

生态塘中 17α -炔雌醇的去除途径与机制

时文歆¹, 赵丽晔², 李冠洋¹, 崔福义¹

(1. 哈尔滨工业大学 城市水资源与水环境国家重点实验室, 哈尔滨 150090, swx@hit.edu.cn;
2. 黑龙江省城乡规划设计研究院, 哈尔滨 150040)

摘要: 为了考察生态塘污水处理系统中 17α -炔雌醇 (EE2) 的去除途径与机制, 采用静态试验、动态吸附试验和连续流试验研究了菌藻塘和浮萍塘中 EE2 的降解与吸附特性, 并进行了静态试验的质量平衡计算; 采用酶联免疫法 (ELISA) 测定 EE2 的质量浓度. 结果表明, 接种的藻类和浮萍提高了废水中 EE2 的去除率. 在持续 180 min 的动态吸附试验中分别有 25% 和 80% 的 EE2 被藻类和浮萍所吸附, 但 6 d 的 EE2 质量平衡试验结果却显示被吸附的 EE2 只占 6%, 说明生态塘中的 EE2 首先被生物质快速吸附, 而吸附态的 EE2 又被系统中的微生物进一步降解. 连续流试验的结果也显示即使废水中的 EE2 质量浓度为 ng/L 级, 菌藻塘和浮萍塘仍能有效地将其从废水中去除. 吸附和生物降解是污水生态塘处理工程中 EE2 去除的主要途径.

关键词: 17α -炔雌醇; 吸附; 生物降解; 菌藻塘; 浮萍塘; 内分泌干扰素

中图分类号: X506

文献标志码: A

文章编号: 0367-6234(2010)08-1269-05

Removal pathway and mechanisms of 17α -ethinylestradiol in eco-pond systems for wastewater treatment

SHI Wen-xin¹, ZHAO Li-ye², LI Guan-yang¹, CUI Fu-yi¹

(1. State Key Laboratory of Urban Water Resources and Environment, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China, swx@hit.edu.cn; 2. Heilongjiang Urban Planning and Surveying Design and Research Institute, Harbin 150040, China)

Abstract: To investigate pathway and possible removal mechanisms of 17α -ethinylestradiol (EE2) in eco-pond systems (algae ponds and duckweed ponds) for wastewater treatment, all of the laboratory scale batch tests, dynamic sorption tests and continuous flow tests were conducted to study the effect of sorption and biodegradation on EE2 removal. EE2 concentrations were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The 6-day batch tests showed that the introduction of duckweed and algae into wastewater could enhance EE2 removal rate. In the 180-min dynamic sorption tests, about 25% and 80% of EE2 were sorbed by algae and duckweed respectively, which means occurrence of the swift sorption, while the mass balances indicated that only about 6% of the estrogens were bound to the biomass of algae or duckweed at the end of the 6-day tests, implying that EE2 was rapidly removed by sorption at the initial stage, while the sorbed EE2 was subsequently eliminated by biodegradation. Results of continuous flow tests revealed that even at ng/L level, EE2 could also be removed in algae and duckweed pond systems. Sorption and biodegradation are the main removal mechanisms of EE2 in eco-pond systems.

Key words: 17α -ethinylestradiol; sorption; bio-degradation; algae pond; duckweed pond; endocrine disrupting chemicals (EDCs)

收稿日期: 2008-11-27.

基金项目: 国家科技支撑计划重点项目(2006BAJ08B09); 哈尔滨工业大学城市水资源与水环境国家重点实验室自主课题(2008QN05).

作者简介: 时文歆(1970—), 男, 博士, 副教授;
崔福义(1958—), 男, 教授, 博士生导师.

人工合成雌激素 17α -炔雌醇 (EE2) 是避孕药剂的主要成分, 经人体代谢后进入水体便成为一种主要的内分泌干扰素 (EDCs), 尽管其在水体中的质量浓度很低, 但其对生物的影响远高于其

他常见的EDCs,如双酚A(BPA)和壬基酚等.考虑到EE2进入水体后可能引起的生态效应,研究污水处理工艺中EE2的去除途径与机制是十分必要的.针对污水活性污泥法处理工程中EE2的去除,世界各国开展了很多研究,结果表明,污水处理厂中EE2的平均去除率约为80%^[1].在我国,已有学者对活性污泥法污水处理工程中内分泌干扰素的赋存形式与降解途径等进行了研究,但仅局限于污水中以较高质量浓度存在的壬基酚、邻苯酸酯类化合物^[2],目前尚没有开展有关天然的或人工合成雌激素方面的研究.针对生态塘污水处理工程(如菌藻塘和浮萍塘)中EE2去除途径与机制的研究仍鲜有报道.由于生态塘污水处理工程具有相对较高的处理效率和较低的投资与运行成本,近年来在发展中国家逐渐得到了推广应用^[3].本文通过静态试验和连续流试验考察了菌藻塘和浮萍塘中EE2的去除规律,进而揭示了污水生态处理工程中EE2的去除途径与机制.

1 试验

1.1 试验用水与接种

试验采用人工配制废水,其水质为模拟厌氧反应器的出水水质.通过向自来水中投加醋酸铵、氯化铵以及钾、钠、钙、镁以及微量元素等营养盐等配制,所配废水的COD含量为100 mg/L,总氮质量浓度为30~40 mg/L,磷质量浓度为3.6~3.8 mg/L.

在静态试验和连续流试验中接种的浮萍为 *Lemna*; 接种的藻类是 *Anabaena cylindrica*, *Chlorococcus*, *Spirulina platensis*, *Chlorella*, *Scenedesmus quadricauda* 和 *Anaeben* 6种纯培养藻类的混合种.在试验开始时分别将浮萍和藻类的混合物接种到所配制的人工废水中.

17 α -炔雌醇EE2(质量分数大于98%,Sigma,德国)为分析纯.由于EE2在水中的溶解度很低,因此在配制时先将10 mg的EE2溶解于100 mL纯甲醇中,然后加入900 mL蒸馏水配制成10 mg/L的储备液,并进一步用蒸馏水稀释到100 μ g/L的储备液待用.将定量的100 μ g/L的EE2储备液加入到废水用于静态试验和连续流试验.

1.2 EE2 静态试验

降解试验.通过静态试验考察人工配制废水中较高质量浓度EE2(约1 μ g/L)在接种浮萍或藻类以及无接种情况下的降解规律.分别向盛有

1 L废水的烧杯中接种浮萍和藻类,浮萍的接种量为鲜重5 000 mg/L废水,藻类的接种量为100 mg/L(按总悬浮物TSS计),该接种量均接近实际运行的生态塘系统中真实生物量.用1 L含有相同EE2质量浓度的自来水和人工废水进行对照试验.每个试验均有2个平行样.该静态降解试验是在室温(20 $^{\circ}$ C和12 h光照/12 h黑暗的模拟自然条件下进行的,光照强度为100 μ E/($m^2 \cdot s$).以0、0.125、0.75、1、3 d和6 d为间隔,分别从每个烧杯中取约10 mL水样,经3 600 r/min离心分离10 min.取其上清液,并用酶联免疫试剂盒(ELISA kits)和酶标仪来测定EE2质量浓度.

吸附试验.将定量的浮萍或藻类接种到含1 μ g/L的EE2的自来水中以考察浮萍和藻类对EE2的吸附作用.浮萍和藻类的接种量分别为鲜重2 500 mg/L和128 mg/L(TSS).以未接种的自来水作为对照实验.每个试验均有2个平行样.所有试验均置于密封的具塞三角瓶中进行,在整个180 min的吸附试验中,所用瓶体均置于水平摇床上保持连续震荡(120 r/min).分别在接触时间为0、2、5、20、60 min和180 min时取样,以测定不同吸附时间内的EE2质量浓度变化,并以此来区分浮萍或藻类对EE2的生物降解和物理吸附过程.

质量平衡试验.EE2质量平衡试验方法与上述静态降解试验相同,只是在试验开始和结束时取样,以测量液相中EE2的初始质量浓度和最终质量浓度.6 d后,剩余的水样用玻璃纤维滤纸GF/C(ϕ 47 mm)过滤分离,获得浮萍和藻类,并将其分别与100 mL纯甲醇混合后置于摇床上水平振荡16 h(暗处),之后将混合物在3 600 r/min转速下离心分离10 min,取其上清液并用C18柱(500 mg/6 mL, Mallinckrodt Baker, Inc., 荷兰)进行固相萃取,用酶联免疫法测定洗脱液的EE2质量浓度,据此计算浮萍或藻类对EE2的吸附量.

1.3 连续流试验

连续流试验装置如图1所示.该装置包括两个系列,每个系列分别包括3个串联的玻璃水箱,尺寸为50 cm \times 29 cm \times 25 cm.一个系列模拟浮萍塘,另一个系列模拟菌藻塘.该装置在1.2节中提及的光照和温度条件下连续运行,水力停留时间为15 d.每隔4 d打捞部分浮萍以保持其水面分布密度为鲜重700 g/ m^2 ,在此密度下既可以有利于浮萍的快速生长,又可以防止浮萍塘中藻类的滋生.本试验中EE2质量浓度为ng/L级以模拟生活污水中EE2的质量浓度.试验连续运行

30 d后,分别从每个水箱的末端收集 1 L 水样,用玻璃纤维滤纸 GF/C 过滤后,滤得的水样再经 C18 柱固相萃取,用 ELISA 分析 EE2 质量浓度。

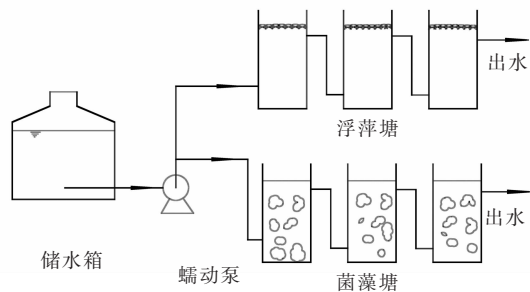


图1 连续流试验示意图

1.4 分析方法

试验中 EE2 质量浓度的测定采用酶联免疫法 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)。这种方法因其具有对水样的预处理要求简单、测定快、可检测极低质量浓度以及检测成本低等优点而逐渐被广泛利用,将该方法和液-质联机等仪器分析方法比较的结果显示,酶联免疫法测定水样中的 EE2 具有足够的精度和准确度^[4-5]。试验中选用的酶联免疫试剂盒购自日本的 Enviro-Chemical, Ltd., 可用于测定水样中质量浓度为 0.05 ~ 3 $\mu\text{g/L}$ 的 EE2。酶标仪购自奥地利的 Anthos labtec, 在 450 nm 波长下测定样品的吸光度并计算 EE2 质量浓度。水样中溶解氧采用溶氧仪 (HANA - Hi9143, Italy) 测定; COD、TSS 均采用标准方法测定。

2 结果与讨论

2.1 静态试验中 EE2 的降解

静态试验中 EE2 的质量浓度变化如图 2 示。结果显示在试验条件下浮萍能更有效地去除 EE2。在接种浮萍的废水中,6 d 后有超过 95% 的 EE2 被去除,而在接种藻类的废水中 EE2 却只去除了 50%。从图中还可以看出,接种浮萍时 EE2 去除得更快,1 d 内可去除 80%;然而,在无任何接种的废水中,相同时间内 EE2 只降解了 20%;接种藻类的试验中 EE2 的降解程度介于上述二者之间。作为对比试验的自来水中,EE2 质量浓度在整个试验期间没有明显的变化。

2.2 浮萍和藻类对 EE2 的吸附

浮萍和藻类对废水中 EE2 的吸附情况如图 3 示。在吸附试验中,自来水中 EE2 质量浓度 180 min 内没有明显变化;而接种浮萍和藻类的废水中分别有 80% 和 25% 的 EE2 被去除。在浮萍吸附试验中,出现了 3 个明显的吸附阶段:0 ~

20 min 的快速吸附阶段、20 ~ 60 min 的慢速吸附阶段、60 min 后吸附速率进一步变慢的阶段。而在藻类吸附试验中,只有快速吸附阶段出现,20 min 后即达到吸附平衡。结果还显示,与 6 d 的静态试验相比,吸附试验中 EE2 去除得更快:接种浮萍的吸附试验中,EE2 质量浓度从 1 $\mu\text{g/L}$ 降到 0.2 $\mu\text{g/L}$ 只需 180 min;而在 6 d 的静态降解试验中,达到了同样的去除效果则需要 1 d 的时间。

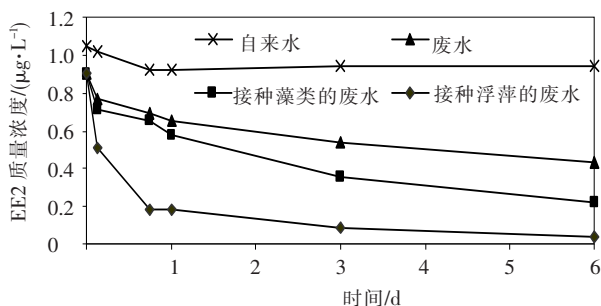


图2 6 d 静态试验中 EE2 质量浓度的变化

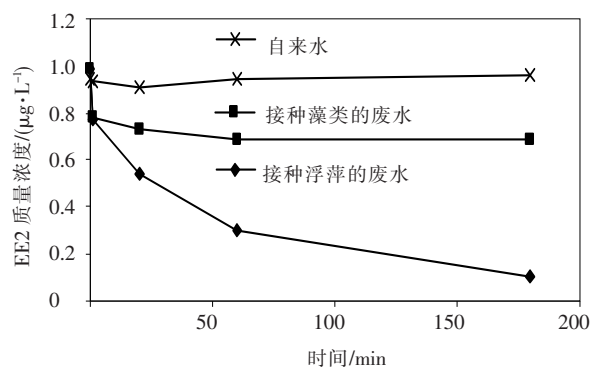


图3 吸附试验液相中 EE2 的质量浓度

2.3 EE2 的质量平衡

6 d 质量平衡试验结果显示了被系统去除的、被浮萍或藻类所吸附的、以及在液相中剩余的 EE2 所占比例。在接种浮萍的试验中,有 86% 的 EE2 得以从废水中去除,8% 仍停留于水中,有 6% 被浮萍吸附;而在接种藻类的试验中,56% 的 EE2 被从废水中去除,38% 仍停留于水中,6% 为藻类所吸附。还可以看出,与藻类相比浮萍去除了更多的 EE2,这个结果和 6 d 静态降解试验 (见图 2) 及 180 min 的吸附试验 (见图 3) 的结果一致。

2.4 连续流试验中 EE2 的去除

含 EE2 的人工废水在流经浮萍塘和菌藻塘之后,EE2 可被有效地去除 (见图 4),而且大约 70% 的 EE2 在第一个塘体中即被去除。就整个系统而言,浮萍塘对 EE2 的去除效果略好于菌藻塘。

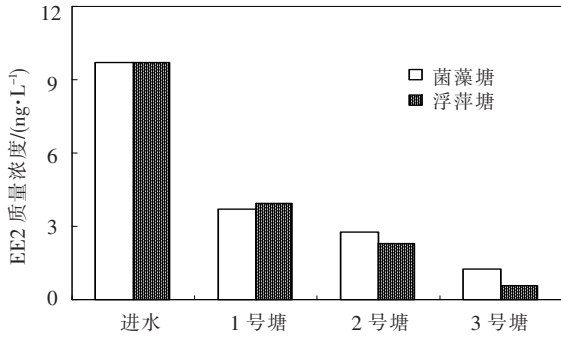


图4 连续流试验中菌藻塘和浮萍塘各塘水相中EE2质量浓度的变化

2.5 EE2 的去除途径与机制讨论

研究显示,液相中的EE2可能会通过吸附、生物降解和光解等途径去除^[6]. 本文的试验结果显示,也不管是在静态试验或连续流试验中,不管是在 $\mu\text{g/L}$ 级或 ng/L 级EE2的试验中,除了在自来水中进行的试验之外,其余试验中均观察到了明显的EE2去除.但在EE2的去除机制中究竟吸附、生物降解和光解三者之中何者起到了主要作用值得进行深入的讨论.本研究中,采用自来水进行的对照试验结果显示,6 d的静态试验中,自来水中的EE2质量浓度没有发生明显的变化(见图2),因此可以断定对照试验中没有吸附、生物降解和光解现象的发生.这是因为自来水中既没有吸附质,也没有生物物质,因此不会发生吸附和生物降解现象.尽管有报道称紫外光^[7]甚至自然光^[8]都可能促进水中雌激素的降解,但该对照试验却表明在文中提及的特定试验条件下也没有发生EE2的光解,因此,可以推断废水中接种的浮萍或藻类以及逐渐发展形成的微生物的吸附和生物降解作用可能是生态塘系统中EE2去除的主要机制.

浮萍和藻类的接种为EE2的吸附和生物降解均创造了一定的有利条件:一方面,浮萍具有较发达的根系,该根系以及浮萍本身均可以提供较多的吸附点位,而其表面也为微生物的生长繁殖提供了栖息场所;藻类本身就以悬浮态分散于水中,也有利于吸附.另一方面,接种的浮萍和藻类改变了微生物生长的环境条件,可能也在一定程度上促进微生物的发展.在整个静态试验期间,未做任何接种的废水中溶解氧(DO)含量始终为 0 mg/L ;接种浮萍的试验中,由于浮萍始终覆盖在水体表面,影响水体复氧,但由于浮萍可以通过根系向水体中释放部分氧气,因此其废水的DO含量始终处于 2.0 mg/L 左右;而在接种藻类的试验中,由于藻类的光合作用受到光照/黑暗周期的

影响,其废水中DO含量也呈现出明显的周期性变化,也即光照时DO含量可达 18 mg/L 甚至更高,但黑暗时,废水中DO含量则逐渐降低,甚至趋近于 0 mg/L .由于好氧细菌的生长速度明显高于厌氧细菌的生长速度,因此在接种浮萍或藻类的废水中,微生物可以较快地发展.

试验结果显示,固相吸附的确在EE2的去除中起到了重要作用.在6 d静态降解试验中,接种藻类和浮萍的废水中分别有约23%和45%的EE2在最初3 h内被去除(见图2),这种快速的去除主要是通过固相吸附而完成的.180 min的动态吸附试验则进一步证明了吸附的作用:在试验开始的2 min后,浮萍和藻类对EE2都有一个快速的吸附过程(见图3).

试验结果还显示藻类和浮萍对EE2的吸附平衡与吸附质的种类、数量和试验条件也有很大关系.从图3的试验结果中可以明显地看到藻类和浮萍对EE2的不同吸附程度,也即藻类对EE2的吸附在20 min时即达到了吸附平衡,而浮萍对EE2却有较长的时间的持续吸附作用.这可能是由于藻类和浮萍的不同的接种量而造成的:试验中藻类生物物质的接种量(约 128 mg 干重)少于浮萍的接种量(鲜重 $2\ 500\text{ mg}$,约相当于干重 190 mg).由于接种的藻类生物物质较少,其有效的吸附点位相对有限,这些吸附点位可能很快被完全占用,因此接种藻类的试验中吸附主要发生在前20 min,也即在较短时间即达到了吸附平衡.上述由于生物物质接种量不同而导致的不同去除率,也从另一侧面证实了吸附现象在EE2去除中的作用.将6 d的EE2质量平衡试验结果和180 min吸附试验结果(见图3)进行比较,可以发现在质量平衡试验中只有少部分的EE2(6%)被浮萍或藻类所吸附.这种差别可能是由于两种不同的试验条件造成的:在吸附试验中,含EE2的废水和浮萍或藻类混合后,在随后的180 min保持连续振荡,这种振荡可以保证EE2和吸附质的有效接触.而在质量平衡试验中,废水在接种浮萍或藻类后的整个6 d试验中保持静止,致使EE2和吸附质接触的机会很有限.此外,由于质量平衡试验持续的时间较长,其间发生的EE2生物降解现象也可能是观测到较低的EE2吸附率的一个原因.也就是说,在6 d的质量平衡静态试验中,即便有一些EE2为浮萍或藻类所吸附,但吸附的EE2可能被废水中逐渐发展的微生物进一步降解,作为结果,在6 d的质量平衡试验中仅有较少部分的EE2被浮萍或藻类所吸附.

静态试验结果揭示了生物降解在生态塘系统中去除 EE2 的重要作用. 在图 2 所示的 6 d 静态降解试验中,未做任何接种的废水试验中也获得了约 35% 的 EE2 去除率. 这一部分 EE2 的去除可能是在废水中逐渐发展起来的微生物作用的结果. 事实上,在试验后期,也的确观察到未接种污水的浑浊度明显升高的现象,预示着其中微生物群体的发展. 试验结果显示,在接种浮萍和藻类的试验中分别有 86% 和 56% 的 EE2 得以从系统中去除,进一步佐证了生物降解的重要作用. 在微生物降解 EE2 方面,通常认为污水中的微生物主要通过共代谢途径降解 EE2,也就是说 EE2 并不是作为基质为微生物的生长提供能量和组成元素,而是被微生物生长过程产生的共酶(co-enzyme)所转化^[9];但也有文献报道在活性污泥系统中,约有 50% ~ 70% 的雌激素被活性污泥吸附,并进而被系统中的微生物所降解^[10-11],并可能被矿化成 CO₂^[8]. 从本研究试验的试验结果也可以推断,吸附和生物降解在生态塘去除 EE2 过程中均起到了重要作用:废水中的 EE2 首先会被藻类和浮萍等生物质吸附,而吸附的 EE2 会被废水中的微生物进一步降解. 但由于 ELISA 测定方法的局限性,本研究目前所完成的试验无法进一步鉴别 EE2 降解的中间和最终产物,这些鉴别将在今后的研究中深入研究.

3 结 论

1) 静态试验和连续流试验均表明,在生态塘污水处理系统中,EE2 主要通过吸附和生物降解作用而去除.

2) 接种的浮萍和藻类为 EE2 的吸附提供了吸附点位而实现 EE2 的快速吸附,在 6 d 的静态试验中和 180 min 的动态吸附试验中均观察到了一个快速吸附的过程,而生态塘污水处理系统中 EE2 的吸附平衡取决于系统中浮萍和藻类的含量.

3) 生态塘污水处理系统中接种的浮萍和藻类为微生物的生长繁殖创造了有利的条件. 废水中的 EE2 首先会被藻类和浮萍等生物质吸附,而吸附的 EE2 会被系统中形成的微生物群落进一步降解.

4) 在连续流试验中,即使 EE2 处在 ng/L 级水平,菌藻塘和浮萍塘也能有效地将其从废水中去除.

参考文献:

[1] JOHNSON A C, WILLIAMS R J. A model to estimate

influent and effluent concentrations of estradiol, estrone and ethinylestradiol at sewage treatment works [J]. *Environ Sci Technol*, 2004, 38:3649-3658.

- [2] 郑晓英,周玉文,王俊安. 城市污水处理厂中邻苯二甲酸酯的研究 [J]. *给水排水*, 2006, 32(3):19-22.
- [3] GIJZEN H J. Low cost wastewater treatment and potentials for re-use; a cleaner production approach to wastewater management [C]//International Symposium on Low-Cost Wastewater Treatment and Re-use. Cairo: [s. n.], 2001.
- [4] HINTEMANN T, SCHNEIDER C, LER, H F S, *et al.* Field study using two immunoassays for the determination of estradiol and ethinylestradiol in the aquatic environment [J]. *Water Research*, 2006, 40: 2287-2294.
- [5] FARRE M, BRIX R, KUSTER M, *et al.* Evaluation of commercial immunoassays for the detection of estrogens in water by comparison with high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry HPLC-MS/MS (QqQ) [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2006, 385(6): 1001-1011.
- [6] DE MES T, ZEEMAN G, LETTINGA G. Occurrence and fate of estrone, 17 β -estradiol and 17 α -ethinylestradiol in STPs for domestic wastewater [J]. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 2005, 4: 275-311.
- [7] COLEMAN H M, ABDULLAH M I, EGGINS B R, *et al.* Photocatalytic degradation of 17 beta-oestradiol, oestrone and 17 alpha-ethinylestradiol in water monitored using fluorescence spectroscopy [J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2005, 55(1): 23-30.
- [8] 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]. *Environ Sci Technol*, 2000, 34(18): 3925-3931.
- [9] VADER J S, VAN GINKEL C G, SPERLING F, *et al.* Degradation of ethinyl estradiol by nitrifying activated sludge [J]. *Chemosphere*, 2000, 41(8): 1239-1243.
- [10] ANDERSEN H R, HANSEN M, KJOLHOLT J, *et al.* Assessment of the importance of sorption for steroid estrogens removal during activated sludge treatment [J]. *Chemosphere*, 2005, 61(1):139-146.
- [11] JOHNSON A C, AERNI H R, GERRITSEN A, *et al.* Comparing steroid estrogen, and nonylphenol content across a range of European sewage plants with different treatment and management practices [J]. *Water Research*, 2005, 39(1), 47-58.

(编辑 魏希柱)