

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第3期

Vol.38 No.3

2017

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

我国人为源挥发性有机物反应性排放清单	梁小明, 张嘉妮, 陈小方, 石田立, 孙西勃, 范丽雅, 叶代启 (845)
上海城郊地区冬季霾污染事件反应性 VOCs 物种特征	高爽, 张坤, 高松, 修光利, 程娜, 潘研 (855)
京津冀地区主要排放源减排对 PM _{2.5} 污染改善贡献评估	吴文景, 常兴, 邢佳, 王书肖, 郝吉明 (867)
北京冬季 PM _{2.5} 中金属元素浓度特征和来源分析	乔宝文, 刘子锐, 胡波, 刘景云, 逢妮妮, 吴方堃, 徐仲均, 王跃思 (876)
2015 年石家庄市采暖期一次重污染过程细颗粒物在线来源解析	路娜, 李治国, 周静博, 赵鑫, 杨丽丽, 冯媛, 靳伟 (884)
利用 SPAMS 研究南宁市四季细颗粒物的化学成分及污染来源	刘慧琳, 陈志明, 毛敬英, 梁桂云, 黄炯丽, 李宏姣, 杨俊超, 莫招育 (894)
南半球海洋大气气溶胶单颗粒的理化特性分析	迟建伟, 李传金, 孙俊英, 张剑, 王辉, 王瀚韬, 李卫军 (903)
喷泉产生的细菌气溶胶空间分布特性	张崇森, 袁琳, 许鹏程, 刘可欣 (911)
生物滴滤塔净化含硫混合废气	叶杰旭, 缪孝平, 诸葛蕾, 赵翔宇, 江宁馨, 章晶晓, 陈东之, 陈建孟 (918)
西安城市不同功能区街道灰尘磁学特征及环境污染分析	房妮, 张俊辉, 王瑾, 姜珊, 夏敦胜 (924)
城乡交错带典型溪流沟渠沉积物氮污染特征及硝化-反硝化潜力	秦如彬, 李如忠, 高苏蒂, 张瑞钢 (936)
三峡库区小江支流沉积物硝化反硝化速率在蓄水期和泄水期的特征	王静, 刘洪杰, 雷禹, 徐晶, 宋立岩, 李勇 (946)
隔河岩水库二氧化碳通量时空变化及影响因素	赵登忠, 谭德宝, 李翀, 申邵洪 (954)
白洋淀多环芳烃与有机氯农药季节性污染特征及来源分析	王乙震, 张俊, 周绪申, 孔凡青, 徐铭霞 (964)
唐山陡河水库沉积物汞的分布、来源及污染评价	吴婷婷, 王明猛, 陈旭锋, 刘文利, 李太山, 闫海鱼, 何天容, 李仲根 (979)
三峡库区消落带优势草本植物淹水后汞的释放特征	邓晗, 张翔, 张成, 王永敏, 王定勇 (987)
电镀厂周边地表水中重金属分布特征及健康风险评估	余葱葱, 赵委托, 高小峰, 程胜高, 黄庭, 尹伊梦, 赵珍丽 (993)
九龙江表层沉积物重金属赋存形态及生态风险	林承奇, 胡恭任, 于瑞莲, 韩璐 (1002)
厦门筼筮湖表层沉积物金属元素赋存形态及污染评价	杨秋丽, 于瑞莲, 胡恭任, 林承奇, 韩璐 (1010)
龙口市污水灌溉区农田重金属来源、空间分布及污染评价	李春芳, 王菲, 曹文涛, 潘健, 吕建树, 吴泉源 (1018)
碳化稻壳-铁锰氧化菌耦合净化严寒村高铁锰地下水效能与机制	孙楠, 湛燕丽, 张颖, 鲁岩, 宋秋霞, 李春艳, 姜昭 (1028)
高藻水臭氧预氧化过程有机物转化及消毒副产物生成势	张赛, 胡学斌, 古励, 李莉, 郭显强 (1038)
预处理对短流程超滤工艺不可逆膜污染影响的中试试验	杨海燕, 邢加建, 王灿, 孙国胜, 赵焱, 梁恒, 徐叶琴, 李圭白 (1046)
Cu-Al ₂ O ₃ 中骨架铜类芬顿催化去除水中有机污染物	徐丹, 张丽丽, 柳丽芬 (1054)
过硫酸钾氧化去除 Cu(CN) ₂ 中的氰污染物	王云飞, 李一兵, 王彦斌, 齐璠静, 赵凯, 田世超, 郭涛, 关伟, 赵旭 (1061)
微生物燃料电池强化去除农药 2,4-二氯苯氧乙酸及同步产电性能	全向春, 全燕苹, 肖竹天 (1067)
桉树遗态结构 HAP/C 复合材料对水中 Cu(II) 的吸附特征	李超, 朱宗强, 曹爽, 朱义年, 谭笑, 丁慧 (1074)
基于 A ² /O 处理工艺的生活污水的成组生物毒性评价	张秋亚, 马晓妍, 王晓昌, 游猛 (1084)
污水氮浓度对粉绿狐尾藻去氮能力的影响	马永飞, 杨小珍, 赵小虎, 胡承孝, 谭碧玲, 孙学成, 吴金水 (1093)
全海水盐度抑制下厌氧氨氧化工艺的恢复特性	齐泮晴, 于德爽, 李津, 管勇杰, 魏思佳 (1102)
饥饿对疏自养反硝化反应器生物群落结构的影响	李芳芳, 施春红, 李海波, 袁蓉芳, 马方曙 (1109)
快速启动厌氧氨氧化工艺	闫刚, 徐乐中, 沈耀良, 吴鹏, 张婷, 程朝阳 (1116)
一种 CANON 工艺处理低氨氮废水的新模式	完颜德卿, 袁怡, 李祥, 毕贞 (1122)
侧流磷回收对低溶解氧 EBPR 系统性能的影响	马娟, 宋璐, 俞小军, 孙雷军, 孙洪伟 (1130)
厌氧氨氧化污泥群体感应信号分子检测及影响研究	陈舒涵, 李安婕, 王越兴, 吴玲娟 (1137)
有机负荷对醋糟厌氧消化系统启动的影响	戴晓虎, 于春晓, 李宁, 董滨, 戴翎翎 (1144)
过氧化钙预处理对活性污泥脱水性能的影响机制	白润英, 陈湛, 张伟军, 王东升 (1151)
不同工况蚯蚓人工湿地表层污泥处理效果	董梦珂, 李怀正, 徐一啸 (1159)
全氟辛酸对大肠杆菌的氧化胁迫和膜损伤	杨蒙, 李伟, 叶锦韶, 龙焰, 秦华明 (1167)
纳米银在环境水样和实验介质中的理化性质和毒性效应	衣俊, 程金平 (1173)
血吸虫病疫区鱼体器官中氯苯化合物的污染特征	李昆, 赵高峰, 周怀东, 张盼伟, 刘巧娜, 赵晓辉, 李东佼, 任敏, 赵丹丹 (1182)
纳米沸石对大白菜生长、抗氧化酶活性及镉形态、含量的影响	秦余丽, 熊仕娟, 徐卫红, 赵婉伊, 王卫中, 陈永勤, 迟苏琳, 陈序根, 张进忠, 熊治庭, 王正银, 谢德体 (1189)
利用 <i>in vitro</i> 方法研究不同铁矿对土壤砷生物可给性的影响	钟松雄, 尹光彩, 黄润林, 何宏飞, 陈志良, 林亲铁, 王文科 (1201)
不锈钢电极对重金属污染土壤的强化电动修复及电极腐蚀结晶现象与机制	温东东, 付融冰, 张卫, 顾莹莹 (1209)
施用无害化污泥影响土壤碳库组分和碳库管理指数的演变	刘晓, 黄林, 郭康莉, 张雪凌, 杨俊诚, 姜慧敏, 张建峰 (1218)
施氮和水分管理对光合碳在土壤-水稻系统间分配的量化研究	王婷婷, 祝贞科, 朱捍华, 汤珍珠, 庞静, 李宝珍, 苏以荣, 葛体达, 吴金水 (1227)
模拟酸雨对次生林土壤呼吸及异养呼吸的影响	陈书涛, 孙鹭, 桑琳, 胡正华 (1235)
土壤硝化和反硝化微生物群落及活性对大气 CO ₂ 浓度和温度升高的响应	刘远, 王光利, 李恋卿, 潘根兴 (1245)
岩性对喀斯特灌丛土壤固氮菌与丛枝菌根真菌群落结构及丰度的影响	梁月明, 苏以荣, 何寻阳, 陈香碧 (1253)
板栗产区有机堆肥产物磷形态特征及其对叶片磷含量的影响	宋影, 郭素娟, 张丽, 孙慧娟, 谢明明, 武燕奇, 王静 (1262)
酸性物质对猪粪秸秆堆肥过程中氮素转化的影响	姜继超, 尧倩 (1272)
《环境科学》征稿简则 (1092)	
《环境科学》征订启事 (1158)	
信息 (1166, 1261, 1271)	

基于 A²/O 处理工艺的生活污水的成组生物毒性评价

张秋亚, 马晓妍, 王晓昌*, 游猛

(西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 西安 710055)

摘要: 为了更加准确评估城市生活污水的综合生物毒性以及处理工艺对污水毒性的削减状况, 本研究通过发光菌急性毒性、遗传毒性、雌激素活性检测方法对 A²/O 工艺处理前后污水的毒性进行评价, 同时通过斑马鱼暴露实验分析污水和回用水对水生生物内分泌干扰效应的作用模式。结果表明, 污水厂进水具有较强的急性毒性、遗传毒性以及雌激素活性, 水质较差。经二级生物处理后, 上述毒性显著性降低, 污水厂出水水质提高。但污水出水雌二醇当量为 1.89 ng·L⁻¹, 仍可能会对受纳水体的水生生物产生潜在危害。浓缩 2.5 倍的水样导致雄性斑马鱼肝脏的卵黄原蛋白基因(*vtg1*)和雌激素受体基因(*esr1*)的表达水平显著上升, 由此可以得出污水可通过干扰目的基因的表达来调控水生生物的内分泌活动。而 *esr1* 基因在肝脏的表达被抑制说明污水可能具有抗雌激素作用, 同时反映进行生物毒性效应分析时应从多个组织或器官考虑, 以获得比较全面的信息。

关键词: 发光菌; 遗传毒性; 雌激素活性; 斑马鱼; 生活污水; 安全性级别

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)03-1084-09 DOI: 10.13227/j.hjks.201607186

Biological Toxicity Evaluation of Domestic Wastewater Based on A²/O Treatment Processes Using a Battery of Bioassays

ZHANG Qiu-ya, MA Xiao-yan, WANG Xiao-chang*, YOU Meng

(School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China)

Abstract: In order to accurately evaluate the comprehensive ecotoxicity of domestic wastewater and the toxicity reduction efficiency of different treatment processes, standardized assays focusing on *Vibrio fischeri*, SOS/umu test and yeast estrogen screen were applied. Simultaneously, male zebrafish was used to address the mode of action of endocrine disrupting effects of wastewater and reclaim water on aquatic life. Results of this study indicated that the influent was severely polluted; highly acute toxicity, genotoxicity and estrogenicity were observed. After the secondary biological treatment, the above toxicities were significantly reduced, making the water quality improved. However, the estrogenicity of secondary effluent was detected at 1.89 ng·L⁻¹, which still posed potential risk on the aquatic life in receiving water. In addition, the up-regulation of estrogen receptor (*esr1*) and vitellogenin (*vtg1*) in the livers of zebrafish was observed after exposure to 2.5 times concentrated wastewaters, which demonstrated that wastewater modulates hormonal activities of aquatic life by disturbing target genes expression. Moreover, the slight down-regulation of *esr1* was observed in the gonads. These observations reflect that the evaluation of biological toxic effect should be analyzed in different tissues or organs, so that more comprehensive information about the adverse effects of wastewaters on aquatic life can be obtained.

Key words: luminescent bacteria; genotoxicity; estrogenicity; zebrafish; domestic wastewater; security level

污水处理厂污水成份复杂, 常含有一些难以降解的微量污染物, 例如关注较多的农药、医药、个人护理品以及内分泌干扰物等。污水处理厂出水在达到现行常规指标要求时, 对这些微量污染物的去除效果并不佳^[1,2]。因此, 污水厂出水成为水环境中微量污染物的主要来源^[3,4]。这些微量污染物进入水环境后会影响到水生生物的正常生长、发育、繁殖^[5], 进而导致生态系统结构破坏。通常, 人们采用一些化学分析法对水样中的微量污染物进行定性或者定量分析, 例如高效液相色谱、气相色谱、高效液相色谱-质谱法等^[6]。但这些化学分析方法需要较高的费用以及熟练的操作技术, 并且这些微量污染物共存于水环境时, 可能会产生拮抗、协同或者加和作用, 故单个物质浓度不能反映水样的生物效

应。目前, 污水处理厂出水成为水环境健康的一个重要的潜在危险源。例如, Sponza^[7]发现纸浆和造纸厂出水达到了行业的排放标准, 但生物毒性检测结果发现其对鱼类和藻类具有急性毒性。周海东等^[8]研究表明污水处理厂虽能较好地去除内分泌干扰物, 但污水厂的出水仍具有潜在的环境风险。为实现城市污水的资源化和无害化, 有必要对污水处理前后的生物毒性进行全面的检测和评价。多数研究采用不同类型的单一生物毒性方法对工业废水

收稿日期: 2016-07-26; 修订日期: 2016-09-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(51508449); 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2014ZX07305-002-01); 中国博士后科学基金项目(2015M572531)

作者简介: 张秋亚(1988~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为生态毒性在污水处理过程中应用, E-mail: zhangqiuya258@163.com.

* 通信作者, E-mail: xcwang@xauat.edu.cn

和生活污水进行评价^[9,10], 而利用成组生物实验并采用综合毒性评价方法对污水毒性削减程度进行评价的研究尚缺乏。

本研究利用发光菌急性毒性实验、遗传毒性实验和雌激素活性实验检测了 A²/O 工艺对城市生活污水毒性的去除效果, 并采用水质安全分级法对生物毒性进行综合评价; 同时通过雄性斑马鱼暴露实验分析了水样对水生生物产生内分泌干扰作用的机制, 以期为污水处理工艺运行参数优化及工艺改进提供理论依据, 进一步保障受纳水体的生态安全。

1 材料与方法

1.1 实验试剂

苯酚 (phenol)、4-硝基喹啉-1-氧化物 (4-NOQ)、邻硝基酚 β -D-半乳糖苷 (ONPG) 和雌二醇 (E2) 购自 Sigma 公司。HPLC 级甲醇、乙酸乙酯购于天津科密欧公司。

1.2 水样的采集和预处理

从污水处理厂的细格栅、曝气沉砂池、初沉池、好氧池、二沉池以及出水(加氯消毒后, 如图 1) 各采集 3 L 水样于棕色玻璃容器中, 并立即带回实验室进行预处理。其中 1 L 水样用于发光菌急性毒性和遗传毒性实验, 2 L 水样用于雌激素活性检测

和斑马鱼暴露实验。水样经玻璃纤维膜 (0.8 μm , Millipore, GF/F) 过滤后进行固相萃取。水样中的诸如雌二醇 (E2)、雌酮 (E1)、雌三醇 (E3) 以及双酚 A 等雌激素或类雌激素属于弱极性物质^[11], 根据相似相溶原理, 针对不同的生物毒性, 本研究采用不同的萃取方法, 具体步骤如下。

对于发光菌急性毒性和遗传毒性实验, 水样的萃取方法参照 Ma 等^[12] 的研究, 依次用 14 mL 甲醇、10 mL 超纯水活化 Oasis HLB (200 mg, 6 mL, Waters) 柱子; 水样以流速 5 ~ 10 mL $\cdot$ min⁻¹ 过柱, 然后用 10 mL 超纯水清洗管路, 干燥 30 min, 离心 15 min 去除水份; 进样完毕, 用 10 mL 甲醇洗脱, 洗脱液用氮气吹干; 最后用 1% DMSO 将残留物溶解, 定容至 5 mL 用于实验。

对于雌激素活性和斑马鱼暴露实验, 水样的萃取方法参照王昌稳等^[13] 的研究, 依次用 10 mL 乙酸乙酯、10 mL 甲醇和 10 mL 超纯水对上述柱子进行活化; 水样以流速 5 ~ 10 mL $\cdot$ min⁻¹ 过柱, 然后用 10 mL 超纯水清洗管路, 干燥 30 min, 离心 15 min 去除水份; 进样完毕, 用 10 mL 乙酸乙酯洗脱, 洗脱液用氮气吹干; 最后用 1 mL 纯 DMSO 溶解浓缩至 2 000 倍, 吸取其中 500 μL 浓缩液用于雌激素活性, 剩余浓缩液稀释至 400 mL (浓缩 2.5 倍) 用于斑马鱼暴露实验。

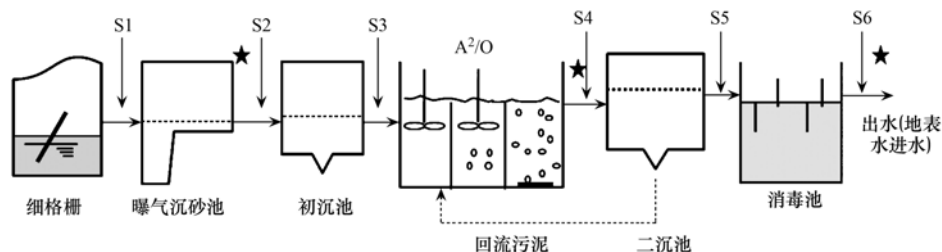


图 1 A²/O 工艺流程及取样点

Fig. 1 Flow diagram for A²/O process and sampling sites in this study

1.3 发光菌急性毒性实验

发光菌毒性测试采用国际标准 ISO 11348^[14] 急性毒性 15 min 暴露方法, 实验菌种为费氏弧菌 (购自中国工业微生物菌种保藏管理中心)。实验前将保存的菌种转接于 50 mL 的液体培养基中, 在 20℃, 180 r $\cdot$ min⁻¹ 条件下进行培养, 当其处于对数生长后期时, 用 2% NaCl 稀释菌液使其相对发光值为 300 ~ 400 万 RLU; 将 100 μL 浓缩的样品、阳性对照 (苯酚) 以及 100 μL 菌液加入 96 孔板, 在检测仪上高速振荡 30 s, 摇匀, 暴露 15 min 后测定发光值。每个样品设置 3 个平行, 并设置板间平行。样品的 RLU 平均值记为 I , 空白对照的 RLU 平均值记为

I_0 。根据公式 (1) 计算不同浓缩倍数的污水的发光抑制率 E 。

$$E(\%) = \frac{I_0 - I}{I_0} \times 100 \quad (1)$$

1.4 遗传毒性实验

本实验采用由 Oda 博士 (日本大阪府立公共卫生研究所) 提供的鼠伤寒沙门氏菌 *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002 菌株, 具体实验方法参照 ISO 13829^[15]: 将新下平板的菌株接种到 LB 培养基中, 在 37℃, 180 r $\cdot$ min⁻¹ 条件下培养, 当其在 600 nm 的吸光度为 2.2 ± 0.2 时, 用 TGA 稀释 10 倍, 放置摇床培养 1.5 ~ 2 h, 使菌液在 600 nm 的吸

光度为 0.75 ± 0.5 . 96 孔板 1 板中 B ~ H 排加入 1% 的 DMSO 180 μL , A 排加入浓缩的样品 360 μL , 用排枪混匀后吸出 180 μL 加入 B 排, 混匀, 再吸出 180 μL 至 C 排, 依次至 F 排. G 排为溶剂对照 (1% DMSO), H 排为阳性对照 (4-NOQ) 和空白对照. 除空白外, 每孔加入 70 μL 菌液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 下振荡培养 2 h. 1 板结束后, 每孔取 30 μL 加至含有 270 μL TGA 培养基的 96 孔板 2 板中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 下振荡培养 2 h, 用酶标仪测定 600 nm 的吸光度. 从 2 板每孔取 30 μL 加至含有 120 μL B-buffer 的 96 孔板 3 板中. 3 板每孔加 30 μL ONPG, 28 $^{\circ}\text{C}$ 下振荡培养 0.5 h, 最后加入 120 μL Na_2CO_3 终止反应, 用酶标仪测定 420 nm 的吸光度. 实验过程未加 S9 代谢活化剂. 实验设置 3 个平行, 并设板间平行, 根据公式 (2) 和公式 (3) 计算结果:

$$G = \frac{A_{600,T} - A_{600,B}}{A_{600,N} - A_{600,B}} \quad (2)$$

$$\text{IR} = \frac{1}{G} \times \frac{A_{420,T} - A_{420,B}}{A_{420,N} - A_{420,B}} \quad (3)$$

式中, G 为生长因子, IR 为诱导率; $G > 0.5$ 时可用于计算 IR ; $\text{IR} \geq 1.5$ 可判断致突变阳性; $A_{600,T}$ 、 $A_{600,B}$ 、 $A_{600,N}$ 、 $A_{420,T}$ 、 $A_{420,B}$ 、 $A_{420,N}$ 分别为测定样品、空白对照和溶剂对照在 600 nm、420 nm 处的光密度值.

1.5 雌激素活性

雌激素活性采用中国科学院生态环境研究中心建立的酵母菌雌激素活性评价方法^[8]. 将酵母菌置于 SD 培养基中, 30 $^{\circ}\text{C}$ 、130 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下培养 36 h. 用 SD 培养液稀释菌液, 使其在 600 nm 的吸光度值为 0.75 左右, 吸取 995 μL 菌液于 1.5 mL 灭菌离心管中, 加入 5 μL 待分析的样品混匀, 每个样品设置 8 个浓度. 取 200 μL 的混合菌液到 96 孔板中, 每个浓度设置 3 个平行, 30 $^{\circ}\text{C}$ 、800 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下暴露 4 h. 测定菌液 600 nm 的吸光度, 随后每孔弃去 150 μL , 加入 120 μL 测试缓冲液和 20 μL 氯仿, 1 200 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡 15 min, 然后加入 40 μL ONPG,

于 30 $^{\circ}\text{C}$ 、800 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下培养, 显色 60 min 后, 每孔加入 100 μL 碳酸钠溶液, 终止反应. 吸取上清液 200 μL 至新 96 孔板中, 测定 420 nm 的吸光度. 同时以 DMSO 做溶剂对照, E2 为阳性对照. β -半乳糖苷酶活性 (U) 按公式 (4) 计算:

$$U = \frac{(A_{420} - A'_{420}) \times D}{t \times V \times A_{600}} \quad (4)$$

式中, t 为加入 ONPG 到溶液显色时的反应时间, 60 min; V 为菌液体积, 0.2 mL; A_{600} 、 A_{420} 分别为菌液在 600 nm、420 nm 处的光密度值; A'_{420} 为空白对照在 420 nm 的光密度值; D 为稀释因子 (6.6).

由剂量效应曲线得出 β -半乳糖苷酶活性 (U) 后, 根据最小二乘法如公式 (5) 计算水样的 EC_{50} .

$$y = \frac{A - D}{1 + (C/X)^B} + D \quad (5)$$

式中, y 为 β -半乳糖苷酶活性; X 为水样浓缩倍数; A 为最大 β -半乳糖苷酶活性; B 为回归曲线中点的斜率; C 为半数最大 β -半乳糖苷酶活性时水样的浓缩倍数 (EC_{50}); D 为本底 β -半乳糖苷酶活性.

1.6 水质安全分析

由于水体中污染物种类繁多, 每种物质引起的毒性不同, 因此选用多组生物毒性检测方法进行评价更有意义. Xu 等^[16]建立了基于多种生物毒性检测的水质安全评价方法, 本文采用该方法对水样进行评价, 具体方法如下: 通过对传统风险外推法进行改进, 提出毒性的 4 个得分指标: 1、2、3、4; 数字越大, 毒性越强. 根据引起显著毒性效应的水样最低浓度将毒性测试结果转化为毒性得分, 在此基础上, 对水样的 3 种毒性得分进行汇总, 提出水质安全分级指标 A、B、C、D, 水质安全性依次降低, 由毒性测试结果中最差的得分值确定水质的安全级别. 将各生物毒性结果用当量表示, 样品的毒性当量与阳性对照的可预测无效应浓度 (PNEC) 进行对比, 参照水质分析标准确定样品的得分如表 1 所示. 在本研究中, 阳性对照的 PNEC 值基于物种敏感性分布 (SSDs).

表 1 水质安全性评价指标¹⁾

Table 1 Safety evaluation indexes of water quality

当量浓度	← 毒性得分 →			
	高			低
	4	3	2	1
急性毒性: $\text{TEQ}_{\text{phenol}}$	>100PNEC	(10 ~ 100) PNEC	(1 ~ 10) PNEC	< PNEC
遗传毒性: $\text{TEQ}_{4\text{-NOQ}}$	>100PNEC	(10 ~ 100) PNEC	(1 ~ 10) PNEC	< PNEC
雌激素活性: EEQ_{E2}	>100PNEC	(10 ~ 100) PNEC	(1 ~ 10) PNEC	< PNEC

1) TEQ: 毒性当量; EEQ: E2 当量

1.7 斑马鱼暴露实验

将 6 条驯化良好的成熟雄性斑马鱼暴露于 400 mL 浓缩 2.5 倍的水样中(污水厂进水、二级出水以及地表水进水)和空白(DMSO < 0.01),并设置 3 个平行. 每 48 h 更新一次溶液,暴露周期为 8 d,暴露期间未喂食. 在暴露终点时,随机取出 5 条斑马鱼,并立即转移至冰块上麻痹,待其冻僵后,用蒸馏水清洗鱼体,解剖镜下解剖,取出肝脏和生殖腺,迅速放入预冷的 TRIzol 试剂中,用 RNA 试剂盒(Takara, Japan)提取肝脏和生殖腺的总 RNA. 用微量分光光度计测定 RNA 在 260 nm 和 280 nm 的吸光值 A_{260} 和 A_{280} ,当 A_{260}/A_{280} 的比值介于 1.8 ~ 2.0 之间时,方可用于实验. 经反转录提取的 RNA 转录成 cDNA. 在 GenBank 上查得斑马鱼雌激素受体(*esr1*)和卵黄原蛋白基因(*vtg1*)的 mRNA 序列. 实验选取不受环境和组织器官影响的 18S rRNA 作为参比引物,引物使用前用无菌 ddH₂O 稀释到 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. 定量 PCR 的过程参考文献[17]进行操作. 最终结果用相对定量 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算.

1.8 数据处理

发光菌急性毒性和雌激素活性用半数效应浓度 EC_{50} 表示,而遗传毒性用“遗传毒性潜力值” $IR_{1.5}$ 定量比较水样的遗传毒性大小[18]. 为了便于不同样品间进行比较,将所有样品的毒性折算成具有相同

效应的阳性对照的浓度,其中发光菌毒性和遗传毒性当量分别用 TEQ_{phenol} 、 $TEQ_{4\text{-NOQ}}$ 表示,雌激素活性用 EEQ_{E2} 表示,即 $TEQ_{\text{phenol}} = EC_{50\text{-phenol}}/EC_{50\text{-样品}}$ 、 $TEQ_{4\text{-NOQ}} = IR_{1.5\text{-4-NOQ}}/EC_{50\text{-样品}}$ 、 $EEQ_{E2} = EC_{50\text{-E2}}/EC_{50\text{-样品}}$. 斑马鱼暴露实验结果采用 GraphPad® Prism5 软件进行作图. 利用 Newman-Keuls 方法进行处理组和对照组之间的差异性分析, $P \leq 0.05$ 表示具有显著性差异.

2 结果与讨论

2.1 发光菌急性毒性

水样对发光菌的发光抑制的剂量-效应曲线如图 2 所示. 在本实验中,阳性对照苯酚的 EC_{50} 为 2.82 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,与袁星等[19]研究结果相接近(2.35 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$),验证了该方法的可靠性. 各样品毒性采用浓缩倍数 N 表示,当抑制率为 50% 时,进水、曝气沉砂池、初沉池、好氧池、二沉池以及出水的浓缩倍数 N 分别为 1.44、0.94、1.86、12.67、12.79、24.70. 将样品毒性结果用 TEQ_{phenol} 表示,以上样品的 TEQ_{phenol} 分别为 184.97、283.36、143.59、21.03、20.83、10.78 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 毒性由大到小依次为:曝气沉砂池 > 进水 > 初沉池 > 好氧池 > 二沉池 > 出水. 本实验中曝气沉砂池的毒性大于进水毒性,这可能是由于一些物质以共轭的形式存在于环

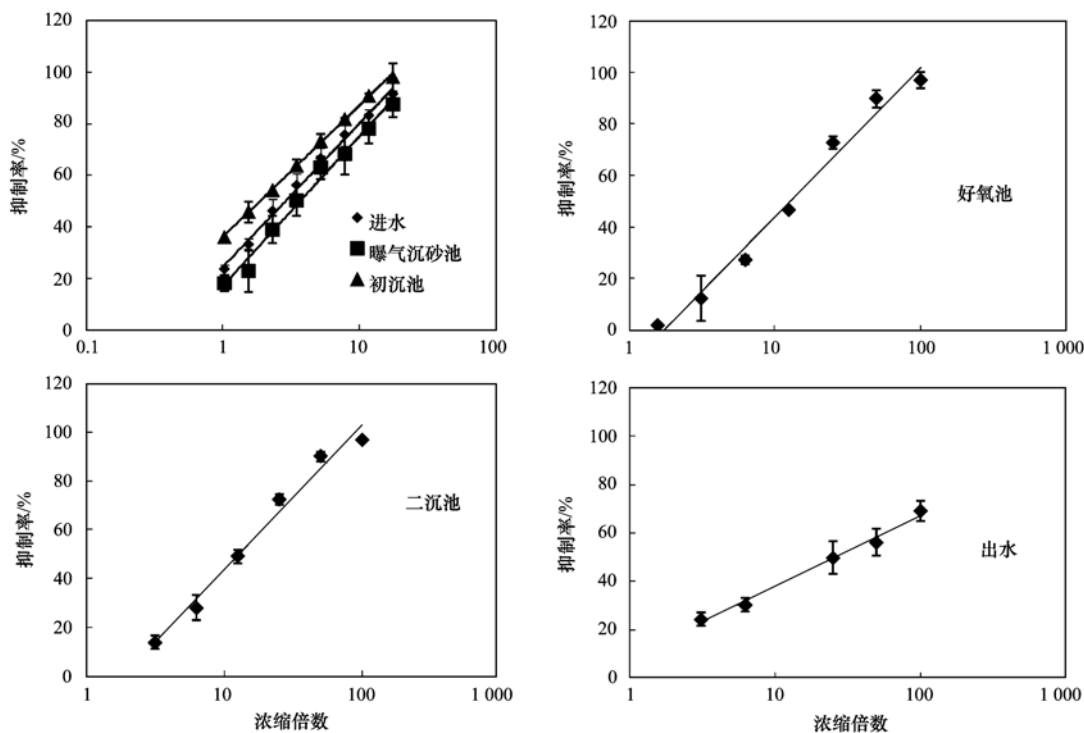


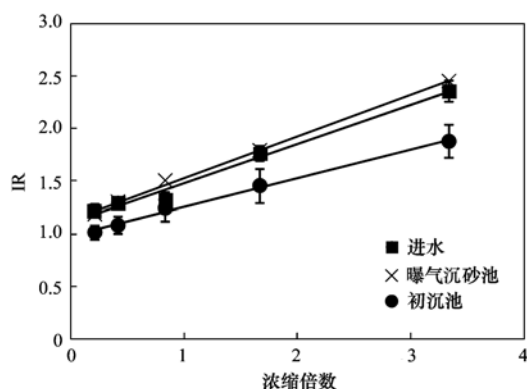
图 2 水样的荧光抑制作用的剂量-效应曲线

Fig. 2 Dose-response curves of luminescent inhibition of water samples

境中,而经过曝气沉砂池时变成非共轭形式或者被激活而表现出毒性^[20],最终出现曝气沉砂池的急性毒性增加的现象. 总体而言,随着工艺流程的进行,发光菌急性毒性降低. 尤其是经过好氧池后,发光菌急性毒性降低 92.58%. 由此可以得出二级生物处理能大幅度降低污水的急性毒性. 经过加氯消毒后,出水的毒性降低 48.24%. 王丽莎等^[9]利用发光菌毒性测试对某污水厂再生水处理工艺进行测定,发现进水发光菌发光抑制率为 63%,二沉池出水为 0%,加氯消毒后提高到 93%,说明加氯消毒能增大出水毒性. 塔春红等^[21]研究表明在正常浓度水平下的无机副产物(ClO_2^- 和 ClO_3^-)均不表现出急性毒性,消毒后生物毒性的增加主要由消毒副产物引起. 而投氯量是影响消毒副产物产生的一个重要因素^[22]. 该处理工艺可能存在氯投加量过多的现象,导致有些消毒副产物同余氯发生反应或者降解,消毒副产物生成量增加后出现减小的趋势^[23],造成急性毒性降低.

2.2 遗传毒性

本实验以 4-NOQ 为阳性对照,其 $\text{IR}_{1.5-4-\text{NOQ}}$ 的值为 $19.58 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. 当 4-NOQ 的浓度为 $50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,



IR 的值为 3.38, 与国际标准 ISO13829^[15] 具有可比性,说明该方法的可行性. 水样的遗传毒性的剂量-效应曲线如图 3 所示,当 $\text{IR} = 1.5$ 时,进水、曝气沉砂池、初沉池、好氧池、二沉池以及出水的浓缩倍数 N 分别为 1.15、0.92、1.89、43.79、48.64、111.50. 将上述样品的遗传毒性用 $\text{TEQ}_{4-\text{NOQ}}$ 表示,分别为 17.02、21.28、10.36、0.447、0.403、0.17 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. 遗传毒性的顺序依次为: 曝气沉砂池 > 进水 > 初沉池 > 好氧池 > 二沉池 > 出水. 在本实验中,曝气沉砂池的遗传毒性大于进水,这可能是由于曝气沉砂池的曝气和水流的螺旋旋转作用,使污水中悬浮颗粒相互碰撞、摩擦,并受到气泡上升的冲刷作用,导致砂粒上附着的有机成分被剥离而溶于水中引起^[24]. 除曝气沉砂池以外,随着工艺流程进行遗传毒性降低. 其中,好氧池对遗传毒性的去除率高达 95.68%,因此二级处理工艺能够显著地降低遗传毒性. 加氯消毒后,污水出水的遗传毒性降低 57.82%,该结果和污水对发光菌的荧光抑制毒性具有一致性. 造成加氯消毒后遗传毒性降低的原因如发光菌急性毒性所述,投氯量较多时,消毒副产物被分解^[25].

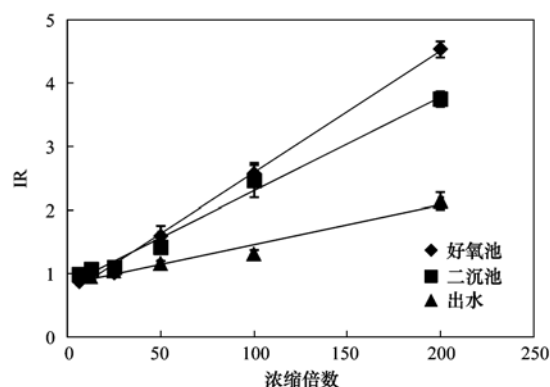


图 3 水样的遗传毒性的剂量-效应曲线

Fig. 3 Dose-response curves of genotoxicity of water samples

2.3 雌激素活性

本实验中阳性对照 E2 的 EC_{50} 为 $15.05 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, 与 Beck 等^[26] 研究相比 ($\text{EC}_{50} = 48.96 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$), 该方法的灵敏度较高,适用于广范围的水样类型. 水样的 β -半乳糖苷酶活性的剂量-效应关系如图 4 所示. 水样的雌激素活性用浓缩倍数 N 表示时,进水、曝气沉砂池、初沉池、好氧池、二沉池以及出水的 EC_{50} 分别为 2.07、2.02、2.45、7.57、8.29、7.89. 将上述样品用 EEQ_{E2} 表示时,其 EEQ_{E2} 分别为 7.29、7.45、6.15、1.98、1.82、1.89 $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$. 与急性毒性、遗传毒性类似,曝气沉砂池

的雌激素活性最强. 人体的尿液中,雌激素以共轭的形式存在,通过物质之间的化学作用或者微生物酶的作用,曝气沉砂池中的雌激素以自由态的形式被释放,这可能导致雌激素活性增加^[27]. 整体而言,雌激素活性也随着流程的进行逐渐降低. 其中,好氧池对雌激素活性的去除率高达 72.84%. 这种去除效果可能是由于微生物的降解和污泥的吸附作用^[28]. 尤其是 A^2/O 工艺具有延长生物处理的特点,在脱氮除磷过程中,氨氧化菌可将雌激素物质硝化,进而产生雌激素活性较低的产物,如 E1 和 E2 的硝化产物的活性低于母体本身^[29]. 而加氯消毒

没有降低出水的雌激素活性,这可能是由于在消毒过程中产生的消毒副产物具有雌激素活性,从而导致出水的雌激素活性比较恒定的现象,例如 E1、E2 和 EE2 的消毒副产物具有与母体相当的雌激素活性^[30].

Jarošová 等^[31]指出当水环境的 EEQ_{E2} 高于 1 ng·L⁻¹ 会对水生生物产生一定的危害. Vethaak 等^[32]曾报道河流的 EEQ_{E2} 为 0.17 ng·L⁻¹ 时,可导致雄鱼体内卵黄原蛋白显著性上升. 本实验污水的出水的 EEQ_{E2} 为 1.89 ng·L⁻¹,故其有可能对受纳水体的水生生物产生潜在的危害.

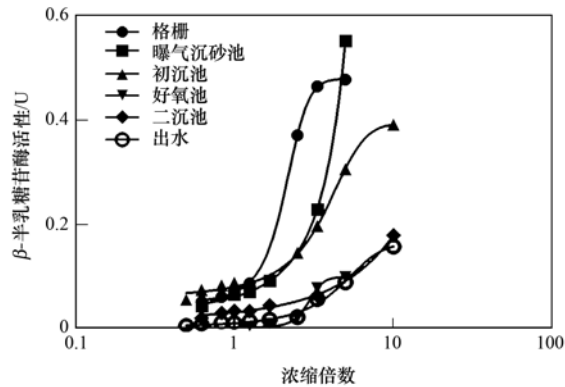


图 4 水样雌激素活性的剂量-效应曲线
Fig. 4 Dose-response curves of estrogenicity of water samples

2.4 水质安全评价

在 3 种体外生物毒性测试的基础上,通过 SSD 法计算得出 PNEC_{phenol} 为 2.94 mg·L⁻¹, 参照 Xu 等^[16]得出的 PNEC_{4-NOQ} (0.64 μg·L⁻¹) 和 PNEC_{E2} (2 ng·L⁻¹) 值,结合水质风险分级评价方法,对各流程出水进行了水质安全评价研究,结果如图 5 所示. 进水的生物毒性得分最高,其中急性毒性和遗传毒性得分为 3,雌激素活性得分为 2[图 5(a)],水质安全级别为 C 级,属于较差的水质. 经曝气沉砂池和

初沉池处理后,污水水质安全级别并没有提高[图 5(a)]. 经过好氧池处理之后,发光菌毒性得分为 2,遗传毒性和雌激素活性得分为 1,水质级别提高到 B 级[图 5(b)],经二沉池和加氯消毒处理之后,出水水质安全性没有得到进一步改善,水质级别仍为 B 级[图 5(b)]. 显然污水的雌激素活性对水质安全性影响最小,而发光菌急性毒性对其影响最大. 由此可知,根据污染物具有的主要生物毒性效应而采取针对性的处理工艺更有利于水质达到安全性级别. 本实验中,虽然生物毒性都得到降低,但污水的急性毒性效应未使出水水质达到安全性级别,可能会对周围的生态环境产生潜在的生态危害.

2.5 斑马鱼暴露实验

综上所述,污水出水仍会对受纳水体的水生生物带来一定的风险. 本研究进一步通过雄性斑马鱼实验了解水样对水生生物的毒性机制. 实验过程中斑马鱼未出现死亡. 雄性斑马鱼的肝脏和生殖腺内的 *esr1* 基因和 *vtg1* 基因表达如图 6 所示. 污水厂进水、二级出水以及地表水进水浓缩 2.5 倍后,导致雄性斑马鱼肝脏和生殖腺的 *vtg1* 表达上升[图 6(a)和 6(c)]. *vtg1* 的诱导是卵生脊椎动物体内出现雌激素效应的一个标志^[33]. 因此本实验表明了水样对雄性斑马鱼产生雌激素效应. 研究过程中,通过化学分析检测到水样中的主要雌激素为 E2 和乙炔雌二醇(EE2)(数据待发表),地表水进水中的 E2 和 EE2 浓度接近 EC₅₀ (导致斑马鱼体内卵黄原蛋白基因表达量达到最大值一半时的浓度)^[34]. Thorpe 等^[35]指出将斑马鱼暴露在浓度为 1 ng·L⁻¹ 的 EE2 和 E2 时,可观察到卵黄原蛋白的生成. 因此,本实验中雄性斑马鱼体内 *vtg1* 的增加是持续暴露在水样中的必然结果.

生殖腺中的 *esr1* 的表达受到抑制[图 6(b)],

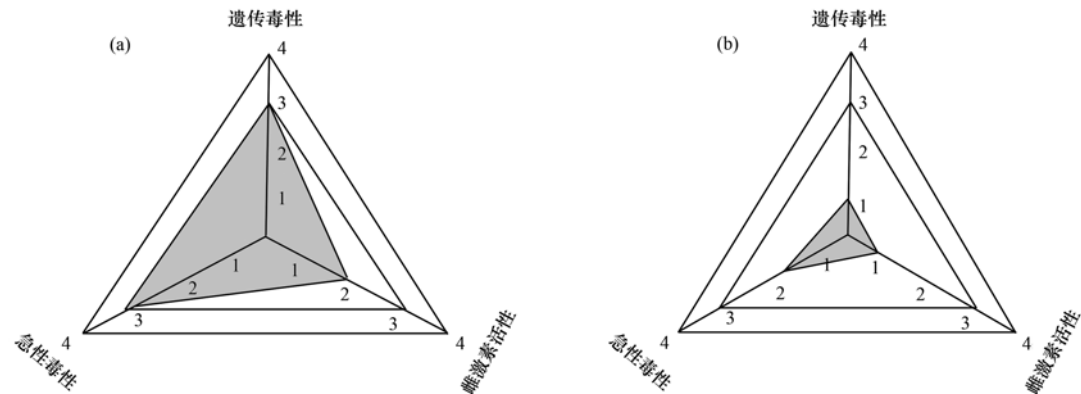
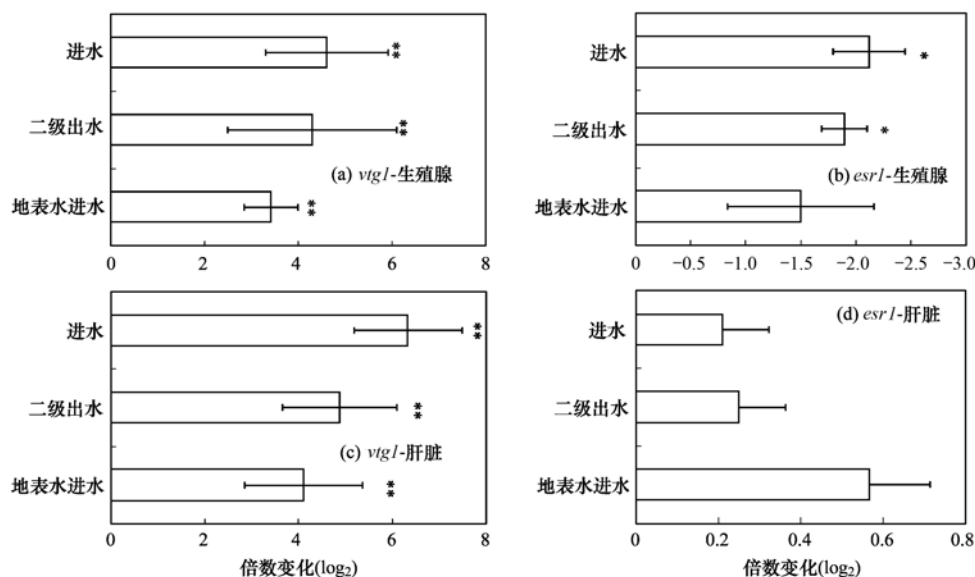


图 5 污水各处理工艺出水的安全性级别
Fig. 5 Security level of effluents from different treatment processes

说明水样对雄性斑马鱼具有抗雌激素效应. 该结果和酵母菌体外检测相反, 这可能由以下两方面原因引起: 首先, 水样成份复杂存在抗雌激素物质, 如 4-*n* 壬基酚具有一定的抗雌激素作用^[36]; 其次, 生物体具有代谢能力, 一些物质体内的代谢产物可能比母体化合物具有更强的生物毒性, 例如防晒剂二苯甲酮-3 作为二苯甲酮-4 的代谢产物具有更强的抗雌激素作用而较弱的雌激素作用^[37]. 而酵母菌缺乏一定的代谢能力, 可能会产生和体内检测不一样

的结果. 研究还发现雄性斑马鱼肝脏内的 *esr1* 有微弱的表达[图 6(d)], 这个结果和 *vtg1* 的上升以及酵母菌检测具有一致性, 进一步说明了水样的雌激素效应. *esr1* 表达水平的变化说明了同一个基因在不同的组织器官的表达可能具有差异性. 因此, 在毒性效应分析时应从多个基因水平和多个组织或器官考虑, 以获得比较全面的信息. 总之, 体内检测揭示了水样对斑马鱼的内分泌干扰作用可通过干扰相关基因的表达来完成.



* 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$

图 6 暴露在进水、二级出水和地表水进水中的雄性斑马鱼生殖腺和肝脏的目的基因(*esr1* 和 *vtg1*) 的变化

Fig. 6 Relative transcript levels in the livers and gonads of male zebrafish after exposure to primary-treated wastewater, secondary-treated wastewater, and influent of surface water

3 结论

(1) 初级处理对污水的急性毒性、遗传毒性和雌激素活性的去除效果微弱, 而二级生物处理对污水的生物毒性效应具有显著的削减作用.

(2) 城市生活污水原水的水质安全性较差, 其中发光菌急性毒性对水质安全性的影响较大, 经 A²/O 工艺处理之后, 出水水质安全性得到提高, 但污水出水的雌激素活性水平仍会对受纳水体的水生生物产生潜在的危害.

(3) 污水可通过干扰目的基因的表达来调控水生生物的内分泌且调控方式与组织器官相关.

参考文献:

- [1] Haddaoui I, Mahjoub O, Mahjoub B, et al. Occurrence and distribution of PAHs, PCBs, and chlorinated pesticides in Tunisian soil irrigated with treated wastewater[J]. Chemosphere, 2016, **146**: 195-205.
- [2] Tsui M M P, Leung H W, Wai T C, et al. Occurrence,

distribution and ecological risk assessment of multiple classes of UV filters in surface waters from different countries[J]. Water Research, 2014, **67**: 55-65.

- [3] Buser H R, Balmer M E, Schmid P, et al. Occurrence of UV filters 4-methylbenzylidene camphor and octocrylene in fish from various Swiss rivers with inputs from wastewater treatment plants[J]. Environmental Science & Technology, 2006, **40**(5): 1427-1431.
- [4] Vålitalo P, Perkola N, Seiler T B, et al. Estrogenic activity in Finnish municipal wastewater effluents[J]. Water Research, 2016, **88**: 740-749.
- [5] Miller D, Wheals B B, Beresford N, et al. Estrogenic activity of phenolic additives determined by an in vitro yeast bioassay[J]. Environmental Health Perspectives, 2001, **109**(2): 133-138.
- [6] Wang L S, Hu H Y, Wang C. Effect of ammonia nitrogen and dissolved organic matter fractions on the genotoxicity of wastewater effluent during chlorine disinfection[J]. Environmental Science & Technology, 2007, **41**(1): 160-165.
- [7] Sponza D T. Incorporation of toxicity tests to the discharges of pulp paper industry in Turkey[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2002, **69**(5): 719-726.
- [8] 周海东, 黄霞, 王晓琳, 等. 北京市城市污水雌激素活性的

- 研究[J]. 环境科学, 2009, **30**(12): 3590-3595.
- Zhou H D, Huang X, Wang X L, *et al.* Evaluation of estrogenicity of sewage samples from Beijing, China [J]. Environmental Science, 2009, **30**(12): 3590-3595.
- [9] 王丽莎, 胡洪营, 魏杰, 等. 城市污水再生处理工艺中发光细菌毒性变化的初步研究[J]. 安全与环境学报, 2006, **6**(1): 72-74.
- Wang L S, Hu H Y, Wei J, *et al.* Change of sewage toxicity on photo-bacteria during its treating process for water recycling[J]. Journal of Safety and Environment, 2006, **6**(1): 72-74.
- [10] 杜丽娜, 杨帆, 穆玉峰, 等. 某制药废水对发光细菌急性毒性的评价研究[J]. 环境科学, 2014, **35**(1): 286-291.
- Du L N, Yang F, Mu Y F, *et al.* Evaluation of the acute toxicity of pharmaceutical wastewater to luminescent bacteria [J]. Environmental Science, 2014, **35**(1): 286-291.
- [11] 程爱华, 王磊, 史新斌, 等. 水中微量弱极性内分泌干扰物测定方法的研究[J]. 环境污染与防治, 2007, **29**(2): 134-137.
- Cheng A H, Wang L, Shi X B, *et al.* Measurement of trace level low polar endocrine disruptors in water [J]. Environmental Pollution and Control, 2007, **29**(2): 134-137.
- [12] Ma X Y, Wang X C, Wang D H, *et al.* Function of a landscape lake in the reduction of biotoxicity related to trace organic chemicals from reclaimed water [J]. Journal of Hazardous Materials, 2016, **318**: 663-670.
- [13] 王昌稳, 李军, 赵白航, 等. A²O 工艺中雌激素的行为变化和去除机理[J]. 环境工程学报, 2013, **7**(9): 3351-3356.
- Wang C W, Li J, Zhao B H, *et al.* Behavior and removal mechanism of estrogens in A²O process[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2013, **7**(9): 3351-3356.
- [14] ISO 11348. Water quality-Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio Fischeri*[S].
- [15] ISO 13829. Water quality-Determination of the genotoxicity of water and waste water using the umu-test[S].
- [16] Xu J Y, Zhao C T, Wei D B, *et al.* A toxicity-based method for evaluating safety of reclaimed water for environmental reuses[J]. Journal of Environmental Sciences, 2014, **26**(10): 1961-1969.
- [17] Zhang Q Y, Ma X Y, Wang X C, *et al.* Assessment of multiple hormone activities of a UV-filter (octocrylene) in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Chemosphere, 2016, **159**: 433-441.
- [18] Stapleton D R, Vlastos D, Skoutelis C G, *et al.* Photolytic and photocatalytic diminution and preliminary genotoxicity studies of 2-chloropyridine [J]. Journal of Advanced Oxidation Technologies, 2008, **11**(3): 486-500.
- [19] 袁星, 赵晓明, 赵元慧, 等. 硝基苯、苯酚衍生物对发光细菌毒性定量构效关系研究[J]. 中国环境科学, 1997, **17**(5): 426-428.
- Yuan X, Zhao X M, Zhao Y H, *et al.* QSAR study for the toxicity of nitrobenzene and phenol derivatives to *Photobacterium phosphoreum*[J]. China Environmental Science, 1997, **17**(5): 426-428.
- [20] Matthews J B, Twomey K, Zacharewski T R. In vitro and in vivo interactions of bisphenol a and its metabolite, bisphenol a glucuronide, with estrogen receptors α and β [J]. Chemical Research in Toxicology, 2001, **14**(2): 149-157.
- [21] 塔春红, 王丽莎, 胡洪营, 等. 二氧化氯消毒前后污水毒性的变化及消毒条件的影响[J]. 环境科学学报, 2007, **27**(1): 124-128.
- Ta C H, Wang L S, Hu H Y, *et al.* Change in genotoxicity of wastewater after chlorine dioxide disinfection and the influence of disinfection conditions [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2007, **27**(1): 124-128.
- [22] 塔春红, 韩相奎, 荆玲, 等. 氯消毒副产物及其影响因素的研究概况[J]. 辽宁化工, 2012, **41**(1): 28-31.
- Ta C H, Han X K, Jing L, *et al.* Chlorination disinfection by-products and their influencing factors [J]. Liaoning Chemical Industry, 2012, **41**(1): 28-31.
- [23] Chen Z, Yang C Y, Lu J H, *et al.* Factors on the formation of disinfection by-products MX, DCA and TCA by chlorination of fulvic acid from lake sediments [J]. Chemosphere, 2001, **45**(3): 379-385.
- [24] 柯浪文, 冯珊, 黄艳雄. 曝气沉砂池对砂粒附着有机物的去除及砂粒纯净度[J]. 广东化工, 2015, **42**(15): 180-181.
- Ke L W, Feng S, Huang Y X. Analyzation of aerated grit chamber removing organic matter on the sand and sand Purity [J]. Guangdong Chemical Industry, 2015, **42**(15): 180-181.
- [25] 柳清, 张丽萍, 刘文君, 等. umu 试验研究饮用水氯和氯胺消毒过程中遗传毒性的变化以及消毒条件的影响[J]. 环境科学, 2010, **31**(1): 93-98.
- Liu Q, Zhang L P, Liu W J, *et al.* Genotoxicity of drinking water during chlorine and chloramine disinfection and the influence of disinfection conditions using the umu-test [J]. Environmental Science, 2010, **31**(1): 93-98.
- [26] Beck I C, Bruhn R, Gandrass J. Analysis of estrogenic activity in coastal surface waters of the Baltic Sea using the yeast estrogen screen[J]. Chemosphere, 2006, **63**(11): 1870-1878.
- [27] 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**(24): 5059-5066.
- [28] Johnson A C, Sumpter J P. Removal of endocrine-disrupting chemicals in activated sludge treatment works[J]. Environmental Science & Technology, 2001, **35**(24): 4697-4703.
- [29] Zhu B T, Han G Z, Shim J Y, *et al.* Quantitative structure-activity relationship of various endogenous estrogen metabolites for human estrogen receptor α and β subtypes: insights into the structural determinants favoring a differential subtype binding [J]. Endocrinology, 2006, **147**(9): 4132-4150.
- [30] Moriyama K, Matsufuji H, Chino M, *et al.* Identification and behavior of reaction products formed by chlorination of ethynylestradiol [J]. Chemosphere, 2004, **55**(6): 839-847.
- [31] Jarošová B, Bláha L, Giesy J P, *et al.* What level of estrogenic activity determined by *in vitro* assays in municipal waste waters can be considered as safe? [J]. Environment International, 2014, **64**: 98-109.
- [32] Vethaak A D, Lahr J, Schrap S M, *et al.* An integrated assessment of estrogenic contamination and biological effects in the aquatic environment of The Netherlands [J]. Chemosphere, 2005, **59**(4): 511-524.
- [33] Tyler C R, van Aerle R, Hutchinson T H, *et al.* An in vivo testing system for endocrine disruptors in fish early life stages using induction of vitellogenin [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 1999, **18**(2): 337-347.

- [34] Rose J, Holbech H, Lindholm C, *et al.* Vitellogenin induction by 17 β -estradiol and 17 α -ethinylestradiol in male zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2002, **131**(4): 531-539.
- [35] Thorpe K L, Cummings R I, Hutchinson T H, *et al.* Relative potencies and combination effects of steroidal estrogens in fish [J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, **37**(6): 1142-1149.
- [36] 胡建英, 谢国红. 酵母双杂交系统测定抗雌激素物质[J]. 北京大学学报(自然科学版), 2003, **39**(4): 449-453.
- [37] Hu J Y, Xie G H. Determination of chemical compounds using antagonist assay based on yeast two-hybrid system [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis*, 2003, **39**(4): 449-453.
- [37] Kunz P Y, Fent K. Multiple hormonal activities of UV filters and comparison of *in vivo* and *in vitro* estrogenic activity of ethyl-4-aminobenzoate in fish [J]. *Aquatic Toxicology*, 2006, **79**(4): 305-324.

《环境科学》征稿简则

1. 来稿报道成果要有创新性,论点明确,文字精炼,数据可靠.全文不超过8 000字(含图、表、中英文摘要及参考文献).国家自然科学基金项目、国家科技攻关项目、国际合作项目或其它项目请在来稿中注明(在首页以脚注表示).作者投稿时请先登陆我刊网站(www.hjks.ac.cn)进行注册,注册完毕后以作者身份登录,按照页面给出的提示信息投稿即可.

2. 稿件请按GB 7713-87《科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式》中学术论文的规范撰写.论文各部分的排列顺序为:题目;作者姓名;作者工作单位、地址、邮政编码;中文摘要;关键词;中图分类号;英文题目;作者姓名及单位的英译名;英文摘要;关键词;正文;致谢;参考文献.

3. 论文题目应简练并准确反映论文内容,一般不超过20字,少用副标题.

4. 中文摘要不少于300字,以第三人称写.摘要内容包括研究工作的目的、方法、结果(包括主要数据)和结论,重点是结果和结论.英文摘要与中文对应,注意人称、时态和语言习惯,以便准确表达内容.

5. 前言包括国内外前人相关工作(引文即可)和本工作的目的、特点和意义等.科普知识不必赘述.

6. 文中图表应力求精简,同一内容不得用图表重复表达,要有中英文对照题目.图应大小一致,曲线粗于图框,图中所有字母、文字字号大小要统一.表用三线表.图表中术语、符号、单位等应与正文一致.

7. 计量单位使用《中华人民共和国法定计量单位》(SI).论文中物理计量单位用字母符号表示,如mg(毫克),m(米),h(小时)等.科技名词术语用国内通用写法,作者译的新名词术语,文中第一次出现时需注明原文.

8. 文中各级标题采用1, 1.1, 1.1.1的形式,左起顶格书写,3级以下标题可用(1), (2)……表示,后缩2格书写.

9. 文中外文字母、符号应标明其大小写,正斜体.生物的拉丁学名为斜体.缩略语首次出现时应给出中文全称,括号内给出英文全称和缩略语.

10. 未公开发表资料不列入参考文献,可在出现页以脚注表示.文献按文中出现的先后次序编排.常见文献书写格式为:

期刊:作者(外文也要姓列名前).论文名[J].期刊名,年,卷(期):起页-止页.

图书:作者.书名[M].出版地:出版社,年.起页-止页.

会议文集:作者.论文名[A].见(In):编者.文集名[C].出版地:出版社(单位),年.起页-止页.

学位论文:作者.论文名[D].保存地:保存单位,年份.

报告:作者.论文名[R].出版地:出版单位,出版年.

专利:专利所有者.专利题名[P].专利国别:专利号,出版日期.

11. 来稿文责自负,切勿一稿多投.编辑对来稿可作文字上和编辑技术上的修改和删节.在3个月内未收到本刊选用通知,可来电询问.

12. 投稿请附作者单位详细地址,邮编,电话号码,电子邮箱等.编辑部邮政地址:北京市2871信箱;邮编:100085;电话:010-62941102,010-62849343;传真:010-62849343;E-mail:hjks@rcees.ac.cn;网址:www.hjks.ac.cn

CONTENTS

Reactivity-based Anthropogenic VOCs Emission Inventory in China	LIANG Xiao-ming, ZHANG Jia-ni, CHEN Xiao-fang, <i>et al.</i> (845)
Characteristics of Reactive VOCs Species During High Haze-Pollution Events in Suburban Area of Shanghai in Winter	GAO Shuang, ZHANG Kun, GAO Song, <i>et al.</i> (855)
Assessment of PM _{2.5} Pollution Mitigation due to Emission Reduction from Main Emission Sources in the Beijing-Tianjin-Hebei Region	WU Wen-jing, CHANG Xing, XING Jia, <i>et al.</i> (867)
Concentration Characteristics and Sources of Trace Metals in PM _{2.5} During Wintertime in Beijing	QIAO Bao-wen, LIU Zi-rui, HU Bo, <i>et al.</i> (876)
Online Source Analysis of Particulate Matter (PM _{2.5}) in a Heavy Pollution Process of Shijiazhuang City During Heating Period in 2015	LU Na, LI Zhi-guo, ZHOU Jing-bo, <i>et al.</i> (884)
Analysis of Chemical Composition and Pollution Source of the Fine Particulate Matter by the SPAMS in the Four Seasons in Nanning	LIU Hui-lin, CHEN Zhi-ming, MAO Jing-ying, <i>et al.</i> (894)
Physico-chemical Characteristics of Individual Aerosol Particles in Marine Atmosphere on South Hemisphere	CHI Jian-wei, LI Chuan-jin, SUN Jun-ying, <i>et al.</i> (903)
Characteristics of Spatial Distribution of Bacterial Aerosols Produced by Fountain	ZHANG Chong-miao, YUAN Lin, XU Peng-cheng, <i>et al.</i> (911)
Removal of Volatile Sulfur Odor by the Biotrickling Filter	YE Jie-xu, MIAO Xiao-ping, ZHUGE Lei, <i>et al.</i> (918)
Magnetic Characteristics and Environmental Pollution Analysis of Street Dust in Different Functional Zones of Xi'an City	FANG Ni, ZHANG Jun-hui, WANG Jin, <i>et al.</i> (924)
Pollution Characteristics and Nitrification and Denitrification Potential of Superficial Sediments from Streams in an Urban-Rural Fringe	QIN Ru-bin, LI Ru-zhong, GAO Su-di, <i>et al.</i> (936)
Nitrification and Denitrification Rates in a Small Tributary, Nanhe River, of Three Gorge Dam Reservoir During Water Collection and Release Events	WANG Jing, LIU Hong-jie, LEI Yu, <i>et al.</i> (946)
Tempo-spatial Variations and Influential Factors of Carbon Dioxide Emissions from the Geheyan Reservoir over the Qingjiang River Basin, China	ZHAO Deng-zhong, TAN De-bao, LI Chong, <i>et al.</i> (954)
Seasonal Pollution Characteristics and Source Identification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Organochlorine Pesticides in Surface Water of Baiyangdian Lake	WANG Yi-zhen, ZHANG Jun, ZHOU Xu-shen, <i>et al.</i> (964)
Distributions, Sources and Pollution Assessment of Hg in Sediment of Douhe Reservoir in Tangshan City	WU Ting-ting, WANG Ming-meng, CHEN Xu-feng, <i>et al.</i> (979)
Release Characteristics of Mercury from Submersed Typical Herbaceous Plants in the Water-Level Fluctuation Zone of the Three Gorges Reservoir Area	DENG Han, ZHANG Xiang, ZHANG Cheng, <i>et al.</i> (987)
Distribution Characteristics and Health Risk Assessment of Heavy Metals in Surface Water Around Electroplating Factories	YU Cong-cong, ZHAO Wei-tuo, GAO Xiao-feng, <i>et al.</i> (993)
Speciation and Ecological Risk of Heavy Metals in Surface Sediments from Jiulong River	LIN Cheng-qi, HU Gong-ren, YU Rui-lian, <i>et al.</i> (1002)
Fractionation and Contamination Assessment of Metal Elements in the Surface Sediments of Yundang Lagoon in Xiamen	YANG Qiu-li, YU Rui-lian, HU Gong-ren, <i>et al.</i> (1010)
Source Analysis, Spatial Distribution and Pollution Assessment of Heavy Metals in Sewage Irrigation Area Farmland Soils of Longkou City	LI Chun-fang, WANG Fei, CAO Wen-tao, <i>et al.</i> (1018)
Efficiency and Mechanism of Purifying High Iron-Manganese from Ground Water in the Cold Villages and Towns Based on The Coupling of Rice Husk and Iron-Manganese Oxidizing Bacteria	SUN Nan, CHEN Yan-li, ZHANG Ying, <i>et al.</i> (1028)
Peroxidation of High Algae-laden Water by Ozone; Algae Organic Matter Transformation and Disinfection By-products Formation	ZHANG Sai, HU Xue-bin, GU Li, <i>et al.</i> (1038)
Effects of Pretreatment on Hydraulic Irreversible Membrane Fouling During Ultrafiltration Short Process: A Pilot Study	YANG Hai-yan, XING Jia-jian, WANG Can, <i>et al.</i> (1046)
Fenton-like Catalytic Removal of Organic Pollutants in Water by Framework Cu in Cu-Al ₂ O ₃	XU Dan, ZHANG Li-li, LIU Li-fen (1054)
Oxidation Destruction of Cu(CN) ₃ ²⁻ by Persulfate	WANG Yun-fei, LI Yi-bing, WANG Yan-bin, <i>et al.</i> (1061)
Enhanced Removal of Herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic Acid and Simultaneous Power Generation in Microbial Fuel Cells	QUAN Xiang-chun, QUAN Yan-ping, XIAO Zhu-tian (1067)
Adsorption Characteristics of Copper in Water by the Porous Biomorph-Genetic Composite of HAP/C with Eucalyptus Wood Template	LI Chao, ZHU Zong-qiang, CAO Shuang, <i>et al.</i> (1074)
Biological Toxicity Evaluation of Domestic Wastewater Based on A ² /O Treatment Processes Using a Battery of Bioassays	ZHANG Qiu-ya, MA Xiao-yan, WANG Xiao-chang, <i>et al.</i> (1084)
Effect of Wastewater Nitrogen Concentrations on Nitrogen Removal Ability of <i>Myriophyllum aquaticum</i>	MA Yong-fei, YANG Xiao-zhen, ZHAO Xiao-hu, <i>et al.</i> (1093)
Recovery Performance of ANAMMOX Process after Inhibition Resulting from Seawater	QI Pan-qing, YU De-shuang, LI Jin, <i>et al.</i> (1102)
Impact of Starvation Conditions on Biological Community Structure in Sulfur Autotrophic Denitrification Reactor	LI Fang-fang, SHI Chun-hong, LI Hai-bo, <i>et al.</i> (1109)
Quick Start-up of Anaerobic Ammonium Oxidation Process	LÜ Gang, XU Le-zhong, SHEN Yao-liang, <i>et al.</i> (1116)
A New Model for the Treatment of Low Ammonia Nitrogen Wastewater by CANON Process	WANYAN De-qing, YUAN Yi, LI Xiang, <i>et al.</i> (1122)
Effects of Side-stream Phosphorus Recovery on the Performance of EBPR System Under Low Dissolved Oxygen Condition	MA Juan, SONG Lu, YU Xiao-jun, <i>et al.</i> (1130)
Identification and Influence of Quorum Sensing on Anaerobic Ammonium Oxidation Process	CHEN Shu-han, LI An-jie, WANG Yue-xing, <i>et al.</i> (1137)
Effects of Organic Loading Rate on Startup Performance of Anaerobic Digestion with Vinegar Residues	DAI Xiao-hu, YU Chun-xiao, LI Ning, <i>et al.</i> (1144)
Influencing Mechanism of Calcium Peroxide Pre-treatment on Dewatering Performance of Waste Activated Sludge	BAI Run-ying, CHEN Zhan, ZHANG Wei-jun, <i>et al.</i> (1151)
Treatment Effects of Earthworm Constructed Wetlands in Different Working Conditions	DONG Meng-ke, LI Huai-zheng, XU Yi-xiao (1159)
Effect of PFOA on Oxidative Stress and Membrane Damage of <i>Escherichia coli</i>	YANG Meng, LI Yi, YE Jin-shao, <i>et al.</i> (1167)
Physicochemical Properties and Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles; A Comparison of Environmental and Laboratorial Conditions	YI Jun, CHENG Jin-ping (1173)
Pollution Characteristics of Chlorobenzenes in Organs of Fish from Typical Epidemic Areas of Schistosomiasis Prevalence	LI Kun, ZHAO Gao-feng, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (1182)
Effect of Nano Zeolite on Growth, Activity of Antioxidant Enzyme, and Chemical Fractions and Concentration of Cd in Chinese Cabbage	QIN Yu-li, XIONG Shi-juan, XU Wei-hong, <i>et al.</i> (1189)
Effect of Different Iron Minerals on Bioaccessibility of Soil Arsenic Using <i>in vitro</i> Methods	ZHONG Song-xiong, YIN Guang-cai, HUANG Run-lin, <i>et al.</i> (1201)
Enhanced Electrokinetic Remediation of Heavy Metals Contaminated Soils by Stainless Steel Electrodes as well as the Phenomenon and Mechanism of Electrode Corrosion and Crystallization	WEN Dong-dong, FU Rong-bing, ZHANG Wei, <i>et al.</i> (1209)
Influence of the Application of Non-Hazardous Sewage Sludge on the Evolution of Soil Carbon Pool and Carbon Pool Management Index	LIU Xiao, HUANG Lin, GUO Kang-li, <i>et al.</i> (1218)
Input and Distribution of Photosynthesized Carbon in Soil-Rice System Affected by Water Management and Nitrogen Fertilization	WANG Ting-ting, ZHU Zhen-ke, ZHU Han-hua, <i>et al.</i> (1227)
Effects of Simulated Acid Rain on Soil Respiration and Heterotrophic Respiration in a Secondary Forest	CHEN Shu-tao, SUN Lu, SANG Lin, <i>et al.</i> (1235)
Response of Soil Nitrifier and Denitrifier Community and Activity to Elevated Atmospheric CO ₂ Concentration and Temperature	LIU Yuan, WANG Guang-li, LI Lian-qing, <i>et al.</i> (1245)
Effects of Lithology on the Abundance and Composition of Soil Nitrogen-fixing Bacteria and Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities in Karst Shrub Ecosystem	LIANG Yue-ming, SU Yi-rong, HE Xun-yang, <i>et al.</i> (1253)
Characterization of Phosphorus Forms in Organic Composts and Their Effects on Leaf Phosphorus Content of <i>Castanea mollissima</i> in Chinese Chestnut Producing Area	SONG Ying, GUO Su-juan, ZHANG Li, <i>et al.</i> (1262)
Effects of Acidic Materials on the N Transformations During the Composting of Pig Manure and Wheat Straw	JIANG Ji-shao, YAO Qian (1272)