

# 普通小球藻引发水中 17 $\beta$ -雌二醇的光降解\*

葛利云 邓欢欢 吴峰 翁玥 邓南圣\*\*

(武汉大学, 武汉 430072)

**【摘要】** 研究了普通小球藻引发水中 17 $\beta$ -雌二醇(E2)的光降解, 结果表明, 在 250 W 高压汞灯(HPML, nm)的照射下, 藻浓度为  $4.0 \times 10^{10}$  个 $\cdot$ L $^{-1}$ 时, 17 $\beta$ -雌二醇的光降解率可达 37%。藻浓度为  $4.2 \times 10^{10}$  个 $\cdot$ L $^{-1}$ 时, 17 $\beta$ -雌二醇浓度在  $1.5 \times 10^{-5}$  -  $6.0 \times 10^{-5}$  mol $\cdot$ L $^{-1}$  范围内, 其光降解速率与初始浓度成正比, 反应是假一级。另外, 还研究光强、藻悬浮液浓度和 17 $\beta$ -雌二醇初始浓度等对此反应体系的影响。

**关键词** 光降解 普通小球藻 17 $\beta$ -雌二醇

**文章编号** 1001-9332(2004)07-1257-04 **中图分类号** X131.2 **文献标识码** A

**Photodegradation of 17 $\beta$ -estradiol induced by *Chlorella vulgaris*.** GE Liyun, DENG Huanhuan, WU Feng, WENG Yue, DENG Nansheng (Wuhan University, Wuhan 430072, China). -*Chin. J. Appl. Ecol.*, 2004, 15(7): 1257~1260.

The study showed that when exposed to high-pressure Hg-lamp (HPML,  $\lambda_{\max} \geq 365$  nm), and the concentration of *Chlorella vulgaris* was  $4.0 \times 10^{10}$  cells $\cdot$ L $^{-1}$ , the photodegradation rate of 17 $\beta$ -estradiol could reach to 37%. When the concentration of *Chlorella vulgaris* was  $4.2 \times 10^{10}$  cells $\cdot$ L $^{-1}$ , the photodegradation of  $1.5 \times 10^{-5}$  ~  $6.0 \times 10^{-5}$  mol $\cdot$ L $^{-1}$  17 $\beta$ -estradiol in aqueous solutions was pseudo-first order reaction. Increasing the initial concentration of 17 $\beta$ -estradiol could lower its photodegradation rate. The influence of light intensity and *Chlorella vulgaris* concentration on the photodegradation of 17 $\beta$ -estradiol was also studied in this paper.

**Key words** Photodegradation, *Chlorella vulgaris*, 17 $\beta$ -estradiol.

## 1 引言

近几十年来, 大量人工合成的化学品被释放到环境中, 其中某些化学物严重干扰了人类和野生动物的内分泌系统(腺和荷尔蒙), 对其发育和生殖功能产生不良影响<sup>[3, 12, 13]</sup>. 这些化学物被称为“外源性内分泌干扰物”或环境内分泌干扰物(Environmental Endocrine Disruptors, 简称 EEDs). 环境内分泌干扰物大都为环境雌激素, 如己烯雌酚(DES)、17 $\beta$ -雌二醇、17 $\alpha$  乙炔基雌二醇(EE2)和雌酮(E1)等, 它们的致癌性、基因毒性和生殖毒性已经得到确定<sup>[1, 8, 14]</sup>, 治理 EEDs 造成的污染已经成为目前全世界关注的焦点<sup>[18]</sup>.

天然水体中发生的光化学过程是有机污染物在水环境中转化的一个重要途径, 国内外学者在这方面做了许多研究<sup>[4~6]</sup>. 利用光化学方法治理 EEDs 的污染已越来越受到广泛的关注<sup>[9, 17]</sup>. 藻类是最简单的光合作用有机体, 对酚类、DDT、六六六、偶氮、蒽等有机物都有明显的富集和降解能力<sup>[7, 10, 16, 19]</sup>. Zepp 等<sup>[20]</sup>研究了藻类引发水中有机物的光降解. 发现在纯培养的蓝藻和绿藻存在下, 4 h 的实验周期内, 这些有机物的光降解速率明显增加. 本文研究

了在模拟阳光下, 普通小球藻引发水中 E2 的光降解, 利用荧光光度法直接测定水中 E2 的浓度, 利用 HPLC 分析, 对藻类引发水中有机物光降解及机理进行了初步探讨, 为更深入研究水生生物参与有机物的光化学行为和归宿提供了基础数据.

## 2 材料与方法

### 2.1 实验材料

普通小球藻(*Chlorella vulgaris*)从中国科学院水生生物研究所购得.

### 2.2 仪器和试剂

F-4500 荧光光度计(Hitachi, 日本), HPLC(YSB-2 平流泵, CR3A 数据处理系统, Waters 481, UV 检测器), 125 W 和 250 W 高压汞灯( $\lambda_{\max} \geq 365$  nm). HP400G 型恒温光照培养箱, LD5-2A 型离心机, 10 ml 试管, 同心圆式光反应支架.

17 $\beta$ -雌二醇(分析纯), 抗坏血酸(分析纯), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液, HCl、NaOH 等常用调 pH 试剂(分析纯); 水生 4 号培养基.

### 2.3 实验方法

**2.3.1 普通小球藻的培养和处理** 按照水生 4 号培养基的标准配制普通小球藻培养液. 用  $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液

\* 国家自然科学基金资助项目(20177017).

\*\* 通讯联系人.

2003-05-26 收稿, 2003-09-03 接受.

调节 pH=7.0~7.2. 灭菌 20 min, 冷却后, 无菌条件下进行接种, 再放入恒温培养箱内进行培养. 温度为  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ . 培养长大后, 用  $0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  抗坏血酸(调节 pH=3)对藻进行清洗, 轻度搅拌 30 min, 以便除去可能吸附在藻细胞上的胶体状氢氧化铁颗粒, 避免氢氧化铁胶体所具有的光敏化作用. 将预处理后的藻悬浮液移入离心管中离心清洗 3 遍, 转速为 3 500 rpm, 每次离心时间为 20 min. 最后, 用血球计数板在显微镜下计数藻细胞, 单位为  $\text{个}\cdot\text{L}^{-1}$ , 该藻备用.

**2.3.2 17 $\beta$ -雌二醇光降解反应** 配置  $3.0 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 E2 溶液, 加入预处理后的普通小球藻, 置于 10 ml 的石英试管中. 用 250 W 高压汞灯平行照射. 间隔 1 h 取样(2 支平行), 对含藻的悬浮液离心(3 500rpm, 30 min), 取其上清液, 用荧光光度计测定其中 17 $\beta$ -雌二醇的浓度<sup>[2, 11, 15]</sup>, 激发波长为 280 nm, 发射波长为 314.2 nm. 17 $\beta$ -雌二醇在  $0 \sim 6.0 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  范围内校准曲线方程为:

$$F = 73.04 + 11.17C, R = 0.99251, N = 5.$$

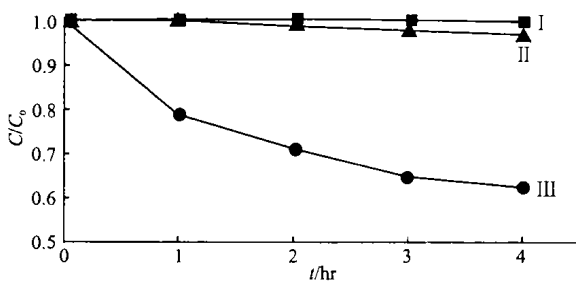
**2.3.3 实验条件** 改变 17 $\beta$ -雌二醇初始浓度、藻浓度和光强等条件, 分别研究其对 17 $\beta$ -雌二醇光降解的影响. 同一条件实验做 3 次, 结果为 3 次实验平均值.

**2.3.4 HPLC 条件** 流动相乙腈:水 = 50:50; 流速  $0.8 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ; 色谱柱为 HpZobar(SB-C18,  $4.6 \times 150 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$ ).

### 3 结果与分析

#### 3.1 普通小球藻引发水中 17 $\beta$ -雌二醇光降解效果

图 1 给出了 E2 浓度为  $3 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 藻浓度为  $4.0 \times 10^{10} \text{ 个}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 250 W 高压汞灯照射下, 藻对 E2 光降解的影响. 由图 1 可以看出, 不加藻的 E2 溶液在 250W 高压汞灯( $\lambda \geq 365 \text{ nm}$ )的照射下, 不发生降解, 这是因为 E2 水溶液对波长大于 320 nm 的光没有吸收, 所以本实验所用的高压汞灯不能激发 E2 的直接光解. 藻本身可以吸附 E2, 4 h 吸附量达到 3%, 因而, 4 h 的实验周期内, 生物吸附对本实验的影响可以忽略不计; 但是当有光的条件下, E2 的间接光降解明显增强, 其降解率可达 37%.

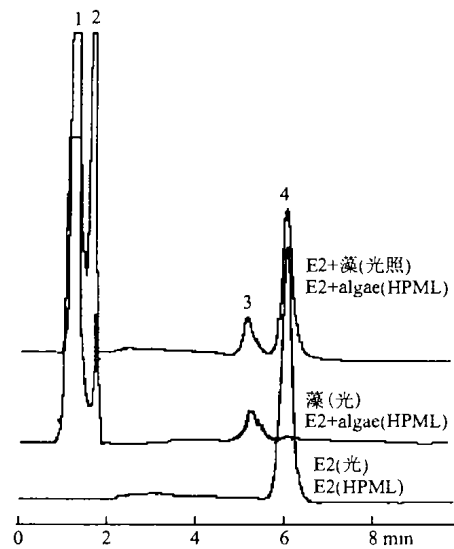


**图 1 藻对 E2 光降解的影响**  
Fig.1 Effects of *C. vulgaris* on the photodegradation of E2.  
I. E<sub>2</sub>(光)E<sub>2</sub>(HPML), II. E<sub>2</sub> + 藻(光)E<sub>2</sub> + algae(HPML), III. E<sub>2</sub> + 藻(暗)E<sub>2</sub> + algae(in dark).

为了初步考查 E2 在小球藻引发下的光降解行

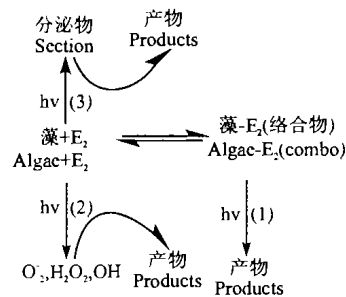
为, 采用 HPLC 方法对 E2 光降解前后的溶液进行了分析.

图 2 是 HPLC 的色谱图, 说明藻溶液本身在光照下能产生强极性的羧酸类物质(1 号峰对应的物质), 也可能产生某种弱极性的分泌物或产物(3 号峰对应的物质). 含藻 E2 溶液光照后, 羧酸类产物含量增加, 而 E2 浓度有所降低, 而藻本身光照产生的弱极性产物基本不变, 说明普通小球藻引发了 E2 光降解.



**图 2 E2 光降解的 HPLC 色谱图**  
Fig.2 HPLC chromatogram of the photodegradation of E2.

综上, E2 在普通小球藻引发的光降解主要可能机制如图 3 所示: (1) 藻与 E2 可能结合, 从而能够吸收波长较长的光, 而发生光解; (2) 藻液受光的照射, 产生了增多的活性氧(如  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{O}_2^-$  等), 使得 E2 氧化降解; (3) 藻液在高压汞灯的照射, 温度逐渐升高, 藻受热产生分泌物或死亡, 成为腐殖质, 而腐殖质对 E2 光降解有催化作用.



**图 3 E2 的光解反应途径**  
Fig.3 Pathways of photodegradation of E2.

#### 3.2 藻浓度对 17 $\beta$ -雌二醇光降解反应的影响

用 4 组不同的藻浓度, 测试藻浓度对反应体系的影响. 由图 4 可以看出, 藻浓度在  $2.0 \times 10^9 \text{ 个}\cdot\text{L}^{-1}$

$L^{-1} \sim 4.0 \times 10^{10}$  个  $\cdot L^{-1}$  之间时,藻浓度与 E2 的光降解速率成正比,这是因为藻浓度越高,产生的活性氧物质以及最后形成的腐殖质也越多.因此,E2 的光降解速率增大.

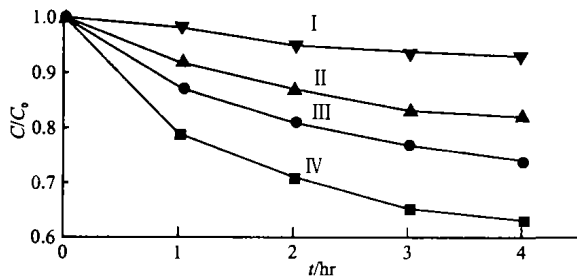


图 4 藻浓度对 E2 光降解的影响

Fig. 4 Effect of *C. vulgaris* concentration on the photodegradation rate of E2.

I .  $2.0 \times 10^9$  cells  $\cdot L^{-1}$ , II .  $1.0 \times 10^{10}$  cells  $\cdot L^{-1}$ , III .  $2.0 \times 10^{10}$  cells  $\cdot L^{-1}$ , IV .  $4.0 \times 10^{10}$  cells  $\cdot L^{-1}$ .

### 3.3 17 $\beta$ -雌二醇初始浓度对光解速率的影响

由图 5 可以看出,在  $1.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot L^{-1} \sim 6.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot L^{-1}$  这个浓度区间内,E2 的初始浓度越小,E2 的降解率就越高,反应属于假一级(表 1).其机制有待进一步研究.

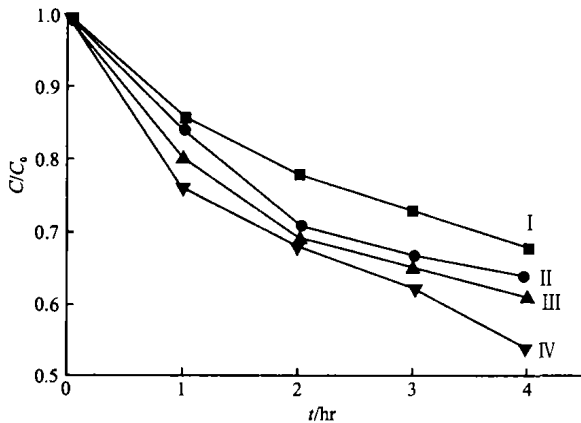


图 5 不同 E2 浓度对光降解的影响(藻浓度为  $4.2 \times 10^{10}$  个  $\cdot L^{-1}$ )

Fig. 5 Effect of E2 initial concentration on the photodegradation rate of E2 (the algae concentration is  $4.2 \times 10^{10}$  cells  $\cdot L^{-1}$ ).

I .  $6.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot L^{-1}$ , II .  $4.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot L^{-1}$ , III .  $3.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot L^{-1}$ , IV .  $1.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot L^{-1}$ .

表 1 17 $\beta$ -雌二醇光降解动力学分析

Table 1 E2 photodegradation kinetics analysis

E2 初始浓度 $C_0$ E2 initial concentration $C_0(\text{mol} \cdot L^{-1})$	相关系数 Correlation coefficients (-r)	动力学方程 Kinetics equation
$1.5 \times 10^{-5}$	0.977	$\ln C/C_0 = -0.145t$
$3.0 \times 10^{-5}$	0.963	$\ln C/C_0 = -0.120t$
$4.5 \times 10^{-5}$	0.965	$\ln C/C_0 = -0.113t$
$6.0 \times 10^{-5}$	0.981	$\ln C/C_0 = -0.093t$

N=5,置信区间水平  $\alpha=0.01$ ,临界相关系数为 0.959,t 单位为每小时. The number of samples is 5, the critical correlation coefficient  $-r_c=0.959$  ( $\alpha=0.01$ ).  $-r_1$  represent correlation coefficient calculated under and pseudo-first order law, respectively; t represents reaction in unit hour.

### 3.4 光强对 17 $\beta$ -雌二醇光降解的影响

分别用 125 W、250 W 高压汞灯,对含藻的 E2 溶液进行光照,藻浓度为  $4.0 \times 10^{10}$  个  $\cdot L^{-1}$ .由图 6 可以看出,250 W 高压汞灯更利于 E2 的光降解.因为 250 W 高压汞灯的光通量大,有 4 900Lm,而 125 W 高压汞灯的光通量仅为 1 500Lm,所以光通量大有利于此反应体系的光降解.

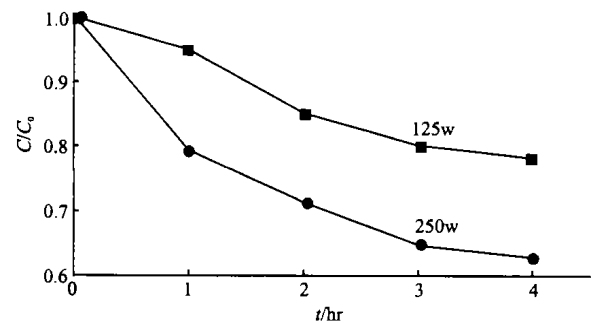


图 6 光强对 E2 光降解的影响

Fig. 6 Effect of light intensity on the photodegradation rate of E2.

## 4 结 论

在 250 W 高压汞灯( $\lambda \geq 365 \text{ nm}$ )下,水溶液中的 E2 基本不发生光降解,而当藻浓度为  $4.0 \times 10^{10}$  个  $\cdot L^{-1}$  时,E2 的光降解率可达 37%.在 E2 浓度为  $1.5 \times 10^{-5} \sim 6.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot L^{-1}$  范围内,E2 的光降解速率与初始浓度成正比,反应是假一级.E2 光降解率还受光强和藻浓度的影响.此反应体系的机理非常复杂,有待进一步探讨.

## 参考文献

- Cunningham A, Klopman G, Rosenkranz HS. 1996. The carcinogenicity of diethylstilbestrol: structural evidence for a non-genotoxic mechanism. *Arch Toxicol*, 70(6):356~361
- Coille I, Reder S, Bucher S, et al. 2002. Comparison of two fluorescence immunoassay methods for the detection of endocrine disrupting chemicals in water. *Biomolecul Eng*, 18:273~280
- Dluzen, Dean E, McDermott, et al. 1996. Estrogen as a neuroprotectant against MPTP-induced neurotoxicity in C57/B1 mice. *Neurotoxicol Teratol*, 18(5):603~606
- Deng N-S(邓南圣), Wu F(吴峰), Tian S-Z(田世忠), et al. 1997a. Photodegradation of dyes in aqueous solutions containing Fe(III)-hydroxy complex II. Solar photodegradation kinetics. *Chemosphere*, 34(12):2725~2735
- Deng N-S(邓南圣), Wu F(吴峰), Luo F(罗凡), et al. 1997b. Photodegradation of dyes in aqueous solutions containing Fe(III)-oxalato complexes. *Chemosphere*, 35(11):2697~2706
- Deng N-S(邓南圣), Wu F(吴峰), Luo F(罗凡), et al. 1998. Ferric citrate-induced photodegradation of dyes in aqueous solutions. *Chemosphere*, 36(15):3101~3112
- Frank L, Christian W, Freddy CA. 1998. Influence of light conditions on the release of volatile halocarbons by antarctic macroalgae. *Mar Environ Res*, 45(3):285~294
- Gérard T, Denis N, Guy L, et al. 2001. Immunohistochemical analysis of diethylstilbestrol-induced renal tumors in adult male Syrian hamsters; evidence for relationship to peripheral nerve sheath tumors. *Histochem Cell Biol*, 115(5):429~438

- 9 Heather MC, Brian RE, Byrne JA, *et al.* 2000. Photocatalytic degradation of 17- $\beta$ -oestradiol on immobilized TiO<sub>2</sub>. *Appl Catalysis B: Environ*, **24**: L1~L5
- 10 Hwang Huey-Min, Hodson RE, Lee RF. 1986. Degradation of phenol and chlorophenols by sunlight and microbes in estuarine water. *Environ Sci Technol*, **20**(10):1002~1007
- 11 James T. 1972. Fluorometric determination of ethinylestradiol in tablets. *J Pharmacy Sci*, **61**:1306~1308
- 12 Jotova I, Wang C, Tabib A, *et al.* 2000. Effects of testosterone and 17 $\beta$ -estradiol on the polyamine metabolism in cultivated normal rat kidney epithelial cells. *Amino Acids*, **18**:353~361
- 13 Kavlock RJ, Daston GP, Derosa C, *et al.* 1996. Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the US EPA-sponsored workshop. *Environ Health Perspec*, **104**(suppl. 4):715~740
- 14 Luxo C, Jurado AS, Custódio JBA, *et al.* 2001. Toxic effects of tamoxifen on the growth and respiratory activity of *Bacillus stearothermophilus*. *Toxicology in Vitro*, **15**(4~5):303~305
- 15 Rachkov A, Mcniven S, Elskaya A, *et al.* 2000. Fluorescence detection of  $\beta$ -estradiol using a molecularly imprinted polymer. *Analytical Chimica Acta*, **405**:23~29
- 16 Si Y-B(司友斌), Yue Y-D(岳永德), Wu Z-P(吴在鹏), *et al.* 2000. Bioaccumulation and biodegradation of phenol by the algae *Microcystis aeruginosa* kütz. *J Anhui Agric Univ* (安徽农业大学学报), **27**(3):269~271(in Chinese)
- 17 Tanizaki T, Kadokami K, Shinohara R. 2002. Catalytic photodegradation of endocrine disrupting chemicals using titanium dioxide photoconductor thin films. *Bull Environ Contam Toxicol*, **68**:732~739
- 18 Vader JS, van Ginkel CG, Sperling FMGM, *et al.* 2000. Degradation of ethinylestradiol by nitrifying activated sludge. *Chemosphere*, **41**:1239~1243
- 19 Yan X(严雪), Yang Y-Q(杨永清), Li Y-K(李永科), *et al.* 2002. Accumulation and biodegradation of anthracene by *Chlorella protothecoides* under different trophic conditions. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **13**(2):145~150(in Chinese)
- 20 Zepp RG, Schlotzhauer PF. 1983. Influence of algae on photolysis rates chemicals in water. *Environ Sci Technol*, **17**(8):462~468

作者简介 葛利云,女,1979年生,硕士研究生,目前从事藻参与的环境光化学过程研究,发表论文3篇. E-mail: glymail@163.com

## 致 读 者 · 作 者

《应用生态学报》系中国科学院沈阳应用生态研究所和中国生态学会主办的国内外公开发行的学术性期刊,科学出版社出版.国际标准刊号为 ISSN1001-9332.专门刊载有关应用生态学(主要包括森林生态学、农业生态学、草地牧业生态学、渔业生态学、自然资源生态学、景观生态学、全球生态学、城市生态学、污染生态学、化学生态学、生态工程学等)的具有创新性的综合性论文、研究报告和研究简报等.

本刊创刊于1990年,现为月刊,采用国际标准开本(210mm×285mm),192面,每期43万字.本刊系中国自然科学核心期刊,曾荣获全国优秀科技期刊和中国科学院优秀期刊称号.本刊整体质量和水平已达到相当高度,在国内外应用生态学界的影响日益扩大.《中国科学引文索引》、《中国生物学文摘》、美国《生物学文摘》(BA)、美国《化学文摘》(CA)、英国《生态学文摘》(EA)、日本《科学技术文献速报》(CBST)和俄罗斯《文摘杂志》(PЖ)等数十种权威检索刊物均收录本刊的论文摘要(中英文).

据悉,您们正在从事有关生态与环境科学研究项目(如国家基础科学人才培养基金项目、国家杰出青年科学基金项目、国家自然科学基金重大和重点项目、国家攀登计划项目、国家“863”和“973”计划项目、国家重点科技攻关项目、“百人计划”项目、“长江学者计划”项目和国际合作研究项目等),并有望取得重大研究成果和产生一系列创新论文,本刊编辑同仁热切希望您及您的同行们充分利用这一科学园地,竭诚为您们提供优质跟踪服务,本刊将及时发表您们的创新成果论文(或以特刊、专刊及增刊等形式发表,或以专刊形式发表优秀英文创新论文).我们相信这一承诺一定能得到您们的积极响应,愿我们迎着新世纪的曙光,为应用生态学的发展协同奋进!

我们的目的:

读者——广泛订阅这一优秀期刊

作者——充分利用这一科学园地

编者——精心编制这一信息精品

《应用生态学报》编辑部