

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第36卷 第7期

Vol.36 No.7

2015

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

2013年12月中国中东部地区严重灰霾期间上海市颗粒物的输送途径及潜在源区贡献分析	李莉, 蔡蓓琳, 周敏 (2327)
长三角冬季一次霾过程气溶胶及其水溶性离子的区域分布特征	王曼婷, 朱彬, 王红磊, 薛国强, 何俊, 徐宏辉, 曹锦飞 (2337)
北京城区大气 PM _{2.5} 主要化学组分构成研究	刘保献, 杨懂艳, 张大伟, 陈添, 赵红帅, 陈圆圆, 陆皓昀 (2346)
2014年春季山东省 PM _{2.5} 跨界输送研究	贾海鹰, 程念亮, 何友江, 陈云波, 杜晓惠, 单晓丽 (2353)
燃煤电厂产生和排放的 PM _{2.5} 中水溶性离子特征	马子珍, 李振, 蒋靖坤, 叶芝祥, 邓建国, 段雷 (2361)
南京夏季城市冠层大气 CO ₂ 浓度时空分布规律的观测	高韵秋, 刘寿东, 胡凝, 王淑敏, 邓力琛, 于洲, 张圳, 李旭辉 (2367)
北京市机动车尾气排放因子研究	樊守彬, 田灵娣, 张东旭, 曲松 (2374)
北京不同污染地区园林植物对空气颗粒物的滞纳能力	张维康, 王兵, 牛香 (2381)
长三角地区火电行业主要大气污染物排放估算	丁青青, 魏伟, 沈群, 孙予罕 (2389)
基于区域循环模型 IAP-N 的安徽省农用地 N ₂ O 排放量估算	韩云芳, 韩圣慧, 严平 (2395)
不同源汇信息提取方法对区域 CO ₂ 源汇估算及其季节变化的影响评估	张芳, 周凌晔, 王玉诏 (2405)
实测/预测辽河铬(VI)水生生物基准与风险评估	王晓南, 闫振广, 刘征涛, 张聪, 王伟莉 (2414)
博尔塔拉河河水、表层底泥及河岸土壤重金属的污染和潜在危害评价	张兆永, 吉力力·阿不都外力, 姜逢清 (2422)
岩溶泉水化学性质及 δ ¹³ C _{DIC} 影响因素	赵瑞一, 吕现福, 刘子琦, 吕春艳 (2430)
柳江流域柳州断面水化学特征及无机碳汇通量分析	原雅琼, 何师意, 于爽, 孙平安, 王艳雪, 武招云, 李新桂, 谢明鲜, 刘文, 李瑞, 张华生 (2437)
重庆市主城区次级河流总氮总磷污染特征分析及富营养化评价	庆旭瑶, 任玉芬, 吕志强, 王效科, 庞容, 邓睿, 孟龄, 马慧雅 (2446)
三峡库区消落带土壤邻苯二甲酸二丁酯静态释放特征	王法, 王强, 木志坚, 杨志丹, 宋娇艳 (2453)
干湿循环对三峡支流消落带沉积物中可转化态氮及其形态分布的影响	林俊杰, 张帅, 杨振宇, 何立平, 周依, 张倩茹 (2459)
天山天池夏季叶绿素 a 的分布及富营养化特征研究	王斌, 马健, 王银亚, 尹湘江 (2465)
西大海湖沉积物营养盐垂直分布特征变化分析	段木春, 肖海丰, 臧淑英 (2472)
草街水库蓄水后嘉陵江浮游植物群落特征及水质评价	杨敏, 张晟, 刘朔孺 (2480)
宁波三江口水域原核生物群落结构分析	胡安谊, 李姜维, 杨晓永, 王弘杰, 于昌平 (2487)
全氟化合物对表层沉积物中细菌群落结构的影响	孙雅君, 王铁宇, 彭霞薇, 王佩 (2496)
菹草腐解-金鱼藻生长耦合作用对水质及植物生长的影响	马月, 王国祥, 曹勤, 王小云, 马杰 (2504)
生物滞留设施对城市地表径流低浓度磷吸附基质研究	李立青, 龚燕芳, 颜子钦, 单保庆 (2511)
复合填料生物渗滤系统处理城市雨水径流的研究	王晓璐, 左剑恶, 千里里, 邢薇, 缪恒峰, 阮文权 (2518)
3种典型消毒副产物对细菌抗生素抗性的影响	吕露, 张梦露, 王春明, 林惠荣, 于鑫 (2525)
基于透射光法探讨水流流速对 DNAPL 运移分布的影响	高燕维, 郑菲, 施小清, 孙媛媛, 徐红霞, 吴吉春 (2532)
BDD 和 PbO ₂ 电极电化学氧化苯并三氮唑的对比研究	伍娟丽, 张佳维, 王婷, 倪晋仁 (2540)
开放系统下方解石对邻苯二甲酸的吸附	李振炫, 黄利东, 陈艳芳, 缪晔, 刘大刚, 许正文 (2547)
碳纳米管-羟磷灰石对铅的吸附特性研究	张金利, 李宇 (2554)
刚果红分子印迹聚合物纳米微球的合成及吸附性能	常自强, 陈复彬, 张玉, 时作龙, 杨春艳, 章竹君 (2564)
碱热-酸热法合成二氧化钛-钛酸纳米管复合纳米材料对 Cd(II) 和苯酚的同步去除	雷立, 晋银佳, 王婷, 赵泉, 晏友, 刘文 (2573)
固定化菌剂对污水和牛粪中雌二醇和己烯雌酚的去除作用	李欣, 凌婉婷, 刘静娴, 孙敏霞, 高彦征, 刘娟 (2581)
PN-ANAMMOX 一体化反应器处理电子行业 PCB 废水	袁琬, 李祥, 周呈, 陈宗姮 (2591)
Fenton 氧化深度处理石化废水厂二级出水研究	王翼, 吴昌永, 周岳溪, 张雪, 董波, 陈学民 (2597)
制革废水和印染废水的综合毒性评估及鉴别	黄利, 陈文艳, 万玉山, 郑国娟, 赵远, 蔡强 (2604)
不同溶解氧条件下 A/O 系统的除碳脱氮效果和细菌群落结构变化	陈燕, 刘国华, 范强, 汪俊妍, 齐鲁, 王洪臣 (2610)
利用主要缺氧段 ORP 作为连续流单污泥污水脱氮除磷系统调控参数	王晓玲, 宋铁红, 殷宝勇, 李静文, 李紫棋, 余勇 (2617)
连续流态下以实际低基质生活污水培养好氧颗粒污泥及其脱氮性能	姚力, 信欣, 鲁航, 朱辽东, 谢思建 (2626)
广东清远电子垃圾拆解区农田土壤重金属污染评价	张金莲, 丁疆峰, 卢桂宇, 党志, 易筱筠 (2633)
山东省临沂市土壤有机氯农药滴滴涕残留量与空间分布特征	喻超, 王增辉, 王红晋, 代杰瑞, 庞绪贵, 赵西强, 刘华峰 (2641)
金华市萤石矿区土壤氟污染评价	叶群峰, 周小玲 (2648)
土壤碳收支对秸秆与秸秆生物炭还田的响应及其机制	侯亚红, 王磊, 付小花, 乐毅全 (2655)
黄土区果园和刺槐林生态系统土壤有机碳变化及影响因素	李如剑, 王蕊, 李娜娜, 姜继韶, 张彦军, 王志齐, 刘庆芳, 吴得峰, 郭胜利 (2662)
缙云山土地利用方式对土壤轻组及颗粒态有机碳氮的影响	雷利国, 江长胜, 郝庆菊 (2669)
塔里木河上游典型绿洲土壤酶活性与环境因子相关分析	朱美玲, 贡璐, 张龙龙 (2678)
不同部位玉米秸秆对两种质地黑土 CO ₂ 排放和微生物量的影响	刘四义, 梁爱珍, 杨学明, 张晓平, 贾淑霞, 陈学文, 张士秀, 孙冰洁, 陈升龙 (2686)
1株对叔丁基邻苯二酚降解菌的筛选鉴定及响应面法优化其降解	贺强礼, 刘文斌, 杨海君, 彭晓霞, 关向杰, 黄水娥 (2695)
耐高浓度沼液产油小球藻的分离鉴定与特征分析	杨周, 王文国, 马丹炜, 汤晓玉, 胡启春 (2707)
水介质中 C ₆₀ 纳米晶体颗粒与 Cu ²⁺ 对小鼠腹腔巨噬细胞的复合毒性研究	于叶, 卞为林, 张慧敏, 张波, 何义亮 (2713)
地表水体中同时分析 18 种糖皮质激素方法的建立	郭文景, 常红, 孙德智, 吴丰昌, 杨浩 (2719)
《环境科学》征订启事 (2553) 《环境科学》征稿简则 (2640) 信息 (2546, 2609, 2616, 2647)	

固定化菌剂对污水和牛粪中雌二醇和己烯雌酚的去除作用

李欣, 凌婉婷, 刘静娴, 孙敏霞, 高彦征, 刘娟*

(南京农业大学资源与环境科学学院, 土壤有机污染控制与修复研究所, 南京 210095)

摘要: 针对雌二醇(E2)和己烯雌酚(DES)易在污水和牛粪富集的问题, 制备了具有去除 E2 和 DES 功能的固定化菌剂, 并研究了其对污水和牛粪中 E2 与 DES 的去除作用。以 E2 降解菌 *Rhodococcus* sp. JX-2 与 DES 降解菌 *Serratia* sp. S 为供试菌, 主要通过正交试验确定了固定化菌剂包埋方法, 比较了固定化菌剂、游离态菌剂、空白小球对 E2 与 DES 的去除效能, 并分析了菌剂用量、pH、含水量、翻堆时间对菌剂去除污水和牛粪中 E2 和 DES 的影响。结果表明, 菌剂制备的最佳固定化条件为菌株 JX-2 与菌株 S 菌悬液体积比为 1:1, 海藻酸钠质量分数 5%, 菌胶比为 1:2, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 质量分数 4%。固定化菌剂对溶液中初始浓度为 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ E2 和 DES 的去除率分别达 99.42% 和 84.59%。去除污水中 E2 和 DES 的最佳固定化菌剂用量为 $300 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 值为 5.0 ~ 6.0, 能完全去除 DES, E2 去除率为 95.85%; 去除牛粪中 E2 和 DES 的最佳固定化菌剂用量为 $600 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 牛粪含水量为 70%, 翻堆时间间隔为 12 h, 能完全去除 E2, DES 去除率为 97.41%。

关键词: 己烯雌酚; 雌二醇; 固定化; 污水; 牛粪

中图分类号: X703.1; X713 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2015)07-2581-10 DOI: 10.13227/j.hjks.2015.07.034

Immobilization of Estrogen-degrading Bacteria to Remove the 17β -estradiol and Diethylstilbestrol from Polluted Water and Cow Dung

LI Xin, LING Wan-ting, LIU Jing-xian, SUN Min-xia, GAO Yan-zheng, LIU Juan*

(Institute of Organic Contaminant Control and Soil Remediation, College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Estradiol (E2) and diethylstilbestrol (DES) can be enriched in sewage and cow dung, posing serious threats to human and ecological health. Strain *Rhodococcus* sp. JX-2 and strain *Serratia* sp. S, which could degrade 17β -estradiol and diethylstilbestrol, respectively, were immobilized by alginate and then added into sewage and cow dung to remove E2 and DES. The immobilization was determined by orthogonal experiment, and the removal of E2 and DES from sewage and cow dung was compared between treatments of immobilized bacteria, free bacteria and control without bacteria. The influencing factors including inoculation amount, pH value, moisture content, turning time on the removal of E2 and DES were investigated. The optimal conditions of JX-2 and S immobilization were as follows: Strain JX-2; strain S (V/V) 1:1, alginate concentration 5%, calcium chloride concentration 4%, bacteria-cement ratio 1:2. The immobilized strains removed 99.42% and 84.59% of the $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ E2 and DES under laboratory conditions, respectively. The optimal conditions for E2 and DES removal from water by the immobilized strains were as follows: $300 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ inoculation volume of immobilized strains and pH 5.0-6.0. Immobilized bacteria could completely remove DES and remove 95.85% of E2 from water. The optimal conditions for E2 and DES removal from cow dung by the immobilized strains were: inoculation volume $600 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, moisture content 70% and pile turning time 12 h. The immobilized bacteria could completely remove E2 and remove 97.41% of DES from cow dung.

Key words: diethylstilbestrol; 17β -estradiol; immobilization; sewage; cow dung

环境雌激素是指能够干扰生物体内天然激素的合成、分泌、运输、结合、反应和代谢等, 从而影响生物生殖等功能的外源性化学物质^[1]。环境雌激素包括天然雌激素和人工合成雌激素^[2], 天然雌激素属于类固醇物质, 主要由人和动物体内卵巢细胞产生, 其中雌二醇(17β -estradiol, E2)具有较强的毒性, $53.6 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ E2 可以引起绵鲷胚胎严重畸形^[3]; 人工合成雌激素既包括与 E2 结构相似的类固醇衍生物, 也包括结构简单的非甾体激素, 其中己烯雌酚(diethylstilbestrol, DES)与 E2 具有相同药理与治疗

作用, 但极微量 DES 便可导致雌性小鼠卵巢功能紊乱、肥胖和垂体瘤^[4]。环境中 E2 和 DES 不易被去除, 并易在水体和畜禽粪便中富集^[5~10], 付银杰等^[6]检测出牛粪中 E2 高达 $107.95 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, Zhou 等^[7]检测出北京污水中 E2 和 DES 分别高达 67.4

收稿日期: 2014-12-19; 修订日期: 2015-01-28
基金项目: 国家自然科学基金项目(51278252, 21477056, 41201501); 江苏省自然科学基金项目(BK2012370)
作者简介: 李欣(1989~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为环境污染控制与生物修复, E-mail: 2012103053@njau.edu.cn
* 通讯联系人, E-mail: liujuan@njau.edu.cn

ng·L⁻¹和11.1 ng·L⁻¹,如何消除水和畜禽粪便中E2和DES很受关注.

目前关于E2和DES的生物去除研究多处于雌激素降解功能菌株纯培养阶段,并且多针对单一污染物,并未应用于自然污水和畜禽粪便^[11].近年来,国内外能降解E2的菌株有*Stenotrophomonas maltophilia*^[12]、*Pseudomonas putida*^[13]、*Bacillus subtilis*^[14]等,能降解DES的菌株有*Serratia* sp.^[15]、*Pseudomonas* sp.^[16].本实验室已经分离得到了1株E2降解菌株*Rhodococcus* sp. JX-2和1株DES降解菌株*Serratia* sp. S,摇瓶培养7 d,*Rhodococcus* sp. JX-2对30 mg·L⁻¹ E2的降解率为95%,*Serratia* sp. S对50 mg·L⁻¹ DES的降解率为68%^[15].然而由于富集E2和DES的污水和畜禽粪便成分非常复杂,实验室筛选的功能菌株可能会因不适应环境而使活性受到抑制、与土著微生物竞争处于劣势、难以回收等缺点,在应用中受到限制^[17].而固定化微生物菌剂技术因具有耐环境冲击、可回收利用、显著提高修复效率等优点,使其成为弥补游离菌株不足的选择,目前已广泛应用于有机污染物的处理^[17~34],如Ahmad等^[18]固定化*Acinetobacter* sp.后,降解1 100 mg·L⁻¹苯酚的时间较游离态细菌缩短了132 h,并且固定化菌株能够降解1 300 mg·L⁻¹苯酚,而游离态细菌不能降解;Hazaimeh等^[19]将6株革兰氏阴性菌*Pseudomonas* sp.、*Serratia* sp.、*Flavobacterium* sp.、*Chryseomonas* sp.、*Xanthomonas* sp.、*Agrobacterium* sp.和3株阳性菌*Arthrobacter* sp.、*Bacillus* sp.、*Micrococcus* sp.构建为混合菌群后固定化,与游离菌群相比,6周内对原油的降解率提高了17.52%,完全降解原油的时间缩短了25%.由于需要将固定化菌剂投加至污水和牛粪,所以固定化菌剂所选择的载体材料应用于水体应具有传质性能好、便于回收的特点;在牛粪中由于不需回收,载体材料应具有可生物降解、对功能菌株和环境无毒、可吸附污染物的特点.海藻酸钠作为常用的载体材料,具有传质性能好、无毒、可被土

壤微生物降解的特点^[20],所以本研究采用海藻酸钠为载体材料.

本研究通过海藻酸钠包埋法将菌株*Rhodococcus* sp. JX-2和菌株*Serratia* sp. S制备成固定化混合功能菌剂,探讨了该菌剂对E2和DES的去除效能,将其投加至实际污水和牛粪中,分析了其应用效果,以期为利用固定化功能菌剂来有效去除污水和牛粪中雌激素、规避雌激素污染风险等提供新思路 and 途径.

1 材料与方法

1.1 供试菌

E2降解菌株*Rhodococcus* sp. JX-2与DES降解菌株*Serratia* sp. S均由本实验室分离,保藏至中国微生物菌种保存管理委员会普通微生物中心,保藏号分别为CGMCC 9636和CGMCC 1.12941.

1.2 培养基和主要试剂

LB培养基与MSM培养基制备方法参考文献[35].含有E2和DES的MSM培养基:800 mg·L⁻¹ E2和DES甲醇溶液过0.22 μm滤膜除菌,取一定量置于灭菌三角瓶中,待甲醇挥发后加入MSM培养液,使E2和DES达到实验设计的质量浓度.

E2和DES均购自上海阿拉丁试剂有限公司,纯度≥98%.

1.3 固定化菌剂的制备

以海藻酸钠质量分数、菌胶比、CaCl₂·2H₂O质量分数和混合菌体积比作为试验因素,采用正交试验法,设计四因素三水平的正交表L₉(3)⁴,以E2和DES去除率为指标,各因子水平取值见表1.制备固定化菌剂的方法为:菌株JX-2和菌株S分别接种于LB培养基,摇床30℃、150 r·min⁻¹振荡24 h后,调D₆₀₀=1.0^[35].将两株菌的菌悬液按一定体积比混匀后,与海藻酸钠以一定的菌胶比充分混匀,匀速滴入4℃的CaCl₂溶液后,于4℃交联6 h,得到直径为3~5 mm的固定化颗粒(图1).用无菌生理盐水冲洗后使用.

表 1 正交试验因素水平
Table 1 Factors and levels of the orthogonal experiment

水平	因素 A (海藻酸钠质量分数/%)	因素 B (菌液与海藻酸钠体积比)	因素 C (CaCl ₂ ·2H ₂ O 质量分数/%)	因素 D (菌株 S 与菌株 JX-2 体积比)
1	4	1:1	2	1:1
2	5	1:2	3	1:2
3	6	2:1	4	2:1

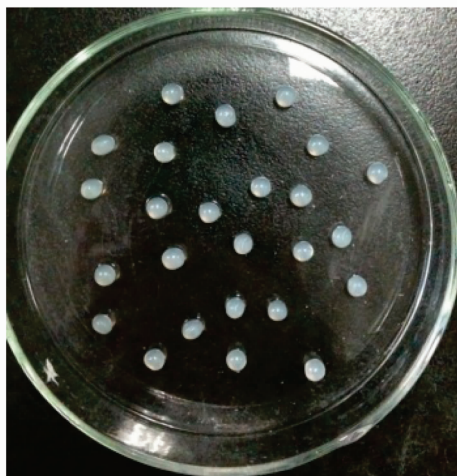


图1 固定化菌剂照片

Fig. 1 Photo of bacteria-immobilized agents

1.4 实验方法

1.4.1 固定化菌剂对溶液中 E2 和 DES 的去除

在 E2 和 DES 添加质量浓度为 1、2、5、10、15、20、25 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 MSM 培养基中,加入 5% 接菌量的固定化菌剂,30℃、150 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 摇床培养,0~7 d 后取样,测定培养液中 E2 和 DES 质量浓度,计算 E2 和 DES 残留率或去除率. 以接入相等菌量的游离菌剂的处理作为阳性对照,不接种微生物的空白小球的处理作为阴性对照.

1.4.2 固定化菌剂对污水中 E2 和 DES 的去除

采集南京某湖泊中污水入口的湖水样品,调节水样 pH 至 5.0~9.0,在 1 L 水样中投加 200、300、400、500、600 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 固定化菌剂,30℃、150 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡培养 7 d 后,测定水中 E2 和 DES 质量浓度,计算 E2 和 DES 去除率. 以接入相等菌量的游离菌剂作为阳性对照,不接种微生物的空白小球的处理作为阴性对照.

1.4.3 固定化菌剂对牛粪中 E2 和 DES 的去除

牛粪采自南京某奶牛养殖场. 冷冻干燥后称取 50.00 g 牛粪平铺于 15 cm × 15 cm 的培养皿中,将 600、800、1 000、1 200、1 400 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的固定化菌剂洒在牛粪上,与牛粪混匀后加入一定量的超纯水,保持牛粪含水量 40%~70%,置于 30℃ 培养,每隔 12、18、24 h 翻堆搅拌,7 d 后测定牛粪中 E2 和 DES 去除率. 以接入相等菌量的游离菌剂作为阳性对照,不接种微生物的空白小球的处理作为阴性对照.

1.5 分析方法

1.5.1 实验室摇瓶条件下溶液中 E2 和 DES 质量浓度测定^[5,15]

测定方法为整瓶提取,加入等体积甲醇,超声振

荡 30 min 后,分别用 HPLC/FLD 和 HPLC 法测定 E2 和 DES 质量浓度. 高效液相色谱(岛津 LC-20AT)参数为:Inertsil ODS-SP- C_{18} 反相色谱柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm),E2 的流动相为甲醇/乙腈/水(体积比为 25:30:45),荧光激发和发射波长分别为 280 nm 和 310 nm. DES 的流动相为乙腈/水(体积比为 80:20),紫外检测波长 230 nm. 流速 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温 40℃,进样量 20 μL .

1.5.2 污水中 E2 和 DES 质量浓度测定^[5]

水样以约 5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 的流速通过已分别用 5 mL 甲醇和 5 mL 超纯水活化的 C_{18} 固相萃取柱(200 mg/6 mL),5 mL 超纯水淋洗柱体并抽吸 3 min 后,用 15 mL 甲醇洗脱,洗脱液收集至试管中. 试管置于 40℃ 恒温水浴并用氮气吹干后,加入 50% 甲醇水溶液将附着物重新溶解至 2 mL,过 0.22 μm 孔径滤膜,分别用 HPLC/FLD 和 HPLC 分析.

1.5.3 牛粪中 E2 和 DES 含量测定^[6]

冷冻干燥牛粪后,充分搅拌,五点取样法共称取 1.00 g 粪样于玻璃离心管中,加入 20 mL 乙酸乙酯,涡旋 30 s 后超声 30 min,以 4 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 30 min,上清液转入另一离心管,重复提取粪样 1 次,合并提取液,4 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min,取上清液用氮气吹干,甲醇溶解,超纯水稀释至 50 mL. 将溶液以 3 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 流速过已活化的 C_{18} 固相萃取柱(200 mg/6 mL),用 5 mL 超纯水淋洗柱体并抽吸 3 min,15 mL 体积比为 1:1 的甲醇和乙酸乙酯混合液洗脱,洗脱液收集至试管中. 将试管置于 40℃ 恒温水浴并用氮气吹干,加入甲醇溶液重新溶解至 2 mL,过 0.22 μm 孔径滤膜,分别用 HPLC/FLD 和 HPLC 分析.

1.6 数据统计分析方法

实验所得数据用 Microsoft Office Excel 2010 软件进行处理. 雌激素去除率计算公式如下:

$$\text{雌激素去除率} = \frac{\text{初始雌激素浓度} - \text{残留雌激素浓度}}{\text{初始雌激素浓度}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 固定化菌剂的最优制备条件

通过设计四因素三水平正交试验,优化了海藻酸钠包埋菌株 JX-2 和菌株 S 的条件. 由表 2 可见,去除 E2 和 DES 固定化混合菌剂制备的最优方案分别为 $\text{A}_2\text{B}_3\text{C}_2\text{D}_3$ (因素 A 取 2 水平,因素 B 取 3 水平,因素 C 取 2 水平,因素 D 取 3 水平)和 $\text{A}_2\text{B}_2\text{C}_3\text{D}_1$

(因素 A 取 2 水平,因素 B 取 2 水平,因素 C 取 3 水平,因素 D 取 1 水平). 但是方案 $A_2B_3C_2D_3$ 可能由于菌胶比为 2:1,导致海藻酸钙浓度较低,结构较疏

松,胶珠难成型,并且由 DES 的最优方案 $A_2B_2C_3D_1$ 制得的固定化菌剂对 E2 的去除率最高,所以最佳方案选定为 $A_2B_2C_3D_1$.

表 2 固定化菌剂去除 E2 和 DES 的正交试验结果¹⁾
Table 2 Orthogonal experiment results of E2 and DES removal by the immobilized bacteria

实验编号	因素				E2 去除率 /%	DES 去除率 /%
	A	B	C	D		
1	1	1	1	1	84.46	59.46
2	1	2	2	2	90.58	57.28
3	1	3	3	3	96.80	67.17
4	2	1	2	3	97.57	53.39
5	2	2	3	1	98.83	94.96
6	2	3	1	2	98.46	75.62
7	3	1	3	2	90.16	63.55
8	3	2	1	3	97.86	73.62
9	3	3	2	1	98.30	63.13
K_1	271.84	272.19	280.78	281.59		
K_2	294.86	287.27	286.45	279.20		
K_3	286.32	293.56	285.79	292.23		
K_1'	183.91	176.40	208.70	217.55		
K_2'	223.97	225.86	173.80	196.18		
K_3'	200.30	205.92	225.68	194.18		
R	23.02	21.37	5.67	13.03		
R'	40.06	49.46	51.88	23.37		

1) K 为同一因素 E2 去除率的合计值, K' 为同一因素 DES 去除率的合计值, R 为 E2 去除率极差, R' 为 DES 去除率极差, 单位均为 %

2.2 菌剂对溶液中 E2 和 DES 的去除

由图 2 可知,固定化菌剂对 E2 和 DES 的去除率高于游离态菌剂. 固定化菌剂、游离态菌剂、空白小球 7 d 对初始质量浓度为 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ E2 去除率分别为 99.42%、96.86%、13.55%,对初始质量浓度为 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ DES 去除率分别为 84.59%、70.89%、15.58%,推测固定化菌剂对 E2 和 DES 去除率高于游离态菌剂的原因可能是固定化菌剂依靠吸附和生物降解的协同作用去除 E2 和 DES^[17,21-23]. 24 h 时,固定化菌剂和游离态菌剂对 E2 和 DES 去除率差别明显,E2 去除率分别为 45.75% 和 11.63%,DES 去除率分别为 33.80% 和 11.17%,可能是由于 E2 和 DES 溶解度很低,低浓度的碳源导致游离态菌剂无法高效利用,固定化菌剂由于外壳海藻酸钙具有吸附作用,前 24 h 内固定化菌剂达到吸附饱和,在菌剂内部的菌剂接触到的 E2 和 DES 的浓度较大,有利于菌剂更好地摄取底物,促进底物去除^[23]. 第 4 d 固定化菌剂 E2 残留质量浓度为 $0.03\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,而游离态菌剂第 7 d E2 为 $0.07\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;第 5 d 固定化菌剂 DES 残留质量浓度为 $0.35\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,而游离态菌剂 7 d DES 为 $0.46\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,可见固定化菌剂去除时间短于游离态菌剂.

随着去除天数增加,E2 和 DES 残留浓度越来越低,游离菌剂降解到 6 d 后停止降解 E2,而固定化菌剂可能由于球体外壳为具有吸附作用的海藻酸钙,内部的菌剂接触到的 E2 浓度高于游离菌,使菌剂能够继续摄取底物^[22,23],7 d 固定化菌剂去除 E2 和 DES 残留质量浓度分别为 $0.01\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.24\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 无论是固定化菌剂还是游离态菌剂,前 48 h 对 E2 和 DES 的去除速率较快,随后去除速率变缓,原因可能是随着培养时间延长,培养液中营养物质降低或菌剂降解污染物时产生了某些代谢产物,抑制了菌株生长繁殖. 另一方面,海藻酸钙凝胶小球内部呈多孔道结构,菌株在其中增殖,随着菌株数量增多,占据的孔道越多,不仅影响了载体的传质性能,而且氧气扩散速率减慢,同时细胞生长空间减小,从而阻碍了细胞的增殖^[17,20,24].

由图 3 可见,随着 E2 和 DES 从 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 增至 $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,固定化菌剂和游离态菌剂对 E2 和 DES 的去除率提高,固定化菌剂和游离态菌剂对 E2 去除率分别达到 98.98% 和 98.61%,对 DES 去除率分别达到 87.32% 和 82.59%. 由于 E2 和 DES 为 MSM 中唯一碳源,可以被菌剂利用来满足自身生长繁殖,当 E2 和 DES 浓度较低时,菌剂可利用的碳源较少,生长缓慢,因此去除率较低;随着 E2 和 DES

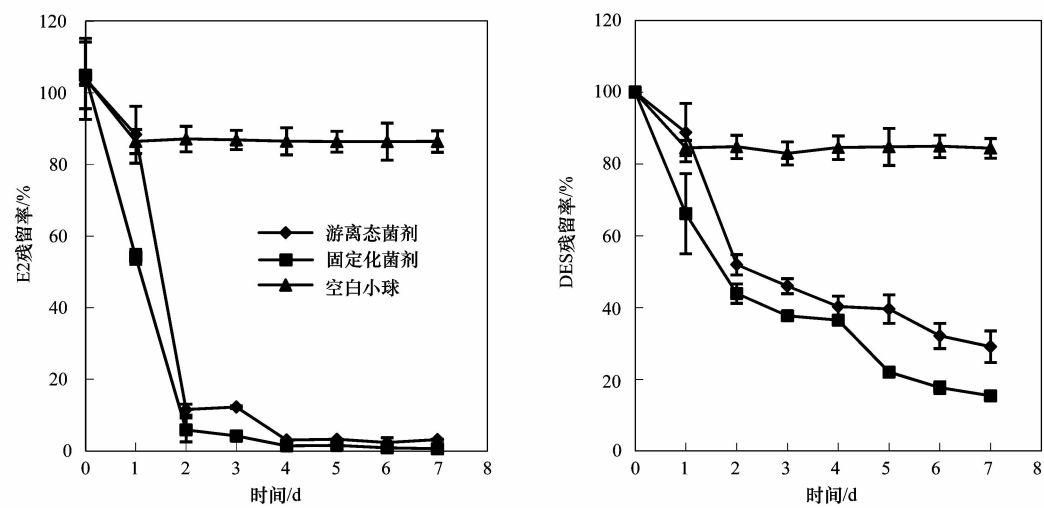


图 2 以 E2 和 DES 为唯一碳源时,菌剂对 E2 和 DES 的去除

Fig. 2 Removal of E2 and DES in solution by bacteria using E2 and DES as the sole source of carbon

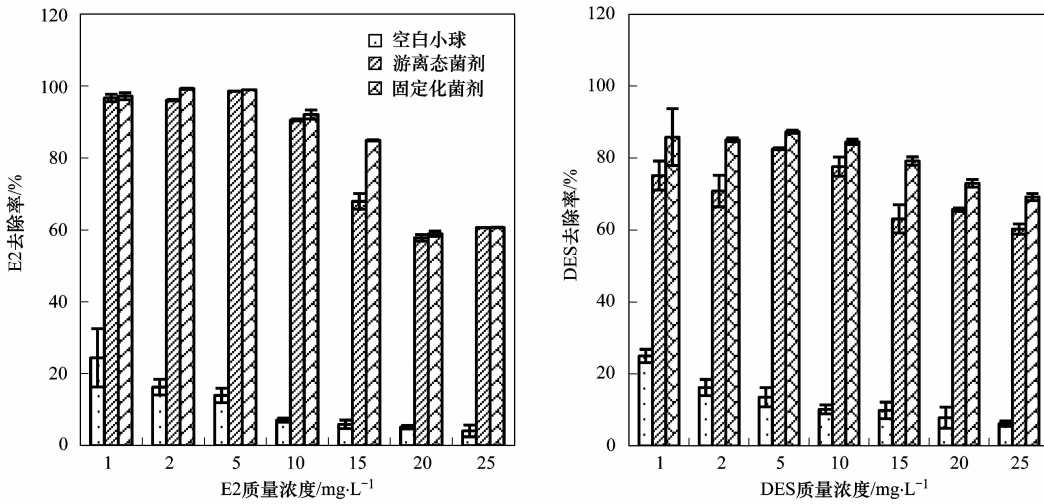


图 3 污染浓度对菌剂去除 E2 和 DES 的影响

Fig. 3 Effect of initial concentrations on E2-elimination and DES-elimination by bacteria

添加浓度提高,可利用的碳源增多,菌剂大幅生长,去除率同时提高^[25]。随着 E2 和 DES 从 5 mg·L⁻¹ 增至 25 mg·L⁻¹,固定化菌剂和游离态菌剂对 E2 和 DES 的去除率均逐渐降低,固定化菌剂和游离态菌剂对 E2 的去除率分别降低了 38.28% 和 37.93%,对 DES 的去除率分别降低了 18.08% 和 22.28%。可能是高浓度的 E2 和 DES 对菌株生长有毒害作用,并且由于两株菌株的降解专一性,如菌株 JX-2 只能降解 E2,不能降解 DES,高浓度的 DES 对菌株 JX-2 产生了毒害作用,导致菌株 JX-2 降解 E2 的能力降低。

同等浓度条件下,固定化菌剂的去除率高于游离态菌剂,E2 和 DES 低于或高于 15 mg·L⁻¹ 时,固定化菌剂与游离态菌剂的去除率差异较小,此结果

与 Ahmad 等^[18] 研究结果类似。当 E2 和 DES 为 15 mg·L⁻¹ 时固定化菌剂、游离态菌剂、空白小球对 E2 去除率分别为 84.92%、67.96%、5.91%,对 DES 去除率分别为 79.21%、63.14%、9.89%,固定化菌剂与游离态菌剂的去除能力差异较大,这可能是由于在固定化体系中,海藻酸钙外壳为包在内部的菌体提供了一定的保护作用,当 E2 和 DES 从载体外部扩散进入载体内部,形成了浓度梯度,降低了 E2 和 DES 对载体内部细菌的毒性^[24]。

2.3 菌剂对污水中 E2 和 DES 的去除作用

实验测得污水水样中 E2 和 DES 质量浓度分别为 0.70 μg·L⁻¹ 和 21.05 μg·L⁻¹。由图 4 可见,同等接种量条件下,固定化菌剂对 E2 和 DES 去除率分别高于游离态菌剂 22.16% ~ 30.20% 和 27.63% ~

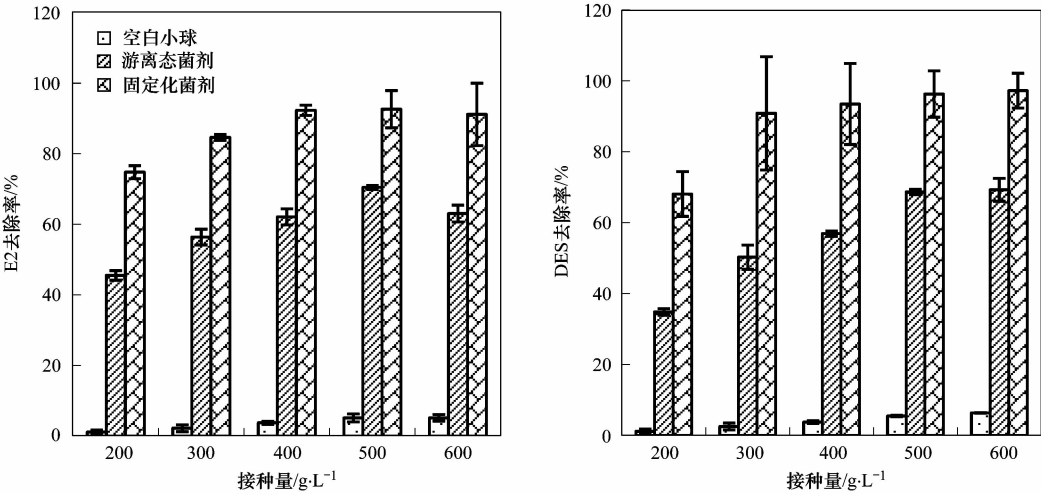


图 4 接种量对菌剂去除污水中 E2 和 DES 的影响

Fig. 4 Effect of inoculation volume on E2 and DES removal from polluted water by bacteria

40.55%。两株供试菌的筛选条件均为 MSM 中添加 E2 或 DES 为唯一碳源驯化所得,污水中可供菌株生长的营养可能较低或者菌株不适应污水环境,菌株的生长受到影响,而固定化菌剂内部为 MSM 体系,与菌株习惯的环境没有明显差异,所以菌株可以正常生长。此外,固定化菌剂不仅可以通过海藻酸钙将菌剂包埋在球体内部,屏蔽污水中细菌等恶性竞争,而且可以通过小球的吸附使得固定化菌剂接触的 E2 和 DES 浓度高于游离态菌剂,可利用的碳源增多,有利于菌剂的生长^[20]。

接种量从 200 g·L⁻¹增至 600 g·L⁻¹,固定化菌剂对 E2 去除率从 74.82% 增至 91.14%,对 DES 去除率则从 68.07% 增至 97.22%。投加量为 300 g·L⁻¹时,菌剂对污水中 E2 和 DES 的去除率分别达到 84.64% 和 90.82%,残留 E2 和 DES 分别为 0.11

μg·L⁻¹ 和 1.93 μg·L⁻¹。菌剂投加量大于 500 g·L⁻¹ 时,虽然残留 E2 和 DES 分别为 0.06 μg·L⁻¹ 和 0.59 μg·L⁻¹,但是菌剂处于贫营养状态,细胞自溶死亡,污水体系浑浊。

由图 5 可见,同等 pH 条件下,固定化菌剂对 E2 和 DES 去除率分别高于游离态菌剂 5.88% ~ 49.07% 和 26.50% ~ 65.66%。pH 不仅可以改变细胞膜的通透性,扰乱细胞对物质的交换过程,而且可以通过影响酶的离解过程进而影响酶活^[24,25]。与游离态菌剂相比,固定化菌剂由于海藻酸钙的保护作用,不仅缓解了酸性或碱性环境对菌剂的伤害,而且影响了酶活,使底物与酶的结合位点更能承受 pH 变化,从而增强了菌剂对 DES 和 E2 的去除能力^[24]。游离态菌剂最适 pH 为 8.0 ~ 9.0,而固定化菌剂最适 pH 为 5.0 ~ 6.0。经固定化后,最适 pH 向

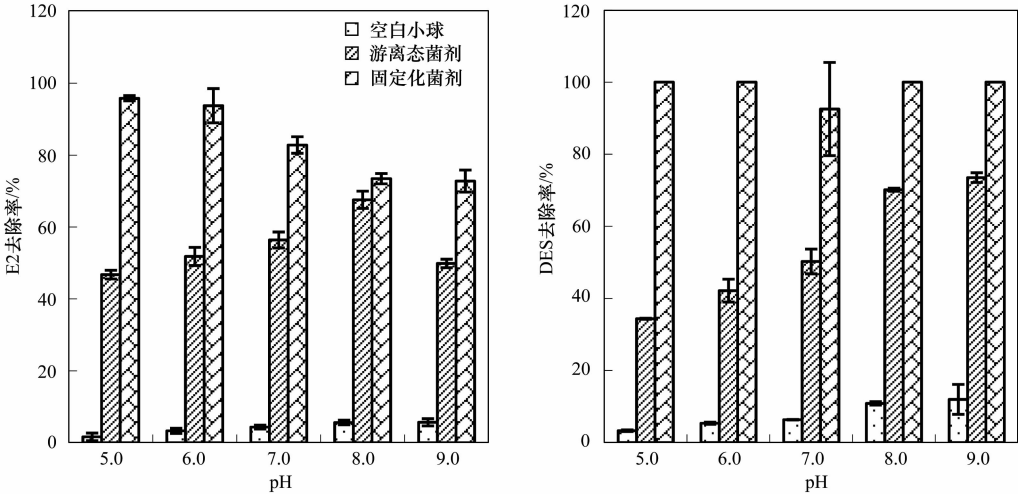


图 5 pH 值对菌剂去除 E2 和 DES 的影响

Fig. 5 Effect of pH values on E2 and DES removal from polluted water by bacteria

酸性偏移,在固定化细胞的酶活位点有了更宽的适应范围,使得固定化细胞对外界 pH 变化不敏感的前提下,主要是因为酸性有利于海藻酸钠的钙化率提高,而碱性越大,钙化率降低,菌株易泄漏于污水中,污水体系越浑浊^[26].

pH = 5.0 时固定化菌剂去除 E2 和 DES 的效率最高,DES 去除率为 100%,E2 去除率为 95.85%,E2 残留浓度为 0.03 μg·L⁻¹. 菌剂在 pH > 7.0 的碱性环境下对 DES 去除率的提高可能是化学和生物共同作用的结果,DES 因含酚羟基可发生化学反应^[15]. 综上,由于固定化菌剂对 E2 和 DES 去除率高于游离态菌剂,并且固定化菌剂方便回收,对环境无污染,所以治理污水 E2 和 DES 方法优选为:固定化菌剂用量 300 g·L⁻¹,pH 值为 5.0 ~ 6.0.

2.4 固定化菌剂对牛粪中 E2 和 DES 的去除

实验测得所采集的牛粪中 E2 含量为 0.48 mg·kg⁻¹,DES 含量为 2.80 mg·kg⁻¹. 由图 6 可见,同等接种量条件下,固定化菌剂对 E2 和 DES 去除率分别高于游离态菌剂 26.44% ~ 43.80% 和

25.64% ~ 36.98%. 固定化载体可以吸附 E2 和 DES,600 g·kg⁻¹ 空白小球可以吸附 0.01 mg·kg⁻¹ E2 和 0.12 mg·kg⁻¹ DES,固定化菌剂接触到的 E2 和 DES 高于游离态菌剂,有利于菌剂生长. 此外,微生物具有多种官能团的蛋白质结构,经固定化后其官能团与载体之间发生共价键或范德华力等作用,主链结构得到加固,不易流失和被破坏,能耐 pH 变化、生物毒性物质的冲击,不易失活,并且固定化菌剂内部是 MSM 体系,提供了有利的生长环境^[27].

随着固定化菌剂投加量从 600 g·kg⁻¹ 增至 1 400 g·kg⁻¹,固定化菌剂对牛粪中 E2 的去除率从 86.70% 提高至 96.57%,残留含量从 0.06 mg·kg⁻¹ 降至 0.02 mg·kg⁻¹,对 DES 的去除率从 64.29% 提高至 95.47%,残留含量从 1.00 mg·kg⁻¹ 降至 0.13 mg·kg⁻¹. 由于牛粪中 E2 和 DES 迁移能力较弱,往往只有与菌剂接触的牛粪才能得到有效清洁,固定化菌剂投加量提高,则其与牛粪的接触面积增大,进而可以更多地降解和吸附去除牛粪中的 E2 和 DES^[27].

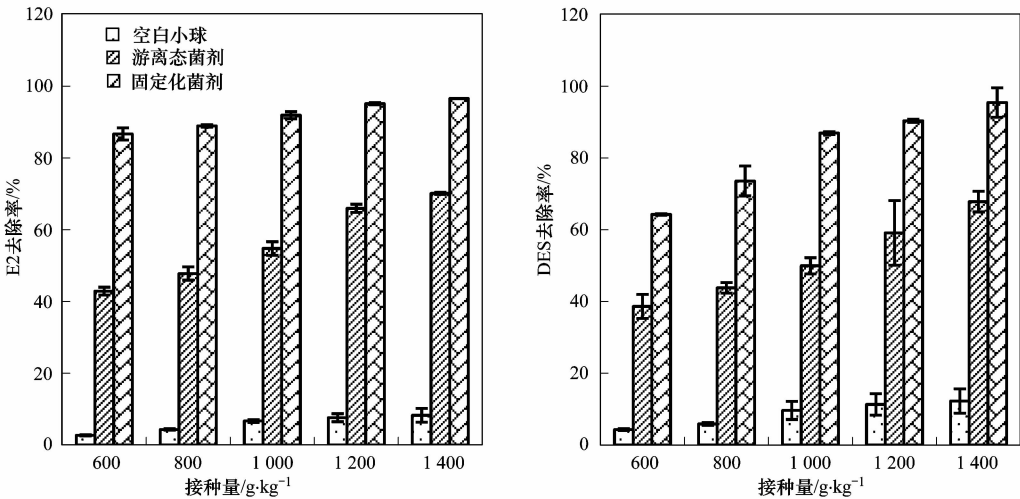


图 6 接种量对菌剂去除牛粪中 E2 和 DES 的影响

Fig. 6 Effect of inoculation volume on E2 and DES removal from cow dung by bacteria

由图 7 可知,同等含水量条件下,600 g·kg⁻¹ 固定化菌剂对 E2 和 DES 去除率分别高于游离态菌剂 29.79% ~ 47.81% 和 25.64% ~ 37.41%. 随着牛粪含水量的提高(40% ~ 70%),固定化菌剂对牛粪中 E2 和 DES 去除越多. 供试条件下,牛粪含水量为 70% 时最有利于固定化菌剂去除牛粪中 E2 和 DES,E2 和 DES 的去除率分别达 95.75% 和 88.87%,比含水量为 40% 时的去除率分别提高了 16.71 和 27.21 个百分点,残留含量分别为 0.02 mg·kg⁻¹ 和 0.31 mg·kg⁻¹. 反之,随着牛粪含水量降

低,固定化菌剂对 E2 和 DES 去除率降低,一方面菌剂需要一定的含水量保持其球体形态,当含水量低于 50% 时,会出现干瘪形态;另一方面,微生物的活动无法脱离水的作用,含水量降低在一定程度上影响了微生物的活性,进而减弱了牛粪中供试雌激素的去除.

由图 8 可见,同等翻堆时间下,含水量为 50% 的牛粪中 600 g·kg⁻¹ 固定化菌剂对 E2 和 DES 去除率分别高于游离态菌剂 26.74% ~ 43.80% 和 25.18% ~ 37.94%. 翻堆时间间隔越短,固定化菌

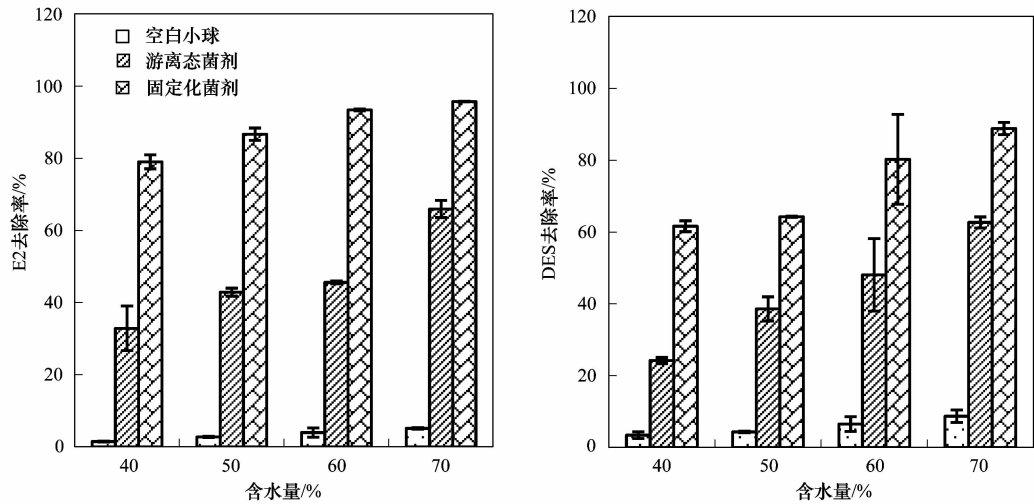


图 7 牛粪含水量对菌剂去除牛粪中 E2 和 DES 的影响

Fig. 7 Effect of water content on E2 and DES removal from cow dung by bacteria

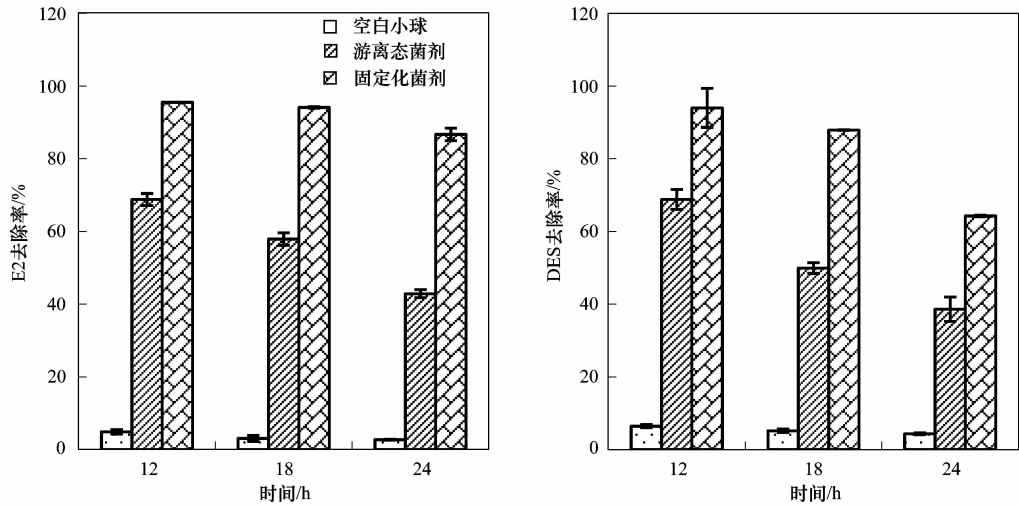


图 8 翻堆时间间隔对菌剂去除牛粪中 E2 和 DES 的影响

Fig. 8 Effect of overturn time on E2 and DES removal from cow dung by bacteria

剂对牛粪中 E2 和 DES 去除越高. 翻堆时间为 12 h,牛粪中 E2 和 DES 去除率分别达到 95.54% 和 94.01%,比每 24 h 翻堆分别提高了 8.85 和 29.72 个百分点,残留含量分别为 0.02 mg·kg⁻¹ 和 0.17 mg·kg⁻¹. 菌剂对牛粪中 E2 和 DES 的去除效率,一方面取决于固定化菌剂与污染物的可接触性,另一方面取决于氧的供应. 菌剂投加虽然明显提高了局部牛粪功能微生物的密度,但同时限制了功能菌群向固定化菌剂外部扩散,由于 E2 和 DES 迁移能力较弱,所以只有与菌剂接触的 E2 和 DES 得到有效去除,翻堆时间影响菌剂与牛粪中雌激素的可接触性,进而影响雌激素的去除效率^[27]. 此外,两株菌株都是好氧型菌株,翻堆可增加牛粪中的通氧量,有助于好氧菌株的生长,进而发挥降解效能^[28]. 为节

省成本,去除牛粪中 E2 和 DES 的方案优选为:菌剂投加量为 600 g·kg⁻¹,牛粪含水量为 70%,翻堆时间间隔为 12 h,以此条件投加固定化菌剂后,可以完全去除 E2,DES 去除率为 97.41%.

3 讨论

目前国内外尚少有关于固定化菌剂治理污水和牛粪中雌激素的报道. 已有的污水和畜禽粪便中雌激素的治理方法多集中在吸附^[36]、膜过滤技术^[37]、高级氧化技术^[38]、堆肥^[39]等. 这些方法往往不能高效去除雌激素或残留浓度较高. 如 Chen 等^[40]通过人工湿地去除 E2,水力停留 137.5 h,E2 残留率为 40.8%. 从本研究结果可见,菌剂投加至污水和牛粪后,7 d 对 E2 和 DES 的去除率均可达到 90% 以上,并

且在摇瓶条件下,菌剂可回收再利用3次,第4次使用时才会出现小球破损现象。固定化菌剂操作简单、去除效果好、可重复利用等特点说明固定化菌剂去除污水和畜禽粪便中的雌激素具有应用前景。

本研究提供了菌剂固定化方法,并提出了应用固定化菌剂来去除水和牛粪中雌激素的新思路。然而固定化菌剂尚有的缺陷也有待进一步完善。固定化菌剂包菌量、牛粪含氧量、海藻酸钙吸附能力等会影响固定化菌剂的效果。本实验中,菌剂内两株菌的初始含量均为 $D_{600}=0.5$,包菌量不高导致菌剂用量过大,为此,下一步可以考虑适当提高包菌量来降低菌剂的投加量。Ahmad等^[18]发现包菌量越高,对氧气和营养物的需求也越多,导致苯酚降解率反而降低;郝红红等^[24]发现当固定化菌剂内部的细胞含量过高时,氧气扩散速率减慢,同时细胞生长空间减小,从而阻碍了细胞的增殖,去除率降低。所以合适的包菌量尚需进一步研究。此外,供试菌株均为好氧型细菌,而牛粪含氧量有限,这可能抑制了菌株的生长,从而抑制了菌剂的使用效果。王旭辉等^[28]发现,翻耕土壤可以增加氧含量,翻耕土样后石油去除率比不翻耕土样提高24%;本研究结果也证明翻堆牛粪时间间隔越短,固定化菌剂对E2和DES去除率越高。所以可以通过缩短翻堆时间间隔来提高菌剂对牛粪中E2和DES的去除率。海藻酸钙吸附能力低可能也是制约固定化菌剂去除雌激素的原因之一,600 g·kg⁻¹海藻酸钙对牛粪中E2和DES吸附率分别为2.73%和4.35%,可考虑添加高吸附性能的吸附剂。钱林波等^[27]提出,高吸附性能的吸附剂被用作固定化载体,可促进有机污染物从土壤向固定化载体迁移,使固定化载体同时富集高含量的微生物和有机污染物,增加了污染物与微生物的接触,实现了污染物的富集降解一体化,促进了土壤修复效果。Chen等^[33]采用吸附包埋法,以植物残体和生物炭为吸附载体材料,海藻酸钠包埋固定化多环芳烃降解菌株,10%接种量添加至污染土壤,90 d后三、四、五、六环多环芳烃回收率为65%~68%、64%~68%、61%~73%、53%~73%,比不添加吸附材料的海藻酸钠固定化多环芳烃降解菌株分别减少6%~9%、6%~10%、7%~19%、9%~29%。本研究中固定化菌剂包菌量偏低、牛粪中含氧量不高、海藻酸钙吸附能力低等,综合地导致了处理牛粪时菌剂投加量偏多,该问题仍需要进一步针对性地完善。

本研究结果表明,构建雌激素固定化菌剂,可高

效去除水和牛粪中E2和DES。固定化后菌株具有相对封闭和稳定的空间,能保证细菌正常代谢,屏蔽外界土著微生物恶性竞争,防止噬菌体吞噬等^[27]。固定化菌剂在治理污水和畜禽粪便中E2和DES等有机污染物方面有一定可行性和优越性,可为无害化处理污水和畜禽粪便中雌激素提供新思路 and 实验科学依据。

4 结论

(1) 优选出了固定化菌剂的方案:菌株JX-2和S体积比为1:1,海藻酸钠质量分数5%,CaCl₂·2H₂O质量分数4%,胶粒比1:2。

(2) 固定化菌剂对溶液中E2和DES(1~25 mg·L⁻¹)的去除率高于游离态菌剂。30℃、150 r·min⁻¹于摇床培养7 d后,其对初始含量为2 mg·L⁻¹的E2和DES的去除率分别为99.42%和84.59%。

(3) 固定化菌剂可有效去除污水和牛粪中E2与DES。其去除污水中E2和DES的优选方案为:固定化菌剂投加量为300 g·L⁻¹,pH为5.0~6.0。去除牛粪中E2与DES的优选方案为:固定化菌剂投加量为600 g·kg⁻¹,每12 h翻堆,牛粪含水量为70%。

参考文献:

- [1] Lee O, Takesono A, Tada M, *et al.* Biosensor zebrafish provide new insights into potential health effects of environmental estrogens[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2012, **120** (7): 990-996.
- [2] Ferguson E M, Allinson M, Allinson G, *et al.* Fluctuations in natural and synthetic estrogen concentrations in a tidal estuary in south-eastern Australia[J]. *Water Research*, 2013, **47** (4): 1604-1615.
- [3] Morthorst J E, Brande-Lavridsen N, Korsgaard B, *et al.* 17β-Estradiol causes abnormal development in embryos of the viviparous eelpout[J]. *Environmental Science and Technology*, 2014, **48**(24): 14668-14676.
- [4] Ohta R, Ohmukai H, Toyozumi T, *et al.* Ovarian dysfunction, obesity and pituitary tumors in female mice following neonatal exposure to low-dose diethylstilbestrol [J]. *Reproductive Toxicology*, 2014, **50**: 145-151.
- [5] 付银杰, 高彦征, 董长勋, 等. SPE-HPLC/FLD法同时测定水中4种雌激素[J]. *农业环境科学学报*, 2012, **31**(11): 2296-2303.
- [6] 付银杰, 凌婉婷, 董长勋, 等. 应用UE-SPE-HPLC/FLD法检测养殖业畜禽粪便中雌激素[J]. *应用生态学报*, 2013, **24** (11): 3280-3288.
- [7] Zhou Y Q, Zha J M, Xu Y P, *et al.* Occurrences of six steroid estrogens from different effluents in Beijing, China [J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2012, **184** (3): 1719-1729.
- [8] Alvarez D A, Shappell N W, Billey L O, *et al.* Bioassay of

estrogenicity and chemical analyses of estrogens in streams across the United States associated with livestock operations[J]. *Water Research*, 2013, **47**(10): 3347-3363.

[9] Zhang Q Q, Zhao J L, Ying G G, *et al.* Emission estimation and multimedia fate modeling of seven steroids at the river basin scale in China[J]. *Environmental Science and Technology*, 2014, **48**(14): 7982-7992.

[10] Bartelt-Hunt S L, Snow D D, Kranz W L, *et al.* Effect of growth promotants on the occurrence of endogenous and synthetic steroid hormones on feedlot soils and in runoff from beef cattle feeding operations[J]. *Environmental Science and Technology*, 2012, **46**(3): 1352-1360.

[11] Yu C P, Deeb R A, Chu K H. Microbial degradation of steroidal estrogens[J]. *Chemosphere*, 2013, **91**(9): 1225-1235.

[12] Li Z T, Nandakumar R, Madayiputhiya N, *et al.* Proteomic analysis of 17 β -estradiol degradation by *Stenotrophomonas maltophilia*[J]. *Environmental Science and Technology*, 2012, **46**(11): 5947-5955.

[13] Liang R B, Liu H, Tao F, *et al.* Genome sequence of *Pseudomonas putida* strain SJTE- 1, a bacterium capable of degrading estrogens and persistent organic pollutants[J]. *Journal of Bacteriology*, 2012, **194**(17): 4781-4782.

[14] 方会, 陈梅雪, 秦德韬, 等. 集约化养猪废水 SBR 中 17 β -雌二醇高效降解菌的分离鉴定及其降解特性[J]. *环境工程学报*, 2012, **6**(10): 3361-3366.

[15] 徐冉芳, 孙敏霞, 刘娟, 等. 己烯雌酚降解菌株沙雷氏菌的分离鉴定及其降解特性[J]. *环境科学*, 2014, **35**(8): 3169-3174.

[16] Zhang W W, Niu Z L, Liao C Y, *et al.* Isolation and characterization of *Pseudomonas* sp. strain capable of degrading diethylstilbestrol[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, **97**(9): 4095-4104.

[17] 李婷, 任源, 韦朝海. 固定化 *Lysinibacillus cresolivorans* 的 PVA-SA-PHB-AC 复合载体制备及间甲酚的降解[J]. *环境科学*, 2013, **34**(7): 2899-2905.

[18] Ahmad S A, Shamaan N A, Arif N M, *et al.* Enhanced phenol degradation by immobilized *Acinetobacter* sp. strain AQ5NOL 1 [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2012, **28**(1): 347-352.

[19] Hazaimeh M, Mutalib S A, Abdullah P S, *et al.* Enhanced crude oil hydrocarbon degradation by self-immobilized bacterial consortium culture on sawdust and oil palm empty fruit bunch [J]. *Annals of Microbiology*, 2014, **64**(4): 1769-1777.

[20] Covarrubias S A, de-Bashan L E, Moreno M, *et al.* Alginate beads provide a beneficial physical barrier against native microorganisms in wastewater treated with immobilized bacteria and microalgae [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, **93**(6): 2669-2680.

[21] 庄志刚, 韩永和, 章文贤, 等. 高效聚磷菌 *Alcaligenes* sp. ED-12 菌株的分离鉴定及其除磷特性[J]. *环境科学学报*, 2014, **34**(3): 678-687.

[22] Hou D, Shen X, Luo Q, *et al.* Enhancement of the diesel oil degradation ability of a marine bacterial strain by immobilization on a novel compound carrier material [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2013, **67**(1-2): 146-151.

[23] 李靖, 党志, 郭楚玲, 等. 复合固定化法固定微生物去除芘 [J]. *环境化学*, 2012, **31**(7): 1036-1042.

[24] 郝红红, 陈浚, 程鳌, 等. 一株好氧反硝化菌的筛选鉴定及固定化研究[J]. *环境科学学报*, 2013, **33**(11): 3017-3024.

[25] 袁媛, 吴涓, 李玉成, 等. 活性炭纤维固定化菌对微囊藻毒素 MC-LR 的去除研究[J]. *中国环境科学*, 2014, **34**(2): 403-409.

[26] 邵钱, 叶杰旭, 欧阳杜娟, 等. 改良型固定化 *Pseudomonas oleovorans* DT4 降解四氢呋喃的研究[J]. *环境科学*, 2013, **34**(8): 3251-3256.

[27] 钱林波, 元妙新, 陈宝梁. 固定化微生物技术修复 PAHs 污染土壤的研究进展[J]. *环境科学*, 2012, **33**(5): 1767-1776.

[28] 王旭辉, 晁群芳, 徐鑫, 等. 石油污染土壤的生物修复室内模拟实验研究[J]. *环境工程学报*, 2012, **6**(5): 1663-1668.

[29] Ito A, Miura J I, Ishikawa N, *et al.* Biological oxidation of arsenite in synthetic groundwater using immobilised bacteria[J]. *Water Research*, 2012, **46**(15): 4825-4831.

[30] Nopcharoenkul W, Netsakulnee P, Pinyakong O. Diesel oil removal by immobilized *Pseudoxanthomonas* sp. RN402 [J]. *Biodegradation*, 2013, **24**(3): 387-397.

[31] Chen H Y, Guan Y X, Yao S J. A novel two-species whole-cell immobilization system composed of marine-derived fungi and its application in wastewater treatment [J]. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2014, **89**(11): 1733-1740.

[32] Sogani M, Mathur N, Bhatnagar P, *et al.* Biotransformation of amide using *Bacillus* sp.: isolation strategy, strain characteristics and enzyme immobilization [J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2012, **9**(1): 119-127.

[33] Chen B L, Yuan M X, Qian L B. Enhanced bioremediation of PAH-contaminated soil by immobilized bacteria with plant residue and biochar as carriers [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2012, **12**(9): 1350-1359.

[34] Cruz I, Bashan Y, Hernández-Carmona G, *et al.* Biological deterioration of alginate beads containing immobilized microalgae and bacteria during tertiary wastewater treatment [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, **97**(22): 9847-9858.

[35] Sun K, Liu J, Jin L, *et al.* Utilizing pyrene-degrading endophytic bacteria to reduce the risk of plant pyrene contamination[J]. *Plant and Soil*, 2014, **374**(1-2): 251-262.

[36] Zeng Q L, Li Y M, Yang S J. Sludge retention time as a suitable operational parameter to remove both estrogen and nutrients in an anaerobic-anoxic-aerobic activated sludge system [J]. *Environmental Engineering Science*, 2013, **30**(4): 161-169.

[37] Silva C P, Otero M, Esteves V. Processes for the elimination of estrogenic steroid hormones from water: a review [J]. *Environmental Pollution*, 2012, **165**: 38-58.

[38] Qin C, Troya D, Shang C, *et al.* Surface catalyzed oxidative oligomerization of 17 β -estradiol by Fe³⁺-saturated montmorillonite [J]. *Environmental Science and Technology*, 2015, **49**(2): 956-964.

[39] Le T A H, Clemens J, Nguyen T H. Performance of different composting techniques in reducing oestrogens content in manure from livestock in a Vietnamese setting [J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2013, **185**(1): 415-423.

[40] Chen T C, Yeh K J C, Kuo W C, *et al.* Estrogen degradation and sorption onto colloids in a constructed wetland with different hydraulic retention times [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2014, **277**: 62-68.

CONTENTS

Potential Source Contribution Analysis of the Particulate Matters in Shanghai During the Heavy Haze Episode in Eastern and Middle China in December, 2013	Li Li, CAI Jun-lin, ZHOU Min (2327)
Composition and Regional Characteristics of Atmosphere Aerosol and Its Water Soluble Ions over the Yangtze River Delta Region in a Winter Haze Period	WANG Man-ting, ZHU Bin, WANG Hong-lei, <i>et al.</i> (2337)
Chemical Species of PM _{2.5} in the Urban Area of Beijing	LIU Bao-xian, YANG Dong-yan, ZHANG Da-wei, <i>et al.</i> (2346)
Numerical Study on the Characteristics of Regional Transport of PM _{2.5} in Shandong Province During Spring in 2014	JIA Hai-ying, CHENG Nian-liang, HE You-jiang, <i>et al.</i> (2353)
Characteristics of Water-Soluble Inorganic Ions in PM _{2.5} Emitted from Coal-Fired Power Plants	MA Zi-zhen, LI Zhen, JIANG Jing-kun, <i>et al.</i> (2361)
Direct Observation on the Temporal and Spatial Patterns of the CO ₂ Concentration in the Atmospheric of Nanjing Urban Canyon in Summer	GAO Yun-qiu, LIU Shou-dong, HU Ning, <i>et al.</i> (2367)
Emission Factors of Vehicle Exhaust in Beijing	FAN Shou-bin, TIAN Ling-di, ZHANG Dong-xu, <i>et al.</i> (2374)
Adsorption Capacity of the Air Particulate Matter in Urban Landscape Plants in Different Polluted Regions of Beijing	ZHANG Wei-kang, WANG Bing, NIU Xiang (2381)
Major Air Pollutant Emissions of Coal-Fired Power Plant in Yangtze River Delta	DING Qing-qing, WEI Wei, SHEN Qun, <i>et al.</i> (2389)
Estimation of N ₂ O Emission from Anhui Croplands by Using a Regional Nitrogen Cycling Model IAP-N	HAN Yun-fang, HAN Sheng-hui, YAN Ping (2395)
Evaluation on the Impacts of Different Background Determination Methods on CO ₂ Sources and Sinks Estimation and Seasonal Variations	ZHANG Fang, ZHOU Ling-xi, WANG Yu-zhao (2405)
Measured and Predicted Aquatic Life Criteria and Risk Assessment of Chromium (VI) in Liaohe River	WANG Xiao-nan, YAN Zhen-guang, LIU Zheng-tao, <i>et al.</i> (2414)
Pollution and Potential Ecology Risk Evaluation of Heavy Metals in River Water, Top Sediments on Bed and Soils Along Banks of Bortala River, Northwest China	ZHANG Zhao-yong, Jilili Abuduwalili, JIANG Feng-qing (2422)
Influencing Factors for Hydrochemistry and δ ¹³ C _{DIC} of Karst Springs	ZHAO Rui-yi, LÜ Xian-fu, LIU Zi-qi, <i>et al.</i> (2430)
Hydrochemical Characteristics and the Dissolved Inorganic Carbon Flux in Liuzhou Section of Liujiang Basin	YUAN Ya-qiong, HE Shi-yi, YU Shi, <i>et al.</i> (2437)
Characteristics of Total Nitrogen and Total Phosphorus Pollution and Eutrophication Assessment of Secondary River in Urban Chongqing	QING Xu-yao, REN Yu-fen, LÜ Zhi-qiang, <i>et al.</i> (2446)
Static Migration and Release of Dibutyl-Phthalate in the Fluctuating Zone of Three Gorges Reservoir	WANG Fa, WANG Qiang, MU Zhi-jian, <i>et al.</i> (2453)
Effect of Drought and Subsequent Re-wetting Cycles on Transferable Nitrogen and Its Form Distribution in the Sediment of Water Level Fluctuating Zone in the Tributary of Three Gorge Reservoir Areas	LIN Jun-jie, ZHANG Shuai, YANG Zhen-yu, <i>et al.</i> (2459)
Distribution of Chlorophyll-a and Eutrophication State in Tianchi Lake of Tianshan Mountains in Summer	WANG Bin, MA Jian, WANG Yin-ya, <i>et al.</i> (2465)
Vertical Distribution Characteristics and Analysis in Sediments of Xidaihai Lake	DUAN Mu-chun, XIAO Hai-feng, ZANG Shu-ying (2472)
Phytoplankton Community Structure and Water Quality Assessment in Jialing River After the Impoundment of Caojie Reservoir	YANG Min, ZHANG Sheng, LIU Shuo-ru (2480)
Analysis of Prokaryotic Community Structure in River Waters of the Ningbo Sanjiang Mouth	HU An-yi, LI Jiang-wei, YANG Xiao-yong, <i>et al.</i> (2487)
Effects of Perfluoroalkyl Substances on the Microbial Community Structure in Surface Sediments of Typical River, China	SUN Ya-jun, WANG Tie-yu, PENG Xia-wei, <i>et al.</i> (2496)
Coupling Effects of Decomposed <i>Potamogeton crispus</i> and Growing <i>Ceratophyllum demersum</i> on Water Quality and Plant Growth	MA Yue, WANG Guo-xiang, CAO Xun, <i>et al.</i> (2504)
Bioretention Media Screening for the Removal of Phosphorus in Urban Stormwater	LI Li-qing, GONG Yan-fang, YAN Zi-qin, <i>et al.</i> (2511)
Treatment of Urban Runoff Pollutants by a Multilayer Biofiltration System	WANG Xiao-lu, ZUO Jian-e, GAN Li-li, <i>et al.</i> (2518)
Effect of Three Typical Disinfection Byproducts on Bacterial Antibiotic Resistance	LÜ Lu, ZHANG Meng-lu, WANG Chun-ming, <i>et al.</i> (2525)
Laboratory Investigation of DNAPL Migration Behavior and Distribution at Varying Flow Velocities Based on Light Transmission Method	GAO Yan-wei, ZHENG Fei, SHI Xiao-qing, <i>et al.</i> (2532)
Comparative Study of Benzotriazole Electrochemical Oxidation at Boron-doped Diamond and PbO ₂ Anodes	WU Juan-li, ZHANG Jia-wei, WANG Ting, <i>et al.</i> (2540)
Sorption of <i>o</i> -Phthalate onto Calcite in Open-System	LI Zhen-xuan, HUANG Li-dong, CHEN Yan-fang, <i>et al.</i> (2547)
Adsorption Behaviors of Lead on Multi-Walled Carbon Nanotube-Hydroxyapatite Composites	ZHANG Jin-li, LI Yu (2554)
Synthesis and Study on Adsorption Property of Congo Red Molecularly Imprinted Polymer Nanospheres	CHANG Zi-qiang, CHEN Fu-bin, ZHANG Yu, <i>et al.</i> (2564)
Simultaneous Removal of Cd(II) and Phenol by Titanium Dioxide-Titanate Nanotubes Composite Nanomaterial Synthesized Through Alkaline-Acid Hydrothermal Method	LEI Li, JIN Yin-jia, WANG Ting, <i>et al.</i> (2573)
Immobilization of Estrogen-degrading Bacteria to Remove the 17β-estradiol and Diethylstilbestrol from Polluted Water and Cow Dung	LI Xin, LING Wan-ting, LIU Jing-xian, <i>et al.</i> (2581)
Optoelectronic PCB Wastewater Treatment by Partial Nitrification-ANAMMOX Integrative Reactor	YUAN Yan, LI Xiang, ZHOU Cheng, <i>et al.</i> (2591)
Treatment of Petrochemical Treatment Plant Secondary Effluent by Fenton Oxidation	WANG Yi, WU Chang-yong, ZHOU Yue-xi, <i>et al.</i> (2597)
Comprehensive Toxicity Evaluation and Toxicity Identification Used in Tannery and Textile Wastewaters	HUANG Li, CHEN Wen-yan, WAN Yu-shan, <i>et al.</i> (2604)
Carbon/nitrogen Removal and Bacterial Community Structure Change in an A/O Activated Sludge System Under Different Dissolved Oxygen Conditions	CHEN Yan, LIU Guo-hua, FAN Qiang, <i>et al.</i> (2610)
ORP in the Main Anoxic Stage as the Control Parameter for Nitrogen and Phosphorus Removal in the Single Sludge System with a Continuous Flow	WANG Xiao-ling, SONG Tie-hong, YIN Bao-yong, <i>et al.</i> (2617)
Cultivation of Aerobic Granular Sludge with Real Low Concentration Domestic Wastewater and Its Denitrification Performances Under the Continuous Flow	YAO Li, XIN Xin, LU Hang, <i>et al.</i> (2626)
Heavy Metal Contamination in Farmland Soils at an E-waste Disassembling Site in Qingyuan, Guangdong, South China	ZHANG Jin-lian, DING Jiang-feng, LU Gui-ning, <i>et al.</i> (2633)
Residues and Spatial Distribution Characteristics of Organochlorine Pesticides DDTs in Soil of Linyi City, Shandong Province	YU Chao, WANG Zeng-hui, WANG Hong-jin, <i>et al.</i> (2641)
Assessment of Soil Fluorine Pollution in Jinhua Fluorite Ore Areas	YE Qun-feng, ZHOU Xiao-ling (2648)
Response of Straw and Straw Biochar Returning to Soil Carbon Budget and Its Mechanism	HOU Ya-hong, WANG Lei, FU Xiao-hua, <i>et al.</i> (2655)
Changes of Soil Organic Carbon and Its Influencing Factors of Apple Orchards and Black Locusts in the Small Watershed of Loess Plateau, China	LI Ru-jian, WANG Rui, LI Na-na, <i>et al.</i> (2662)
Impacts of Land Use Changes on Soil Light Fraction and Particulate Organic Carbon and Nitrogen in Jinyun Mountain	LEI Li-guo, JIANG Chang-sheng, HAO Qing-ju (2669)
Soil Enzyme Activities and Their Relationships to Environmental Factors in a Typical Oasis in the Upper Reaches of the Tarim River	ZHU Mei-ling, GONG Lu, ZHANG Long-long (2678)
Effects of Different Residue Part Inputs of Corn Straws on CO ₂ Efflux and Microbial Biomass in Clay Loam and Sandy Loam Black Soils	LIU Si-yi, LIANG Ai-zhen, YANG Xue-ming, <i>et al.</i> (2686)
Isolation, Identification of a <i>p</i> - <i>tert</i> -Butylcatechol-Degrading Strains and Optimization for Its Degradation by Response Surface Methodology	HE Qiang-li, LIU Wen-bin, YANG Hai-jun, <i>et al.</i> (2695)
Isolation, Identification and Characteristic Analysis of an Oil-producing <i>Chlorella</i> sp. Tolerant to High-strength Anaerobic Digestion Effluent	YANG Chuang, WANG Wen-guo, MA Dan-wei, <i>et al.</i> (2707)
Coupled Cytotoxicity of C ₆₀ Nano-Crystal Particle with Cu ²⁺ to the Mouse Peritoneal Microphage RAW 264. 7	YU Ye, BIAN Wei-lin, ZHANG Hui-min, <i>et al.</i> (2713)
Simultaneous Analysis of 18 Glucocorticoids in Surface Water	GUO Wen-jing, CHANG Hong, SUN De-zhi, <i>et al.</i> (2719)

《环境科学》第 6 届编辑委员会

主 编：欧阳自远
副主编：赵景柱 郝吉明 田 刚
编 委：（按姓氏笔画排序）

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 刘 毅 汤鸿霄 孟 伟 周宗灿 林金明
欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976 年 8 月创刊)

2015 年 7 月 15 日 第 36 卷 第 7 期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 36 No. 7 Jul. 15, 2015

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清 华 大 学 环 境 学 院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧 阳 自 远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《 环 境 科 学 》 编 辑 委 员 会 北京市 2871 信箱 (海淀区双清路 18 号, 邮政编码: 100085) 电话: 010-62941102, 010-62849343 传真: 010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel: 010-62941102, 010-62849343; Fax: 010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街 16 号 邮政编码: 100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科 学 出 版 社 电话: 010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencecp. com	Distributed	by	Science Press Tel: 010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencecp. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京 399 信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301 国内邮发代号: 2-821
CN 11-1895/X

国 内 定 价: 120.00 元 国外发行代号: M 205

国 内 外 公 开 发 行