

猪粪厌氧消化进程中雌激素的去除效能及机制

庄捷, 赵斌成, 薛锦辉, 张文艺

引用本文:

庄捷, 赵斌成, 薛锦辉, 张文艺. 猪粪厌氧消化进程中雌激素的去除效能及机制[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(2): 461–471.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-0262>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

上海典型畜禽场周边河流雌激素污染特征研究

袁哲军, 张洪昌, 胡双庆, 沈根祥, 钱晓雍, 王振旗, 朱英, 张玉

农业环境科学学报. 2017, 36(8): 1583–1589 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-0325>

基于代谢笼试验的鸡粪中雌激素排放特征研究

梁紫薇, 李艳, 胡嘉梧, 贺德春, 邹梦遥, 杨莹, 陈冰娜

农业环境科学学报. 2022, 41(2): 434–440 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0633>

固定化*Pseudomonas citronellae* SJTE-3菌剂对水中炔雌醇的去除作用

王雁秋, 彭万里, 梁如冰

农业环境科学学报. 2020, 39(8): 1803–1810 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0277>

猪粪中温厌氧消化中磺胺类抗生素的降解和吸附特征

靳红梅, 许彩云, 黄红英, 徐跃定

农业环境科学学报. 2017, 36(9): 1884–1892 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-0296>

猪粪辅料促进茄果类蔬菜废弃物堆肥品质的微生物机理

陆晓林, 杨玉欣, 洪春来, 朱为静, 朱凤香, 姚燕来, 洪磊东, 王卫平

农业环境科学学报. 2022, 41(5): 1097–1102 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0834>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

庄捷, 赵斌成, 薛锦辉, 等. 猪粪厌氧消化进程中雌激素的去除效能及机制[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(2): 461–471.

ZHUANG J, ZHAO B C, XUE J H, et al. Estrogen removal and its mechanism during anaerobic digestion of pig manure [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(2): 461–471.



开放科学 OSID

猪粪厌氧消化进程中雌激素的去除效能及机制

庄捷, 赵斌成, 薛锦辉, 张文艺*

(常州大学环境与安全工程学院, 江苏 常州 213164)

摘要:为探究猪粪厌氧消化进程中雌激素的去除效能及其作用机制,对厌氧消化液中的4种雌激素(雌酮E1、雌二醇E2、雌三醇E3、炔雌醇EE2)进行阶段性检测,并采用傅里叶变换红外光谱、三维荧光光谱结合荧光区域积分和16S rRNA基因扩增子高通量测序的手段对猪粪中红外官能团振动特征峰、溶解性有机物(DOM)和微生物群落结构进行分析。结果表明:在温度为35℃、周期为30 d、固体浓度为6%的条件下,厌氧消化对4种雌激素的降解速率依次为E2>E3>E1>EE2,去除效率分别为28.62%、25.83%、19.14%、11.81%,降解规律均符合有机物一级动力学降解模型。在投加雌激素之后,猪粪中微生物群落结构发生了一定改变,但仍能进行正常的厌氧消化,并促使与雌激素相结合的腐植酸类溶解性有机物含量增加,同时其中还存在酰胺、羟基、羧基等雌激素吸附位点以及雌激素高效降解菌。研究推测沼液中雌激素的去除机制包含猪粪颗粒的吸附、溶解性有机物的吸附和雌激素降解菌属的高效代谢3个方面。

关键词:厌氧消化;雌激素;溶解性有机物;微生物群落结构

中图分类号:X713 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2023)02-0461-11 doi:10.11654/jaes.2022-0262

Estrogen removal and its mechanism during anaerobic digestion of pig manure

ZHUANG Jie, ZHAO Bincheng, XUE Jinhui, ZHANG Wenyi*

(School of Environmental & Safety Engineering, Changzhou University, Changzhou 213164, China)

Abstract: To investigate the estrogen removal efficiency and its mechanism during the anaerobic digestion of pig manure, four estrogens (estrone E1, estradiol E2, estriol E3, and ethinylestradiol EE2) in anaerobic digestion liquid were tested periodically. Fourier transform infrared spectroscopy, three-dimensional fluorescence spectroscopy combined with fluorescence region integration, and high-throughput sequencing of the 16S rRNA gene were used to analyze the characteristic vibration peaks of infrared functional groups, dissolved organic matter (DOM), and microbial community structure in the manure. The results showed that under a temperature of 35 °C for 30 days and 6% solid concentration condition, the degradation rates of the four estrogens by anaerobic digestion were E2>E3>E1>EE2, and the removal efficiency rates were 28.62%, 25.83%, 19.14% and 11.81%, respectively. The degradation laws were consistent with the first-order kinetic degradation model for organic matter. After the addition of estrogen, changes occurred in the microbial community of the manure; however, normal anaerobic digestion was maintained. Anaerobic digestion could also be combined with increasing estrogen humic acid soluble organic matter content and amide, hydroxyl, and carboxyl adsorption sites, and highly efficient estrogen degradation bacteria. This study speculated that the removal mechanism of estrogen from biogas slurry included three aspects: adsorption of pig manure particles, adsorption of dissolved organic matter, and efficient metabolism of estrogen-degrading bacteria.

Keywords: anaerobic digestion; estrogen; dissolved organic matter; microbial community structure

收稿日期:2022-03-21 录用日期:2022-08-03

作者简介:庄捷(1998—),男,福建泉州人,硕士研究生,从事固废污染控制研究。E-mail:375834214@qq.com

*通信作者:张文艺 E-mail:zwy@cczu.edu.cn

基金项目:江苏省科技支撑计划项目(BE2020761);江苏省研究生科研与实践创新计划项目(SJCX20-0942)

Project supported: The Science and Technology Support Program of Jiangsu Province, China (BE2020761); The Postgraduate Research & Practice Innovation Program of Jiangsu Province (SJCX20-0942)

规模化和集约化的禽畜养殖模式已经成为社会发展的必然趋势,为了保证禽畜能带来更高的经济效益,大量含有雌激素的饲料被添加到日常养殖中^[1],但是畜禽对饲料中雌激素的吸收能力有限,多余的雌激素会以尿液和粪便的形式一起排出体外,从而对养殖场周边的水体和土壤造成一定的污染^[2-4]。据统计,禽畜类养殖场已经成为仅次于污水处理厂的第二大雌激素污染源^[5],90%的雌激素来源于畜禽粪便^[6]。粪便中雌激素的种类和含量会随着畜禽种类的不同而产生差异,相较于牛粪和鸡粪,猪粪向环境中排放的雌激素更多,其释放到沼液中3种雌激素[E1(雌酮)、E2(雌二醇)和E3(雌三醇)]的总量超过4 000 ng·L⁻¹^[7]。大量的雌激素进入环境会对环境造成很强的内分泌干扰作用,如能在低剂量(ng·L⁻¹)下诱导雄鱼雌化^[8-9],迫使土壤中微生物群落结构发生变化^[10],干扰人类的内分泌系统^[11],因此需对猪粪中的雌激素污染问题加以重视。

近年来,雌激素污染及其防控逐渐成为研究的焦点^[12-13]。在畜禽粪便堆肥过程中雌激素的降解与转化方面,Sun等^[14]发现微生物菌剂联合腐植酸进行猪粪堆肥可以有效降解E1和E2,韩进等^[15]探究了畜禽粪便堆肥过程中雌激素的降解特征,认为堆肥处理很大程度上降低了畜禽粪便的雌激素污染风险。厌氧消化作为另一种处理猪粪的常规手段,较少学者关注其沼液中雌激素的去除,而在厌氧消化过程中通常会伴随有机物和微生物群落结构的变化,这可能会影响沼液中雌激素的含量,对其去除起一定作用。本研究分析了4种雌激素[E1、E2、E3、EE2(炔雌醇)]在厌氧消化液中的去除效果,并通过对比添加雌激素前后猪粪红外官能团振动特征峰、溶解性有机物(DOM)和微生物群落结构的变化,推测厌氧消化沼液中雌激素的去除机制,以期对猪粪源沼液中雌激素的污染防控提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所选原料为常州市某养殖场提供的新鲜混合猪粪,调理剂为玉米秸秆,接种物为沼气工程剩余

沼液,猪粪和秸秆的具体理化性质见表1。固相萃取柱为Waters公司Oasis HLB小柱(0.5 g, 6 mL)。

仪器:三重四极杆液相质谱仪(TSQ quantum Access Max),固相萃取仪(DG12D),水浴氮吹仪(上海梓桂仪器有限公司),荧光分光光度计(Cary Eclipse, 安捷伦),冷冻干燥器(SCIENTZ-12N),恒温振荡箱(ZD-85)。

试剂:甲醇(色谱纯)和氨水(分析纯)均购自美国sigma公司。E1(雌酮,98%)、E2(雌二醇,98%)、E3(雌三醇,98%)和EE2(炔雌醇,98%)标准品均购自上海Aladdin公司。

1.2 厌氧消化方案

将新鲜猪粪与破碎后的玉米秸秆充分混合,控制其初始碳氮比约为25:1。向混合物中加入足量剩余沼液,使其固体浓度保持在6%左右。取粪水混合物放入消化罐内,有效容积为800 mL,用水浴锅控制其消化温度为35℃,周期为30 d。试验共设1#和2#两个处理组,1#为未添加雌激素的厌氧消化组,2#为添加雌激素的厌氧消化组,其中4种雌激素(E1、E2、E3、EE2)的添加量均控制在49~51 μg·L⁻¹,另外1#和2#分别设置两个平行对照组。厌氧消化的第0、10、20、30天采集并检测各处理样品中雌激素的残留量。

1.3 HPLC-MS/MS分析

预处理过程:取足量粪水混合物清液,多次离心(10 000 r·min⁻¹)收集上清液共计100 mL,用超纯水稀释至500 mL,水样过Whatman GF/F系列玻璃纤维膜(孔径0.45 μm)后取滤液调节pH为(3±0.1)。参照王真^[6]的固相萃取方法分别用甲醇和超纯水活化Oasis HLB萃取柱,水样以3~6 mL·min⁻¹过萃取柱上样,上样结束后,依次用10%甲醇水溶液、pH=3超纯水和配比为2:10:88的氨水-甲醇-水溶液淋洗小柱,减压抽干5 min,最后用10 mL甲醇分两次洗脱目标物。洗脱液在40℃水浴条件下轻柔氮气吹干,用1 mL甲醇溶液将目标物重新溶解(富集因子为100倍),过0.45 μm PTFE滤膜到进样瓶中准备检测,每10 d进行一次取样直至试验结束。

采用三重四极杆液相质谱仪(TSQ quantum Access Max)对厌氧消化沼液中4种雌激素进行检测。

表1 原料理化性质

Table 1 Characteristic of anaerobic digestion substrate

试验材料Substrate	含水率Moisture/%	干物质质量分数Total solid content/%	挥发性固体质量分数Volatile solid content/%	C/%	N/%	C/N
新鲜猪粪	79.84	20.16	13.59	9.20	0.60	15.33
玉米秸秆	8.75	91.25	81.12	36.41	0.55	66.20

其中,色谱柱选用赛默飞AQ-C18(50 mm×2.1 mm,3 μm),流动相为超纯水和甲醇。4种雌激素相关参数如表2所示,仪器工作条件如下:

色谱条件:进样量为10 μL;柱温25 ℃;流动相A为超纯水,流动相B为甲醇;洗脱梯度为0~0.3 min流动相B体积分数为85%,0.3~7.0 min流动相B体积分数为95%,7.0~9.5 min保持流动相比比例,9.5~9.8 min流动相B体积分数为85%,9.8~15.0 min继续保持流动相比比例;流速为0.3 mL·min⁻¹,保留时间为15 min。

质谱条件:扫描方式为多反应监测(MRM);离子源模式为电喷雾离子(ESI⁻);喷雾电压为2 500 V;气化温度为350 ℃;鞘气压力为35 kPa;辅助气压力为10 kPa;离子源温度为350 ℃。

1.4 雌激素降解动力学

有机污染物在厌氧消化系统中的降解过程可用一级动力学模型描述^[17]:

$$C = A \times C_0 \times e^{-kt} \tag{1}$$

式中:C为时间*t*时污染物的浓度,μg·L⁻¹;C₀为厌氧消化初始时污染物的浓度,μg·L⁻¹;A为常数;*k*为降解速率常数,d⁻¹;t为厌氧消化天数,d。

根据式(1)推导可得:

$$\ln\left(\frac{C_0}{C}\right) = k \times t - \ln A \tag{2}$$

试验中以*t*为横坐标,以ln(C₀/C)为纵坐标绘图,进行线性回归,并求得常数*k*和A。

1.5 高通量测序分析

用50 mL离心管收集消化30 d后的沼渣和原猪粪,在转速为5 000 r·min⁻¹下离心10 min,离心完成后撇去离心管中的上清液,确保有足量的样品后放入冰柜冷冻保藏,委托生工生物工程(上海)股份有限公司进行细菌群落结构组成测定,过程包括PCR扩增和高通量测序,扩增区域为细菌16S rRNA基因的V3~V4。送检样品对应名称为:未经处理的猪粪(简称原猪粪)、1#厌氧消化后沼渣(简称1#沼渣)、2#厌

氧消化后沼渣(简称2#沼渣)。数据分析参考检测报告,Shannon、Simpson、Hill多样性指数计算公式如下:

$$H = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i \tag{3}$$

$$\lambda = \sum_{i=1}^S p_i^2 \tag{4}$$

$$D_\infty = \left(\sum_{i=1}^S p_i^\alpha \right)^{\frac{1}{1-\alpha}} \tag{5}$$

式中:S为微生物群落中物种的总数目;*p_i*为属于物种*i*中的个体占全部个体的比例;α为物种权重。

1.6 三维荧光光谱分析

将冷冻干燥后的猪粪研磨过筛,取0.2 g粉末加入20 mL超纯水于50 mL离心管中,以200 r·min⁻¹的振荡频率在25 ℃下恒温振荡24 h,振荡结束后,取上层清液过0.45 μm滤膜,采用荧光分光光度计(Cary Eclipse,安捷伦)测定,仪器参数设置为:激发波长为220~400 nm,步长为5 nm;发射波长为280~550 nm,步长为2 nm;狭缝宽度为5 nm,PMT(光电倍增管)电压为800 V,扫描速度为2 400 nm·min⁻¹。采用由Chen等^[18]提出的FRI方法,对三维荧光光谱进行解析,将三维荧光光谱分为5个区域,每个区域代表一个类型有机物,详见表3。

对应荧光区域标准化体积积分计算,见公式(6)。

$$\Phi_{i,n} = MF_i \Phi_i = MF_i \iint_{exem} I(\lambda_{ex} \lambda_{em}) d\lambda_{ex} d\lambda_{em} \tag{6}$$

式中:Φ_{*i,n*}与Φ_{*i*}分别为荧光区域*i*的积分标准体积和积分体积,au·nm²;MF_{*i*}为某一荧光区域*i*的积分面积

表3 荧光区域划分

Table 3 Fluorescence spectral region division			
荧光区域 Fluorescence region	有机物类型 Type of organic matter	激发波长 Excitation wavelength/nm	发射波长 Emission wavelength/nm
区域Ⅰ	酪氨酸类蛋白质	220~250	280~330
区域Ⅱ	色氨酸类蛋白质	220~250	330~380
区域Ⅲ	富里酸类物质	220~250	380~550
区域Ⅳ	溶解性微生物代谢产物	250~400	280~380
区域Ⅴ	胡敏酸类物质	250~400	380~550

表2 雌激素相关参数和线性方程

Table 2 Correlation coefficient and linear regression equation of estrogen				
雌激素 Estrogen	母离子 Parent ion(<i>m/z</i>)	子离子 Daughter ion(<i>m/z</i>)	线性方程 Linear regression equation	<i>R</i> ²
E1	268.6	144.8	<i>y</i> =468 477 <i>x</i> -34 837	0.972 2
E2	270.6	183.0	<i>y</i> =116 066 <i>x</i> -6 984.5	0.989 4
E3	286.5	170.9	<i>y</i> =112 063 <i>x</i> -67 561	0.990 1
EE2	294.9	145.2	<i>y</i> =26 286 <i>x</i> -15 201	0.970 3

注:线性方程中,*x*为目标产物的实际浓度,mg·L⁻¹;y为色谱峰面积。
Note: In the linear regression equation, *x* is the actual concentration of the target product, mg·L⁻¹; and *y* is the chromatography peak area.

占总面积比例的倒数; $I(\lambda_{ex}\lambda_{em})$ 为发射-激发波长对应的荧光强度, au; λ_{ex} 与 λ_{em} 分别为激发波长与发射波长, nm。

1.7 傅里叶变换红外光谱分析

取0.001 g冷冻干燥后的沼渣与0.2 g无水溴化钾均匀混合,在玛瑙研钵中充分研磨至细粉状以均质样品。将混合物在油压机上以102 Pa压5~10 min以形成透明片材。红外透射吸收光谱在Nicolet IS50上获得,扫描区间为4 000~500 cm^{-1} 。

2 结果与讨论

2.1 厌氧消化对沼液中雌激素的去除

每10 d对2#沼液中雌激素进行一次检测,得到其浓度变化如图1a所示。由图可知,沼液中E1、E2、E3、EE2的初始浓度分别为50.15、49.69、49.50、50.42 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,经过厌氧消化处理各雌激素的浓度不断下降,直至试验结束,E1、E2、E3、EE2的浓度分别下降至40.55、35.47、36.71、44.47 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,这表明厌氧消化对雌激素的去除有一定效果,但不如好氧堆肥和污水处理厂对雌激素的去除效果,原因是大多数雌激素降解细菌都需要一定的氧^[19],而在厌氧消化过程中系统处于厌氧或缺氧状态,雌激素降解菌的生长受到抑制。同时,在沼液中大量存在的DOM是一种雌激素高效吸附剂,一方面可通过吸附作用减少其生物利用性^[20],另一方面,随着底物的厌氧消化,DOM中的胡敏酸浓度升高,但难以作为碳源被细菌群落所利用,并可抑制细菌活性^[21]。各厌氧消化阶段雌激素的去除率如图1b所示,随着厌氧消化的进行各雌激素去除率缓慢增加,到厌氧消化结束时4种雌激素的去除速率依次为E2>E3>E1>EE2,去除率分别为28.62%、25.83%、19.14%、11.81%。其中,E1在厌氧消化过程中的去除率偏低,可能是因为E1是E2和E3微生物降解的中间产物^[22-23],在降解过程中,一部分E2和E3转化为E1所致。余薇薇等^[24]也通过检测发现厌氧消化过程中E1具有高持久性,原因是沼液中E2易向E1转化^[25]。EE2在4种雌激素中去除效果最差,是因为其微生物可代谢性最差,厌氧条件下很少存在能够代谢EE2的菌株^[26-28],同时EE2具有更高的辛醇-水分配系数(4.01)^[29],因此更容易被DOM吸附,这可能也是阻碍其被微生物利用的原因。按照动力学模型计算得出雌激素的降解模型参数值见表4,各雌激素的降解动力学线性曲线如图1c所示。由结果可知,E1、E2、E3和EE2的厌氧消化降解规律

均符合有机物降解一级动力学模型,相关系数 R^2 均大于0.95。

2.2 厌氧消化前后猪粪中细菌群落结构的变化规律

对厌氧消化前后的样品进行16S rRNA高通量测序,在97%的置信区间下构建稀释性曲线如图2所

表4 雌激素降解模型参数值

Table 4 Estrogen degradation model parameter

雌激素 Estrogen	A	k/d ⁻¹	R ²
E1	1.005	0.007 30	0.987 09
E2	1.013	0.010 89	0.955 71
E3	1.012	0.010 39	0.974 67
EE2	1.005	0.004 45	0.952 84

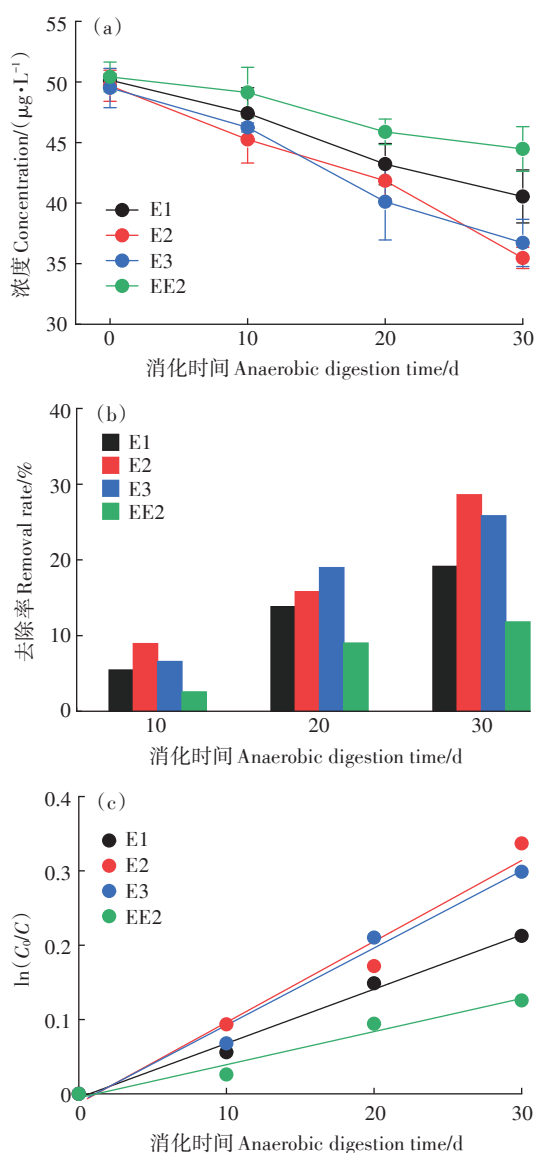


图1 沼液中雌激素去除情况及其降解动力学曲线

Figure 1 Estrogen removal and degradation kinetic curve in biogas slurry

示。由图2可知,各个样品在序列数大于28 000时仍有新的OTU被检测出,表明样品中物种的丰富度较高。根据图2中的数据,可对样品进行多样性分析(Alpha多样性),具体结果如表5所示。Chao1和ACE指数都可以用来估算样品中物种总数,指数越高物种丰富度越高。从表5可以看出,厌氧消化前原猪粪中Chao1指数为311.0,而在厌氧消化后各组沼渣的Chao1指数升高,1#和2#沼渣分别达到343.0和347.9,表明消化罐能够为细菌繁殖生长提供良好的环境。Shannon指数与Simpson指数都可以反映细菌群落的多样性,Shannon指数受丰度影响较大,其值越大说明群落多样性越高,而Simpson指数则受均匀度影响较大,其值越大则代表群落多样性越低。表中样品的Shannon指数从大到小依次为1#沼渣(4.12)>2#沼渣(3.67)>原猪粪(2.88),说明外源雌激素干扰细菌群落的生命活动,使得群落多样性降低^[30],Simpson指数的变化也证明了这一点。所有样品的Coverage指数都为0.99,说明测序结果可信度较高。

为了更好地探讨猪粪在厌氧消化前后细菌群落结构的变化情况,在门、属水平上对原猪粪、1#沼渣和2#沼渣的细菌群落进行分析。3个样品中细菌群落结构在门分类水平上的相对丰度如图3所示。在原猪粪中Proteobacteria(变形菌门)为绝对优势细菌菌门,占比为79.83%,这和潘梦等^[31]的研究得到的猪粪

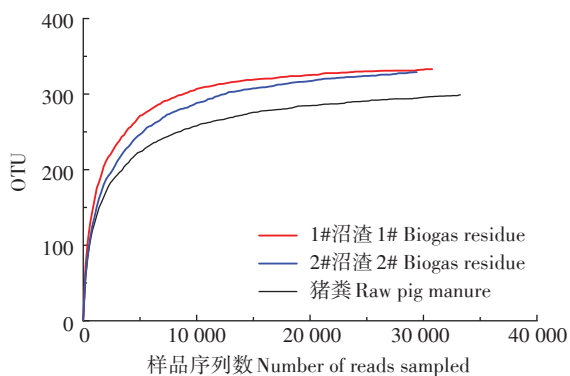


图2 微生物群落稀释性曲线

Figure 2 Rarefaction plot of microbial community

表5 消化罐 Alpha 多样性指数变化

Table 5 Changes in Alpha diversity index of digestive process

样品 Sample	Chao1	ACE	Shannon	Simpson	Coverage
原猪粪	311.0	311.03	2.88	0.230 1	0.99
1#沼渣	343.0	340.88	4.12	0.038 2	0.99
2#沼渣	347.9	341.96	3.67	0.083 4	0.99

中细菌菌群变化结果一致。原猪粪中其他优势细菌菌门分别为 Firmicutes(厚壁菌门, 12.04%)、Actinobacteria(放线菌门, 4.83%)、Bacteroidetes(拟杆菌门, 3.15%)以及丰度小于1%的Unclassified(未分类菌门)和Others(其他菌门)。1#沼渣细菌菌门的丰度发生了变化,丰度由大到小依次为Firmicutes(52.17%)>Proteobacteria(32.63%)>Actinobacteria(8.03%)>Bacteroidetes(4.59%),而投加雌激素厌氧消化之后减少了猪粪中Firmicutes和Bacteroidetes的丰度,增加了Proteobacteria和Actinobacteria的丰度。上述相对丰度较大的优势细菌菌门中,Proteobacteria对猪粪厌氧消化过程中反硝化以及污染物去除起着极为关键的作用^[32],厌氧消化之后可能由于缺氧而导致该菌门细菌的丰度降低,但在添加雌激素厌氧消化后该菌门细菌的丰度增加,可能与污染物的去除有关,田克俭等^[33]通过综述环境雌激素的微生物降解发现有超过50%的雌激素高效降解菌属于Proteobacteria。Firmicutes是厌氧消化水解酸化阶段最具优势的细菌菌门^[34],可降解纤维素、长链脂肪酸等有机物生成小分子物质^[35],一般以猪场粪污为原料的沼气工程中Firmicutes的平均丰度在56%~74%之间^[36],而1#沼渣中该菌门细菌的丰度仅为52.17%,可能是物料处于厌氧消化末期,水解酸化作用减弱造成的。在添加雌激素之后猪粪中Firmicutes的丰度进一步减小,仅为27.99%,可能是因为Firmicutes受雌激素的影响更为显著^[37-38]。Bacteroidetes则可利用大分子碳水化合物进行降解产酸^[39],在厌氧消化前后其丰度没有明显变化。

图4显示了3个样品中细菌群落在属分类水平上的结构组成。原猪粪中的优势菌属分别为*Escherich-*

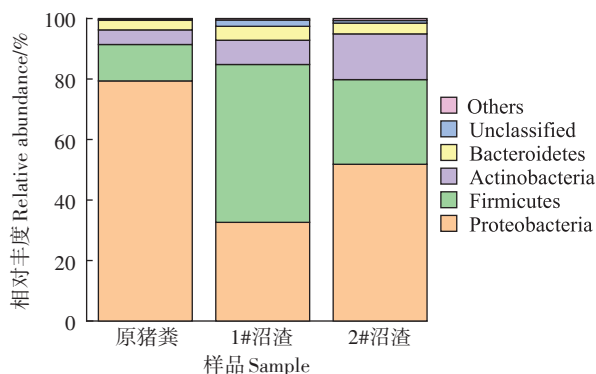


图3 细菌群落结构组成分布(门水平)

Figure 3 Analysis of sample diversity at phylum level

ia_Shigella (大肠杆菌-志贺氏菌属, 46.34%)、*Acinetobacter* (不动杆菌属, 15.97%)、*Clostridium_sensu_stricto* (狭义梭菌属, 2.39%)、*Terrisporobacter* (土孢杆菌属, 2.39%)、*Comamonas* (丛毛单胞菌属, 2.31%)、*Corynebacterium* (棒状杆菌属, 2.45%)、*Pseudomonas* (假单胞菌属, 2.38%)、*Enterobacter* (肠杆菌属, 1.61%)等,以及丰度较大的 *Unclassified* (未分类菌属, 5.11%)和 *Others* (其他菌属, 14.91%)。经过厌氧消化之后1#沼渣中的优势菌属发生一定变化,其优势菌属分别为 *Escherichia_Shigella* (5.77%)、*Acinetobacter* (12.79%)、*Clostridium_sensu_stricto* (9.45%)、*Terrisporobacter* (6.91%)、*Eubacterium* (真杆菌属, 11.37%)、*Comamonas* (2.31%)、*Corynebacterium* (4.69%)、*Kurthia* (库特氏菌属, 6.82%)等,以及丰度较大的 *Unclassified* (13.32%)和 *Others* (15.38%)。与原猪粪相比,投加雌激素厌氧消化之后也减少了 *Escherichia_Shigella* 和 *Acinetobacter* 的丰度,增加了 *Clostridium_sensu_stricto* 和 *Terrisporobacter* 的丰度。同时,在1#沼渣中丰度较低的 *Oerskovia* (厄氏菌属)、*Paenochrobactrum* (变色杆菌属)、*Rhodococcus* (红球菌属)和 *Sphingomonas* (鞘氨醇单胞菌)也有较为显著的提升。上述相对丰度较大的优势菌属中, *Escherichia_Shigella* 具有消化多种碳水化合物、利用多种有机酸盐和产酸的功能^[40],在厌氧消化之后该菌门的丰度均有所减少,说明后期大分子有机物被消耗殆尽,产酸作用减弱。来自 *Firmicutes* 的 *Clostridium_sensu_stricto* 和 *Terrisporobacter* 能分别在厌氧条件下有效分解半纤维素,促使单糖分解为有机酸^[41],利用葡萄糖、木糖和果糖等基质产生乙酸和 CO_2 ^[42],该菌属的丰度明显增加,说明厌氧消化促进了纤维素和有机物的分解。*Rhodococcus* 和 *Sphingomonas* 已经被许多学者证实是可用于芳香性物质降解的新型微生物资源,能有效代谢 E1、E2、E3 和 EE2,尤其是实现 E2 到 E1 的转化^[33,43-45]。在投加雌激素之后这2种菌属的丰度分别从0.05%和0.02%增加至2.55%和1.11%,这表明2种菌属都可能对雌激素的降解起作用。

2.3 厌氧消化处理过程中三维荧光光谱图和区域积分标准体积变化

猪粪在不同消化阶段的三维荧光光谱图如图5所示,根据FRI算法对猪粪荧光数据积分并进行标准化处理得到的标准体积见表6。从图5a可知在厌氧消化前猪粪中存在3个荧光强度较为明显的峰(峰B、峰C、峰E)和2个荧光强度比较弱的峰(峰A、峰D)。位

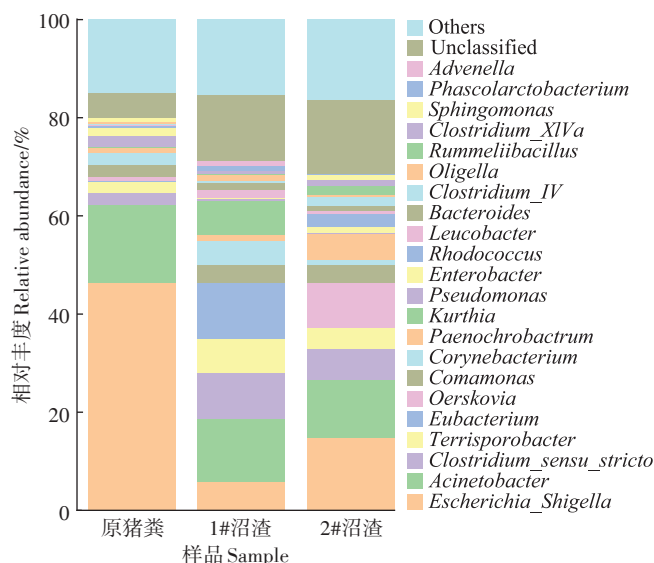


图4 细菌群落结构组成分布(属水平)

Figure 4 Analysis of sample diversity at genus level

于荧光区域 I 和 II 内的峰 A 与峰 B,分别代表了猪粪中芳香类蛋白质中的酪氨酸类蛋白质和色氨酸类蛋白质;位于荧光区域 III 和 V 内的峰 C 与峰 E,分别代表了猪粪中腐植酸类物质中的富里酸类物质和胡敏酸类物质,而区域 IV 中出现的峰 D,代表了猪粪中的溶解性微生物代谢产物。Cui 等^[46]研究了堆肥中猪粪 DOM 的组成及变化规律,所得猪粪三维荧光光谱图中主要荧光峰的位置与本试验相似。从表3可知,猪粪中的胡敏酸类物质(区域 V)为主要物质,荧光区域积分标准体积为 $7.5 \times 10^6 \text{ au} \cdot \text{nm}^2$,其次是色氨酸等类蛋白(区域 II)、富里酸类物质(区域 III)和溶解性微生物代谢产物(区域 IV),荧光区域积分标准体积分别为 5.2×10^6 、 4.1×10^6 、 $4.1 \times 10^6 \text{ au} \cdot \text{nm}^2$,而酪氨酸等类蛋白(区域 I)含量最少,荧光区域积分标准体积仅有 $2.8 \times 10^6 \text{ au} \cdot \text{nm}^2$ 。

此外,从图5b~图5g中可以看出,在厌氧消化过程中1#和2#猪粪的三维荧光峰相对强度以及特征峰波长范围存在明显的差异。在0~10 d,两组猪粪中 DOM 的荧光强度大幅减弱,峰 E 逐渐弱化为两个峰(峰 F、峰 G),峰 C 与峰 D 的荧光强度逐级降低,峰 A 与峰 B 消失,各区域的荧光积分标准体积也随之降低,这可能是由于原料中未完全腐殖化的物质在厌氧条件下被微生物降解。在10 d后随着腐殖化过程的进行,各区域的荧光强度又逐渐增加,到30 d时两处理组的腐植峰较为明显(峰 F、峰 G),腐植酸类物质(区域 III 和区域 V)占比分别从厌氧消化前的49.0%,

增加至厌氧消化之后的57.7%(1#)和57.4%(2#),说明两处理组均达到稳定腐熟态。相对于1#猪粪,2#猪粪中各区域的荧光积分标准体积表现出不同程度地减少,其减少率分别为10.53%(区域I)、18.60%

(区域II)、22.00%(区域III)、16.13%(区域IV)、16.67%(区域V),原因可能是具有中等疏水性的雌激素和DOM相结合^[20]而表现出了一定的疏水性,也可能是高浓度雌激素影响了微生物的活动从而减少

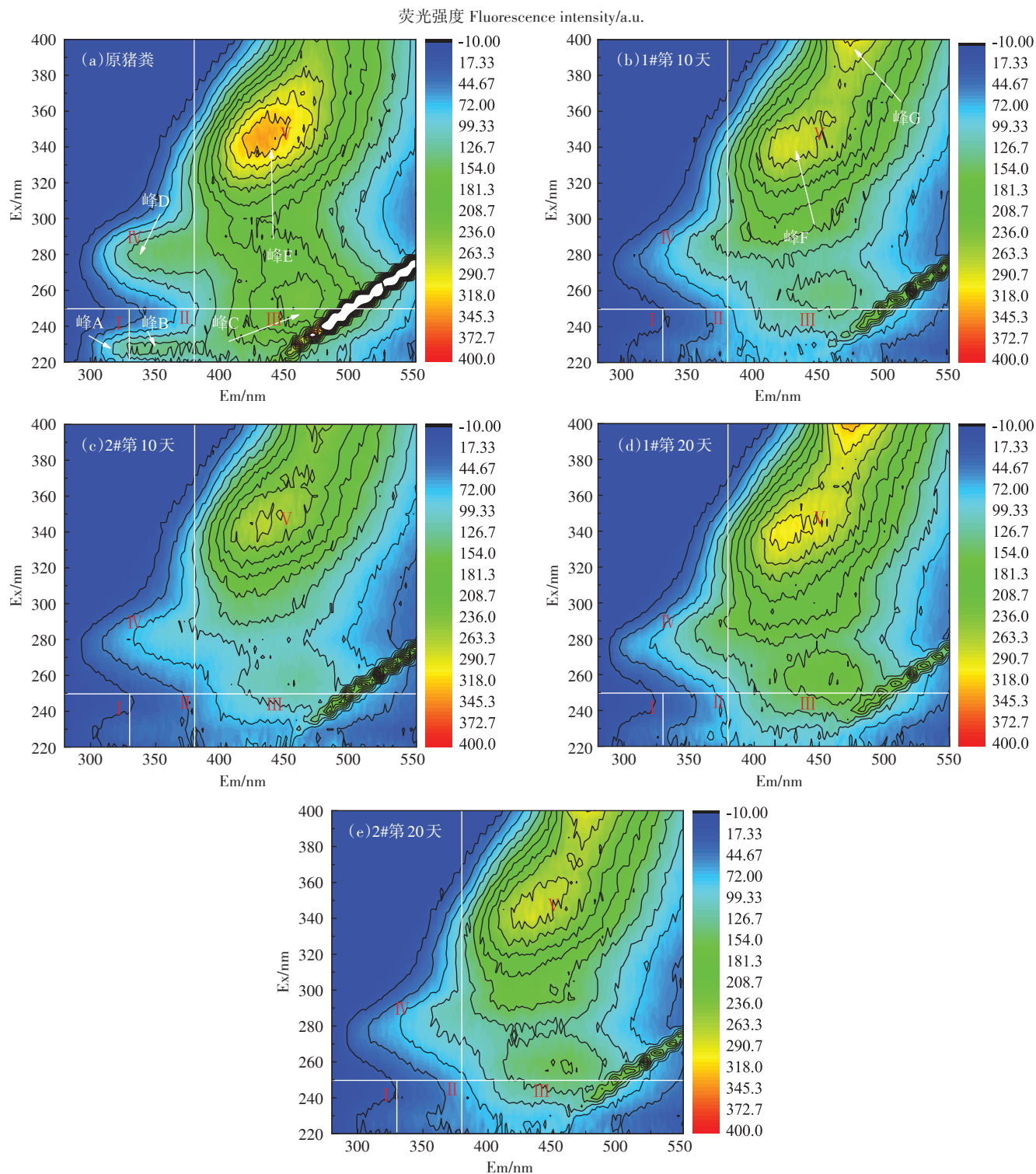
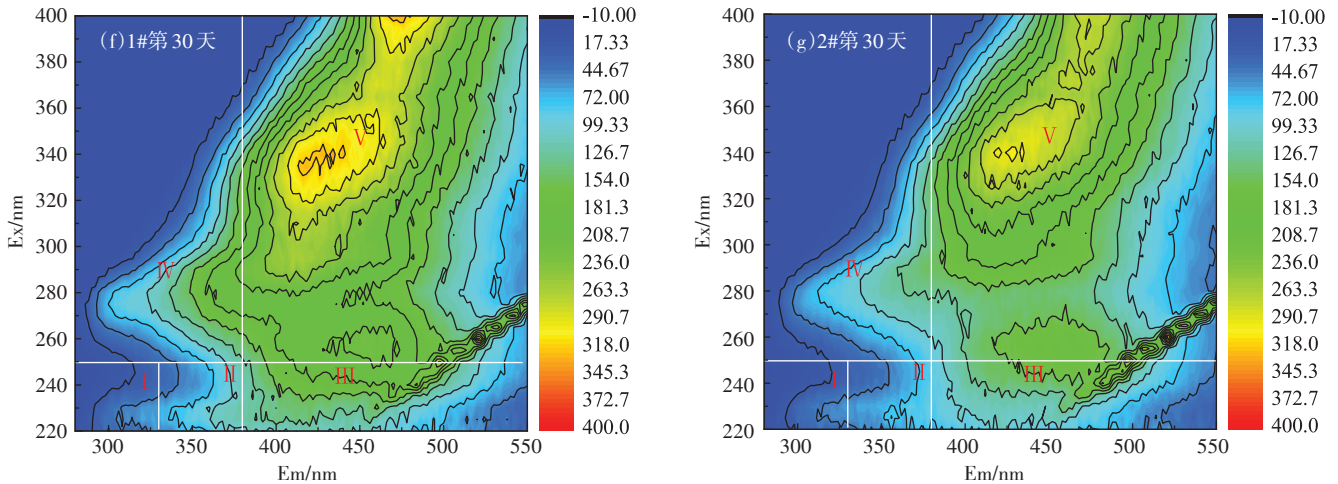


Figure 5 3D-excitation emission matrix spectra(3D-EEM) of anaerobic digestion at different time periods



续图5 厌氧消化不同阶段三维荧光图谱

Continued figure 5 3D-excitation emission matrix spectra (3D-EEM) of anaerobic digestion at different time periods

表6 不同时间段猪粪的荧光区域积分标准体积($\text{au} \cdot \text{nm}^2$)

Table 6 Fluorescence region integration standard volume of pig manure at different time periods ($\text{au} \cdot \text{nm}^2$)

荧光区域 Fluorescent region	原猪粪 Raw pig manure	1# 猪粪 1# Pig manure			2# 猪粪 2# Pig manure		
		第10天	第20天	第30天	第10天	第20天	第30天
区域 I	2.8×10^6	1.1×10^6	1.4×10^6	1.9×10^6	1.0×10^6	1.1×10^6	1.7×10^6
区域 II	5.2×10^6	2.9×10^6	3.4×10^6	4.3×10^6	2.8×10^6	2.9×10^6	3.5×10^6
区域 III	4.1×10^6	3.3×10^6	4.0×10^6	5.0×10^6	2.6×10^6	3.3×10^6	3.9×10^6
区域 IV	4.1×10^6	2.3×10^6	2.5×10^6	3.1×10^6	2.0×10^6	2.1×10^6	2.6×10^6
区域 V	7.5×10^6	5.9×10^6	6.7×10^6	7.8×10^6	5.2×10^6	5.8×10^6	6.5×10^6
$\Phi_{i,n}$	2.4×10^7	1.5×10^6	1.8×10^7	2.2×10^7	1.4×10^7	1.5×10^7	1.8×10^7

了DOM的产生。

2.4 厌氧消化处理后沼渣红外光谱特性

经过厌氧消化处理后,猪粪中的脂肪族化合物、纤维素以及碳水化合物等物质会被微生物分解,形成大量腐殖质,而分布在固体颗粒表面的官能团可以为污染物提供重要的吸附位点。因此,采用傅里叶变换红外光谱分析可以确定参与雌激素吸附的官能团。沼渣红外光谱分析见图6,根据相关文献可知^[46-48],在 3400 cm^{-1} 处是碳水化合物、蛋白质以及酰胺化合物的一OH伸缩振动峰,投加雌激素之后该峰明显变宽。在 1558 cm^{-1} 处的变化与酰胺 I 和酰胺 II 中 $\text{C}=\text{O}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}-$ 、 $\text{C}-\text{N}$ 相关。在 1405 cm^{-1} 处为氨基酸中 $\text{COO}-$ 的伸缩,投加雌激素之后该处的吸收峰相对强度减小并向波数较高的方向偏移。在 1649 cm^{-1} 处为羧酸类的 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩、 $-\text{COO}-$ 伸缩以及芳香族和烯烃的 $\text{C}=\text{C}$ 伸缩、 $\text{N}-\text{H}$ 伸缩振动峰,在 1050 cm^{-1} 处的伸缩振动峰属于芳香族群,投加雌激素之后这两处的吸收峰相对强度进一步增加。以

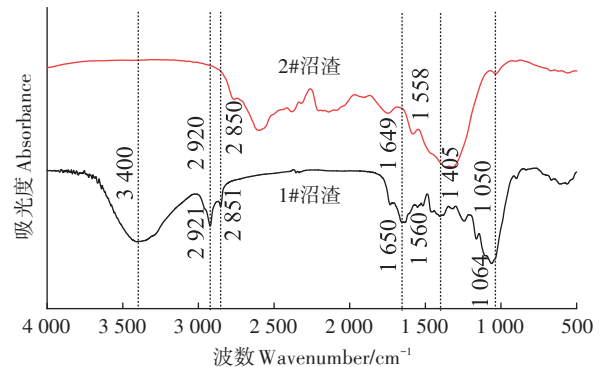


图6 沼渣红外光谱分析

Figure 6 FTIR spectra of biogas residue

上这些变化表明猪粪中的酰胺、羟基、羧基等可能是雌激素的主要吸附位点,其吸附方式可能是配位结合和离子交换。

2.5 雌激素去除机制

通过试验发现厌氧消化对4种雌激素(E1、E2、E3和EE2)有一定的去除效果,说明系统中存在对雌

激素起去除作用的因素,而从目前的研究来看雌激素的去除主要有吸附、生物代谢、光转化和植被吸收4种方式^[12]。由于厌氧消化环境为室内且不受植物的干扰,所以可以从吸附和生物代谢方面对雌激素的去除机制进行推测:①猪粪颗粒的吸附作用。雌激素通常具有较低的水溶性和辛醇-水分配系数,这意味着它们是疏水的,与沉积物、土壤和污泥有很高的结合能力^[49-50],并且这种结合能力被证实与总有机碳的含量呈正相关^[51]。猪粪在水中的性质与污泥类似,具有酰胺、羟基、羧基等雌激素吸附位点和更高的总有机碳含量,因此可以吸附沼液中的雌激素。②DOM的吸附作用。DOM已经被证实具有比表面积大、有机碳含量高、与有机污染物结合能力强等特点^[52],是环境雌激素重要的吸附体。而雌激素具有中等疏水性,研究发现其辛醇-水分配系数和有机碳归一化吸附系数的相关性较差^[53],这表明除了相对于高疏水性污染物的特异性疏水作用外,还存在着其他吸附机制对雌激素的去除起着关键性作用,这种关键作用已经被证实与DOM的芳香性^[54]和DOM中酚羟基^[55-56]的含量有关。通过三维荧光光谱图可以看到猪粪在厌氧消化过程中可以产生大量能与雌激素相结合的腐植酸类溶解性有机物(胡敏酸、富里酸),同时,在投加雌激素之后各阶段的荧光强度明显减弱,雌激素很可能与DOM结合来减弱其荧光强度。③微生物代谢作用。在投加雌激素厌氧消化之后,沼渣中细菌群落在属分类水平上的结构组成发生较为明显的变化,其中*Rhodococcus*和*Sphingomonas*的丰度有较为明显的增加,其已经被证实能以E1、E2等天然雌激素为唯一碳源进行生长繁殖^[57-58],说明这2种菌属参与了雌激素的降解。

3 结论

(1)4种雌激素[E1(雌酮)、E2(雌二醇)、E3(雌三醇)、EE2(炔雌醇)]经过30 d厌氧消化后分别从50.15、49.69、49.50、50.42 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 去除至40.55、35.47、36.71、44.47 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,去除速率依次为E2>E3>E1>EE2,去除率分别为28.62%、25.83%、19.14%、11.81%,说明厌氧消化对雌激素的去除有一定效果。4种雌激素均符合有机物降解一级动力学模型,相关系数 R^2 均大于0.95。

(2)由细菌群落结构分析可知,猪粪经厌氧消化后细菌的群落结构产生较为明显的差异,而在投加雌激素之后,猪粪中细菌群落结构进一步发生改变,在

属分类水平上,*Rhodococcus*和*Sphingomonas*等菌属的丰度显著增加。三维荧光光谱分析表明猪粪经厌氧消化后其中的富里酸类和胡敏酸类物质增多。红外谱图显示在投加雌激素之后猪粪中出现酰胺、羟基、羧基等雌激素吸附位点。

(3)投加雌激素厌氧消化后,猪粪中细菌群落结构发生了一定改变,但是仍能进行正常的厌氧消化,促使能与雌激素相结合的腐植酸类溶解性有机物含量增加,同时其中还存在雌激素吸附位点以及雌激素高效降解菌。推测沼液中雌激素的去除机制包含猪粪颗粒的吸附、溶解性有机物的吸附和雌激素降解菌属的代谢3个方面。

参考文献:

- [1] 朱臻怡,魏云计,何正和. 饲料中激素类药物及其检测技术研究进展[J]. 化学分析计量, 2021, 30(1): 96-103. ZHU Z Y, WEI Y J, HE Z H. Research progress of hormone drugs and detection technology in feed[J]. *Chemical Analysis and Meterage*, 2021, 30(1): 96-103.
- [2] DOUGLAS P, ROBERTSON S, GAY R, et al. A systematic review of the public health risk of bioaerosols from intensive farming[J]. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2018, 221(2): 134-173.
- [3] LEE B, KULLMAN S W, YOST E E, et al. An object-oriented Bayesian network approach for establishing swine manure-borne natural estrogenic compounds budget[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 639: 815-825.
- [4] TAO H Y, ZHANG J, SHI J, et al. Occurrence and emission of phthalates, bisphenol A, and oestrogenic compounds in concentrated animal feeding operations in southern China[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 207: 111521.
- [5] 余薇薇,朱家悦,陈垚,等. 集约化养殖场中类固醇雌激素的环境行为与处理途径[J]. 环境工程, 2017, 35(3): 174-178. YU W W, ZHU J Y, CHEN Y, et al. Research advances in environmental behavior and treatments of steroid estrogens in intensive farm[J]. *Environmental Engineering*, 2017, 35(3): 174-178.
- [6] KHANAL S K, XIE B, THOMPSON M L, et al. Fate, transport, and biodegradation of natural estrogens in the environment and engineered systems[J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(21): 6537-6546.
- [7] 胡双庆,袁哲军,沈根祥. 典型畜禽粪污中雌激素排放特征[J]. 环境科学研究, 2020, 33(1): 227-234. HU S Q, YUAN Z J, SHEN G X. Characteristics of estrogen in typical livestock and poultry waste[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2020, 33(1): 227-234.
- [8] BERTIN A, DAMIENS G, CASTILLO D, et al. Developmental instability is associated with estrogenic endocrine disruption in the Chilean native fish species, *Trichomycterus areolatus*[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 714: 136638.
- [9] LI M, SUN L, WANG D. Roles of estrogens in fish sexual plasticity and

- sex differentiation[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2019, 277:9–16.
- [10] 田琳, 张珣. 雌酮胁迫农田土壤微生物群落结构变化研究[J]. 生物技术通报, 2017, 33(6):230–236. TIAN L, ZHANG X. Study on the changes of soil microbial community structure in farmland by estrone stress[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2017, 33(6):230–236.
- [11] CZARNY K, SZCZUKOCKI D, KRAWCZYK B, et al. The impact of estrogens on aquatic organisms and methods for their determination [J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2017, 47(11):909–963.
- [12] ZHAO X, GRIMES K L, COLOSI L M, et al. Attenuation, transport, and management of estrogens: A review[J]. *Chemosphere*, 2019, 230:462–478.
- [13] 欧阳彤, 涂保华, 李乔, 等. 多级AO+潜流湿地对生活污水中的EDCs及常规污染物的去除试验研究[J]. 土木与环境工程学报, 2020, 42(3):156–164. OUYANG T, TU B H, LI Q, et al. Experimental study on the removal of EDCs and conventional pollutants in domestic sewage by multi-stage AO+ subsurface flow constructed wetland[J]. *Journal of Civil and Environmental Engineering*, 2020, 42(3):156–164.
- [14] SUN S, ABDELLAH Y A Y, MIAO L, et al. Impact of microbial inoculants combined with humic acid on the fate of estrogens during pig manure composting under low-temperature conditions[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 424:127713.
- [15] 韩进, 程鹏飞, 周贤, 等. 畜禽粪便堆肥过程中雌激素降解特征[J]. 农业资源与环境学报, 2019, 36(5):679–686. HAN J, CHENG P F, ZHOU X, et al. Characteristics of estrogen degradation in livestock manures during composting[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2019, 36(5):679–686.
- [16] 王真. 奶牛场粪污还田雌激素类物质的污染特征和环境风险研究[D]. 上海:华东理工大学, 2020:11–17. WANG Z. Pollution characteristics and environmental risk of estrogen in the process of returning field of dairy farm manure and sewage[D]. Shanghai: East China University of Science and Technology, 2020:11–17.
- [17] 刘敏. 畜禽粪便土地利用中典型内固醇雌激素的分析和降解研究[D]. 广州:暨南大学, 2011:42–53. LIU M. The study on analysis and degradation of typical steroid estrogens in animal waste during land use[D]. Guangzhou: Jinan University, 2011:42–53.
- [18] CHEN W, WESTERHOFF P, LEENHEER J A, et al. Fluorescence excitation–emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter[J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(24):5701–5710.
- [19] CHANG J Y, NARINDRI R W B, HSUEH H, et al. Nitrogen and 17 β -Estradiol level regulate *Thermosynechococcus* sp. CL-1 carbon dioxide fixation, monosaccharide production, and estrogen degradation [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 336:125313.
- [20] MA L, YATES S R. Dissolved organic matter and estrogen interactions regulate estrogen removal in the aqueous environment: A review [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 640/641:529–542.
- [21] LEE J H, ZHOU J L, KIM S D. Effects of biodegradation and sorption by humic acid on the estrogenicity of 17 β -estradiol[J]. *Chemosphere*, 2011, 85(8):1383–1389.
- [22] YE X, PENG T, FENG J, et al. A novel dehydrogenase 17 β -HSDx from *Rhodococcus* sp. P14 with potential application in bioremediation of steroids contaminated environment[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 362:170–177.
- [23] YU C P, DEEB R A, CHU K H. Microbial degradation of steroidal estrogens[J]. *Chemosphere*, 2013, 91(9):1225–1235.
- [24] 余薇薇, 孙尉哲, 杜邦昊, 等. 集约化奶牛场沼液沼灌区类固醇雌激素定量分析[J]. 农业工程学报, 2021, 37(5):241–247. YU W W, SUN W Z, DU B H, et al. Detection and variation of steroidal estrogens in intensive dairy farm marsh irrigation areas[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2021, 37(5):241–247.
- [25] ZHANG Y, SNOW D D, BARTELT–HUNT S L. Stereoselective degradation of estradiol and trenbolone isomers in alluvial sediment[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(24):13256–13264.
- [26] DELLA G M, PINTO G, PISTILLO P, et al. Biotransformation of ethinylestradiol by microalgae[J]. *Chemosphere*, 2008, 70(11):2047–2053.
- [27] BAI L L, LIU X, HU A K, et al. Microbial processing of autochthonous organic matter controls the biodegradation of 17 α -ethinylestradiol in lake sediments under anoxic conditions[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 296:118760.
- [28] ZENG Q L, LI Y M, GU G W. Nitrate-dependent degradation of 17 α -ethinylestradiol by acclimated activated sludge under anaerobic conditions[J]. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2009, 84:1841–1847.
- [29] ZHANG C, LI Y, WANG C, et al. Occurrence of endocrine disrupting compounds in aqueous environment and their bacterial degradation: A review[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2016, 46(1):1–59.
- [30] LIU S, GAO H B, DONG Q, et al. Bacteria are better predictive biomarkers of environmental estrogen transmission than fungi[J]. *Environmental Pollution*, 2022, 298:118838.
- [31] 潘梦, 叶健强, 康润敏, 等. 宏基因组法研究不同堆肥处理下猪粪微生物动态结构特征[J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48(7):2671–2684. PAN M, YE J Q, KANG R M, et al. Study on the characteristics of microbial diversity in swine manure of different treatments during fermentation by metagenomics sequencing[J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2021, 48(7):2671–2684.
- [32] HU M, WANG X, WEN X, et al. Microbial community structures in different wastewater treatment plants as revealed by 454-pyrosequencing analysis[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 117(10):72–79.
- [33] 田克俭, 孟繁星, 霍洪亮. 环境雌激素的微生物降解[J]. 微生物学报, 2019, 59(3):442–453. TIAN K J, MENG F X, HUO H L. Microbial degradation of environmental estrogens[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2019, 59(3):442–453.
- [34] 孔德望, 张克强, 房芳, 等. 猪粪厌氧发酵消化液回流体系微生物群落结构特征与产气关系研究[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(3):559–566. KONG D W, ZHANG K Q, FANG F, et al. Study of microbial community and biogas production in anaerobic digestion of

- pig manure with digested slurry recirculation[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(3):559-566.
- [35] 张蕾, 梁军锋, 崔文文, 等. 规模化秸秆沼气发酵反应器中微生物群落特征[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(3):584-592. ZHANG L, LIANG J F, CUI W W, et al. Characteristics of microbial communities in full-scale biogas digesters with straw as substrate[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(3):584-592.
- [36] LI J, RUI J, YAO M, et al. Substrate type and free ammonia determine bacterial community structure in full-scale mesophilic anaerobic digesters treating cattle or swine manure[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6(597):1337.
- [37] BAI L L, JU Q, WANG C L, et al. Responses of steroid estrogen biodegradation to cyanobacterial organic matter biodegradability in the water column of a eutrophic lake[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 805:150058.
- [38] ZHENG J J, HU M, ZHU L. Removal behaviors of aerobic granular sludge on estrogens: Adsorption kinetics and removal mechanism[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2021, 44:102410.
- [39] HOLMES D E, NEVIN K P, WOODARD T L, et al. *Prolixibacter bel-lariivorans* gen. nov., sp. nov., a sugar-fermenting, psychrotolerant anaerobe of the phylum *Bacteroidetes*, isolated from a marine-sediment fuel cell[J]. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*, 2007, 57(4):701-707.
- [40] 殷泽禄, 万虎. 大肠杆菌的研究综述[J]. 甘肃畜牧兽医, 2019, 49(5):33-35. YIN Z L, WAN H. Review of escherichia coli research [J]. *Gansu Animal Husbandry and Veterinary*, 2019, 49(5):33-35.
- [41] PAUL A L. 梭菌属分类研究进展: 现状和展望[J]. 微生物学通报, 2016, 43(5):1070-1074. PAUL A L. The taxonomy of the genus *Clostridium*: Current status and future perspectives[J]. *Microbiology China*, 2016, 43(5):1070-1074.
- [42] DENG Y, GUO X, WANG Y W, et al. *Terrisporobacter petrolearius* sp nov., isolated from an oilfield petroleum reservoir[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2015, 65:3522-3526.
- [43] BUDELI P, EKWANZALA M, UNUOFIN J O, et al. Endocrine disruptive estrogens in wastewater: Revisiting bacterial degradation and zymoremediation[J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2021, 21:101248.
- [44] VILLEMUR R, CUNHA DOS S S C, OUELLETTE J, et al. Biodegradation of endocrine disruptors in solid-liquid two-phase partitioning systems by enrichment cultures[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(15):4701-4711.
- [45] 张颖, 杨悦, 韦庆慧, 等. 鞘氨醇单胞菌的特性及应用研究进展[J]. 化学与生物工程, 2021, 38(3):6-13. ZHANG Y, YANG Y, WEI Q H, et al. Research progress in characteristic and application of sphingomonas[J]. *Chemistry & Bioengineering*, 2021, 38(3):6-13.
- [46] CUI H, OU Y, WANG L, et al. Critical passivation mechanisms on heavy metals during aerobic composting with different grain-size zeolite[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 406:124313.
- [47] ZHU L, QI H Y, LÜ M L, et al. Component analysis of extracellular polymeric substances (EPS) during aerobic sludge granulation using FTIR and 3D-EEM technologies[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 124:455-459.
- [48] 李铁, 宫兴隆, 郭敬阳, 等. 不同预处理玉米秸秆对猪粪厌氧发酵重金属钝化效果[J]. 农业工程学报, 2020, 36(11):254-260. LI Y, GONG X L, GUO J Y, et al. Effects of various pretreated maize stovers on the passivation of cadmium by anaerobic fermentation of pig manure[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2020, 36(11):254-260.
- [49] NGHIEM L D, MANIS A, SOLDENHOFF K, et al. Estrogenic hormone removal from wastewater using NF/RO membranes[J]. *Journal of Membrane Science*, 2004, 242(1):37-45.
- [50] 陈栋, 毕学军. 类固醇雌激素在活性污泥系统中去除研究进展[J]. 青岛理工大学学报, 2014, 35(4):76-82. CHEN D, BI X J. Research progress of removal of steroid estrogen in activated sludge system[J]. *Journal of Qingdao University of Technology*, 2014, 35(4):76-82.
- [51] D'ASCENZO G, DICORCIA A, GENTILI A, et al. Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities[J]. *Science of the Total Environment*, 2003, 302(1):199-209.
- [52] NEALE P A, ESCHER B I, LEUSCH F D. Understanding the implications of dissolved organic carbon when assessing antagonism in vitro: An example with an estrogen receptor assay[J]. *Chemosphere*, 2015, 135:341-346.
- [53] LIU R, WILDING A, HIBBERD A, et al. Partition of endocrine-disrupting chemicals between colloids and dissolved phase as determined by cross-flow ultrafiltration[J]. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(8):2753-2761.
- [54] CHIN Y P, AIKEN G, O'LOUGHLIN E. Molecular weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances[J]. *Environmental Science & Technology*, 1994, 28(11):1853-1858.
- [55] JIN X, HU J Y, ONG S L. Influence of dissolved organic matter on estrone removal by NF membranes and the role of their structures[J]. *Water Research*, 2007, 41(14):3077-3088.
- [56] YAMAMOTO H, LILJESTRAND H M, SHIMIZU Y, et al. Effects of physical-chemical characteristics on the sorption of selected endocrine disruptors by dissolved organic matter surrogates[J]. *Environmental Science and Technology*, 2003, 37(12):2646-2657.
- [57] KURISU F, OGURA M, SAITOH S, et al. Degradation of natural estrogen and identification of the metabolites produced by soil isolates of *Rhodococcus* sp. and *Sphingomonas* sp.[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2010, 109(6):576-582.
- [58] YOSHIMOTO T, NAGAI F, FUJIMOTO J, et al. Degradation of estrogens by rhodococcus zopfii and rhodococcus equi isolates from activated sludge in wastewater treatment plants[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(9):5283-5289.

(责任编辑:朱晓昱)