic conditions; consequences for plant optimization [J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38:3047-3055.
- [7] Johnson A C, Belfroid A, Di C A. Estimating steroid estrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent [J]. *Science of the Total Environment*, 2000, 256: 163-173.
- [8] Campbell C G, Borglin S E, Green F B, et al. Biologically directed environmental monitoring, fate, and transport of estrogenic endocrine disrupting compounds in water: A review [J]. *Chemosphere*, 2006, 65:1265-1280.
- [9] Khanal S K, Xie B, Thompson M L, et al. Fate, transport, and biodegradation of natural estrogens in the environment and engineered systems [J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(21): 6537-6546.
- [10] 雷炳莉, 黄圣彪, 王东红, 等. 温榆河沉积物中 6 种雌激素的存在状况[J]. *环境科学*, 2008, 29(9):2419-2424. LEI Bingli, HUANG Shengbiao, WANG Donghong, et al. Present state of six estrogens in the sediment of wenyuhe river [J]. *Environmental Science*, 2008, 29(9):2419-2424.
- [11] Nakada N, Tanishima T, Shinohara, et al. Pharmaceutical chemicals and endocrine disrupters in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment [J]. *Water Research*, 2006, 40(17): 3297-3303.
- [12] Cargouet M, Perdiz D, Asmaa M S, et al. Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France) [J]. *Science of the Total Environment*, 2004, 324:55-66.
- [13] Li F S, Reni D, Akira Y, et al. Behavior of natural estrogens in semicontinuous activated sludge biodegradation reactors [J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99:2964-2971.
- [14] 周群英, 高廷耀. 环境工程微生物学[M]:2 版. 北京: 高等教育出版社, 2000: 122-124.
- [15] Vader J S, Ginkel C G, Sperling F M G M, et al. Degradation of ethinyl estradiol by nitrifying activated sludge [J]. *Chemosphere*, 2000, 41:1239-1243.
- [16] Andersen H, Siegrist H, Ternes T A. Fate of estrogens in a municipal sewage treatment plant [J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(18): 4021-4026.

(编辑 胡 玲)