活性污泥对雌激素的吸附和好氧生物降解

王凌云[1], 张锡辉[1], 陶 益[1], 胡江泳[2]

(1. 清华大学深圳研究生院 环境工程与管理研究中心, 518055 广东 深圳;
2. 新加坡国立大学 土木与环境工程系, 119260 新加坡)

摘 要: 为研究活性污泥工艺对类固醇类雌激素去除的规律,从深港两地的污水处理厂采集4种不同性质的污泥,比较其对5种环境雌激素酮(E1)、雌二醇(E2)、雌三醇(E3)、17α-雌二醇(17α-E2)和雌炔醇(EE2)的吸附和生物降解. 采用液液萃取-GC-MS方法对体系中残留雌激素的质量浓度进行分析. 结果表明:4种污泥对雌激素的吸附在30 min~1 h达到吸附平衡,吸附量在各污泥之间差异无统计学意义,5种雌激素的平均吸附量分别约为1.6、1.7、0.9、2.6和2.5 μg·mg^{-1},平均降解速率分别为326、252、440、275和13 μg·L^{-1}·d^{-1};综合吸附和降解,5种雌激素在污泥中的半衰期平均约为14.9、0.9、4.3、4.7 h和18.9 d. E3的吸附量低于其他雌激素,可能与其极性基团有关;EE2的转化速率显著低于天然雌激素;硝化污泥对EE2的转化速度显著高于其他污泥,硝化菌群可能起到重要作用.

关键词: 雌激素;活性污泥;吸附;生物降解;硝化污泥;雌炔醇
中图分类号: X131.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0367-6234(2013)08-0117-05

Adsorption and biodegradation of typical estrogens in activated sludge under aerobic conditions

WANG Lingyun[1], ZHANG Xihui[1], TAO Yi[1], HU Jiangyong[2]

(1. Research Center for Environmental Engineering and Management, Graduate School at Shenzhen, Tsinghua University, 518055 Shenzhen, Guangdong, China; 2. Department of Civil and Environmental Engineering, National University of Singapore, 119260 Singapore)

Abstract: The adsorption and biodegradability of thefive estrogens, including estrone (E1), 17β-estradiol (E2), estriol (E3), 17α-estradiol and 17α-ethynylestradiol (EE2), by four kinds of activated sludge collected from sewage treatment plants in Hong Kong and Shenzhen are characterized. A pretreatment method of Liquid-liquid-extraction and the GC-MS measurement were applied for determining concentrations of residual estrogens. Adsorption equilibrium could be achieved in around 30 min-1 h and the residual estrogen in adsorption control sets kept relatively stable with no significant difference among different sludges. The average adsorption amount of EE2 and 17α-E2 were estimated at 2.6 and 2.5 μg per mg MLVSS, while E1, E2 and E3 had average adsorption amounts of 1.6, 1.7 and 0.9 μg·mg^{-1}. The average biodegradation rate of E1, E2, E3, 17α-E2 and EE2 was 326, 252, 440, 275 and 13 μg·L^{-1}·d^{-1}, respectively under aerobic conditions. The half lives of E1, E2, E3, 17α-E2 and EE2 by the four sludges were estimated at 14.9 h, 0.9 h, 4.3 h, 4.7 h and 18.9 d in average. The adsorption amount of E3 was lower than other estrogens, which might be due to its polar structure. EE2 was the hardest to digest. The sludge AS2, nitrifying activated sludge (NAS), was more effective in transforming EE2 than that of other three sludges, which might be closely related to the nitrifiers in NAS.

Key words: estrogen; activated sludge; adsorption; biodegradation; nitrifying; activated; sludge; ethinylestradiol

收稿日期: 2012-07-10.
基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2009ZX07423-001);水利部公益性行业专项(201201033).
作者简介: 王凌云(1981—),女,博士,助理研究员;
张锡辉(1963—),男,教授,博士生导师.
通信作者: 张锡辉,xihuizh@mail.tsinghua.edu.cn.

类固醇类雌激素,包括天然雌激素雌酮(E1)、雌二醇(E2)、雌三醇(E3)、17α-雌二醇(17α-E2)和人工雌激素雌炔醇(EE2),经人和

动物排泄物进入生活污水,由于污水处理工艺对雌激素无法完全去除,出水中仍可以检出质量浓度在几个到几十个 ng · L^{-1} 的雌激素[1-3],有可能引起内分泌干扰效应,生态风险受到关注[4-5].

污水厂活性污泥工艺是类固醇雌激素去除的重要途径. Braga 等[3]的研究结果表明,二级生物处理工艺对 E1 和 E2 的去除达 85% ~96%,大部分由 SBR 工艺完成,另有约 6% 的 E1 + E2 由污泥吸附排出. Johnson 等[6]同样证明了活性污泥对于 E2、E3 和 EE2 高达 85% 的去除效果,E1 的去除则很不稳定. Carballa 等[2]对西班牙某污水厂的研究发现,生物处理工艺对 E2 的去除率为 65%,而对 E1 的去除率为负值. Layton 等[7]研究发现经过 24 h 生物污泥的好氧处理,70% ~80% 的 E2 被矿化,而 EE2 只有 40% 矿化. Andersen 等[8]在德国一个具有硝化反硝化工艺(实质是 A/A/O 活性污泥工艺)的市政污水处理厂进行了雌激素的全流程物料平衡研究,发现 E1、E2 在工艺系统中的去除率在 98% 以上,EE2 的去除率也达 90% 以上,主要是硝化段的好氧微生物过程转化去除的. 以上对污水处理厂的调查结果表明,不同来源的活性污泥具有不同的微生物类群,对雌激素的去除效率和去除机理也有较大差异. 国内对于这方面的报道仍然较少,前期对南方某城市多个污水厂的调研结果表明,活性污泥工艺对 E3 和 EE2 的去除效率较高,但对 E1 和 E2 的去除率不稳定[9],因此,有必要对不同来源的活性污泥对雌激素的吸附和降解进行系统研究.

1 实 验

1.1 实验材料

标准品包括雌激素酮(Estrone)、雌二醇(17β-estradiol)、17α - 雌二醇(17α-estradiol)、雌三醇(Estriol)和雌炔醇(17α-ethinylestradiol, EE2)等 5 种雌激素,购自 Dr. E 公司(Germany),纯度 >99%;内标物质 17β - E2 - acetate 和氘代雌二醇(E2 - d2)购自 Sigma-Aldrich(USA),纯度 >99%.

从香港和深圳两个污水处理厂的生物处理工艺采集 3 种活性污泥,分别来自传统曝气池、A^2O 工艺以及氧化沟工艺,命名为 AS1、AS2 和 AS3. 污泥消化是一种常见的污泥处理方式,富集在污泥中的有机污染物在消化过程中可以得到进一步降解,消化污泥也具有丰富的微生物群落,因此,同时采集香港某污水厂中温消化池中的消化污泥,命名为 DS. 4 种污泥的主要特性参数如表 1 所示. 污泥采集之后带回实验室,于室温下保存,并于 24 h 之内进行摇瓶实验.

表 1 实验用活性污泥来源及性质参数

名称	MLSS/(mg · L^{-1})	MLVSS/(mg · L^{-1})	DO/(mg · L^{-1})	pH	来源
AS1	4 300	3 120	4.0	7.3	香港某污水厂活性污泥
AS2	3 850	3 080	6.8	7.0	深圳某污水厂 A^2O 工艺活性污泥
AS3	3 650	2 480	5.9	7.2	深圳某污水厂氧化沟活性污泥
DS	16 880	10 200	0	7.2	香港某污水厂中温消化污泥

矿物盐无机培养液(MSM)组成(g · L^{-1}):K_2HPO_4, 0.8; KH_2PO_4, 0.2; $(NH_4)_2SO_4$, 1.0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.2; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0.1; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.012; $MnSO_4 \cdot H_2O$, 0.003; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.003; $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, 0.001; $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$, 0.001.

1.2 摇瓶实验设计

单一雌激素好氧降解实验采用敞口三角瓶配备棉塞,分别向三角瓶中加入 E1、E2、E3、EE2 或 17α - E2 的甲醇标准溶液,置无菌操作台中待甲醇挥发之后,加入矿物盐无机培养液(MSM)100 mL,混匀,每个瓶中雌激素质量浓度为 1 600 μg · L^{-1},加入不同来源活性污泥,瓶中污泥 MLVSS 质量浓度在 192 ~224 mg · L^{-1} 范围内,遮光,置于平面摇床上,以 150 r/min 转速、在 25 ℃下振荡反应,在不同时间取样,测定雌激素质量浓度. 不定期监测三角瓶中溶解氧,保持 DO 在5.0 mg/L以上,否则重新更换新瓶进行实验. 不同雌激素实验组分别设置无菌对照和吸附对照,其中无菌对照实验瓶中不接种任何污泥,用来考察瓶壁吸附以及微弱光解等过程引起的质量浓度降低. 每种雌激素吸附对照实验采用 4 种经过湿热灭菌的污泥,其他设置与实验组相同.

1.3 水样中雌激素检测方法

采集 5 mL 泥水混合物,10 000 r/min 离心 10 min,取上清液,加入等体积乙酸乙酯,振荡混合 30 min,静置 10 min,吸取上层有机层,过滤后转入一支新的玻璃管,氮吹至干,加入衍生化试剂,70 ℃衍生化 1 h. 采用岛津 QP - 2010 plus 的气相色谱质谱联用仪进行测定,气相色谱柱选用 Rxi - 5ms(Restek, 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm). 具体方法见文献[9]. 检测过程中对平行加标样品

测定回收率与误差率，保证回收率在 75% ~125%，相对误差不超过 ±15%. 对残留雌激素质量浓度进行一级反应方程模拟，半衰期计算见文献[10].

2　结果分析

2.1　活性污泥对雌激素的吸附和降解

图 1 为 4 种不同来源活性污泥对 E1 的吸附降解情况. 可以看出，E1 在 30 min 时已基本达到吸附平衡，之后的 3 d 内吸附对照组的 E1 质量浓度稳定在 1 040 ~ 1 120 μg · L^{-1}内，吸附量约占总投加量的 23% ~28%. 除去前 30 min 的吸附量，4 种活性污泥在 3 d 的平均降解速率为 302 ~ 415 μg · L^{-1} · d^{-1}，第 3 天水相中 E1 质量浓度约为6. 7 ~ 150 μg · L^{-1}，降解量约占总投加量的 60% ~78%.

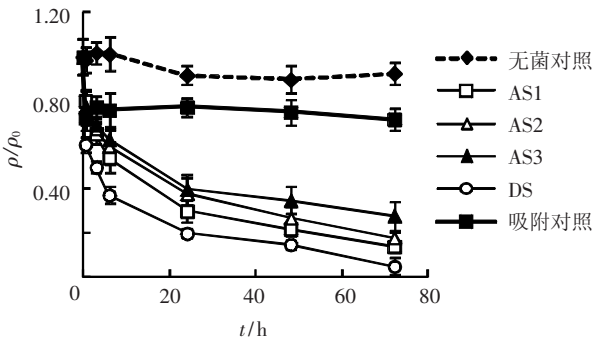


图 1　活性污泥对 E1 的吸附与好氧降解

图 2 为 4 种不同来源活性污泥在好氧条件下对 E2 的去除情况. 可以看出，经过 1 h，污泥对 E2 的吸附和解吸基本达到平衡，之后 4 d 内水相中 E2 质量浓度无明显变化，维持在 1 090 ~ 1 200 μg · L^{-1}内，总吸附量约占 E2 投加总量的 20% ~27%，其中消化污泥 DS 吸附能力最强，10 min即可吸附 42% 的 E2. E2 的好氧生物降解过程发生在 4 d 里，水相中 E2 质量浓度降至 ND ~64 μg · L^{-1}(ND 表示低于检出限)，平均降解速率为223 ~ 281 μg · L^{-1} · d^{-1}. 第 1 天约有 85% ~89% 的 E2 从水相中去除，其中污泥吸附约占 24%，生物降解约占 63%.

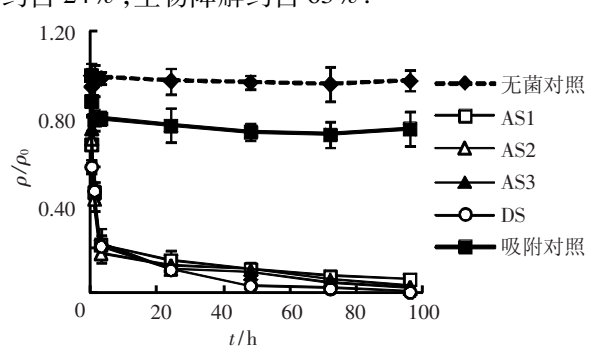


图 2　活性污泥对 E2 的吸附与好氧降解

图 3 为 4 种不同来源活性污泥对 E3 的吸附和降解情况. 可以看出，E3 的吸附平衡在 30 min 已基本完成，随后 3 d 内，吸附组水相 E3 平均质量浓度维持在 1 310 μg · L^{-1}，与无菌对照组相比，仅有约 10% 的 E3 被吸附，比 EE2 和 E2 的吸附量少许多. E3 的降解过程与 E2 类似，3 d 平均降解速率为 360 ~ 450 μg · L^{-1} · d^{-1}，其中第 1 天平均降解 82%，第 2 ~ 3 天平均降解 12%，第 3 天检测结果表明水相中 E3 质量浓度为 ND ~ 70 μg · L^{-1}.

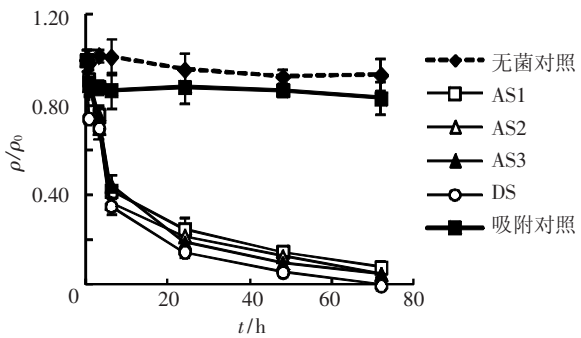


图 3　活性污泥对 E3 的吸附与好氧降解

图 4 为 4 种不同来源活性污泥在好氧条件下对 17α - E2 的吸附和降解情况. 可以看出，30 min 之后基本达到吸附平衡，约有总投加量 37% 的 17α - E2 被吸附到活性污泥上. 降解过程主要发生在 30 min 之后，3 d 的平均降解速率为 247 ~ 290 μg · L^{-1} · d^{-1}.

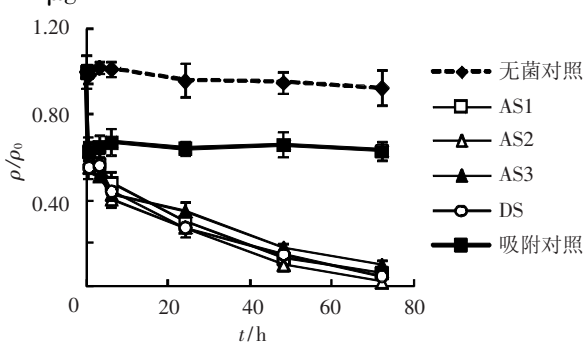


图 4　活性污泥对 17α - E2 的吸附与好氧降解

图 5 为 4 种不同来源活性污泥对 EE2 的吸附降解情况. 在室温振荡混合的条件下，污泥在 1 h之内对 EE2 达到吸附平衡，之后的 27 d 实验过程中，EE2 在水相质量浓度基本稳定在 960 ~ 1 060 μg · L^{-1}内，约有 30% ~36% 被吸附；在实验开始第 1 天，EE2 质量浓度在 AS2 和 DS 组出现了先降低后升高现象，这可能是因为活性污泥对 EE2 的吸附和解吸；之后 EE2 缓慢降低，主要是生物降解过程. 但是，EE2 降解过程缓慢，27 d 内平均降解了 24%，可能是由于 EE2 是人工合成的化合物，其降解可能比天然雌激素缓慢，微生物系统需要一个驯化的过程. 另一方面，雌炔醇结构

中的乙炔键相比其他天然雌激素更容易产生空间位阻效应,导致其被生物酶催化转化的过程减缓. 4 种活性污泥对于 EE2 的平均降解速率为 10 ~ 18 μg · L^{-1} · d^{-1}. 经计算,27 d 约有 52% ~62% 的 EE2 被活性污泥吸附和降解,其中约 33% 被吸附去除,19% ~29% 被微生物降解.

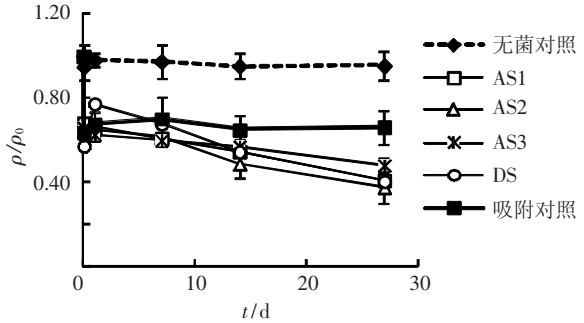


图 5 活性污泥对 EE2 的吸附与好氧降解

2.2 活性污泥对雌激素转化的半衰期

通过对转化 1/2 雌激素所需时间进行估算,在好氧条件下,5 种雌激素在活性污泥中的平均初级转化半衰期如表 2 所示. 其中 EE2 半衰期最长,平均约为 21.5 d,是最难降解的雌激素. 其他 4 种雌激素 E1、E2、E3 和 17α - E2 的半衰期平均分别为 14.9、0.9、4.3 和 4.7 h,其中 E2 的初级转化速度最快. 此半衰期计算结果包括吸附和降解.

表 2 雌激素在不同活性污泥中的好氧转化平均半衰期

污泥种类	$t_{1/2}$				
	E1/h	E2/h	E3/h	17α - E2/h	EE2/d
AS1	13.3	0.9	4.7	5.9	19.2
AS2	18.7	0.8	3.9	4.2	13.3
AS3	23.0	1.0	5.1	4.0	24.6
DS	4.5	0.9	3.6	4.6	18.5
平均	14.9	0.9	4.3	4.7	18.9

3 讨 论

根据吸附对照组实验结果,5 种雌激素 E1、E2、E3、17α - E2 和 EE2 在活性污泥中的平均吸附量分别为 1.6、1.7、0.9、2.6 和 2.5 μg · mg^{-1}. E3 的吸附程度最小,EE2 和 17α - E2 吸附程度最大. 实验过程中,活性污泥对天然雌激素的吸附在 30 min ~1 h 之内即可达到吸附平衡. 吸附过程存在"快速吸附,缓慢平衡"的现象. Ren 等[11]研究结果表明,活性污泥对雌激素 E1、E2、E3 和 EE2 的吸附在 30 min 内即可达到吸附平衡,且吸附量与雌激素的 K_{ow} 值无关. 在本研究中,EE2 在第 1 小时内快速吸附,在之后的 1 d 内质量浓度有所回升,表明存在解吸的现象,之前的研究也表明,活性污泥对雌激素的吸附和解吸是可逆的过程. 本研究中 E1、E2、E3、EE2 和 17α - E2 在实验条件下的吸附量分别约占投加量的 25%、27%、10%、36% 和 37%,其中 E3 的吸附量显著小于其他雌激素,这可能是因为其结构中含有 3 个羟基,疏水性最差,溶解度比其他雌激素高,更容易分布在水相中[12-14]. 在实际污水处理工艺中,污泥吸附在雌激素迁移转化过程中只起到转移的作用,而且会通过污泥回流实现脱附和降解,最终由剩余污泥带走的雌激素总量甚至不超过进水总量的 5%[8].

生物降解的过程比吸附过程缓慢,却是雌激素真正得到去除的主要机制. 5 种雌激素 E1、E2、E3、17α - E2 和 EE2 平均降解速率分别为 326、252、440、275 和 13 μg · L^{-1} · d^{-1}. 其中 E1 和 E3 降解速率最高,EE2 降解最慢,这与 Ternes 等[15]的研究结果一致. 对比各种不同来源活性污泥的雌激素转化半衰期,发现整体上各种活性污泥对雌激素转化的效率差异较小,但值得注意的是活性污泥 AS2 对 EE2 转化的半衰期为 13.3 d,而另外 3 种活性污泥的半衰期则为 18.5 ~24.6 d,推测可能是因为 AS2 是来自 A^2O 工艺的活性污泥,其中含有相当数量的硝化菌群,可能对 EE2 的降解起关键作用. 之前有文献报道富集培养的亚硝化单胞菌 *Nitrosomonas europaea* 对 EE2 有显著的降解效果,经过 9 d 可以降解 90% 的 EE2(初始投加质量浓度为 1 mg · L^{-1}),并且观察到 EE2 的硝化产物[16-17]. 硝化污泥对雌激素的降解是目前的研究热点,其中氨氧化细菌和异养菌的共代谢机理是备受关注的研究方向[18-19],硝化污泥中的微生物类群有待深入研究.

4 结 论

1)不同来源的活性污泥对 5 种雌激素 E1、E2、E3、17α - E2 和 EE2 的吸附过程在 30 min ~1 h即可达到平衡. 5 种雌激素的最大平均吸附量分别为 1.6、1.7、0.9、2.6 和 2.5 μg · mg^{-1},E3 仅有 10% 被污泥吸附,可能与其结构的高亲水性有关.

2)好氧条件下,活性污泥对 5 种雌激素的平均生物降解速率分别为 326、252、440、275 和 13 μg · L^{-1} · d^{-1},EE2 降解速度显著低于其他 4 种天然雌激素.

3)综合吸附和降解,活性污泥对 5 种雌激素的平均转化半衰期分别为 9.3、0.9、5.3、4.4 h 和 21.5 d,E2 转化最快,EE2 最慢. 相比其他几种污泥,硝化污泥对 EE2 的转化速度更快,其中的硝化菌群可能起到关键作用.

参考文献

[1] BARONTI C, CURINI R, D´ASCENZO G, *et al.* Monitoring natural and synthetic estrogens at activated sludge sewage treatment plants and in a receiving river water [J]. Environmental Science & Technology, 2000, 34: 5059 – 5066.

[2] CARBALLA M, OMIL F, LEMA J M, *et al.* Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant [J]. Water Research, 2004, 38: 2918 – 2926.

[3] BRAGA O, SMYTHE G A, SCHAFERCHAFER A I, *et al.* Steroid estrogens in primary and tertiary wastewater treatment plants [J]. Water Science & Technology, 2005, 52(8): 273 – 278.

[4] HASHIMOTO S, BESSHO H, HARA A, *et al.* Elevated serum vitellogenin levels and gonadal abnormalities in wild male flounder (Pleuronectes yokohamae) from Tokyo Bay, Japan [J]. Marine Environmental Research, 2000, 49: 39 – 53.

[5] PAWLOWSKI S, AERLE van R, TYLER C R, *et al.* Effects of 17α-ethynylestradiol in a fathead minnow (Pimephales promelas) gonadal recrudescence assay [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2004, 57: 330 – 345.

[6] JOHNSON A C, SUMPTER J P. Removal of endocrine-disrupting chemicals in activated sludge treatment works [J]. Environmental Science & Technology, 2001, 35: 4697 – 4703.

[7] LAYTON A C, GREGORY B W, SEWARD J R, *et al.* Mineralization of steroidal hormones by biosolids in wastewater treatment systems in Tennessee, USA [J]. Environmental Science and Technology, 2000, 34: 3925 – 3931.

[8] ANDERSON H R, SIEGRIST H, HALLING-SORENSEN B, *et al.* Fate of estrogens in a municipal sewage treatment plant [J]. Environmental Science and Technology, 2003, 37: 4021 – 4026.

[9] WANG Lingyun, ZHANG Xihui, FUNG-YEE T N. Analysis and occurrence of seven typical endocrine disrupting chemicals in Three Sewage Treatment Plants [J]. Water Science and Technology, 2010, 62(11): 2501 – 2509.

[10] LI Fusheng, YUASA A, OBARA A, *et al.* Aerobic batch degradation of 17 – β estradiol (E2) by activated sludge: effects of spiking E2 concentrations, MLVSS and temperatures [J]. Water Research, 2005, 39: 2065 – 2075.

[11] REN Yongxiang, NAKANO K, NOMURA M, *et al.* Thermodynamic analysis on adsorption of estrogens in activated sludge process [J]. Water Research, 2007, 41: 2341 – 2348.

[12] YU Zhiqiang, XIAO Baohua, HUANG Weilin, *et al.* Sorption of steroid estrogens to soils and sediments [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2004, 23: 531 – 539.

[13] SUN Weiling, NI Jinren, XU Nan, *et al.* Fluorescence of sediment humic substance and its effect on the sorption of selected endocrine disruptors [J]. Chemosphere, 2007, 66: 700 – 707.

[14] FENG Yujie, ZHANG Zhanhan, GAO Peng, *et al.* Adsorption behavior of EE2 (17-ethinylestradiol) onto the inactivated sewage [J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 175: 970 – 976.

[15] TERNES T A, KRECHEL P, MUELLER J. Behaviour 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.

[16] SHI Jianghong, FUJISAWA S, NAKAI S, *et al.* Biodegradation of natural and synthetic estrogens by nitrifying activated sludge and ammonia oxidizing bacterium Nitrosomonas europaea [J]. Water Research, 2004, 38: 2323 – 2330.

[17] SKOTNICKA-PITAK J, KHUNJAR W O, LOVR N G. Characterization of metabolites formed during the biotransformation of 17α-Ethinylestradiol by Nitrosomonas europaea in batch and continuous flow bioreactors [J]. Environmental Science & Technology, 2009, 43: 3549 – 3555.

[18] YI T, HARPER W F J. The link between nitrification and biotransformation of 17α-Ethinylestradiol [J]. Environmental Science and Technology, 2007, 41: 4311 – 4316.

[19] DE GUSSEME B, PYCKE B, HENNEBEL T, *et al.* Biological removal of 17α-ethinylestradiol by a nitrifier enrichment culture in a membrane bioreactor [J]. Water Research, 2009, 43: 2493 – 2503.

（编辑　刘　彤）