

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20190322001

赵静, 刘亿鑫, 邵征, 等. 城镇污水二级处理和再生水三级处理过程的雌激素活性变化[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(2): 81-86

Zhao J, Liu Y X, Shao Z, et al. Variation in estrogenic activity during secondary treatment and advanced treatment process in municipal wastewater plant and reclaimed water plant [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(2): 81-86 (in Chinese)

## 城镇污水二级处理和再生水三级处理过程的雌激素活性变化

赵静, 刘亿鑫, 邵征, 张新, 丁倩, 刘薇\*

大连理工大学环境学院, 工业生态与环境工程教育部重点实验室, 大连 116024

收稿日期: 2019-03-22 录用日期: 2019-05-05

**摘要:** 环境雌激素污染与野生动物性别比例和繁殖密切相关, 是人体生殖功能紊乱、发育异常、心血管疾病和癌症发生等的重要因素之一。针对污水处理厂排水造成的环境雌激素污染, 采用重组酵母菌方法研究大连、沈阳、哈尔滨和天津的5个典型城市污水厂和再生水厂水处理过程中雌激素活性的变化规律, 分析二级处理和再生水厂三级处理对环境雌激素的削减效率。4个采用活性污泥法和紫外消毒工艺的污水厂出水的雌激素当量(EEQ)为 $0.5 \sim 1.5 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 。再生水厂三级处理工艺的出水雌激素活性低于检测限( $0.02 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ )。分级组分测试结果显示, 污水雌激素活性主要由强极性组分和弱极性组分引起, 紫外消毒后强极性组分雌激素活性升高。4个城市污水处理厂一级处理和活性污泥处理对环境雌激素的削减率为46%~81%, 紫外消毒的削减率为5.2%~22%。某再生水厂混凝、微滤和反渗透对环境雌激素的削减率分别为63%、16%和98%。研究表明, 活性污泥法二级处理排水回用仍造成一定程度环境雌激素污染, 三级处理工艺可有效提高环境雌激素污染物削减率。

**关键词:** 环境雌激素; 重组酵母菌; 紫外消毒; 二级处理; 三级处理

文章编号: 1673-5897(2020)2-081-06 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## Variation in Estrogenic Activity during Secondary Treatment and Advanced Treatment Process in Municipal Wastewater Plant and Reclaimed Water Plant

Zhao Jing, Liu Yixin, Shao Zheng, Zhang Xin, Ding Qian, Liu Wei\*

School of Environmental Science & Technology, Key Laboratory of Industrial Ecology and Environmental Engineering, Ministry of Education, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China

Received 22 March 2019 accepted 5 May 2019

**Abstract:** The environmental estrogen contamination is one of the important factors causing human reproductive dysfunction, dysplasia, cardiovascular disease and cancer. Activities of environmental estrogen are closely related to sex ratio and reproduction of wild animals. To monitor the discharges of environmental estrogens from wastewater treatment, we tested variations in estrogenic activity during treatment in four municipal wastewater treatment plants (WWTPs) and one reclaimed water plant in Dalian, Shenyang, Harbin and Tianjin by using a human estrogen re-

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFC0401108)

作者简介: 赵静(1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向为环境毒理学, E-mail: zhaocui@mail.dlut.edu.cn

\* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: liu\_wei@dlut.edu.cn

ceptor recombinant yeast assay. In addition, we evaluated the capabilities of secondary treatment for environmental estrogen removal in WWTPs and the reclaimed water plant as well as the capabilities of tertiary treatment in reclaimed water plant. The estrogen equivalent (EEQ) of the effluents from four WWTPs employing activated sludge and UV disinfection ranged from 0.5 to 1.5 ng·L<sup>-1</sup>. After tertiary treatment process in the reclaimed water plant, estrogen activity of the effluent was below the method detection limit (0.02 ng·L<sup>-1</sup>). The analysis results of the fractional components showed that the estrogenic activities of water samples were mainly caused by strong polar and weak polar components, and the estrogenic activities in the strong polar component increased after UV disinfection. The removal of environmental estrogen in the primary and activated sludge treatment processes of four WWTPs were in the range of 46% ~ 81%, with removal ranging from 5.2% to 22% by UV disinfection process. The reductions in environmental estrogen by coagulation, microfiltration and reverse osmosis were 63%, 16% and 98% in the reclaimed water plant. The results of the present study suggested that the discharging effluents from activated sludge treatment would result in pollution of environmental estrogens to some extent, whereas tertiary treatment is effective to improve the removal of these pollutants.

**Keywords:** environmental estrogen; recombinant yeast; UV disinfection; secondary treatment; tertiary treatment

城镇污水回用于城市杂用水、景观用水、河海补给和农业灌溉等,可有效缓解水资源供需矛盾。城镇污水厂多采用二级处理工艺,经消毒后回用,常用消毒工艺为紫外线消毒、氯化消毒和臭氧氧化工艺。目前,我国已开始兴建再生水厂,采用化学沉淀法、高级氧化法及膜滤法等深度处理工艺后回用。再生水中残留有毒化学物质具有生物累积特性,长期暴露其中对野生动物和人体健康造成潜在威胁<sup>[1-2]</sup>。城镇污水中普遍含有环境内分泌干扰物(environmental endocrine disruptors, EEDs),是造成天然水体乃至饮用水 EEDs 污染的重要途径。雌激素物质和类雌激素物质均具有雌激素活性,类雌激素物质与雌激素物质结构相似,可与雌激素受体结合,干扰内分泌系统。已在再生水中检测到多种环境雌激素,例如类固醇激素、多氯联苯和酚类等天然和人工化学品,且多种弱雌激素活性物质还可产生协同作用<sup>[3]</sup>。雌激素活性与生态环境和人类的健康密切相关,某些雌激素如 17 $\alpha$ -乙炔雌二醇和 17 $\beta$ -雌二醇在 ng·L<sup>-1</sup>水平即能引起内分泌干扰效应,导致生殖力降低、性别比例变化、胚胎发育异常以及乳腺癌和睾丸癌发生率增高<sup>[4-6]</sup>。针对雌激素的生态风险评估结果表明,全球多个国家尤其是中国、日本、美国、英国和意大利天然水体中雌激素污染均有较高风险<sup>[7]</sup>。

精密化学仪器如气相色谱-质谱、液相色谱-质谱和液相色谱-核磁共振等可检测水中痕量污染物,但仪器分析存在价格昂贵、操作复杂和受制于标准品和分析方法等局限性。目前,国内外已开发多种用于测量化学品和环境样品的雌激素活性体外和体

内测试方法<sup>[8]</sup>,其中,重组酵母菌测试作为一种灵敏、简便和经济的方法在实验室和现场实验中广泛应用,可快速测定混合物中通过相同作用模式起作用的所有化合物的总雌激素活性。本研究选择中国北方城市 4 个采用活性污泥法二级工艺和紫外消毒的城镇污水处理厂及 1 个采用多级三级处理工艺的再生水厂,采集进水、各主要工艺出水和最终出水,用重组酵母菌测试方法检测经固相萃取后水样总提取物及分级组分的雌激素活性,并比较不同处理工艺对环境雌激素的削减效率。旨在为优化城镇污水处理厂组合工艺设计、促进环境雌激素污染控制提供科学依据。

## 1 材料与方法 (Materials and methods)

### 1.1 样品采集与前处理

采集中国北方城市大连、沈阳和哈尔滨的 4 个城镇污水处理厂(A、B、C 和 D)和天津某再生水厂(E)进水、主要工艺出水和最终出水(图 1),各厂同时使用超纯水作为流程空白,共采集 23 个水样各 4 L。A~D 厂采用活性污泥法二级处理和紫外消毒工艺,进水均以生活污水为主,混有少量工业废水,出水均达到《城镇污水处理厂污染物排放标准》一级 A 标准,排水用于城市杂用水、景观用水和河道补给。E 厂进水为多个城镇污水处理厂二级处理出水,采用混凝、微滤、反渗透和臭氧氧化三级处理工艺,最终出水回用于农业灌溉、景观用水和城市杂用水。

采集水样放至棕色玻璃瓶中,置于冰上运回实验室,用 0.7  $\mu$ m(Waters, GF/B, 47 mm)玻璃纤维滤膜

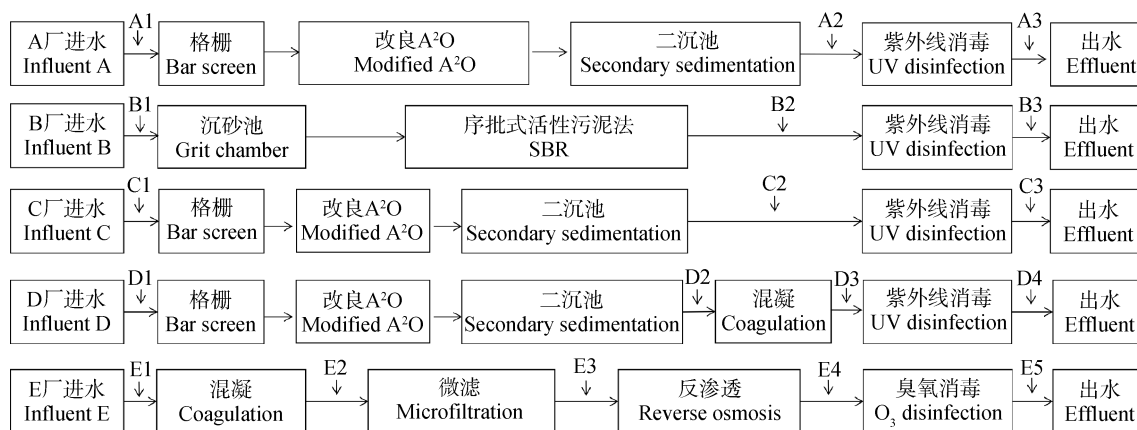


图 1 城市污水处理厂 (A、B、C 和 D) 和再生水厂 (E) 工艺流程和采样点

注: SBR 表示序批式活性污泥法, A<sup>2</sup>O 表示厌氧-缺氧-好氧法。

Fig. 1 Main flow chart of municipal wastewater treatment plants (A, B, C, D) and reclaimed water plant (E) and sampling

Note: SBR stands for sequencing batch reactor activated sludge process; A<sup>2</sup>O stands for anaerobic-anoxic-oxic process.

过滤,经 HLB 固相萃取柱(6 mL, 500 mg, OASIS, Waters, 美国)进行富集,按照极性分别收集总组分和分级组分。依次用不同溶剂洗脱,用 10 mL 二氯甲烷洗脱的为弱极性组分,10 mL 二氯甲烷/甲醇(体积比为 1:1)洗脱的为中极性组分,10 mL 甲醇洗脱的为强极性组分,将洗脱液经氮吹后用 200  $\mu$ L 二甲基亚砜(DMSO)定容。从弱极性组分、中极性组分和强极性组分等量各取一份均混为总提取物,萃取物存于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,直至完成生物毒性测试。

### 1.2 重组酵母菌雌激素活性检测方法

重组酵母菌购自无锡中科水质环境技术有限公司。该菌株将人类雌激素受体基因(HER)、雌激素应答表达子(ERE)质粒和编码  $\beta$ -半乳糖苷酶的 *Lac.Z* 基因转染入酵母中。当雌激素和雌激素活性物质与雌激素受体结合,可激活转录因子,使 *Lac.Z* 基因表达,生成  $\beta$ -半乳糖苷酶,即可间接定量检测化学物和环境样品的雌激素活性<sup>[9]</sup>。将酵母干粉和培养基加入无菌锥形瓶中,置于转速  $200\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  恒温震荡培养箱中培养 48 h。10 倍稀释下,使 600 nm 的光密度( $\text{OD}_{600}$ ,以超纯水为空白)读数为 0.7 ~ 0.9。将 5  $\mu$ L 样品与 995  $\mu$ L 菌液混合,取 200  $\mu$ L 置于 96 孔板中,设 3 个平行孔。于  $800\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  振荡暴露培养 2 h。用酶标仪(Tecan infinite 200, Switzerland)测定  $\text{OD}_{600}$ ,随后弃去 150  $\mu$ L 混合菌液,加入 120  $\mu$ L 缓冲溶液及 20  $\mu$ L 氯仿,放置于平板摇床中  $1\ 350\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  破碎细胞 10 min。加入 40  $\mu$ L 反应底物, $800\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  震荡培养 60 min,加入 100  $\mu$ L 碳酸钠终止反应,吸取 200  $\mu$ L 上清液,

测定  $\text{OD}_{420}$ 。雌激素效应均无细胞毒性浓度下测定,以 0.5% DMSO 作为溶剂对照,以雌二醇(E2)为阳性对照将样品中雌激素活性物质浓度换算成雌激素当量(estradiol equivalent, EEQ)。

### 1.3 数据分析

用以下公式计算半乳糖苷酶活性( $U$ ):

$$U = (\text{OD}_{420T} - \text{OD}_{420C}) / t \cdot V \cdot D \cdot \text{OD}_{600}$$

式中: $t$  为酶反应时间,即 60 min; $V$  为测定时溶液体积,即 0.2 mL; $\text{OD}_{420T}$  和  $\text{OD}_{420C}$  分别为样品和溶剂对照在 420 nm 的吸光值; $D$  为反应体系的稀释倍数,即 6.6。

用以下公式计算样品半数效应浓度( $\text{EC}_{50}$ )以及 EEQ:

$$Y = (A - B) / (1 + (C/X)^K) + B$$

$$\text{EEQ} = \text{EC}_{50\text{E2}} / \text{EC}_{50\text{T}}$$

式中: $Y$  代表  $\beta$ -半乳糖苷酶活性, $X$  代表样品浓度, $A$  代表最大  $\beta$ -半乳糖苷酶活性, $B$  代表本底  $\beta$ -半乳糖苷酶活性, $C$  代表半数最大  $\beta$ -半乳糖苷酶活性时样品浓度, $K$  代表浓度-效应回归曲线的斜率, $\text{EC}_{50\text{E2}}$  和  $\text{EC}_{50\text{T}}$  分别为 E2 和样品的  $\text{EC}_{50}$ 。

## 2 结果 (Results)

### 2.1 城镇污水处理厂紫外消毒工艺和再生水厂深度处理工艺最终出水的雌激素诱导活性

E2 雌激素活性  $\text{EC}_{50}$  为  $0.155\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (图 2),与文献报道结果相当<sup>[10-11]</sup>。4 个城镇污水处理厂最终出水的雌激素诱导活性均呈明显的剂量依赖性,尤其是 A 厂和 D 厂出水呈现典型的 S 型浓度-效应

关系,说明排水中仍存在一定程度的环境雌激素污染,最终出水 EEQ 分别为 1.47、1.14、0.74 和 0.53  $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 。再生水厂最终出水的雌激素诱导活性低于检测限( $0.02\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )。欧盟委员会环境总署(European Environment Agency)建议水环境中 E2 含量 $<0.45\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ <sup>[12]</sup>,Young 等<sup>[12]</sup>选择 E2 最灵敏的毒性终点生殖效应,基于 31 个物种的生殖毒性无观察效应浓度(NOECs),通过物种敏感度分布(SSD)方法,计算得到 E2 的预测无效应浓度(PNEC)为  $0.73\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ,该安全限值可保护水生态系统生物多样性。Jarošová 等<sup>[13]</sup>根据类固醇雌激素活性的体外测试结果、体内 PNEC 以及其对城镇污水处理厂出水总雌激素活性的贡献,计算得到包括酵母测试在内的 15 种体外测试方法中的安全浓度,为  $0.1\sim 0.4\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 。因此,城镇污水处理厂采用活性污泥法二级处理和紫外线消毒工艺,排水中环境雌激素浓度高于或与其安全浓度相当,仍可对水生态环境造成一定程度的环境雌激素污染。

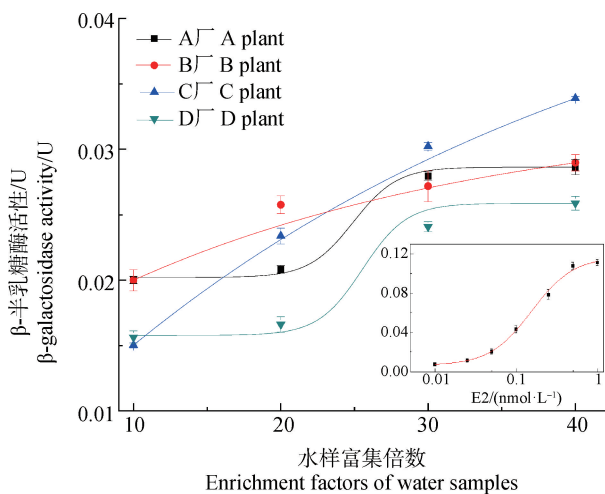


图2 4个城镇污水处理厂出水雌激素活性的浓度-效应关系

Fig. 2 The dose-response curve for estrogenic activities of effluents in 4 municipal wastewater treatment plants

## 2.2 4个城市污水处理厂二级处理对环境雌激素的削减

4个城市污水处理厂二级工艺主要利用活性污泥法,A~D厂一级和二级处理工艺对雌激素活性物质去除效率分别为81%、50%、46%和50%(图3)。D厂活性污泥法后混凝工艺对环境雌激素的去除率为37%。其后4个污水处理厂紫外线消毒工艺对雌激素活性物质去除效率为5.2%~22%,但是除A厂外,B、C和D厂紫外消毒工艺处理前后雌激

素活性的差异均不显著,表明紫外线消毒工艺主要起到消毒杀菌的作用,去除雌激素活性物质的效率较低。因此,经二级活性污泥处理工艺和紫外线消毒,出水中仍有大量难降解环境雌激素,其残留率为19%~54%。城镇污水处理厂中,活性污泥法对雌激素物质起主要的去除作用,大部分情况下对于雌激素物质的去除率可高于90%,但基于化学方法分析污水中多种痕量雌激素污染物,仍存在不确定性<sup>[14]</sup>。紫外线消毒工艺和高级氧化工艺协同作用可提高雌激素污染物的去除效率,Rott 等<sup>[15]</sup>发现游离有效氯浓度 $\geq 5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,紫外/氯化耦合工艺对于雌激素活性的削减率可 $\geq 97\%$ 。

A~C厂最终出水中分级组分的雌激素活性强度规律一致,即强极性组分>弱极性组分>中极性组分,D厂出水弱极性组分活性最强。经一级和二级工艺处理后,各分级组分的雌激素活性均显著下降,与总萃取物结果一致。紫外消毒工艺对雌激素活性削减率较低的主要原因是弱极性组分雌激素活性去除率较低,且经处理后强极性组分的雌激素活性甚至升高。除D厂外,A、B和C厂经紫外线消毒处理后,强极性组分EEQ升高39%、8.4%和22%,可能在处理过程中,弱极性物质转化为极性物质,或者形成了雌激素活性更强的产物。

## 2.3 某再生水厂三级处理对环境雌激素的削减

再生水厂E混凝工艺对污水总萃取物雌激素活性的去除效率为63%(图4)。微滤工艺处理前后污水的雌激素活性平均值降低了16%,但无显著性差异( $P>0.05$ )。反渗透工艺对雌激素活性削减率为98%。反渗透工艺后和臭氧氧化工艺后雌激素活性均低于方法检测限( $0.02\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )。E厂进水中雌激素活性顺序为强极性组分>弱极性组分>中极性组分。混凝工艺对总提取物和3个分级组分的雌激素活性均具有显著的去除效果,经混凝工艺后,强极性组分、中极性组分和弱极性组分的雌激素活性分别下降了81%、95%和43%,中极性组分的雌激素活性低于检测限。微滤工艺对于强极性组分和弱极性组分的雌激素活性削减率分别为33%和55%,但强极性组分在微滤工艺处理前后雌激素活性没有显著变化。

多数体内测试和体外测试结果表明,城镇污水处理厂及其受纳水体中造成雌激素活性的化学物主要为类固醇雌激素,包括 $17\beta$ -雌二醇(E2)、雌酮(E1)、雌三醇(E3)及 $17\alpha$ -乙炔雌二醇(EE2),其作用占总雌激素活性的90%以上,此外城镇污水中也检

测到乙氧基化壬基酚、多环芳烃、多氯联苯和邻苯二甲酸酯等具有雌激素活性的污染物<sup>[13]</sup>。三级处理工艺如砂滤、膜滤、活性炭吸附、混凝和臭氧氧化等不同程度提高雌激素污染物的削减率。Chen 等<sup>[16]</sup>研究发现,絮凝和砂滤工艺对二级处理出水的雌激素活性削减率较低,分别为 3% 和 25%,臭氧氧化具有较高的雌激素活性削减率,其出水雌激素活性接近检测限。

综上,仅采用活性污泥法二级工艺和紫外线消毒工艺对环境雌激素污染物去除率较低,紫外消毒处理后强极性组分的雌激素活性反而升高。采用混凝、反渗透等三级工艺进行深度处理,可有效提高雌激素削减率。污水处理厂工艺设计和改造过程中,采用重组酵母菌测试方法可简便、快速评价雌激素削减率,以有效控制排水对生态环境和人体健康造成的危害。

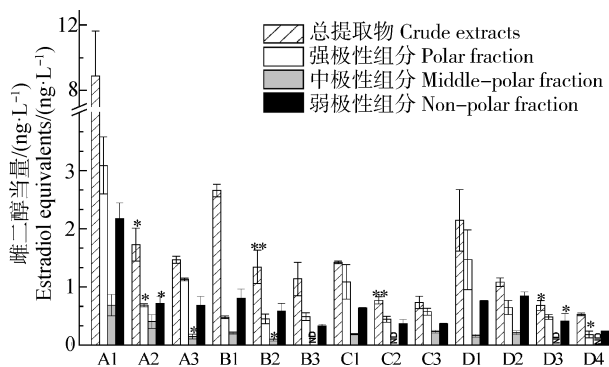


图 3 4 个城市污水处理厂进水和各工艺出水总萃取物和分级组分的雌激素活性

注:ND 表示未检测到,即低于检测限;\*( $P<0.05$ )和\*\*( $P<0.01$ )表示与上一级工艺出水差异显著;A1、A2 和 A3 为 A 厂进水、二沉池出水 and 紫外线消毒出水;B1、B2 和 B3 为 B 厂进水、SBR 出水和紫外线消毒出水;C1、C2 和 C3 为 C 厂进水、二沉池出水和紫外线消毒出水;D1、D2、D3 和 D4 为 D 厂进水、二沉池出水、混凝出水和紫外线消毒出水。

Fig. 3 Estrogenic activities of total extracts and fractional components in the influents and processing effluents of 4 municipal wastewater treatment plants

Note: ND stands for not detectable, below limit of detection \*( $P<0.05$ ) and \*\*( $P<0.01$ ) represent significant difference with effluent from prior treatment process; A1, A2 and A3 indicated raw influent, secondary sedimentation tank effluent and UV disinfection effluent in plant A; B1, B2 and B3 indicated raw influent, SBR effluent and UV disinfection effluent in plant B; C1, C2 and C3 indicated raw influent, secondary sedimentation tank effluent and UV disinfection effluent in plant C; D1, D2, D3 and D4 indicated raw influent, secondary sedimentation tank effluent, coagulation effluent and UV disinfection effluent in plant D.

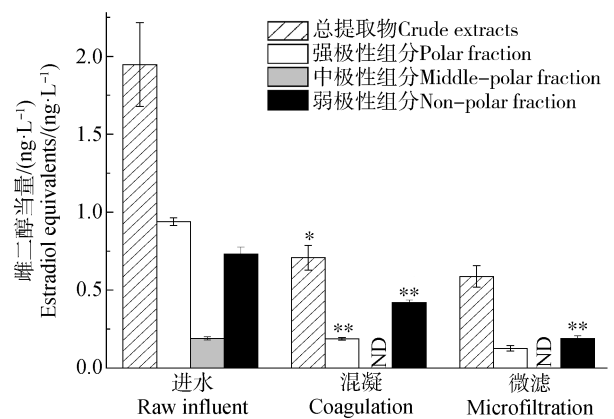


图 4 天津市某再生水厂进水和各工艺出水总萃取物和分级组分的雌激素活性

注:ND 表示未检测到即低于检测限;\*( $P<0.05$ )和\*\*( $P<0.01$ )表示与上一级工艺出水差异显著;反渗透和臭氧氧化工艺后均未检测到雌激素活性。

Fig. 4 Estrogenic activities of total extracts and fractionated components in the influent and all process effluent of reclaimed water plant in Tianjin

Note: ND stands for not detectable, below limit of detection; \*  $P$ -value $<0.05$ , \*\*  $P$ -value  $<0.01$ , represent significant difference with effluent from prior treatment process; estrogenic activities of effluents from reverse osmosis and ozone oxidation were not detectable.

通讯作者简介:刘薇(1980—),女,博士,副教授,博士生导师,主要研究方向为持久性有机污染物毒性效应和机理,以及干细胞毒理学模型原理和应用。

参考文献 (References):

- [1] Ren X, Kou Y Y, Kim T, et al. Toxicity study of reclaimed water on human embryonic kidney cells [J]. Chemosphere, 2017, 189: 390-398
- [2] Xu J, Zhao C, Wei D, et al. A toxicity-based method for evaluating safety of reclaimed water for environmental reuses [J]. Journal of Environmental Sciences, 2014, 26 (10): 1961-1969
- [3] Ma X Y, Wang X C, Wang D, et al. Function of a landscape lake in the reduction of biotoxicity related to trace organic chemicals from reclaimed water [J]. Journal of Hazardous Materials, 2016, 318: 663-670
- [4] Väitalo P, Perkola N, Seiler T B, et al. Estrogenic activity in Finnish municipal wastewater effluents [J]. Water Research, 2016, 88: 740-749
- [5] 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]. Environmental Toxicology, 2006, 21(2): 181-191

- [6] Bolong N, Ismail A F, Salim M R, et al. A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal [J]. *Desalination*, 2009, 239(1-3): 229-246
- [7] Wu F, Fang Y, Li Y, et al. Predicted no-effect concentration and risk assessment for 17-[beta]-estradiol in waters of China [J]. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 2014, 228: 31-56
- [8] Leusch F D L, De Jager C, Levi Y, et al. Comparison of five *in vitro* bioassays to measure estrogenic activity in environmental waters [J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(10): 3853-3860
- [9] 李剑, 马梅, 饶凯锋, 等. 酵母双杂交技术构建重组人雌激素受体基因酵母[J]. *生态毒理学报*, 2008, 3(1): 21-26
- Li J, Ma M, Rao K F, et al. Construction the recombinant human estrogen receptor (hER) gene yeast using two-hybrid yeast technique [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2008, 3(1): 21-26 (in Chinese)
- [10] Ma M, Rao K F, Wang Z J. Occurrence of estrogenic effects in sewage and industrial wastewaters in Beijing, China [J]. *Environmental Pollution*, 2007, 147(2): 331-336
- [11] 庄丽丽, 马梅, 饶凯锋, 等. 天津市污水以及再生水处理过程中的雌/孕激素干扰效应[J]. *生态毒理学报*, 2010, 5(2): 222-228
- Zhuang L L, Ma M, Rao K F, et al. Estrogen and progesterone interference effect of sewage and reclaimed water treatment process in Tianjin [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2010, 5(2): 222-228 (in Chinese)
- [12] Young W F, Whitehouse P, Johnson I. Proposed predicted-no-effect-concentrations (PNECs) for natural and synthetic steroid oestrogens in surface waters [R]. Rotherham, UK: Environment Agency, 2002
- [13] Jarošová B, Bláha L, Giesy J P, et al. What level of estrogenic activity determined by *in vitro* assays in municipal waste waters can be considered as safe? [J]. *Environment International*, 2014, 64: 98-109
- [14] Hamid H, Eskicioglu C. Fate of estrogenic hormones in wastewater and sludge treatment: A review of properties and analytical detection techniques in sludge matrix [J]. *Water Research*, 2012, 46(18): 5813-5833
- [15] Rott E, Kuch B, Lange C, et al. Removal of emerging contaminants and estrogenic activity from wastewater treatment plant effluent with UV/chlorine and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> advanced oxidation treatment at pilot scale [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2018, 15(5): 935
- [16] Chen Z, Li M, Wen Q. Comprehensive evaluation of three sets of advanced wastewater treatment trains for treating secondary effluent: Organic micro-pollutants and bio-toxicity [J]. *Chemosphere*, 2017, 189: 426-434 ◆