

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 Jin, CHENG Peng-fei, ZHOU Xian, et al. Characteristics of estrogen degradation in livestock manures during composting[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2019, 36(5): 679-686.

畜禽粪便堆肥过程中雌激素降解特征

韩 进^{1,2}, 程鹏飞¹, 周 贤¹, 王 建¹, 凌婉婷^{1*}

(1.南京农业大学土壤有机污染控制与修复研究所, 南京 210095; 2.苏州建邦环境修复有限责任公司, 江苏 苏州 215000)

摘 要:为探究畜禽粪便堆肥过程中雌激素降解特征,测定了南京附近养殖场的鸡粪、猪粪、牛粪中天然雌激素雌三醇(E3)、17 β -雌二醇(17 β -E2)和人工合成雌激素炔雌醇(E2)、双酚A(BPA)含量。对三种粪便进行堆肥实验,测定了堆肥0、2、4、8、16 d和32 d时四种雌激素的浓度;并以牛粪为代表,对堆体进行不翻堆、两日一翻堆和一日两翻堆处理,研究了翻堆对堆肥过程中雌激素降解的影响。结果表明,三种畜禽粪便均含有较高浓度的天然雌激素,鸡粪和牛粪还含有人工合成雌激素,而鸡粪、猪粪、牛粪中雌激素的活性当量浓度EEQ值分别为3 595.86、268.84、1 207.12 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,存在较大的雌激素污染风险;在堆肥32 d,鸡粪、猪粪、牛粪的EEQ残留率分别为10.1%、10.6%、0,堆肥处理很大程度上降低了雌激素污染风险。当畜禽粪便中多种雌激素共存时,雌激素降解受初始浓度影响显著,浓度高者具有较大的降解速率。雌激素降解速率随堆体内微生物活动发生改变,堆肥中期微生物活动最为活跃,雌激素降解速率高于堆肥前期和后期。对牛粪堆肥进行翻堆处理,增加了堆体内氧气含量,雌激素降解明显加快,翻堆有利于提高堆肥效果。而两日一翻堆和一日两翻堆中雌激素降解无明显差异,增加翻堆次数并不能显著提高堆肥效果。

关键词:鸡粪;猪粪;牛粪;堆肥;雌激素;降解

中图分类号:X713

文献标志码:A

文章编号:2095-6819(2019)05-0679-08

doi: 10.13254/j.jare.2018.0346

Characteristics of estrogen degradation in livestock manures during composting

HAN Jin^{1,2}, CHENG Peng-fei¹, ZHOU Xian¹, WANG Jian¹, LING Wan-ting^{1*}

(1.Institute of Organic Contaminant Control and Soil Remediation, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2.Suzhou Built State Environmental Restoration Co., Ltd., Suzhou 215000, China)

Abstract: The aim of this work was to investigate the characteristics of estrogen degradation in livestock manures during composting. Natural estrogens containing estriol (E3) and 17 β -estradiol (17 β -E2), were detected in chicken, pig, and cow manures from farms in Nanjing. The synthetic estrogen, containing ethinyloestradiol (EE2) and bisphenol A (BPA), were also detected. Experimental composting of three livestock manures was conducted, and the concentrations of four estrogens were detected at 0, 2, 4, 8, 16 days, and 32 days. Cow manure, as a representative of all manures, was composted under different turning frequencies (i.e., never turned, turned once every two days, and turned twice every day) to study the impact of turning frequency on estrogen degradation. The results showed a high concentration of native estrogens detected in all three livestock manures. Chicken and cow manures contained synthetic estrogen. The EEQ values of estrogen in chicken, pig, and cow manures were 3 595.86, 268.84 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, and 1 207.12 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, respectively. A high contamination risk existed in all three livestock manures. The residual rates of EEQ in chicken, pig, and cow manures were 10.1%, 10.6%, and 0 after 32 d of composting, which showed that composting could significantly reduce the risk of estrogen contamination. The initial concentration of estrogen had a significant impact on their degradation when various estrogens were detected in livestock manures. The estrogen with the highest concentration degraded faster than other estrogens. Furthermore, estrogen degradation changed with microbial activity in the manure piles. Microbial activity was most active during the mid-stage of composting, and the degradation rate of estrogens was higher during this period than during the early and later stages. Turning the cow manure pile increased its oxygen content, which significantly accelerated estrogen degradation.

收稿日期:2018-12-03 录用日期:2019-01-18

作者简介:韩 进(1986—),男,江苏淮安人,工程师,主要从事环境污染控制与修复研究。E-mail: njauhanjin@126.com

*通信作者:凌婉婷 E-mail: lingwanting@njau.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金项目(41771523,41977121)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(41771523,41977121)

Thus, turning the manure pile during composting was effective. However, there was little difference in rate of estrogen degradation between turning once every two days and turning twice per day, and the increase in turning frequency did not significantly influence manure composting.

Keywords: chicken manure; pig manure; cow manure; composting; estrogen; degradation

雌激素是一种内分泌系统产生的女性荷尔蒙,它与人类的生殖、骨骼以及大脑的发育密切相关^[1]。但排入环境中的雌激素能够通过模拟、干扰或对抗机体内生激素原有的正常合成和释放,从而破坏自身内分泌系统的平衡和正常调节作用。环境中的雌激素包括天然雌激素和人工合成雌激素^[2]。雌二醇(E2)、雌三醇(E3)等天然雌激素可通过动物自身分泌产生,炔雌醇(EE2)、双酚A(BPA)等人工合成雌激素均通过化学合成产生^[3-4]。畜禽粪便被认为是环境中雌激素的主要来源,畜禽粪便及其周围土壤、污水中已检测出天然雌激素和人工合成雌激素^[4-5]。现行的畜禽粪便处理方式主要为短期内简单堆置之后施用到农田^[6-7]。然而研究表明,雌激素在自然环境中降解效率非常低,畜禽粪便中雌激素的残存效应风险很大^[8-10]。如何去除畜禽粪便中雌激素已成为当前该领域研究的一个重点。

堆肥法是目前处理有机固体废弃物的有效方法,已广泛应用于营养物、兽药和抗生素降解的研究^[11-15]。目前,有关堆肥过程畜禽粪便中雌激素降解研究主要集中于天然雌激素^[16-18]。王代懿等^[16]采用微型试管堆肥法模拟牛粪中雌激素降解,发现堆肥过程中天然雌激含量大幅降低,其中17 β -雌二醇(17 β -E2)去除率达100%。郑溪^[17]以牛粪和稻草为原料进行堆肥时发现17 β -E2、E3能够快速降解。而对堆肥过程中人工合成雌激EE2、BPA降解鲜有报道^[19-20]。但在实际畜禽粪便中常同时检出两类雌激素,开展畜禽粪便中天然雌激素和人工雌激素研究,对评估雌激素污染程度和迁移转化具有重要意义。

本文采集了南京附近养殖场的鸡粪、猪粪、牛粪,

对其天然雌激素E3、17 β -E2和人工合成雌激素EE2、BPA含量进行了测定。采用鸡粪、猪粪、牛粪为堆肥原料,着重研究了堆肥效果及四种雌激素降解特征,并以牛粪堆肥为代表分析了不同翻堆频率对堆肥过程中雌激素降解的影响,以阐释畜禽粪便激素污染特征和堆肥降解特征,为雌激素风险防控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 标准品及堆肥原料

雌三醇(E3, 98%)、17 β -雌二醇(17 β -E2, 98%)、双酚A(BPA, 99%)标准品均购自上海晶纯试剂有限公司,炔雌醇(EE2, 99%)标准品购自美国Sigma公司。四种雌激素理化性质见表1。甲醇(色谱纯)、乙酸乙酯(分析纯)和乙腈(色谱纯)购自南京化学试剂股份有限公司。

堆肥原料是新鲜的鸡粪、猪粪、牛粪,采自南京三个养殖场。在每个养殖场的不同位置采集3份当日排泄的新鲜粪便样品并混合,用黑色塑料袋进行密封,运回实验室。大部分粪便样品用于堆肥,少量样品进行冷冻干燥处理。冻干后的粪便样品用研钵研磨,过20目筛后避光、冷冻保存待用。选用南京市某大学校园树叶作为堆肥原料的调理剂。烘干法测定粪便和树叶含水量,采用《有机肥料》(NY 525—2012)对粪便、树叶样品中有机质、氮、磷和钾等的测定方法进行检测。堆肥原料理化性质见表2。

1.2 堆肥方案

树叶取回后采用粉碎机打碎至2~5 mm,分别与鸡粪、猪粪、牛粪充分混合,控制堆体的初始碳氮比为30:1左右。加水,使堆体的水分含量保持在60%左

表1 四种雌激素的理化性质^[21-22]

Table 1 Physical and chemical properties of four estrogens^[21-22]

雌激素 Estrogen	分子量 Molecular weight/g·mol ⁻¹	pK _a	lgK _{ow}	溶解度 Solubility/mg·L ⁻¹	蒸汽压 Vapor pressure/Pa	EEF
E3	288.4	10.4	2.60	13	6.7×10 ⁻⁵	0.26
17 β -E2	272.0	10.5	4.15	4.8	2.3×10 ⁻³	1.00
BPA	228.3	10.7	3.94	13	4.0×10 ⁻⁸	0.05
EE2	296.4	11.3	3.64	120	4.5×10 ⁻¹¹	8.71

注:EEF为不同雌激素相对于17 β -E2的活性当量系数。

Note:EEF is the activity equivalent coefficient of different estrogens relative to 17 β -E2.

表2 堆肥原料理化性质
Table 2 Physical and chemical properties of the composting raw materials

原料 Raw materials	含水率 Water content/%	N/%	P/%	K/%	有机质 Organic matter/%
鸡粪 Chicken manure	74.27±1.50	2.78±0.04	3.90±0.10	3.29±0.12	55.20±1.20
猪粪 Pig manure	73.52±1.85	2.27±0.04	4.96±0.08	0.56±0.01	70.59±1.20
牛粪 Cow manure	75.87±2.10	1.84±0.02	1.10±0.05	0.99±0.01	82.49±1.45
树叶 Leaf	10.24±0.14	1.14±0.02	0.24±0.01	6.30±0.25	92.12±1.52

右。建成1 m×1 m×1.2 m的堆体,表面覆盖塑料膜,防止水分过量蒸发。通过人工翻堆自然通风供给氧气。鸡粪、猪粪、牛粪堆肥翻堆频率为每日翻堆两次,牛粪堆肥还设置了不翻堆、两日一翻堆两组处理实验。在每日10:00、14:00、20:00,将温度计插入距堆体顶端70 cm中心处测定温度,取其平均值为当日堆体温度。堆肥的第1、2、4、8、16、32 d,采集并检测各堆肥处理样品中四种雌激素残留率,每种处理均设置3次重复。

1.3 雌激素检测方法

本实验采用超声提取(UE)-固相萃取净化(SPE)-高效液相色谱(HPLC/FLD)法^[23]检测畜禽粪便中雌激素含量。称取冷冻干燥并经研钵研磨后过20目筛的(1.00±0.01) g粪便样品于30 mL的玻璃离心管中,然后加入1.00 mL的雌激素(空白组加入等量的甲醇)混合标准溶液(1 mg·L⁻¹),混合均匀后放置12 h,再加入20 mL提取剂(乙酸乙酯),涡旋30 s后超声提取30 min,并以4500 r·min⁻¹离心30 min,上清液转入另一离心管,重复提取1次,合并2次提取液,以4500 r·min⁻¹离心20 min,取上清液在40℃的恒温水浴下氮气缓慢吹干,用甲醇溶解、超纯水稀释至50 mL容量瓶中待用。每次试验分别做三个平行。

自制C18固相萃取柱(200 mg/6 mL),用5.00 mL甲醇和5.00 mL超纯水活化,然后将提取后的样品溶液控制流速3~5 mL·min⁻¹过固相萃取柱,用5.00 mL超纯水淋洗柱体并继续抽吸3.0 min,淋洗后的萃取柱用15.00 mL体积比为1:1的甲醇和乙酸乙酯混合液洗脱,洗脱液收集至小试管中。将小试管置于40℃的恒温水浴下氮气缓慢吹干,然后加入甲醇溶液涡旋混合将附着物重新溶解至2.00 mL,过0.22 μm孔径滤膜后,HPLC/FLD分析。色谱条件:色谱柱为Inertsil ODS-SP-C18(150 mm×4.6 mm,5 μm);流动相为甲醇/乙腈/水(体积比为20:30:50);流速0.80 mL·min⁻¹;柱温40℃;进样量20 μL;荧光检测器波长采用波长切换,切换方式如下,0~5.0 min激发/发射波长为300/450 nm,5.0~6.1 min激发/发射波长为280/

310 nm,6.1~10.0 min激发/发射波长为300/450 nm,10.0 min之后激发/发射波长为280/310 nm。

所建立分析方法的线性范围为1.00~1 000.00 μg·L⁻¹,且相关性良好($r>0.999\ 5$)。E3、17β-E2、BPA和EE2的加标回收率为75.1%~104.6%(RSD=1.5%~5.3%)、81.0%~117.0%(RSD=1.7%~5.7%)、78.6%~100.8%(RSD=0.6%~2.1%)和79.3%~88.4%(RSD=1.4%~5.0%),检出限分别为3.35、2.13、5.01、1.12 μg·kg⁻¹。

1.4 统计与分析

数据经Excel 2013预处理后用SPSS 20.0单因素方差分析(One-way ANOVA)中的最小显著性差异法(LSD)进行不同处理间各项指标的显著性差异检验, $P<0.05$ 视为统计学上具有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 畜禽粪便中雌激素种类和含量特征

新鲜鸡粪、猪粪、牛粪样品中雌激素E3、17β-E2、EE2和BPA含量结果如表3所示。三种粪便中均检测出高含量的天然雌激素17β-E2,鸡粪和猪粪中还检测出天然雌激素E3。但牛粪中未检测出天然雌激素E3,因E3主要残留在牛的尿液中。此外,鸡粪中检测出人工合成雌激素EE2,而牛粪中不仅检测出EE2还有人工合成雌激素BPA。由于不同雌激素活性不同,研究中常用17β-E2活性当量(EEQ)表征样品中总雌激素当量浓度^[24],见式(1):

$$EEQ = \sum_{i=1}^n C_i \times EEF_i \quad (1)$$

式中:EEQ为畜禽粪便中17β-E2活性当量浓度,μg·kg⁻¹;C_i为各雌激素浓度,μg·kg⁻¹;EEF_i为不同雌激素的17β-E2活性当量系数(表1)。三种新鲜畜禽粪便中雌激素EEQ大小顺序为鸡粪(3 595.86 μg·kg⁻¹)>牛粪(1 207.12 μg·kg⁻¹)>猪粪(268.84 μg·kg⁻¹)。选用的三种粪便中雌激素活性较高,对周围环境存在一定威胁,应引起重视。EE2的活性当量系数为8.71,具有很高的活性,使用含有EE2的药物、饲料,将大幅度

表3 堆肥前后3种畜禽粪便样品中雌激素含量

Table 3 The estrogen concentration in three livestock manures before and after composting

雌激素 Estrogen	鸡粪 Chicken manure			猪粪 Pig manure			牛粪 Cow manure		
	堆肥前 Before composting/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	堆肥后 After composting/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	残留率 Residual rate/%	堆肥前 Before composting/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	堆肥后 After composting/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	残留率 Residual rate/%	堆肥前 Before composting/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	堆肥后 After composting/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	残留率 Residual rate/%
17 β -E2	297.29 $\pm$ 47.56	134.62 $\pm$ 14.83	45.5 $\pm$ 5.0	252.00 $\pm$ 25.08	22.17.00 $\pm$ 0.69	8.8 $\pm$ 0.3	109.14 $\pm$ 10.52	ND	0
E3	769.18 $\pm$ 129.45	76.54 $\pm$ 12.08	10.0 $\pm$ 1.6	66.88 $\pm$ 7.34	24.27 $\pm$ 0.66	36.3 $\pm$ 1.0	ND	ND	0
EE2	355.75 $\pm$ 35.50	24.00 $\pm$ 0.14	6.7 $\pm$ 0.4	ND	ND	0	126.00 $\pm$ 11.47	ND	0
BPA	ND	ND	0	ND	ND	0	12.46 $\pm$ 0.84	ND	0
EEQ	3 595.86 $\pm$ 390.42	363.92 $\pm$ 19.19	10.1 $\pm$ 0.5	268.84 $\pm$ 26.99	28.48 $\pm$ 0.86	10.6 $\pm$ 0.3	1 207.12 $\pm$ 110.42	0	0

注:EEQ为17 β -E2活性当量浓度;ND表示未检出或低于检出限。

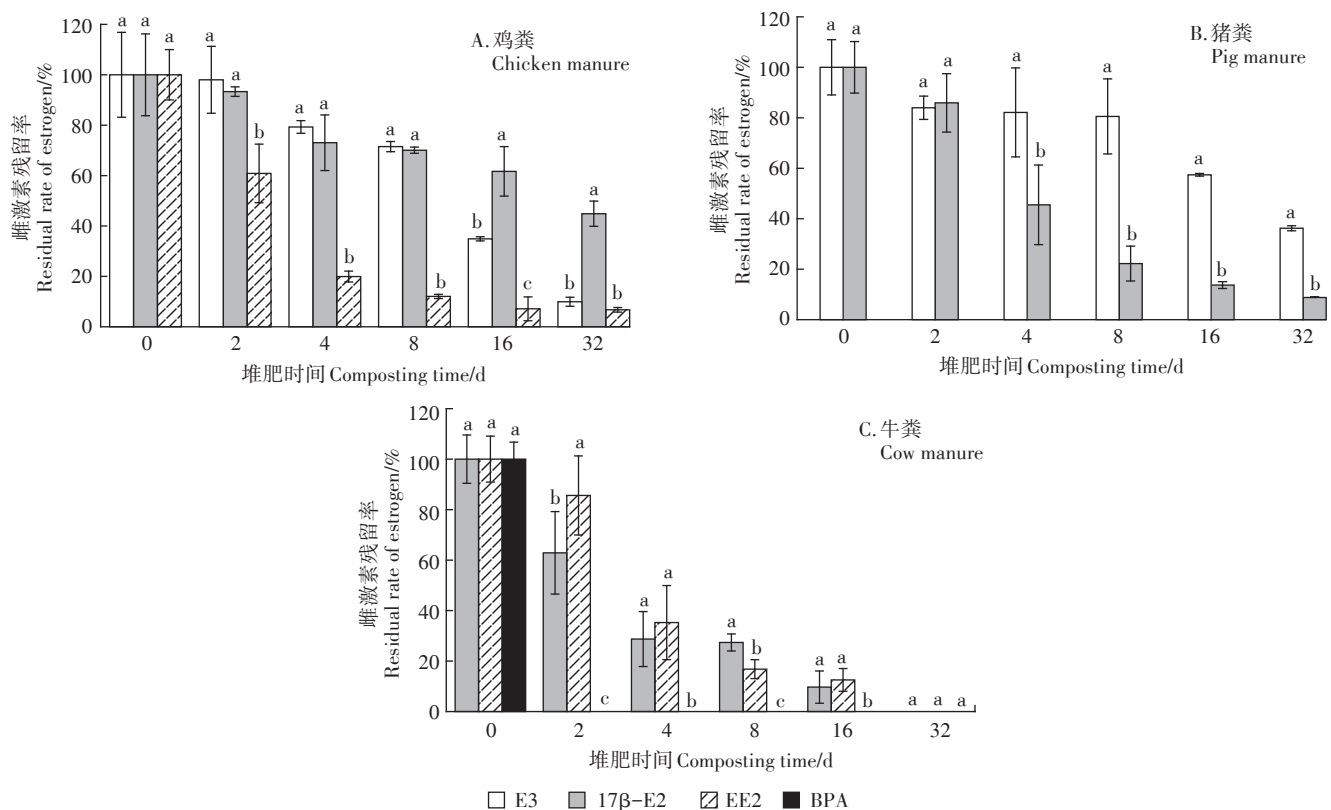
Note:EEQ is the activity equivalent concentration relative to 17 β -E2; ND represent not detected or under detection limit.

增加畜禽粪便中雌激素的活性。

2.2 堆肥过程中畜禽粪便雌激素含量变化

三种粪便堆肥32 d雌激素残留率变化如图1所示。鸡粪中E3、17 β -E2、EE2在堆肥32 d残留率为10.0%、45.5%、6.7%,EE2和E3降解速率大于17 β -E2。而猪粪中17 β -E2、E3在堆肥32 d时残留率分别为8.8%和36.3%,17 β -E2降解速率大于E3。牛粪中17 β -E2、EE2在堆肥16 d时残留率分别为9.7%、

12.6%,降解速率相差不大。三种畜禽粪便堆肥过程中堆体温度及总雌激素残留率变化如图2所示。三种堆体的温度在堆肥第3 d均达到50℃以上,维持到第16 d之后开始下降,逐渐接近环境温度。根据《粪便无害化卫生标准》(GB 7959—2012)规定,堆肥温度大于等于50℃并维持10 d以上,才能能够达到粪便无害化卫生标准。显然,本文中三种畜禽粪便经堆肥后均达到了无害化要求。在堆肥第2 d时,鸡粪、猪



同一堆肥时间下不同字母表示各雌激素间差异显著($P < 0.05$)。下同

The different letters at the same time indicate significant difference($P < 0.05$). The same below

图1 堆肥过程中鸡粪、猪粪和牛粪中雌激素残留率变化

Figure 1 Change of residual rate of estrogen in chicken, pig and cow manures during composting

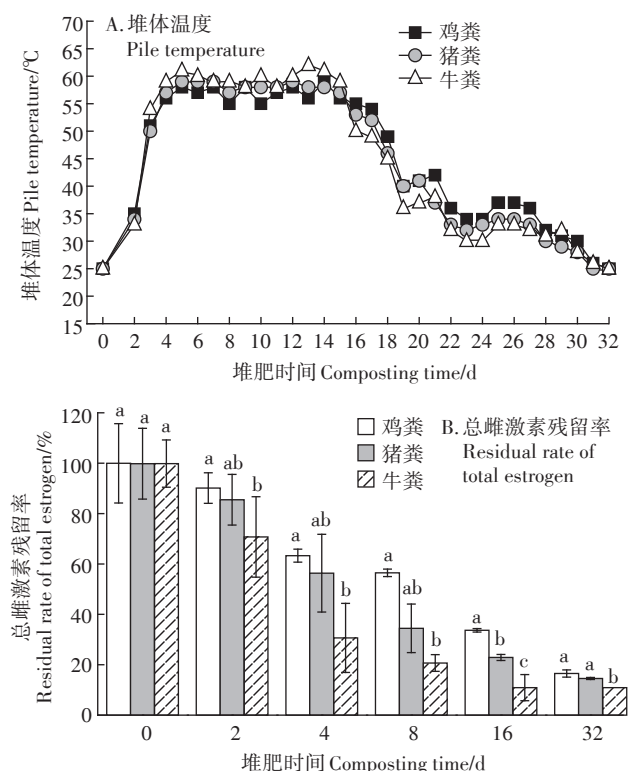


图2 三种畜禽粪便堆肥过程中堆体温度及总雌激素残留率变化
Figure 2 Change of pile temperature and residual rate of estrogen total in three livestock manures during composting

粪、牛粪中总雌激素残留率分别为90.1%、85.50%和70.7%,而第4 d残留率分别为63.3%、56.4%、30.7%,前2 d雌激素降解速率明显比较缓慢。鸡粪、猪粪在第16 d总雌激素残留率分别为33.7%、22.9%,而第32 d残留率分别为16.5%和14.6%,堆肥后16 d雌激素降解速率明显减缓。不仅总雌激素,17 β -E2、E3和EE2均表现出阶段性变化(图1),在堆肥前期雌激素降解缓慢,堆肥中期雌激素降解较快,而后期降解速率又减缓。

2.3 堆肥对畜禽粪便中雌激素降解效果

堆肥32 d后,三种粪便中雌激素含量如表3所示。鸡粪中17 β -E2、E3和EE2含量分别为134.62、76.54、24.00 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,残留率分别为45.5%、10.0%和6.7%。猪粪中17 β -E2、E3含量分别为22.17、24.27 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,残留率分别为8.8%和36.3%。而牛粪中17 β -E2、EE2和BPA在堆肥32 d后均无残留。用17 β -E2活性当量EEQ表征粪便中总雌激素的活性值,在堆肥32 d后,鸡粪、猪粪、牛粪的EEQ值分别为363.92、28.48、0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,残留率分别为10.1%、10.6%、0。经过堆肥处理,三种粪便的总雌激素活性大幅降低,因此堆肥对降低雌激素污染具有较好的效果。

2.4 堆肥过程中翻堆频率对雌激素降解的影响

本实验对牛粪堆肥进行了不翻堆、两日翻一次、一日翻两次处理,雌激素降解结果如图3所示。在堆肥32 d,17 β -E2在三种处理下残留率分别为29.5%、0、0。翻堆与不翻堆对17 β -E2降解具有显著差异($P<0.05$),而两日翻一次和一日翻两次不具有显著差异($P>0.05$)。EE2在堆肥32 d均降解完全,翻堆与不翻堆无显著差异($P>0.05$)。BPA在堆肥32 d,在两个翻堆处理下均无残留,而不翻堆处理残留率仍高达58.1%,所以不翻堆与翻堆存在显著差异($P<0.05$),而翻堆频率对残留率无显著影响($P>0.05$)。在不翻堆、两日翻一次、一日翻两次处理下牛粪中总雌激素在堆肥32 d残留率为15.4%、0、0,所以不翻堆与翻堆存在显著差异($P<0.05$),而翻堆频率对残留率无显著影响($P>0.05$)。所以堆肥过程中翻堆有利于加快雌激素的降解,但增加翻堆次数并不能显著促进雌激素降解。

3 讨论

本研究三种畜禽粪便中均检测出高含量天然雌激素,三种畜禽粪便的17 β -E2高于Xu等^[7]报道的江苏省平均水平38.6 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,鸡粪中E3也高于平均水平289.8 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。而鸡粪和牛粪中还有人工合成雌激素存在,其中EE2对两者EEQ贡献率分别达86.2%、90.9%。因此,三种畜禽粪便存在较大的雌激素污染风险,需要引起足够重视,特别是人工合成雌激素。此外,目前畜禽养殖业污染物排放标准(GB 18596—2001)以及畜禽粪便还田技术规范(GB/T 25246—2010)均未涉及到雌激素指标。而欧盟关于污染物生态风险的安全系数设定,只针对水体中雌激素污染物设定了EEQ标准(1 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)^[16]。为强化雌激素污染监控和防治,在未来研究中有必要针对畜禽粪便中雌激素设定安全标准。

雌激素的种类、初始浓度、温度以及参与代谢的微生物种类都会影响雌激素降解^[25-26]。曾庆玲^[20]在活性污泥对17 β -E2、EE2降解研究中发现,17 β -E2降解速率远高于EE2。郑溪^[17]通过外加雌激素进行单一雌激素堆肥中降解特征研究,发现17 β -E2降解速率高于E3。而本研究结果显示,鸡粪中EE2和E3的降解速率均大于17 β -E2($P<0.05$)。结合三种雌激素的初始浓度发现,EE2、E3的初始浓度分别为355.75、769.18 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,均大于17 β -E2的297.29 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。同时,猪粪中17 β -E2、E3初始浓度分别为252.00、66.88 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,17 β -E2降解速率大于E3($P<0.05$)。牛粪中

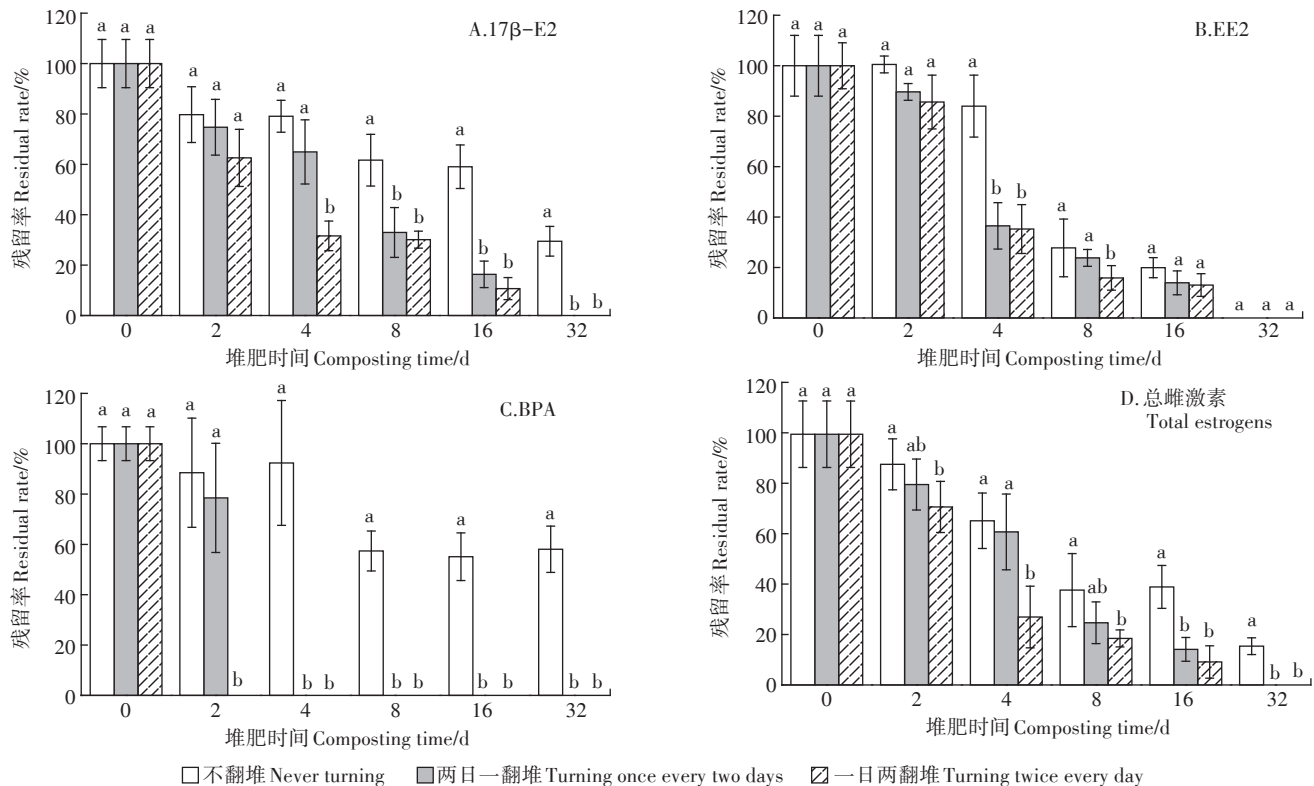


图3 牛粪堆肥过程中不同翻堆频率下17β-E2、EE2、BPA和总雌激素残留率的变化

Figure 3 Change of the residual rate of 17β-E2, EE2, BPA and total estrogens with different turning frequency during cow manures composting

17β-E2、EE2 初始浓度分别为 109.14、126.00 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 两者降解速率相差不大 ($P>0.05$)。以往研究体系采用单一雌激素,但在实际畜禽粪便中常同时检出多种雌激素,这些雌激素存在竞争降解。而本研究结果表明,在多种雌激素共存时,浓度显著影响了它们的降解速率。此外,本研究显示雌激素降解速率呈现阶段性变化,这种现象可能与堆体内微生物活动有关。因为堆肥过程中,雌激素可能发生挥发、水解、光解以及生物降解过程,但雌激素的蒸气压、溶解度非常小(表1),挥发和水解作用对雌激素的损失影响很小。而刘敏^[27]在研究畜禽粪便改良土壤中雌激素自然降解的影响因素时发现,黑暗和光照条件下雌激素降解并没有太大差异。而以雌激素为碳源的微生物代谢作用是堆肥过程中雌激素降解的重要途径^[28-29]。堆体内微生物活动与堆体温度有关,堆肥过程中的温度变化主要分为4个阶段:升温、高温、降温以及冷却腐熟阶段^[27]。在堆肥初期,堆体温度较低,微生物活动较弱,而3 d后堆体温度会升高到 50℃以上,堆体内微生物代谢增强。雌激素作为碳源被快速降解,相比其他阶段具有较高降解速率。微生物代谢释放大热量,高温维持到第16 d,所以雌激素快速降解持

续较长时间^[30]。随着堆肥的进行,微生物仅能利用有限的剩余养分进行新陈代谢,温度呈下降趋势。当堆体温度接近环境温度时,堆肥达到稳定腐熟。降温和冷却腐熟阶段,微生物活动较弱,雌激素降解减缓。刘敏^[27]和梁东丽等^[31]在做鸡粪、猪粪、牛粪堆肥实验时,均发现三种畜禽粪便在堆肥过程中温度变化基本呈现相似趋势,并无太大差异。

多数规模化养殖场对清理的粪便通常采用短期内简单堆置后施用到农田的处理方法。Zheng等^[6]报道,新鲜牛粪 17β-E2 含量为 153 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,自然放置 14 d后残留率为 24.18%。刘敏等^[3]将牛粪、猪粪、鸡粪投放到土壤中,自然降解 8 d后 E2 残留率分别为 50.08%、58.84%、54.92%。本研究新鲜猪粪、牛粪中 17β-E2 含量为 252.00 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 109.14 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,在堆肥 8 d时残留率为 22.2%和 27.4%,堆肥 16 d残留率为 13.7%和 9.7%,优于 Zheng等^[6]和刘敏等^[3]的自然放置和直接施到土壤的结果。鸡粪中 17β-E2 在堆肥 8 d和 16 d时残留率为 70.1%和 61.7%,相对较高,主要因为鸡粪中还含有较高含量的 E3和 EE2,两者会与 17β-E2 竞争降解。而刘敏等^[3]将牛粪、猪粪、鸡粪与树叶混合,放入培养箱中模拟堆肥实验,获得了

相似结果。在堆肥第14 d,鸡粪和猪粪E2残留率均小于25%,牛粪中E2残留率也只稍大于25%。因此,畜禽粪便经堆肥处理,雌激素含量低于自然堆置和直接施加到土壤,堆肥有利于降低雌激素污染风险。

本研究在堆肥过程中对堆体进行两日一翻堆处理后发现,相比于不翻堆,堆肥32 d时BPA、17 β -E2残留率分别由58.1%、29.5%降低到0.0。堆肥16 d时EE2降解数据显示,经过两天一翻堆处理,EE2残留率由20.0%降低到13.9%。因此,堆肥过程中通过翻堆可以提高雌激素降解速率。曾庆玲^[20]研究城市污水中雌激素降解时,发现17 β -E2降解速率常数在好氧条件下比厌氧条件下大15%左右,而EE2在好氧条件下比厌氧条件下大34%左右。张静等^[32]采用河流底泥作为菌源降解BPA,发现BPA在厌氧环境中不能被降解,而在好氧环境中能够被彻底降解。Stanford等^[33]对17 β -E2、E3、EE2在奶牛粪便厌氧消化过程中的降解规律展开研究,结果发现雌激素在厌氧条件下的生物降解速率远低于好氧条件下。因此,通过对堆体进行翻堆处理可以增加堆体中氧气含量,好氧菌增殖迅速,从而提高了雌激素的降解效率^[34]。但本研究中两日一翻堆和一日两翻堆处理的雌激素降解并无明显差异。主要因为翻堆频率过高,发酵中已升温的原料的散热量也增加,反而使发酵温度降低,不利于物料降解^[35]。因此,要根据堆肥原料设定适合的翻堆频率来改善堆肥效果。

4 结论

(1)三种畜禽粪便含有较高浓度的天然雌激素,鸡粪和牛粪还含有人工合成雌激素,而鸡粪、猪粪、牛粪的活性当量EEQ值分别为3 595.86、268.84、1 207.12 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,存在较大的雌激素污染风险。

(2)当畜禽粪便中多种雌激素共存时,雌激素降解受初始浓度影响显著,浓度高者具有较大的降解速率。雌激素降解速率随堆体内微生物活动发生改变,堆肥中期微生物活动最为活跃,雌激素降解速率高于堆肥前期和后期。

(3)在堆肥32 d,鸡粪、猪粪、牛粪EEQ残留率分别为10.1%、10.6%、0,堆肥处理很大程度上降低了雌激素污染风险。

(4)对牛粪堆肥进行翻堆处理,雌激素降解明显加快。因此,在堆肥基础上增加堆体内氧含量有利于提高堆肥效果。而两日一翻和一日两翻雌激素降解无明显差异,增加翻堆次数并不能显著提高堆肥

效果。

参考文献:

- [1] Tapiero H, Ba G N, Tew K D. Estrogens and environmental estrogens [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2002, 56(1):36-44.
- [2] Ying G G, Kookana R S, Ru Y J. Occurrence and fate of hormone steroids in the environment[J]. *Environment International*, 2002, 28(6):545-551.
- [3] 刘敏,岳波,尹平河,等. 畜禽粪便改良土壤中E1和E2自然降解的影响因素[J]. 环境科学研究, 2011, 24(10):1166-1171.
LIU Min, YUE Bo, YIN Ping-he, et al. Factors influencing the natural degradation of E1 (Estrone) and E2 (17 β -Estradiol) in soils amended by animal manure[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2011, 24(10):1166-1171.
- [4] Pan B, Lin D, Mashayekhi H, et al. Adsorption and hysteresis of bisphenol A and 17 α -ethinyl estradiol on carbon nanomaterials[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(15):5480-5485.
- [5] 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.
- [6] Zheng W, Yates S R, Bradford S A. Analysis of steroid hormones in a typical dairy waste disposal system[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(2):530-535.
- [7] Xu P C, Zhou X, Xu D F, et al. Contamination and risk assessment of estrogens in livestock manure: A case study in Jiangsu Province, China [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2018, 15(1):125.
- [8] Scherr F F, Sarmah A K, Di H J, et al. Degradation and metabolite formation of 17-estradiol-3-sulphate in New Zealand pasture soils[J]. *Environment International*, 2009, 35(2):291-297.
- [9] Zhang H, Shi J, Liu X, et al. Occurrence of free estrogens, conjugated estrogens, and bisphenol A in fresh livestock excreta and their removal by composting in north China[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2014, 21(16):9939-9947.
- [10] 袁哲军,张洪昌,胡双庆,等. 上海典型畜禽场周边河流雌激素污染特征研究[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(8):1583-1589.
YUAN Zhe-jun, ZHANG Hong-chang, HU Shuang-qing, et al. Study on estrogen pollution characteristics of rivers around typical livestock and poultry farms in Shanghai[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(8):1583-1589.
- [11] Hanselman T A, Graetz D A, Wilkie A C. Manure-borne estrogens as potential environmental contaminants: A review[J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(24):5471-5478.
- [12] 雷平,刘标,尹红梅. 过磷酸钙在病死猪堆肥中保氮效果研究[J]. 农业资源与环境学报, 2017, 34(3):266-271.
LEI Ping, LIU Biao, YIN Hong-mei. Effects of calcium superphosphate additive on nitrogen conservation during dead-pig composting [J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2017, 34(3):266-271.
- [13] Derby N, Hakk H, Casey F X, et al. Effects of composting swine ma-

- nure on nutrients and estrogens[J]. *Soil Science*, 2011, 176(2):91-98.
- [14] Ramaswamy J, Prasher S O, Patel R M, et al. The effect of composting on the degradation of a veterinary pharmaceutical[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(7):2294-2299.
- [15] Kim K R, Owens G, Ok Y S, et al. Decline of extractable antibiotics in manure-based composts during composting[J]. *Waste Management*, 2011, 32(1):110-116.
- [16] 王代懿, 余 洋, 张丰松, 等. 堆肥方式和温度对牛粪堆肥过程中天然类固醇激素降解的影响[J]. *浙江农业学报*, 2017, 29(12):2104-2108.
WANG Dai-yi, YU Yang, ZHANG Feng-song, et al. Effects of composting temperature and manner on degradation of natural hormones during cattle manure composting[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2017, 29(12):2104-2108.
- [17] 郑 溪. 奶牛粪便中甾体雌激素污染特征调查及在堆肥过程中的降解行为研究[D]. 合肥:合肥工业大学, 2013.
ZHENG Xi. Occurrence of steroid estrogens in dairy feces and their fate during aerobic composting process[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2013.
- [18] 刘静娟, 刘 娟, 孙敏霞, 等. 抗生素对雌二醇降解菌JX-2降解性能的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2016, 35(8):1488-1497.
LIU Jing-xian, LIU Juan, SUN Min-xia, et al. Effects of antibiotics on the estradiol degradation by strain JX-2[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(8):1488-1497.
- [19] Layton A C, Gregory B W, Seward J R, et al. Mineralization of steroidal hormones by biosolids in wastewater treatment systems in Tennessee USA[J]. *Environmental Science & Technology*, 2000, 34(18):3925-3931.
- [20] 曾庆玲. 活性污泥法去除城市污水中雌激素E2与EE2的机理研究[D]. 上海:同济大学, 2007.
ZENG Qing-ling. Study on mechanism of removal of estrogen E2 and EE2 from municipal wastewater by activated sludge process[D]. Shanghai: Tongji University, 2007.
- [21] Ying G G, Kookana R S. Degradation of five selected endocrine-disrupting chemicals in seawater and marine sediment[J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(7):1256-1260.
- [22] Lai K M, Johnson K L, And M D S, et al. Binding of waterborne steroid estrogens to solid phases in river and estuarine systems[J]. *Environmental Science & Technology*, 2000, 34(18):3890-3894.
- [23] 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.
FU Yin-jie, LING Wan-ting, DONG Chang-xun, et al. Estrogens determination of livestock dung based on UE-SPE-HPLC/FLD[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, 24(11):3280-3288.
- [24] 张梦涛, 郑 溪, 曹 飞, 等. 安徽省奶牛养殖场粪便中甾体雌激素污染特征研究[J]. *安徽农业科学*, 2015(16):263-267.
ZHANG Meng-tao, ZHENG Xi, CAO Fei, et al. Pollution characteristics of steroid estrogens in feces from concentrated dairy feeding farms of Anhui Province[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2015(16):263-267.
- [25] Li J Z, Fu J, Xiang X, et al. Kinetics, equilibrium, and mechanisms of sorption and desorption of 17 α -ethynyl estradiol in two natural soils and their organic fractions[J]. *Science of the Total Environment*, 2013, 452/453:404-410.
- [26] Li J Z, Fu J, Zhang H L, et al. Spatial and seasonal variations of occurrences and concentrations of endocrine disrupting chemicals in unconfined and confined aquifers recharged by reclaimed water: A field study along the Chaobai River, Beijing[J]. *Science of the Total Environment*, 2013, 450/451:162-168.
- [27] 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.
LIU Min. The study on analysis and degradation of typical steroid estrogens in animal waste during land use[D]. Guangzhou: Jinan University, 2011.
- [28] Kaiser J. Modelling composting as a microbial ecosystem: A simulation approach[J]. *Ecological Modelling*, 1996, 91(1/2/3):25-37.
- [29] Liu J, Li S Y, Li X, et al. Removal of estrone, 17 β -estradiol, and estrinol from sewage and cow dung by immobilized *Novosphingobium* sp. ARI-1[J]. *Environmental Technology*, 2017, 39(19):2423-2433.
- [30] 吴飞龙, 叶美锋, 吴晓梅, 等. 添加菌糠对猪粪渣堆肥过程及氨排放的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2017, 36(3):598-604.
WU Fei-long, YE Mei-feng, WU Xiao-mei, et al. Effects of mushroom bran addition on the process and NH₃ emissions of swine feces residue composting[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(3):598-604.
- [31] 梁东丽, 谷 洁, 高 华, 等. 不同禽畜粪便静态高温堆肥过程中蔗糖酶活性的变化[J]. *农业环境科学学报*, 2009, 28(7):1535-1540.
LIANG Dong-li, GU Jie, GAO Hua, et al. Changes of sucrose activities and temperature in static state composting processes of different livestock and fowl excrement[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(7):1535-1540.
- [32] 张 静, 严静娜, 郭悦宁, 等. 阻燃剂四溴双酚A的厌氧-好氧生物降解[J]. *环境化学*, 2016, 35(9):1776-1784.
ZHANG Jing, YAN Jing-na, GUO Yue-ning, et al. Anaerobic and aerobic biodegradation of flame retardant tetrabromobisphenol A[J]. *Environmental Chemistry*, 2016, 35(9):1776-1784.
- [33] Stanford B D, Weinberg H S. Evaluation of on-site wastewater treatment technology to remove estrogens, nonylphenols, and estrogenic activity from wastewater[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(8):2994-3001.
- [34] Rasapoor M, Adl M, Pourazizi B. Comparative evaluation of aeration methods for municipal solid waste composting from the perspective of resource management: A practical case study in Tehran, Iran[J]. *Journal of Environmental Management*, 2016, 184(5):528-534.
- [35] 徐鹏翔, 王 越, 杨军香, 等. 好氧堆肥中通风工艺与参数研究进展[J]. *农业环境科学学报*, 2018, 37(11):2403-2408.
XU Peng-xiang, WANG Yue, YANG Jun-xiang, et al. Advances in ventilation systems and parameter choices during aerobic composting [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(11):2403-2408.