

张晶,谭小艳,赵文玉,等.石化废水生化处理前后抗雌激素活性的变化[J].环境科学研究 2012 25(9):1054-1058.

ZHANG Jing ,TAN Xiaoyan ,ZHAO Wenyu ,et al. Changes in antiestrogenic activity in petrochemical wastewater before and after biological treatment processing[J]. Research of Environmental Sciences 2012 25(9):1054-1058.

石化废水生化处理前后抗雌激素活性的变化

张 晶¹,谭小艳²,赵文玉^{2,3},王 灿^{3,4},吴乾元³,胡洪营^{3,5*}

1. 兰州大学资源环境学院环境科学系,甘肃 兰州 730000

2. 桂林理工大学环境科学与工程学院,广西 桂林 541004

3. 清华大学环境学院,环境模拟与污染控制国家重点联合实验室,北京 100084

4. 天津大学环境科学与工程学院,天津 300072

5. 清华大学深圳研究生院,广东 深圳 518055

摘要:以某企业的石化废水处理工艺为对象,利用固相萃取-双杂交酵母法,对混入和未混入苯胺废水 2 种典型工况下进、出水的抗雌激素活性进行了研究,以了解不同性质废水的混合处理对石化废水抗雌激素活性的影响规律。结果表明,现有的废水处理系统能有效降低有机物浓度,2 种典型工况下溶解性有机碳(DOC)的去除率分别可达 72% 和 74%,但生成了更具抗雌激素活性的物质。在混入苯胺废水的工况下,出水的抗雌激素活性显著高于进水,为进水的 2.8 倍。进一步研究废水中不同组分的抗雌激素活性发现,苯胺废水中的疏水性物质是导致出水抗雌激素活性升高的主要原因。

关键词:抗雌激素活性;废水生物毒性;溶解性有机物组分;石化废水;苯胺

中图分类号: X52 文献标志码: A 文章编号: 1001-6929(2012)09-1054-05

Changes in Antiestrogenic Activity in Petrochemical Wastewater before and after Biological Treatment Processing

ZHANG Jing¹, TAN Xiao-yan², ZHAO Wen-yu^{2,3}, WANG Can^{3,4}, WU Qian-yuan³, HU Hong-ying^{3,5}

1. Department of Environmental Science, School of Resources and Environment, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

2. School of Environmental Science and Technology, Guilin University of Technology, Guilin 541004, China

3. Environmental Simulation and Pollution Control State Key Joint Laboratory, School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China

4. School of Environmental Science and Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China

5. Graduate School Shenzhen, Tsinghua University, Shenzhen 518055, China

Abstract: By using solid-phase extraction and a yeast two-hybrid assay, the antiestrogenic activity in influents and effluents from a petrochemical plant was evaluated under two typical operating conditions (with or without aniline wastewater). The results showed that the current biological treatment process can effectively remove dissolved organic carbon (DOC) in the wastewater, and the removal efficiencies of DOC under the two conditions (with or without aniline wastewater) were 72% and 74% respectively. However, some substances with higher antiestrogenic activity were produced during the treatment process. When the aniline wastewater was added, the antiestrogenic activity of the effluents was 2.8 times that of the influents. Furthermore, it was found that hydrophobic substances were the main fraction resulting in the increase of antiestrogenic activity of the effluent.

Key words: antiestrogenic activity; wastewater bio-toxicity; DOM fractions; petrochemical wastewater; aniline

收稿日期: 2012-03-17 修订日期: 2012-05-22

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2008ZX07313-008)

作者简介: 张晶(1976-),女,甘肃陇西人, zj762000@lzu.edu.cn.

* 责任作者: 胡洪营(1963-),男,山东鄄城人,教授,博士,博导,主要研究环境生物技术、污水再生处理与安全回用、再生水水质安全评价与保障技术, hyyhu@tsinghua.edu.cn

环境中存在许多具有内分泌干扰活性的化学物质^[1-2],即环境激素。近年来,对环境激素的研究引起较大关注,各国均在积极开展相关调查研究并进行污染控制^[3-4]。美国等发达国家已建立了较为完善的

环境激素(环境内分泌干扰活性物质)筛选与甄别体系^[5];但在我国相关研究起步较晚,只有极少数化学物质经过了初步的内分泌干扰活性识别与评价^[6],并且多集中于雌激素活性物质的研究^[7-8]。目前,对污水中内分泌干扰物质的研究多集中于城市生活污水^[9-12]和饮用水^[13-14]处理过程,而在工业废水方面的研究则鲜见报道。

石化废水是工业污水治理领域中较难处理的一类,这主要是因为石化工业是以石油为原料的一系列有机物加工过程,生产中排放的废水水质、水量波动大,污染物成分复杂且浓度高难降解,并且多为有毒有害物质,易对周围环境带来生态和健康风险^[15-16]。

该文对比分析了某石化企业的废水处理厂在2种典型的运行工况(混入和未混入苯胺废水)下废水处理前后抗雌激素活性的变化,并深入研究了废水中不同组分的抗雌激素活性的变化规律。

1 材料与方法

1.1 供试水样

该石化企业拥有多种石化产品生产装置,各生产装置的废水经混合后进入污水处理厂,依次经过水解池、A/O池、曝气池处理,二次沉淀后排入自然水体。由于生产需要,苯胺生产装置间歇运行,苯胺废水排放亦为间歇排放方式。因此,该研究分别在苯胺废水排放与未排放2种典型工况下,在污水处理系统进口及出口分别取样。同一取水点1d内分别不同时间取水5次后,混合水样,得到以下4种水样:无苯胺废水进水、无苯胺废水出水、有苯胺废水进水和有苯胺废水出水,各水样分别设置5个平行。水样依次用2.7和0.7 μm的玻璃纤维滤膜过滤后,进行DOC(dissolved organic carbon,溶解性有机碳)测定(TOC-VCPH型总有机碳分析仪,日本岛津公司)、组分分离及抗雌激素活性测定。

1.2 抗雌激素活性测定

材料: SpectraMax M5型酶标仪,美国Molecular Devices公司出品;二甲基亚砜,购自美国Amersco公司,ACS级;邻硝基酚半乳糖甙、细胞溶解酶Zymoyase-20T等,均购自美国Sigma公司。

菌种:双杂交酵母Y190,由日本大阪府立大学提供。

数据统计处理:样本数为5个,统计分析采用独立小样本t检验。

试验方法:采用固相萃取-双杂交酵母菌

法^[17-18]。雌激素可以激活酵母细胞中的β-半乳糖苷酶(LacZ)基因转录,诱导β-半乳糖苷酶的生成,生成量可以反映雌激素活性的大小。废水中的抗雌激素物质则可以抑制这种诱导作用,抑制率可以反映样品抗雌激素活性的大小。通过测定不同浓度的样品及TAM(标准抗雌激素他莫昔芬)对标准雌激素17β-雌二醇的诱导活性的抑制率(见式(1)),得到水样和TAM的抗雌激素活性剂量效应曲线,通过式(2)计算与水样中的抗雌激素活性强度相当的ρ(TAM),用以表征水样的抗雌激素活性大小。

$$I = \frac{(U - U_x)}{U} \times 100\% \quad (1)$$

式中:I为β-半乳糖苷酶活性诱导的抑制率,%;U为标准雌激素17β-雌二醇(40 μg/L)诱导的β-半乳糖苷酶活性,(L·mg)⁻¹;U_x为样品和17β-雌二醇(40 μg/L)共同诱导的β-半乳糖苷酶活性,(L·mg)⁻¹。

$$C_{TAM} = D_{EC50} / V_{EC50X} \quad (2)$$

式中:C_{TAM}为ρ(TAM),mg/L;D_{EC50}为标准抗雌激素TAM对17β-雌二醇(40 μg/L)的β-半乳糖苷酶活性抑制率达50%时的剂量,mg;V_{EC50X}为待测样品对17β-雌二醇(40 μg/L)的β-半乳糖苷酶活性抑制率达50%时的样品实际体积(试验中加入的样品为固相萃取后的浓缩水样,实际体积为加入样品的量所对应的浓缩前体积数)^[18],L。

1.3 组分分离

材料:XAD-8树脂、MSC树脂、DA-7树脂,均购自上海安谱科技有限公司;玻璃层析柱,内径1.6 mm,长20 mm。

试剂:丙酮、正己烷、甲醇,均为色谱纯。

试验方法:采用树脂吸附分离方法^[19-20],将废水中的有机物分离为HOA(hydrophobic acids,疏水酸性物质)、HOB(hydrophobic bases,疏水碱性物质)、HON(hydrophobic neutrals,疏水中性物质)、HIA(hydrophilic acids,亲水酸性物质)、HIB(hydrophilic bases,亲水碱性物质)、HIN(hydrophilic neutrals,亲水中性物质)6种组分。

2 结果与讨论

2.1 水样及其各组分中的ρ(DOC)

2.1.1 各水样ρ(DOC)变化情况

各水样ρ(DOC)测定结果见表1。表1表明,在2种工况条件下,出水的ρ(DOC)均明显下降,DOC去除率分别为72%和74%。当苯胺生产废水混入后,

进水 $\rho(\text{DOC})$ 显著提高,表明苯胺生产废水对污水处理厂进水的有机物浓度有较大贡献,但对污水处理厂的运行效果影响较小。

表1 废水 DOC 处理效率

Table 1 DOC removal efficiency of wastewater

工况	$\rho(\text{DOC}) / (\text{mg/L})$		DOC 去除率/%
	进水	出水	
无苯胺废水	98.9 ± 1.1	27.5 ± 0.5	72 ± 0.2
有苯胺废水	158.2 ± 1.6	40.1 ± 4.4	74 ± 2.6

注:数值为平均值 \pm 标准差。

2.1.2 各组分 $\rho(\text{DOC})$ 分析

各水样经过树脂吸附分离为6个组分,其 $\rho(\text{DOC})$ 测定结果见图1。由图1可以看出,无论是否混入苯胺废水,处理后各组分 $\rho(\text{DOC})$ 均有所降低,说明该生化处理系统对废水中不同性质的组分均有一定的去除效果。苯胺废水加入后,废水进、出水水样中的疏水性物质含量均高于相应未混入苯胺废水时,这可能是因为苯胺生产环节中涉及到一些疏水性有机物,提高了进水中疏水性物质的含量,使出水中的疏水性物质有所增加。这些疏水性物质来源于苯胺生产的原料、中间产物等,包括硝基苯、苯、苯胺、二硝基苯、硝基苯酚等。

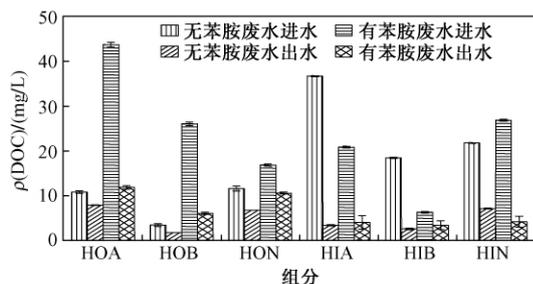
图1 水样各组分中的 $\rho(\text{DOC})$

Fig. 1 DOC of the fractions of the water samples

2.2 水样抗雌激素活性测定

图2显示了各水样的总抗雌激素活性(以 $\rho(\text{TAM})$ 计)。图2表明,石化废水具有一定的抗雌激素活性。石化废水成分复杂,除含有石油类、硫化物、酚、氰化物、 COD_{Cr} 、氨氮、酸、碱、盐等组分外,还有挥发酚、丙烯腈、苯胺、硝基苯、多环芳烃类、苯并[a]芘、表面活性剂、有机酸、油剂、高聚物 and 无机物等,其中很多物质为有毒有害污染物。一些研究表明,多环芳烃类、苯并[a]芘、酚类以及表面活性剂等均具有内分泌干扰活性^[21-23]。

由图2可知,在无苯胺废水的工况下,经过处理

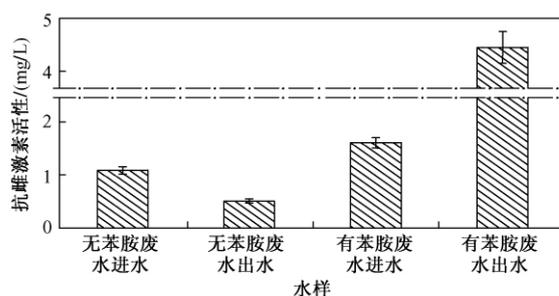


图2 水样的抗雌激素活性

Fig. 2 Antiestrogenic activity of wastewater samples

后,废水的抗雌激素活性有所降低但去除率不高(53.2%);苯胺废水混入后,增加了进水的抗雌激素活性,经过处理后,废水的抗雌激素活性并未降低反而明显升高。说明生化处理不能有效降低石化废水的抗雌激素活性。生物处理是目前相对有效的一种去除污水中环境内分泌干扰物的方法^[24-25]。但污水处理厂的常规生化处理对类雌激素物质的去除率较低^[26-27],其中表面活性剂^[28]、酚类^[29]等物质的去除率很低,而邻苯二甲酸酯类以及多环芳烃类等物质往往受到泥龄、温度、pH和化学物质等的影响,其生物降解率低或易于生物转化为其他物质,形成二次污染^[30]。这可能导致生化处理难以有效降低石化废水的抗雌激素活性。建议结合水质评价结果,改进工艺,提高对内分泌干扰物的生物降解能力,必要时可考虑增加三级处理,如活性炭吸附、臭氧、混凝砂滤、膜技术等。

图3显示了各水样中单位DOC的抗雌激素活性(以 $\rho(\text{TAM}) / \rho(\text{DOC})$ 计, $\mu\text{g}/\text{mg}$),即抗雌激素活性与 $\rho(\text{DOC})$ 的比值,反映出单位质量DOC的抗雌激素活性强度用相应的TAM质量来表征。由图3可知,在无苯胺废水的工况下,经过处理,单位DOC的抗雌激素活性略有升高。苯胺废水混入后,经过处理,单位DOC的抗雌激素活性显著增加,说明生化处理过程中具有较强抗雌激素活性的物质生成,特别是苯胺废水表现更为明显。该结果提示,不同性质的废水混合处理后,增加了处理难度,建议在不同性质的废水混合处理前进行预处理,以降低污染物浓度,必要时分别收集、分别处理。

2.3 水样各组分的抗雌激素活性

将水样进行组分分离后,测定各组分抗雌激素活性,并比较不同水样各组分的抗雌激素活性与 $\rho(\text{DOC})$ 的比值,结果见图4、5。

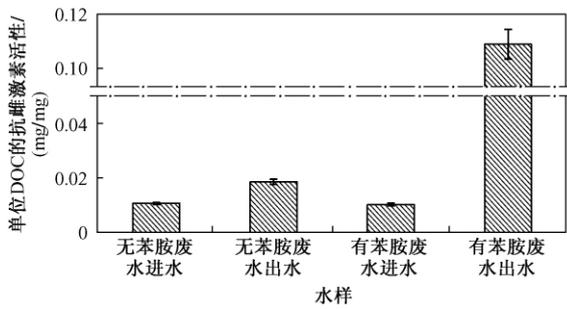


图 3 水样中单位 DOC 的抗雌激素活性

Fig. 3 Antiestrogenic activity of unit DOC of wastewater samples

图 4 表明,在无苯胺废水工况下,进水中亲水性物质抗雌激素活性较强,处理后疏水性物质的抗雌激素活性无显著改变,而亲水性物质的抗雌激素活性则有所降低,说明无苯胺废水中亲水性抗雌激素活性物质更易于去除.图 5 显示,经过处理,除 HIB 和 HIN 外,其余各组分单位 DOC 的抗雌激素活性均有所上升,说明无苯胺废水中各组分的抗雌激素活性无显著变化或降低主要是由于 $\rho(\text{DOC})$ 的降低所致.

由图 4、5 可见,苯胺废水混入后,进水除 HIN

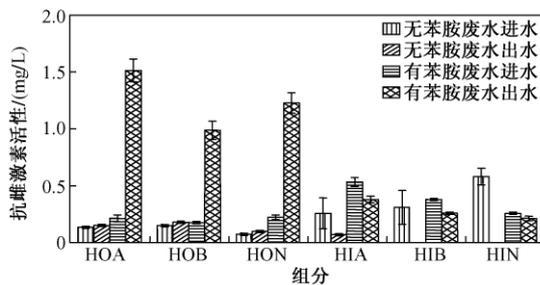


图 4 水样中各组分的抗雌激素活性

Fig. 4 Antiestrogenic activity of the fractions of the water samples

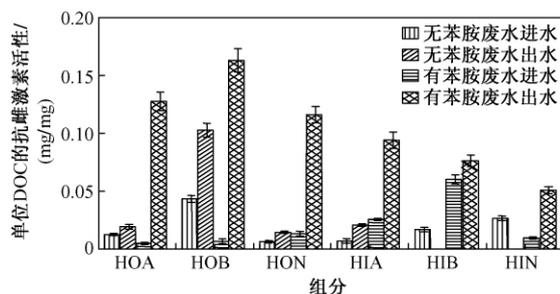


图 5 水样中各组分单位 DOC 的抗雌激素活性

Fig. 5 Antiestrogenic activity of unit DOC of the fractions of the water samples

外,其余组分的抗雌激素活性均有不同程度的增加,进水总抗雌激素活性的增加主要是由于 HON、HIA、HIB 中具有抗雌激素活性较大的物质所致.但各组分单位 DOC 的抗雌激素活性则有增有减,效应上可能相互抵消.出水中各组分的抗雌激素活性和单位 DOC 抗雌激素活性较无苯胺废水工况下显著提高,其中疏水性物质比例较大,说明苯胺废水加入后,有多种不同性质的较强抗雌激素活性的物质在处理过程中产生,并且以疏水性物质为主.

苯胺生产中涉及到的硝基苯和苯胺、二硝基苯、硝基苯酚等物质均具有一定的毒性,特别是硝基苯和苯胺为我国优先控制污染物,毒性复杂.这些物质的生物毒性可能与苯胺废水中较高的抗雌激素活性有关.

3 结论

a) 该企业的生化处理系统可有效降低有机物浓度,但不能有效降低抗雌激素活性.

b) 在生化处理过程中,可能有一些具有较强抗雌激素活性的物质生成,这些抗雌激素活性物质主要为疏水性物质.

c) 苯胺废水的加入,不仅增加了进水中 $\rho(\text{DOC})$,而且使废水在常规生化处理的过程中有更多抗雌激素活性物质特别是疏水性抗雌激素活性物质的产生,从而增加了处理难度.

d) 废水处理工艺对 DOC 与抗雌激素活性的去除特性有显著差异,表明常规的水质指标不能完全反映处理出水对周围环境的生态影响.

参考文献 (References):

[1] COLBORN T, VOM SAAL F S, SOTO A M. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans [J]. Environmental Impact Assessment Review, 1993, 101(5): 378-384.

[2] BOENKE A, SEARLE C, KARJALAINEN T. Contribution of European research to endocrine disruptor [P]. Analytica Chimica Acta 2002 473(1/2): 161-165.

[3] HELALEH M L H, TAKABAYASHI Y, FUJII S, et al. Gas chromatographic-mass spectrometric method for separation and detection of endocrine disruptors from environmental water samples [J]. Analytica Chimica Acta 2001 428(2): 227-234.

[4] FALCONER I R, CHAPMAN H F, MOORE M R et al. Endocrine-disrupting compounds: a review of their challenge to sustainable and safe water supply and water reuse [J]. Environ Toxicol 2006, 21(2): 181-191.

[5] U. S. Environmental Protection Agency. Endocrine Disruptor Screening Testing Advisory Committee (EDSTAC) final report [S]. Washington DC: US EPA, 1998.

- [6] 阳春,胡碧波,张智.类固醇雌激素在生活污水处理中的去除过程[J].中国给水排水,2008,24(10):11-14.
- [7] 何世华,梁增辉,战威,等.环境雌激素重组酵母测评系统的建立[J].环境与健康杂志,2002,19(1):57-59.
- [8] 李湘鸣,罗方妮,陈春波.重组酵母细胞快速筛选环境雌激素系统的建立[J].环境与健康杂志,2006,23(2):116-119.
- [9] 李轶,饶婷,胡洪营.污水中内分泌干扰物的去除技术研究进展[J].生态环境学报,2009,18(4):1540-1545.
- [10] 马军,文刚,邵小玲.城市污水处理厂各工艺阶段内分泌干扰物活性变化规律研究[J].环境科学学报,2009,29(1):63-66.
- [11] 廖涛,金士威,惠阳.城市污水处理厂进出水中类雌激素暴露影响评价[J].环境化学,2007,26(6):819-822.
- [12] 孙艳,黄璜,胡洪营,等.污水处理厂出水中雌激素活性物质浓度与生态风险水平[J].环境科学研究,2010,23(12):1488-1493.
- [13] 饶凯峰,马梅,王子建.南方某水厂处理工艺过程中内分泌干扰物的变化规律[J].环境科学,2004,25(6):123-126.
- [14] 李若愚,徐斌,高乃云.我国饮用水中内分泌干扰物的去除研究进展[J].中国给水排水,2006,22(20):1-4.
- [15] 殷永泉,邓兴彦,刘瑞辉,等.石油化工废水处理技术研究进展[J].环境污染与防治,2006,28(5):356-360.
- [16] ÖMAN C. Comparison between the predicted fate of organic compounds in landfills and the actual emissions [J]. Environ Sci Technol 2001,35(1):232-239.
- [17] NICHIKAWA J C, SAITO K, GOTO J, *et al.* New screening methods for chemicals with hormonal activities using interaction of nuclear hormone receptor with coactivator [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 1999, 154(1):76-83.
- [18] WU Qianyuan, HU Hongying, ZHAO Xin, *et al.* Effect of Chlorination on the estrogenic/antiestrogenic activities of biologically treated wastewater [J]. Environ Sci Technol 2009, 43: 4940-4945.
- [19] WU Qianyuan, LI Ying, HU Hongying, *et al.* Reduced Effect of bromide on the genotoxicity in secondary effluent of a municipal wastewater treatment plant during chlorination [J]. Environ Sci Technol 2010, 44(13):4924-4929.
- [20] IMAI A, FUKUSHIMA T, MATSUSHIGE K. Characterization of dissolved organic matter in effluents from wastewater treatment plants [J]. Water Res 2002, 36(4):859-870.
- [21] GAUTHIER L, VANDER G M A, L' HARIDON J, *et al.* In vivo detection of waste water and industrial effluent genotoxicity: use of the Newt Micronucleus test (Jaylet test) [J]. Sci Total Environ, 1993, 138:249-269.
- [22] BANJOO D R, NELSON P K. Improved ultrasonic extraction procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in rediment [J]. Journal of Chromatography A 2005, 1066:9-18.
- [23] GESTO M, TINTOS A, RODRIGURZ L A, *et al.* Effects of naphthalene, beta-naphthoflavone and Benzo (a) pyrene on the diurnal and nocturnal indoleamine metabolism and melatonin content in the pineal organ of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* [J]. Aquatic Toxicology 2009, 92:1-8.
- [24] CHIARA B, ROBERTA C, GIUSEPPE D A, *et al.* Monitoring natural and synthetic estrogens at activated sludge sewage treatment plant s and in a receiving river water [J]. Environ Sci, 2000, 34(24):5059-5066.
- [25] KOHLER A, HELLWEG S, ESCHER B I, *et al.* Organic pollutant removal versus toxicity reduction in industrial wastewater treatment: the example of wastewater from fluorescent whitening agent production [J]. Environ Sci Technol 2006, 40(10):3395-3401.
- [26] KHANAL S K, XIE B, THOMPSON M L, *et al.* Fate, transport and biodegradation of natural estrogens in the environment and engineered systems [J]. Environ Sci Technol 2006, 40(21):6537-6546.
- [27] 邵晓玲,文刚,马军.松花江及哈尔滨市饮用水雌激素活性的调查与分析[J].环境科学,2009,30(5):1362-1365.
- [28] NSABIMANA E, BOHATIER J, BELAN A, *et al.* Effects of the herbicide atrazine on the activated sludge process: microbiology and functional views [J]. Chemosphere, 1996, 33(3):479-494.
- [29] KLECKA G M, GONSIOR S J, WEST R J. Biodegradation of bisphenol A in the aquatic environment [J]. Water Sci Technol, 1999, 42(7/8):31-38.
- [30] 张天永,崔新安,费学宁.环境激素酞酸酯类化合物的净化技术进展[J].环境科学与技术,2005,28(1):103-105.

(责任编辑:潘凤云)