

周 贤,凌婉婷,王 建.芬顿氧化堆制对畜禽粪便中雌激素的去除作用 [J]. 中国环境科学, 2025,45(6):3402-3410.

Zhou X, Ling W T, Wang J. Removal of estrogen in manure during Fenton oxidized composting process [J]. China Environmental Science, 2025,45(6):3402-3410.

## 芬顿氧化堆制对畜禽粪便中雌激素的去除作用

周 贤,凌婉婷,王 建\* (南京农业大学土壤有机污染控制与修复研究所,江苏 南京 210095)

**摘要:**为研究芬顿氧化堆制技术对畜禽粪便中雌激素的去除作用,本文以牛粪为研究对象,采用开放式堆肥方式,测定了牛粪堆肥 0,3,12,24,48,96,192,384 和 768h 时雌三醇(E3)、17 $\beta$ -雌二醇(17 $\beta$ -E2)、双酚 A(BPA)和炔雌醇(E2)4 种雌激素的含量,分析了芬顿试剂和柠檬酸对芬顿氧化堆制过程中雌激素去除的影响.结果表明,加入 Fenton 氧化试剂和柠檬酸 3h 后,牛粪中 E3、17 $\beta$ -E2、BPA 和 E2 残留率分别为 15.10%、2.65%、9.90%和 11.44%显著低于未加氧化试剂处理组,芬顿氧化堆制处理 32d 后除 E2 外,其他 3 种雌激素的残留量均低于检出限,E2 的残留率仅为 2%.进一步地通过种子发芽率分析了氧化堆制后牛粪对种子的影响.结果发现,上海青(*Brassica chinensis*)的种子发芽指数> 50%,说明芬顿氧化堆制后的堆料对蔬菜种子基本无表观毒害作用.因此,芬顿氧化堆制技术可以高效去除畜禽粪便中雌激素,实现畜禽粪便资源化与无害化利用.

**关键词:** 芬顿氧化试剂; 堆制工艺; 牛粪; 雌激素; 去除; 种子发芽率

中图分类号: X705 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2025)06-3402-09

**Removal of estrogen in manure during Fenton oxidized composting process.** ZHOU Xian, LING Wan-ting, WANG Jian\* (Institute of Organic Contaminant Control and Soil Remediation, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China). *China Environmental Science*, 2025,45(6): 3402~3410

**Abstract:** To investigate the effect of the Fenton-oxidized composting process on the removal of estrogens in manure, this study determined the concentrations of four estrogens—estradiol (E3), 17 $\beta$ -estradiol (17 $\beta$ -E2), bisphenol A (BPA), and ethinylestradiol (EE2)—in cow manure at various time points (0, 3, 12, 24, 48, 96, 192, 384, and 768hours) using the Fenton-oxidized composting process. The influence of Fenton's reagent and citric acid on estrogen removal during Fenton oxidation were also examined. Results demonstrated that after 3hours of treatment with Fenton's reagent and citric acid, the residual rates of E3, 17 $\beta$ -E2, BPA, and EE2in cow dung were 15.10%, 2.65%, 9.90%, and 11.44%, respectively, which were significantly lower than those observed in the non-oxidizing reagent treatment group. Following 32days of composting, the residual concentrations of E3, 17 $\beta$ -E2, and BPA fell below detectable limits, while the residual rate of EE2was only 2%. Additionally, seed germination rate analysis during the oxidized composting process revealed that the seed germination index of *Brassica chinensis* exceeded 50%, indicating that the composting products exhibited no apparent toxic effects on vegetable seeds. Consequently, the Fenton-oxidized composting technology can effectively accelerate the removal of estrogens from livestock manure, thereby facilitating its resourceful and harmless utilization.

**Key words:** Fenton oxidized reagent; composting process; cow manure; estrogens; removal; seed germination rate

随着我国经济的快速发展,畜牧业养殖方式由家庭散养向规模化、集约化养殖的转变已成为必然趋势<sup>[1]</sup>.然而,畜禽养殖业规模的扩大势必会产生大量的畜禽粪污.据估算,我国每年动物粪便产生量高达 38 亿 t,是欧美国家畜禽粪便排放量的 3~4 倍<sup>[2]</sup>.目前,畜禽粪便的主要处理方式是作为有机肥还田,但该方式下畜禽粪便的综合利用率不足 60%<sup>[3]</sup>.畜禽粪便的不当处理不仅会导致环境污染、影响土壤生产力,而且畜禽粪便中残留的污染物对农业生产安全和人类健康构成重大威胁.因此,如何实现畜禽粪便资源化、无害化利用已成为我国当前亟需解决的一个重要科学和技术问题.

畜禽粪便中除了含有农业生产所必需的营养

元素(N、P 和 K 等),也存在雌激素、抗生素、重金属等有毒有害物质.养殖业畜禽粪便无序排放是环境中雌激素的重要来源之一.这些雌激素一部分由动物自身分泌产生,其残留含量受到畜禽动物种类、性别及育龄的影响<sup>[4]</sup>.例如,猪主要排放雌酮(E1)、17 $\beta$ -雌二醇(17 $\beta$ -E2)和雌三醇(E3),雌激素的排放量随猪育龄的增长而增加;奶牛主要排放 E1 和 17 $\beta$ -E2.此外,人工合成雌激素如 17 $\alpha$ -炔雌醇(EE2)、双酚 A(BPA)和己烯雌酚常作为家畜生长促进剂而被应

收稿日期: 2024-12-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(42177016,42377011);中央高校基本科研业务费资助专项(KJYQ2025038);江苏省重点研发计划项目(BE2022849)

\* 责任作者, 副教授, wj308119@njau.edu.cn

用到畜禽养殖过程中<sup>[5]</sup>,并随家畜粪便进入环境.前期的调查研究发现,畜禽粪便中的雌激素含量通常在几  $\mu\text{g}/\text{kg}$  到几千  $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[4]</sup>.雌激素具有污染浓度低、毒性强、难降解等特点<sup>[6-7]</sup>.进入环境中的天然和人工合成雌激素具有很强的内分泌干扰活性,可在极低的浓度下( $1\text{ng}/\text{L}$ )诱导雄鱼雌性化,致使鱼类胚胎发育迟滞和畸形,导致微生物群落结构改变,威胁生态安全和人群健康.因此,畜禽粪便中雌激素的残留问题应当引起足够重视.

好氧堆肥和厌氧消化处理是畜禽粪便资源化处理的主要技术.研究表明,好氧堆肥和厌氧消化处理对畜禽粪便中雌激素具有一定的去除作用<sup>[8-10,29]</sup>.研究发现<sup>[8]</sup>,高温好氧堆肥对畜禽粪便中雌激素(17 $\beta$ -E2、E3、EE2 和 BPA)的去除率可达 80%.而厌氧消化对猪粪中雌激素的去除率最高仅为 28.62% (17 $\beta$ -E2)<sup>[9-10]</sup>.显然,这两种粪便处理技术并不能完全去除畜禽粪便中残留的雌激素,处理后的畜禽粪便农用风险仍然存在.因此,国内外仍亟需研发高效、安全的去除养殖业畜禽粪便中雌激素的可行技术.

作为一种运行成本低、操作简单、无毒副产物的环保技术,芬顿(Fenton)氧化工艺对处理难降解有机物的潜力已被广泛报道<sup>[11-13]</sup>.近年来,一些研究也

发现,Fenton 氧化联合传统堆肥处理可有效促进木质纤维素生物质的降解,提高畜禽粪便的腐殖化程度,提升畜禽粪便有机肥品质<sup>[14]</sup>.然而,Fenton 氧化堆制技术对畜禽粪便中雌激素的去除效果如何,至今鲜有报道.为此,本文以 E3、17 $\beta$ -E2、EE2 和 BPA 为雌激素代表物,通过开放式堆肥方式,研究了芬顿氧化堆制处理对牛粪中雌激素的去除效能,分析了堆制过程中雌激素含量变化与芬顿试剂、酸碱性的关系,考察了芬顿氧化堆制后牛粪中养分元素含量及利用安全性,为着力打通畜禽粪肥还田“最后一公里”,推动畜禽粪污由“治”向“用”转变提供技术支持.

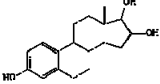
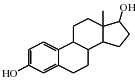
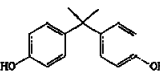
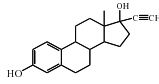
## 1 材料与方 法

### 1.1 标准品及堆肥原料

实验选用雌三醇(E3)、17 $\beta$ -雌二醇(17 $\beta$ -E2)、双酚 A(BPA)和炔雌醇(EE2)作为畜禽粪便中雌激素代表物,4 种标准品均购自上海阿拉丁试剂有限公司,其纯度均大于 98%.4 种雌激素的理化性质见表 1.30%特级双氧水、柠檬酸(分析纯)、硫酸亚铁(分析纯)、甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)和乙酸乙酯(分析纯)均购自南京化学试剂股份有限公司,用于 Fenton 试剂的配置、雌激素提取和测定.

表 1 四种雌激素理化性质<sup>[8]</sup>

Table 1 Physical and chemical properties of four estrogens

参数	E3	17 $\beta$ -E2	BPA	EE2
分子式	$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_3$	$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_2$	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_2$	$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_2$
分子结构				
分子量(g/mol)	288.39	272.39	228.3	296.4
$\log K_{ow}$	2.81	3.94	2.2~3.64	3.67
pKa	10.4	10.5	10.7	11.3
溶解度(mg/L)	3.2~13.3	5.4~13.3	120~360	4.8
EEF	0.26	1.00	0.05	8.71

注: $\log K_{ow}$ 表示雌激素的辛醇-水分配系数;pKa表示解离常数;EEF表示不同雌激素相对于17 $\beta$ -E2的活性当量系数.

表 2 供试牛粪和稻壳基本理化性质

Table 2 Selected physicochemical properties of cow manure and rice husk

项目	含水率 (%)	pH 值	有机质 (g/kg)	总氮 (g/kg)	总磷 (g/kg)	总钾 (g/kg)
牛粪	74.26	8.15	924.02	36.20	2.20	24.60
稻壳	10.24	6.12	1472.12	11.40	0.24	6.30

选用牛粪和稻壳进行堆肥试验.新鲜牛粪采自

江苏省句容某奶牛养殖场,稻壳购自沈阳某饲料加工厂.表 2 为供试牛粪和稻壳的基本理化性质.

### 1.2 堆制方法及样品采集

采用开放式堆肥方式进行牛粪氧化堆制处理.实验总共设置 4 个堆体(表 3),根据《畜禽粪便堆肥技术规范》(NY/T 3442-2019)<sup>[28]</sup>,选择稻壳为辅料,将稻壳粉碎成 1~2mm 与牛粪混合均匀,使堆肥初始

C/N 为 30:1.将 4 个堆体的初始含水率调整为 55%~70%之间.堆体呈锥形,每个堆体堆料重 15kg (包括稻壳和牛粪湿重).堆制开始前,分别在 4 个堆体中加入 E3、BPA、17 $\beta$ -E2 和 EE2 的甲醇标准溶液,待甲醇挥发.将不加入柠檬酸和 Fenton 试剂的堆体 (D1)设置为空白对照组.每一处理 3 个重复( $n=3$ ).依次将一定量的柠檬酸、硫酸亚铁固体粉末均匀撒在堆体上,并加入一定量的双氧水,搅拌均匀,反应 1d 后,采用韩进等<sup>[8]</sup>2d 一翻的翻堆方式为堆体提供氧气,并控制含水率在 70%左右<sup>[15]</sup>.堆制时间为 768h (32d).分别在 0,3,12,24,48,96,192,384 和 768h 对每个堆体的上、下、左、右、中位置进行牛粪取样,并混合成一个堆制样品,分析样品中雌激素残留的动态变化规律.同时,按照采样时间测定堆体温度、含水率、总氮、总磷、总钾等理化性质的变化情况.

表 3 各堆体堆制条件

Table 3 The conditions of the manure composting

参数	D1	D2	D3	D4
Fe <sup>2+</sup> 比率	0	0	1:15	1:15
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (%)	0	7	7	7
pH 值	不调节	调节	不调节	调节

### 1.3 样品理化指标的测定分析

**1.3.1 温度测定** 每天早上 9:00,使用金属探测温度计对各堆体中心温度进行测量,同时测定环境温度.

**1.3.2 pH 值测定** 称取 2.00g 风干样品加入超纯水浸提(1:10, $M/V$ ),在恒温水平振荡仪上连续水平振荡 12h(25 $^{\circ}C$ ,150r/min),然后在 4000r/min 下离心 20min,取上清液,测定滤液的 pH 值.

**1.3.3 有机质(OM)测定** 采用中华人民共和国农业行业标准 NY 525-2012 中有机质的测定方法进行测定.

**1.3.4 总氮测定** 称取 0.50g 左右堆肥样品于 100mL 三角瓶中,通过硫酸-过氧化氢对样品消煮,定容至 100mL,静置澄清,过 0.45  $\mu$ m 滤膜,采用流动分析仪测定总氮含量.

**1.3.5 总磷和总钾测定** 通过硫酸-过氧化氢对堆肥样品进行消煮后,定容至 100mL,静置澄清,过 0.45  $\mu$ m 滤膜,采用 ICP-OES 测定总磷和总钾的含量.

**1.3.6 含水率测定** 称取 3.00g 新鲜堆肥样品于干

燥的铝盒中,将铝盒放入 105 $^{\circ}C$ 烘箱中 6h,取出冷却后,测定堆肥样品中含水率.

### 1.4 牛粪中雌激素的测定方法

参照 Xu 等<sup>[4]</sup>描述的超声提取方法对堆制样品中目标雌激素进行提取,具体方法为:称取 1.00g 冷冻干燥后的堆制样品于玻璃离心管中,加入 20mL 乙酸乙酯,涡旋,超声提取 30min,在常温下 4500r/min,离心 20min,上清液转移至干净的离心管中,重复上述操作一次,合并 2 次提取液.在 40 $^{\circ}C$ 下恒温水浴氮吹后,用少许甲醇溶解,超纯水稀释至 50mL 容量瓶中待用(甲醇含量不超过 0.2%).将上述提取液通过活化后的 C18 固相萃取柱,用 5.00mL 的超纯水淋洗去除杂质,并用真空泵抽滤至近干.淋洗后的萃取柱用 15.00mL 甲醇/乙酸乙酯混合液(体积比为 1:1)进行洗脱收集.将收集到的洗脱液置于 40 $^{\circ}C$ 恒温水浴中氮吹至近干,并加入 2mL 甲醇溶液涡旋混合重新溶解附着物.过 0.22 $\mu$ m 孔径滤膜,供 HPLC/FLD 分析.实验设置 3 个平行样品.

色谱条件:选用 Inertsil ODS-SP-C18 反相色谱柱(250mm $\times$ 4.6mm,5 $\mu$ m),流动相为甲醇/乙腈/水(体积比为 20:30:50),流速为 0.8mL/min,柱温 40 $^{\circ}C$ ,进样量为 20 $\mu$ L.荧光检测器激发/发射波长为 280nm/310nm.

所建立的分析方法的线性范围为 5.00~2000 $\mu$ g/L,线性相关性良好( $r>0.9993$ ),其中,堆肥样品中所选雌激素的最低样品检出限为 1.20~5.00  $\mu$ g/kg.这些雌激素在堆肥样品中的回收率为 82.3%~96.7%.

通过该提取方法对牛粪样品中初始 E3、BPA、17 $\beta$ -E2 和 EE2 进行测定,发现 4 种污染物在牛粪中的初始含量分别为 1.04~1.18,3.67~4.96, 1.16~2.22,7.80~8.18mg/kg.随后,在一定堆制时间内测定堆体中各雌激素含量,并计算堆肥样品中雌激素的残留率( $R$ ,%).堆肥样品中雌激素的残留率计算公式如下:

$$R = \frac{\text{雌激素剩余含量(mg/kg)}}{\text{雌激素初始含量(mg/kg)}} \times 100\% \quad (1)$$

### 1.5 种子发芽实验

本研究采用种子发芽实验来评估 Fenton 氧化堆制后有机肥的利用安全性.种子发芽实验方法参照《中华人民共和国农业行业标准-畜禽粪便堆肥

技术规范》(NY/T 3442-2019)及相关文献<sup>[26-27]</sup>,具体操作如下:将堆制初期(0d)的牛粪样品和堆制末期(32d)的牛粪样品与蒸馏水按 1:10 比例混合,在摇床上(25℃,250r/min)往复振荡 3h,离心后将浸提液过滤待用.将两张滤纸放入无菌的培养皿中,均匀放入 50 颗上海青种子(*Brassica chinensis*)(购自南京绿领种业),吸取 5mL 浸提液于培养皿中,以超纯水为空白对照,每一处理 3 个重复( $n=3$ ).置于 25℃ 恒温培养箱中培养 3d 后,分别测定堆肥与对照样品中种子发芽数量(个)和种子根长(mm),计算其相对发芽率(RSG,%),相对根长(RRG,%)以及发芽指数(GI,%).

$$\text{RSG} = \frac{\text{堆肥样品中种子发芽数量}}{\text{对照样品中种子发芽数量}} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{RRG} = \frac{\text{堆肥样品中种子根长}}{\text{对照样品中种子根长}} \times 100\% \quad (3)$$

$$\text{GI} = \text{RSG} \times \text{RRG} \times 100\% \quad (4)$$

## 1.6 统计与分析

实验数据经 Excel 2020 预处理后用 IBM SPSS Statistics 22 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,其中  $P < 0.05$  表示不同处理间具有显著性差异.对于两个处理组间的比较采用独

立样本 T 检验(置信区间 95%)进行分析比较,其中,\*表示两处理组间在统计学上具有显著性差异( $P < 0.05$ ).最后采用 Origin 2018 软件作图.

## 2 结果与分析

### 2.1 芬顿氧化堆制过程中牛粪理化性质的变化情况

含水率、有机质以及营养元素(总氮、总磷、总钾)是评价堆肥品质的重要指标.含水率是影响堆肥效果的重要因素之一.如图 1(a)所示,在 768h(32d)堆制过程中,4 个堆体的含水率均保持在 50%~70%之间.各处理组堆体间含水率变化差异较小,表明芬顿氧化试剂的加入对堆肥含水率没有明显影响.

pH 值是影响堆制过程的重要因素.适宜的 pH 值条件可提高堆肥效率.在堆肥初期,各堆体初始 pH 值为 8.20.随着堆肥时间的延长,未添加柠檬酸的处理组 D3 和对照组 D1 中的 pH 值变化较为平稳,pH 值保持在 8.0~8.5 之间.而加入柠檬酸的处理组 D4 中,堆体 pH 值随堆肥时间的延长呈先下降后上升的趋势.在 3h 时,D2、D4 堆体的 pH 值达到最低,分别为 7.3 和 6.3.随着时间的延长,pH 值呈波动上升趋势.这表明有机酸的加入在一定程度上降低了堆体 pH 值,而随着 Fenton 氧化时间的延长,堆体中有机质被氨化产生大量的氨气,堆体 pH 值升高<sup>[16-17]</sup>,使堆体 pH 值逐渐恢复.

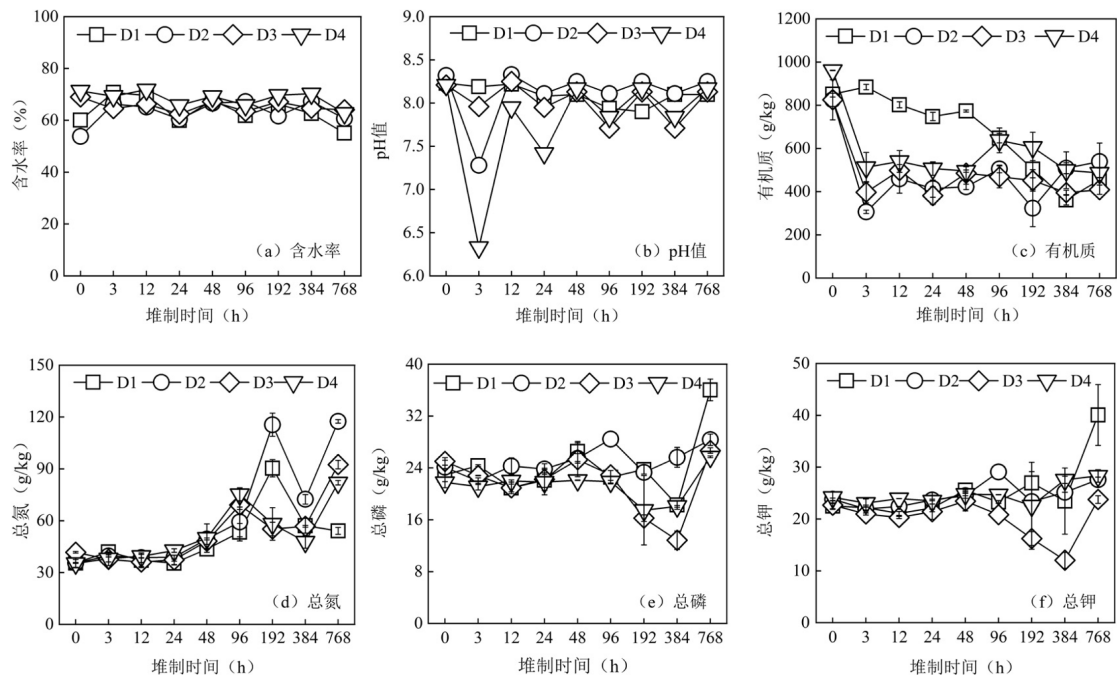


图 1 芬顿氧化堆制过程中堆体理化性质变化情况

Fig.1 Change of physicochemical properties of pile during Fenton-composting process

堆肥样品中有机质含量是评价堆肥品质的另一个重要指标.在 768h 堆制过程中,各堆体有机质含量随堆制时间延长均呈下降趋势(图 1).其中,D1 堆体中有机质含量随堆制时间呈缓慢降低趋势.加入氧化试剂后,堆体中有机质含量迅速下降.在 3h 时, D2、D3 和 D4 堆体中有机质含量最低,分别从 825.13,825.16 和 961.3g/kg 下降到 306.6,397.23 和 512.24g/kg.随着时间的延长,有机质含量变化趋于平缓.这表明 Fenton 氧化试剂的加入可加速畜禽粪便中有机质的去除.

营养元素(总氮、总磷和总钾)是评价堆肥养分的重要指标.从图 1 看出,3 种营养元素在堆制结束后均有增加.与传统堆肥相比,氧化堆制技术可显著提高堆体总氮含量.D2、D3、D4 堆体在氧化堆制结束后,总氮含量分别由 4.19,4.17,3.53g/kg 升高至 11.75,9.25,8.20g/kg,D2 处理组中总氮含量最高.这表明 Fenton 氧化堆制过程可提高堆肥样品中氮含量.对于总磷和总钾来说,氧化堆制处理中总磷和总钾的变化趋于平稳.芬顿氧化堆制结束时,对照组(D1)

中两者含量高于加入氧化试剂的处理组.

## 2.2 芬顿试剂对牛粪氧化堆制过程中雌激素去除的影响

### 2.2.1 芬顿氧化试剂对牛粪中雌激素去除的影响

本研究中设置了未添加 Fenton 试剂的对照组(D1)、添加 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的处理组(D2)和添加 Fenton 试剂的处理组(D4),以研究 Fenton 试剂对牛粪中雌激素去除的影响.如图 2 所示,随着氧化试剂的加入,堆体中雌激素残留率明显降低.氧化堆制 3h 后,加入 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的堆体中 E3、BPA、17β-E2、EE2 四种雌激素的残留率分别为 68.44%、16.72%、11.65%和 11.08%,分别是对照组的 0.60、0.23、0.15 和 0.39 倍,而 D4 堆体中,4 种雌激素的残留率分别为 15.10%、9.90%、2.65%和 11.44%,分别是对照组的 0.13、0.14、0.03 和 0.40 倍.这表明 Fenton 氧化试剂可快速降低牛粪中雌激素残留量.随着时间的延长,牛粪中四种雌激素残留含量缓慢降低.经过 768h 堆制后,除 EE2 外,加入氧化试剂的处理组中 E3、17β-E2 和 BPA 均低于检出限.这表明氧化堆制技术可有效去除牛粪中 E3、17β-E2 和 BPA.

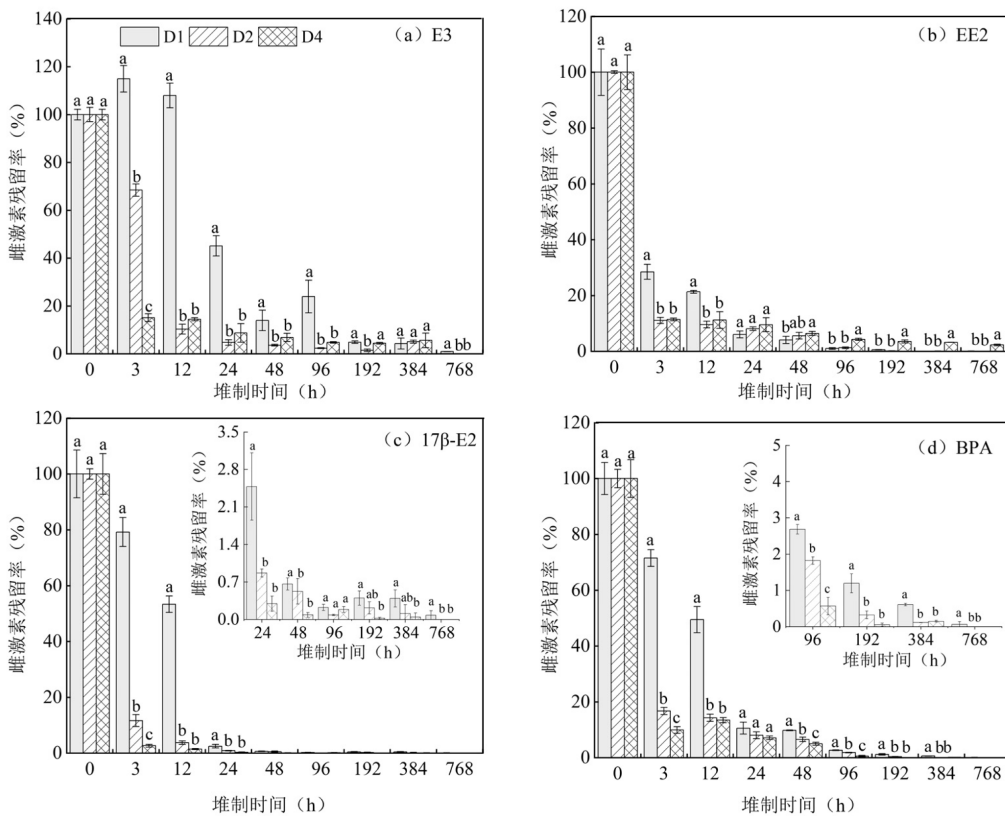


图 2 芬顿氧化试剂对牛粪堆制中雌激素去除的影响

Fig.2 Effect of Fenton oxidation reagent on estrogens removal during cow manure composting

图中不同字母表示在同一时间下各处理组间具有显著性差异,  $P < 0.05$

2.2.2 柠檬酸对芬顿氧化去除牛粪中雌激素的影响 柠檬酸具有较高的可及性和生物可降解性,是堆肥过程中构建芬顿系统的最佳化学试剂.图 3 反映了柠檬酸对芬顿氧化堆肥处理牛粪中雌激素残留的影响.结果表明,无论是否添加柠檬酸,经 768h 氧化堆制处理后,牛粪中 E3、BPA、17β-E2 含量均低于检出限.在氧化堆制 12h 时,添加柠檬酸的处理组中 4 种雌激素

残留率分别为 14.43%(E3)、13.43%(BPA)、1.43% (17β-E2)和 11.22%(EE2)显著低于未添加柠檬酸的处理组.然而,随着堆制时间的延长,柠檬酸对不同种类雌激素在氧化堆制中的去除效果存在差异.其中,在堆制 384h 时,未添加柠檬酸的处理组中 E3 和 EE2 残留率分别为 4.90%和 0.03%,明显低于添加柠檬酸处理组中 E3 和 EE2 的残留率.

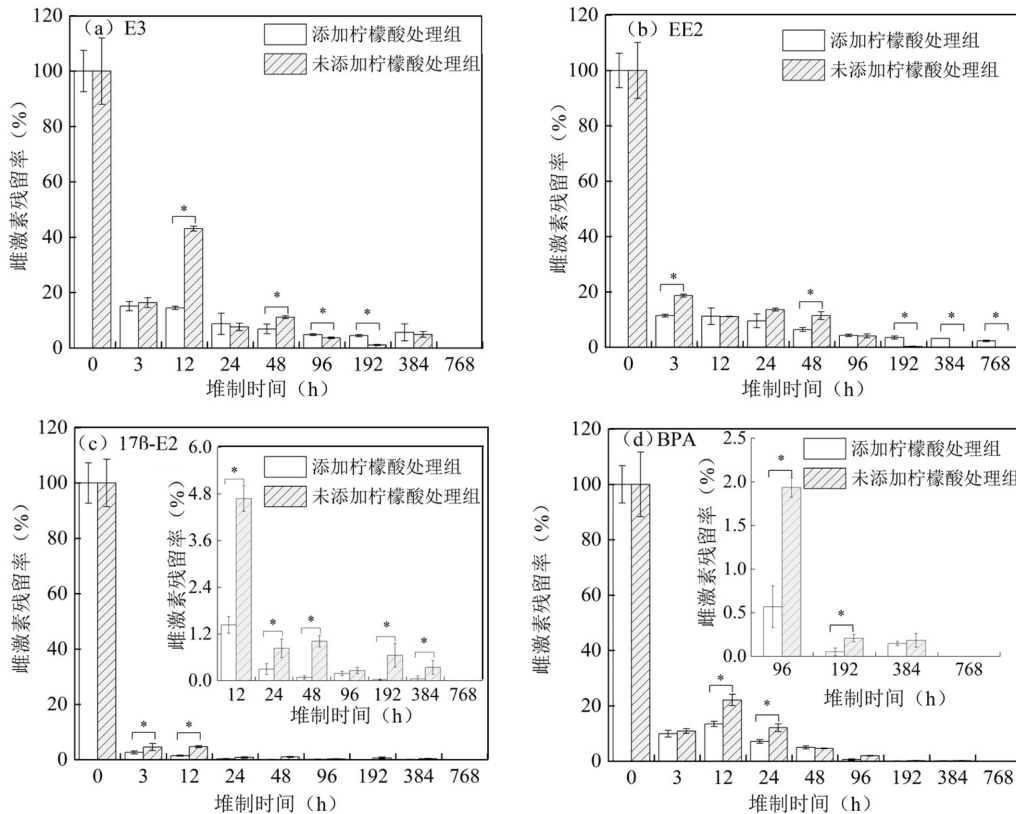


图 3 柠檬酸对牛粪中雌激素去除的影响

Fig.3 Effect of citric acid on estrogen removal during cow manure composting

图中\*表示在同一时间下各处理组间具有显著性差异,P<0.05

2.3 氧化堆制处理畜禽粪便堆肥的植物毒性

种子发芽实验常用来评价堆肥的腐熟程度以及有机废弃物对植物的毒性,它既可以考察利用芬顿氧化堆制对植物根系生长的毒性,又可评价堆制

工艺对发芽率的影响<sup>[28]</sup>.由表 4 和表 5 可知,堆肥初期,牛粪对上海青种子发芽及根的生长影响较弱.其中,上海青(*Brassica chinensis*)发芽率和相对根长最低为 93.58%和 33.33%,最高为 98.55%和 47.29%.

表 4 牛粪氧化堆制对上海青相对发芽率和发芽指数的影响

Table 4 The effects of oxidative composting process on the relative seed germination rate and germination index of *Brassica chinensis* seeds

组别	相对发芽率(%)		发芽指数(%)	
	0d	32d	0d	32d
D1	96.66±1.86ab	98.63±2.66bc	40.4±5.58ab	49.71±2.42c
D2	98.55±1.85a	106.38±1.46a	39.78±7.23ab	61.97±18.34ab
D3	93.58±4.12ab	101.21±0b	31.13±1.71c	54.92±0b
D4	94.63±5.73ab	95.34±4.09c	44.47±6.63a	70.05±4.31a

注:数据为平均值±标准偏差;同列数据后不同小写字母表示同一时间不同处理在P<0.05水平上差异显著.

从表 4 可知,堆肥初期,上海青种子发芽指数均 <50%,而 768h 氧化堆制后,上海青种子发芽指数 GI>50%。同时,768h 氧化堆制后,上海青种子发芽率为 100%(表 4),种子相对根长达到 50%以上(表 5)。这进一步说明氧化堆制后的牛粪有机肥对上海青生长抑制作用小,同时,氧化堆制后的畜禽粪便有机肥对上海青并未表现出毒害作用。因此,Fenton 氧化堆制后的堆肥产品可作为有机肥施用到农田中。

表 5 牛粪氧化堆制对上海青相对根长的影响

Table 5 The effects of oxidative composting process on the relative root growth of *Brassica chinensis*

时间 (d)	相对根长(%)			
	D1	D2	D3	D4
0	41.86±6.58ab	40.31±6.58ab	33.33±3.29b	47.29±9.87a
32	50.39±1.1c	58.14±16.44ab	54.26±0b	73.64±7.67a

注:数据为平均值±标准偏差;同行数据后不同小写字母表示同一时间不同处理在 $P<0.05$ 水平上差异显著。

### 3 讨论

本研究首次通过芬顿氧化联合传统堆肥处理对畜禽粪便中雌激素进行去除。研究发现,Fenton 氧化堆制技术可快速去除牛粪中大量的 E3、17 $\beta$ -E2、BPA 和 EE2。反应 24h 后,牛粪中 E3、17 $\beta$ -E2、BPA 和 EE2 去除率可达 91.28%、99.70%、92.92%和 90.45%。Sun 等<sup>[12]</sup>利用 Fenton 氧化技术对牛粪中 5 种雌激素(17 $\beta$ -E2、E3、BPA、EE2 和己烯雌酚)进行去除研究,结果发现经 Fenton 氧化处理 24h 后,牛粪中 5 种雌激素的去除率可达 79.47%~99.41%。这与本实验研究结果一致。这表明 Fenton 氧化可快速、高效地去除畜禽粪便中雌激素残留。通常,Fenton 试剂对有机污染物的氧化去除作用具有广谱性。在本文早期的研究中发现,利用 Fenton 氧化方法也可高效去除畜禽粪便中的抗生素残留<sup>[11]</sup>。这可能是因为 Fe<sup>2+</sup>与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 作用可产生具有氧化能力极强的羟基自由基( $\cdot$ OH)<sup>[13]</sup>,其可作为氧化反应的“链”将其他自由基和反应中间体串联在一起发生一系列的氧化反应。此外,生成的 $\cdot$ OH 可以加入污染物 C=C 双键,也可从有机污染物(RH)中提取一个 H 原子生成有机自由基( $\cdot$ R),并将污染物进一步氧化成小分子有机物或二氧化碳和水<sup>[12]</sup>。

随着氧化堆制处理时间的延长,牛粪中雌激素

含量的变化趋于缓慢。氧化堆制 768h 后,牛粪中 E3、17 $\beta$ -E2、BPA 含量低于仪器最低检出限。这可能是由于随着氧化堆制时间的延长, $\cdot$ OH 被消耗,链式反应终止,从而减缓了畜禽粪便中雌激素的降解;与此同时,经 Fenton 氧化去除后,残留在牛粪中的雌激素主要以难被微生物降解的结合态雌激素为主<sup>[30]</sup>。有趣的是,堆制处理 48h 后,加入 Fenton 氧化试剂的处理组(D4)中 EE2 的残留率却显著高于对照组(D1)。一些研究表明,Fenton 反应产生的 $\cdot$ OH 会抑制甚至杀死一部分微生物<sup>[18-19]</sup>。因此,Fenton 氧化试剂的加入对牛粪中具有 EE2 降解功能的微生物的损害可能是造成 EE2 残留的主要原因之一。此外,Fenton 氧化作用可破坏畜禽粪便中大分子有机质(木质素、纤维素和半纤维素等)结构<sup>[6,14]</sup>。本文推测这种结构的破坏可能有利于促进与之结合或被腐殖质化的 EE2 释放,从而提高可提取态 EE2 的含量。

环境条件的改变会影响氧化堆制对雌激素的去除效果,比如:含水率、pH 值等<sup>[31]</sup>。本文利用柠檬酸作为粪便 pH 值的调理剂。研究发现,柠檬酸的加入促进了堆体中 17 $\beta$ -E2 和 BPA 去除。柠檬酸是一种环保型三羧酸,其分子尺寸较大,更容易接近铁中心,从而减小降解过程中 Fenton 试剂的消耗<sup>[20]</sup>。当柠檬酸(CA)作为配体时,柠檬酸可以同时螯合铁离子,降低铁的沉淀,从而使 Fenton 氧化的氧化活性更加持久。此外,柠檬酸是一种酸化剂,可作为 pH 值为 3 的缓冲液(pKa $\approx$ 3.08),提高畜禽粪便中雌激素的氧化速率<sup>[21]</sup>。然而,加入柠檬酸处理组牛粪中 E3 和 EE2 的残留量高于未添加柠檬酸处理。这可能是由于 17 $\beta$ -E2 通过微生物降解羟基化作用转化为 E3<sup>[22]</sup>,从而增加堆肥过程中 E3 含量。另外,一些研究发现柠檬酸对土壤中的污染物具有活化作用<sup>[23]</sup>,可促进畜禽粪便中结合态 E3 和 EE2 的释放,从而导致加入柠檬酸处理组牛粪中 E3 和 EE2 的含量高于未添加柠檬酸处理组。

研究表明,添加 Fenton 氧化试剂会影响堆肥产品的品质<sup>[18]</sup>。通常,6.5~8.0 的 pH 值范围适合堆肥微生物的代谢<sup>[24]</sup>。然而,在 Fenton 氧化堆制前期,由于柠檬酸的加入使得堆体 pH 值下降,而随着堆制时间的延长,pH 值逐渐回升至 8.0。这主要是由于随着氧化堆制时间的延长,蛋白质、氨基糖等有机氮不断被微生物酶矿化、氨化释放氨气,使得 pH 值有所回升。

堆制结束后, Fenton 氧化堆制处理组中总磷含量低于对照组和仅加入  $H_2O_2$  处理组, 这与 Li 等<sup>[25]</sup> 研究报道结果一致. 这主要是由于  $Fe^{2+}$  具有一定的除磷效果. 对于总氮来说, 本研究发现氧化堆制可提高堆体总氮含量. Cai 等<sup>[18]</sup> 发现类 Fenton 与微生物复合剂协同堆制后期, 由于堆体中微生物活性、堆肥体积和质量的降低, 导致堆体总氮含量增加. 发芽指数是判断堆肥腐熟程度的重要参数之一. 一般情况下, 当发芽指数(GI)大于 50% 时, 可认为堆肥对种子基本没有毒性, 且堆料已达到腐熟<sup>[26]</sup>. 本实验堆制结束后, 上海青在各堆体堆料浸提液中可正常生长, 种子发芽指数  $GI > 50\%$ . 因此, 经过 32d 堆制后, 供试堆体均达到了腐熟. 同时, 可以说明的是, 芬顿氧化堆制工艺对蔬菜种子无表观毒害作用.

本研究为畜禽粪便的资源化安全利用和无害化处理提供了技术支持. 然而, 本文对 Fenton 氧化堆制高效去除畜禽粪便中雌激素的机制仍不充足, 如微生物群落结构变化、有机质组分变化等与氧化过程中雌激素残留含量间的关系, 有待开展进一步研究. 同时, 未来研究可尝试在氧化堆制过程中添加降解功能微生物, 通过协同处理增加畜禽粪便中的雌激素等难降解有毒有害物质去除效能, 从而提高畜禽粪便农用的安全性.

## 4 结论

**4.1** Fenton 氧化堆制方法对畜禽粪便中雌激素具有良好的去除效果. 在芬顿堆制过程中, 加入柠檬酸, 7%  $H_2O_2$  浓度、铁添加比为 1:15 的芬顿试剂, 可快速降低牛粪中 E3、17 $\beta$ -E2、BPA 和 EE2 含量. 3h 内四种雌激素的残留率分别为 15.10%、2.65%、9.90% 和 11.44%, 并且在 768h 堆制后, 除 EE2 外, 其他 3 种雌激素的残留量均低于检出限. EE2 的残留率仅为 2%.

**4.2** 种子发芽试验表明经 Fenton 堆制后畜禽粪便可作为有机肥施入土壤, 促进植物生长.

### 参考文献:

- [1] Li J, Yang W, Liu L, et al. Development and environmental impacts of China's livestock and poultry breeding [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022,371:133586.
- [2] Dodgen L K, Wiles K N, Deluhery J, et al. Removal of estrogenic hormones from manure-containing water by vegetable oil capture [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2018,343:125-131.
- [3] Liang Z, Wu J, He D C, et al. Degradation characteristics and effect mechanisms of estrogens during aerobic composting of chicken manure based on the orthogonal test [J]. *Journal of Environmental Management*, 2024,370:122751.
- [4] Yang Q, Liao W, Wei Z, et al. Degradation and humification of steroidal estrogens in the soil environment: a review [J]. *Chemosphere*, 2024,357:142043.
- [5] Abdellah Y A Y, Zang H, Li C. Steroidal estrogens during composting of animal manure: persistence, degradation, and fate, a review [J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2020,231(11):547.
- [6] Yang Q, Liao W, Wei Z, et al. Degradation and humification of steroidal estrogens in the soil environment: a review [J]. *Chemosphere*, 2024,357:142043.
- [7] Tang Z, Liu Z, Wang H, et al. Trace determination of eleven natural estrogens and insights from their occurrence in a municipal wastewater treatment plant and river water [J]. *Water Research*, 2020,182:115976.
- [8] 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.
- [9] Han J, Cheng P, 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.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] Zhang H, Shi J, Liu X, et al. Occurrence and removal of free estrogens, conjugated estrogens, and bisphenol A in manure treatment facilities in East China [J]. *Water Research*, 2014,58:248-257.
- [13] Wang J, Zhou X, Waigi G M, et al. Simultaneous removal of estrogens and antibiotics from livestock manure using Fenton oxidation technique [J]. *Catalysts*, 2019,9(8):644-644.
- [14] Sun M, Xu D, Ji Y, et al. Using fenton oxidation to simultaneously remove different estrogens from cow manure [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2016,13(9):917.
- [15] Jiang Y, Ran J, Mao K, et al. Recent progress in Fenton/Fenton-like reactions for the removal of antibiotics in aqueous environments [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022,236:113464.
- [16] Jiao M, Yue F, Ren X, et al. Enhanced humification attributed by the integration of Fenton reagent and oxalic acid during a co-composting of swine manure and corn straw: Impacts and the possible mechanisms [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2024,498:155579.
- [17] 周贤, 王建, 韩进, 等. 畜禽粪便好氧堆肥过程中抗生素的消减规律 [J]. *中国环境科学*, 2024,44(3):1613-1621.
- [18] Zhou X, Wang J, Han J, et al. Antibiotic elimination in livestock manure during composting [J]. *China Environmental Science*, 2024, 44(3):1613-1621.
- [19] Wainaina S, Awasthi M K, Sarsaiya S, et al. Resource recovery and circular economy from organic solid waste using aerobic and anaerobic digestion technologies [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 301:122778.
- [20] Gigliotti G, Proietti P, Said-Pullicino D, et al. Co-composting of olive

- husks with high moisture contents: Organic matter dynamics and compost quality [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2012,67:8-14.
- [18] Cai Z J, Yu L Y, Yang B Z, et al. Synergistic improvement of humus formation in compost residue by Fenton-like and effective microorganism composite agents [J]. *Bioresource Technology*, 2024, 400:130703.
- [19] García-Fernández I, Polo-López M I, Oller I, et al. Bacteria and fungi inactivation using  $\text{Fe}^{3+}$ /sunlight,  $\text{H}_2\text{O}_2$ /sunlight and near neutral photo-Fenton: A comparative study [J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2012,121-122:20-29.
- [20] Xiao K, Pei K, Wang H, et al. Citric acid assisted Fenton-like process for enhanced dewaterability of waste activated sludge with in-situ generation of hydrogen peroxide [J]. *Water Research*, 2018,140:232-242.
- [21] Sheng T, Zhao L, Liu W Z, et al. Fenton pre-treatment of rice straw with citric acid as an iron chelate reagent for enhancing saccharification [J]. *RSC Advances*, 2017,7(51):32076-32086.
- [22] Liu X, Wang Z, Wang X, et al. Conversion of estriol to estrone: A bacterial strategy for the catabolism of estriol [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2024,280:116564.
- [23] Gao Y, Yuan X, Lin X, et al. Low-molecular-weight organic acids enhance the release of bound PAH residues in soils [J]. *Soil & Tillage Research*, 2015,145:103-110.
- [24] Aydin F T, Cagcag Ö Y, Gamze N T. Artificial Intelligence and Machine Learning Approaches in Composting Process: A Review [J]. *Bioresource Technology*, 2023,370:128539.
- [25] Li J, Zeng W, Liu H, et al. Performances and mechanisms of simultaneous nitrate and phosphate removal in sponge iron biofilter [J]. *Bioresource Technology*, 2021,337:125390.
- [26] Wang G, Yang Y, Kong Y, et al. Key factors affecting seed germination in phytotoxicity tests during sheep manure composting with carbon additives [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022,421:126809.
- [27] Kong X, Luo G, Yan B, et al. Dissolved organic matter evolution can reflect the maturity of compost: Insight into common composting technology and material composition [J]. *Journal of Environmental Management*, 2023,326:116747.
- [28] NY/T 3442-2019 畜禽粪便堆肥技术规范 [S].  
NY/T 3442-2019 Technical specification for animal manure composting [S].
- [29] Congilosi J L, Aga D S. Review on the fate of antimicrobials, antimicrobial resistance genes, and other micropollutants in manure during enhanced anaerobic digestion and composting [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021,405:123634.
- [30] Zhou X, Jiang Y, Leng G, et al. The addition of Glomalin-related soil protein and functional microbial consortium increased bound PAH residue degradation in soil [J]. *Applied Soil Ecology*, 2024,193:105158.
- [31] Adhami S, Jamshidi-Zanjani A, Darban A K. Phenanthrene removal from the contaminated soil using the electrokinetic-Fenton method and persulfate as an oxidizing agent [J]. *Chemosphere*, 2021,266:128988.

**作者简介:** 周 贤(1993-),女,江苏淮安人,钟山青年研究员,博士,主要从事土壤污染控制与修复研究.发表论文 18 篇.t2024037@njau.edu.cn.