

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第36卷 第4期

Vol.36 No.4

2015

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

中美空气质量指数(AQI)对比研究及启示 高庆先,刘俊蓉,李文涛,高文康(1141)

2013年1月北京市PM_{2.5}区域来源解析 李璇,聂滕,齐珺,周震,孙雪松(1148)

2013年1月北京市一次空气重污染成因分析 程念亮,李云婷,张大伟,聂滕,邱启鸿,徐文帅(1154)

上海大气总悬浮颗粒物中金属的可溶性特征 常燕,冯冲,瞿建国,张经(1164)

厦门春季PM₁₀中PAHs成分谱特征及其与气象要素相关性分析 张健,樊曙先,孙玉,张悦,魏锦成(1173)

硫氧同位素示踪南京北郊大气PM_{2.5}中硫酸盐来源 魏英,郭照冰,葛鑫,祝胜男,姜文娟,石磊,陈姝(1182)

结合激光雷达分析2014年春季南京地区一次大气污染过程 包青,贺军亮,查勇,程峰,李倩楠(1187)

春季华东高山背景区域PM_{2.5}和PM_{2.5-10}中水溶性无机离子特征 苏彬彬,张智胜,陶俊,许榕洋,纪贤鑫,刘心东,张若宇(1195)

落叶燃烧排放的颗粒物及有机碳、元素碳的研究 杨伟宗,刘刚,李久海,徐慧,吴丹(1202)

四川省秸秆露天焚烧污染物排放清单及时空分布特征 何敏,王幸锐,韩丽,冯小琼,毛雪(1208)

深圳市船舶排放清单与时空特征研究 杨静,尹佩玲,叶斯琪,王水胜,郑君瑜,区家敏(1217)

超细颗粒通过建筑狭缝的传输特性 孙在,陈秋方,蔡志良,杨文俊,汪晗(1227)

空调病房真菌气溶胶浓度及粒径分布特征 张华玲,冯鹤华,方子梁,王本栋,李丹(1234)

基于氢氧稳定同位素的黄土高原云下二次蒸发效应 靳晓刚,张明军,王圣杰,朱小凡,董蕾,任正果,陈粉丽(1241)

黄河小浪底水库水沙调控对DOC输送的影响 张永领,王明仕,董玉龙(1249)

调水调沙工程长期实施对黄河口近岸沉积物粒度分布与黏土矿物组成特征的影响 王苗苗,孙志高,卢晓宁,王伟,王传远(1256)

春季生物作用对山地岩溶池水地球化学特征的影响 于正良,杨平恒,赵瑞一,李林立,张琳,童小容,罗刚(1263)

降雨期间岩溶城镇区地下水重金属变化特征及来源解析 任坤,杨平恒,江泽利,王尊波,师阳,王凤康,李晓春(1270)

北江和珠江广州河段水体的三卤甲烷风险评价 钟惠舟,韦朝海(1277)

丰水期洪湖水水质空间变异特征及驱动力分析 李昆,王玲,李兆华,王祥荣,陈红兵,吴忠,朱鹏(1285)

三峡库区典型干-支流相互作用过程中的营养盐交换:以梅溪河为例 操满,傅家楠,周子然,邓兵,王雨春,汪福顺(1293)

营养盐输入对太湖水体中磷形态转化及藻类生长的影响 王睿喆,王沛芳,任凌霄,王超,王颖(1301)

一小型藻华池塘浮游植物群落动态及其影响因子研究 杨文,朱津永,张克鑫,万莉,陆开宏(1309)

昌黎生态监控区夏季浮游植物群落年际变化特征分析 梁晓林,杨阳,王玉良,张月明,赵志楠,韩晓庆,张鉴达,高伟明(1317)

河道曝气提升河流水质的WASP模型研究 朱文博,王洪秀,柳翠,张建,梁爽(1326)

γ辐射降解水中的盐酸环丙沙星的研究 祝胜男,郭照冰,赵永富,葛鑫,魏英,陈姝,王静(1332)

电化学氢化物发生法处理含镉废水及对镉的回收 陈京晶,张国平,李海霞,付志平,欧阳小雪,吴琼(1338)

Fe-MCM-41催化臭氧氧化间甲酚废水 孙文静,王亚曼,卫皇墨,王森,李旭宁,李敬美,孙承林,安路阳(1345)

生物阳极及其反转为生物阴极降解氯霉素 孔德勇,梁斌,云慧,王爱杰,任南琪(1352)

308 nm光作用下α-Fe₂O₃表面HNO₃的光解 陆军,孙云东,谢晶晶,赵军,邹家骥,朱承强(1359)

L-组氨酸-赤藓红复合膜修饰电极同时检测对苯二酚、邻苯二酚 何家洪,徐强,丁武泉,李强(1365)

酞基功能型高分子生物载体(PET-AQS)制备及催化生物反硝化特性研究 许晴,侯正浩,田秀蕾,牛春梅,郭延凯,廉静,郭建博(1374)

枯草芽孢杆菌对土臭素和2-甲基异冰片的降解动力学特性 马念念,罗国芝,谭洪新,姚妙兰,王晓用(1379)

嗜咪降解菌筛选及其对焦化废水强化处理 李静,李文英(1385)

Fe³⁺对同步硝化反硝化过程氮元素迁移转化及N₂O释放的影响 李浩,闫玉洁,谢慧君,贾文林,胡振,张建(1392)

内循环半短程亚硝化工艺运行条件与微生物群落研究 赵志瑞,焦海华,崔丙健,黄迪,曹世超,王云,刘上千,马斌,白志辉(1399)

利用处理含4-氯苯酚模拟废水的剩余污泥培养普通小球藻 王璐,陈秀荣,闫龙,何怡萱,施震东(1406)

进水渗滤液总氮和BOD₅/TN对填埋场反应器反硝化和厌氧氨氧化协同脱氮的影响 杨盈盈,陈奕,李明杰,谢冰(1412)

重庆金佛山土壤中PAHs含量的海拔梯度分布及来源解析 师阳,孙玉川,梁作兵,任坤,袁道先(1417)

湖南攸县典型煤矿和工厂区水稻田土壤镉污染特征及污染途径分析 张敏,王美娥,陈卫平,牛俊杰(1425)

沟渠化对三江平原湿地铁元素沉积过程的影响 苏文辉,于晓菲,王国平,栾金花,邹元春(1431)

施用磷酸盐和沸石对土壤镉形态转化的影响 王秀丽,梁成华,马子惠,韩月(1437)

不同条件下皂苷对污染壤土中Cu、Pb的淋洗修复 邓红侠,杨亚莉,李珍,许岩,李荣华,孟昭福,杨亚提(1445)

陕北某化工企业周围污灌区土壤-作物系统重金属积累特征及评价 齐雁冰,楚万林,蒲洁,刘梦云,常庆瑞(1453)

有机无机缓释复合肥对不同土壤微生物群落结构的影响 王菲,袁婷,谷守宽,王正银(1461)

玉米对铅胁迫的响应及体内铅化学形态研究 程海宽,张彪,景鑫鑫,杨素勤,赵鹏,孙晓雪,周志云(1468)

硼镉交互作用对水稻吸收积累镉和硼的影响 向猛,黄益宗,蔡立群,保琼莉,黄永春,王小玲,乔敏,胡莹,金姝兰,李季,王斐(1474)

丛枝菌根真菌对不同含盐量湿地土壤中芦苇生长的影响 郭江源,郭伟,毕娜,付瑞英,赵文静,赵仁鑫,王立新(1481)

滨海区芦苇和香蒲耐盐碱性及除氮磷效果对比研究 陈友媛,孙萍,陈广琳,王宁宁(1489)

不同温度下的土壤微生物呼吸及其与水溶性有机碳和转化酶的关系 吴静,陈书涛,胡正华,张旭(1497)

工业VOCs经济手段和工程技术减排对比性分析 王宇飞,刘昌新,程杰,郝郑平,王铮(1507)

《环境科学》征订启事(1216) 《环境科学》征稿简则(1248) 信息(1163,1194,1248,1424)

利用处理含 4-氯苯酚模拟废水的剩余污泥培养普通小球藻

王璐, 陈秀荣*, 闫龙, 何怡萱, 施震东

(华东理工大学资源与环境工程学院, 上海 200237)

摘要: 利用处理含 4-氯苯酚(4-CP)模拟废水的剩余污泥经离心得到的上层清液和下层污泥的提取液分别培养普通小球藻(*Chlorella vulgaris*), 以达到处理剩余污泥上清液和提取液与培养小球藻的双重目的. 试验在 500 mL 的锥形瓶中进行, 将 BG-11 培养基与处理含 4-CP 模拟废水的剩余污泥提取液和上清液分别按不同比例混合, 在光暗比 14: 10 条件下培养小球藻. 试验考察了藻细胞数目、叶绿素 a、藻细胞酶活性、油脂、液相总氮(TN)、总磷(TP)、总有机碳(TOC)、毒性等指标. 结果表明, 小球藻培养过程中, 可有效降低污泥提取液与上清液中的营养物质含量及毒性, 其中 TN 和 TP 去除率分别达到 40% 和 90% 以上; 污泥提取液可促进藻密度的增殖但不利于合成叶绿素 a; 培养 10 d 后, 50% 污泥提取液组的藻密度增加 20 倍, 但其单位藻细胞的叶绿素 a 含量却小于空白组. 纯污泥提取液和上清液组的小球藻单位藻细胞超氧化物歧化酶(SOD 酶)高于空白组, 这说明污泥提取液和上清液的毒性物质对小球藻具有一定的刺激效应. 以小球藻内油脂积累作为其资源化价值的关键评价指标, 结合液相氮磷和毒性物质的去除, 最优的小球藻收集时间为培养第 5 d.

关键词: 普通小球藻(*Chlorella vulgaris*); 剩余污泥; 污泥提取液; 污泥上清液; 资源化利用

中图分类号: X172; X705 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2015)04-1406-06 DOI: 10.13227/j.hjcx.2015.04.037

Using Excess Activated Sludge Treated 4-Chlorophenol Contained Waste Water to Cultivate *Chlorella vulgaris*

WANG Lu, CHEN Xiu-rong*, YAN Long, HE Yi-xuan, SHI Zhen-dong

(College of Resources and Environmental Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

Abstract: Using different ratios of sludge extracts and supernate from 4-Chlorophenol(4-CP) simulated wastewater's excess sludge after centrifugation to cultivate the *Chlorella vulgaris* to achieve the goal of excess sludge utilization together with chlorella cultivating. The experiments were performed in 500 mL flasks with different ratios of sludge extracts & BG-11 and supernate & BG-11 in a light growth chamber respectively. Number of algal cells, Chlorophyll, enzyme activity, oil and water total nitrogen (TN), total phosphorus (TP), total organic carbon (TOC), toxicity index were investigated. Result showed that the nutrition supplies and toxicity in the excess sludge were removed efficiently via *Chlorella vulgaris*, the removal rates of TN and TP were at least 40% and 90% respectively; After 10 days cultivation, the density growth of 50% sludge extracts was 20 times higher of the beginning while its chlorophyll content was lower than that of the blank group. Sludge extracts could promote the proliferation of algae, but were not conducive to the synthesis of chlorophyll. The quantity of SOD in per cell showed *Chlorella vulgaris* gave a positive response via stimulation from toxicant in sludge extracts and supernate. The best time for collecting *chlorella vulgaris* was the fifth day of cultivation, taking neutral oil accumulation as the evaluating indicator for its utilization combined with the removal of supplies and toxicity.

Key words: *Chlorella vulgaris*; excess sludge; sludge extracts; sludge supernate; resource utilization

活性污泥法是低成本、稳定处理工业废水的有效途径^[1,2], 但伴随的问题是产生大量的剩余污泥^[3]. 城市污水厂的剩余污泥危害尚小, 而处理工业废水的剩余污泥多被列为危险废弃物^[4], 其处理、处置的安全标准更为严格. 氯酚类化合物(chlorophenols, CPs)作为生物杀虫剂、木材防腐剂、染料、除锈剂等产品的主要成分, 在工业应用中可对环境造成严重污染^[5]. 已有研究表明, 活性污泥经驯化可有效处理此类废水^[6,7], 但处理过程所产生的剩余污泥毒性显著. 工程中, 对污泥浓缩、脱水环节所产生的提取液或上清液的处理模式是回流到原污水处理系统, 进行再处理. 由于处理此类废水的污泥毒性较高, 故其浓缩上清液或脱水提取液也含有显著毒

性, 势必对原有的污水处理过程造成影响.

小球藻(*Chlorella*)为绿藻门小球藻属普生性单细胞绿藻, 是地球上最早的生命之一. 因其光合速率高^[8], 繁殖速度快, 分布范围广^[9], 抗污能力强^[10], 是对有机物耐受性最强的 8 种藻之一^[11], 在污水处理中有着广泛的应用^[12]. 而且, 由于小球藻在生长过程中可以在细胞内积累油脂^[13], 在可持续能源领域也有着广阔的前景^[14].

收稿日期: 2014-08-28; 修订日期: 2014-11-21

基金项目: 上海市浦江人才计划项目(13PJD009); 国家自然科学基金项目(51378207); 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2014ZX07202-011-002)

作者简介: 王璐(1990~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水污染控制工程, E-mail: apple_bear@yeah.net

* 通讯联系人, E-mail: xrchen@ecust.edu.cn

本研究利用活性污泥法处理含 4-CP 模拟废水的剩余污泥提取液和上清液分别与小球藻 BG-11 培养基联合用于培养普通小球藻 (*Chlorella vulgaris*), 考察藻细胞数目、叶绿素 a、藻细胞酶活性、油脂、液相 TN、TP、TOC、毒性等指标. 通过资源化利用的方式来处理工业废水污泥浓缩池的上清

液和脱水提取液, 以期小球藻低成本培养提供技术支持.

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验用培养基的制备过程见图 1.

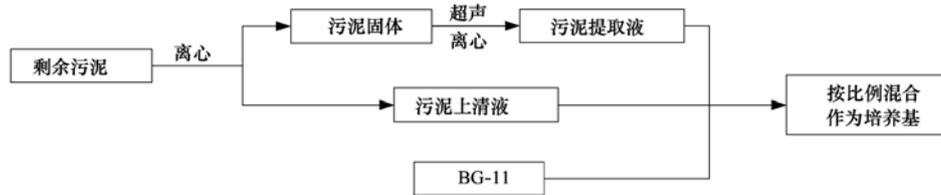


图 1 试验用培养基的制备流程

Fig. 1 Process of preparation for the culture medium

剩余污泥: 投加 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 4-CP 模拟废水至序批式活性污泥法 (SBR) 反应系统, 水力停留时间 8 h, 泥龄 20 d.

污泥上清液: 即为剩余污泥的孔隙水, 取剩余污泥离心 ($5000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 5 min), 得污泥固体和污泥上清液.

污泥提取液: 即为剩余污泥的胞内物质, 用超纯水离心清洗污泥固体 3 次, 以去除剩余污泥孔隙水的影响, 然后添加超纯水至原泥水混合液相同的体积. 超声破胞^[15] (300W 超声仪运行 1 s, 停止 1 s 破胞 10 min), 离心 ($12000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 10 min) 后得污泥提取液.

混合: 将污泥提取液和上清液分别与不同比例

BG-11 混合后 121°C 灭菌 30 min 备用. 培养基配比及各组分含量见表 1. 污泥提取液 (TN: $49.65 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、TP: $11.17 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、TOC: $196.66 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 相对于 BG-11 培养基 (TN: $170.21 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、TP: $5.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、TOC: $21.84 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 氮少磷多有机碳多, 而上清液氮磷碳含量均较低 (TN: $26.80 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、TP: $1.96 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、TOC: $25.60 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$); 污泥提取液因包含大量微生物细胞破胞产物而 TOC 含量丰富 (接近 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 相对而言, 上清液中 TOC 含量很少 (约为 $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

1.2 分析测定方法

试验中各指标的主要分析测定方法见表 2.

表 1 培养基配比及各组分含量

Table 1 Initial sludge extract and BG-11 components and contents

| 序号 | BG-11/% | 污泥提取液/% | 污泥上清液/% | 初始 TN/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ | 初始 TP/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ | 初始 TOC/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ |
|----|---------|---------|---------|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| 0 | 100 | 0 | 0 | 170.21 ± 4.09 | 5.05 ± 0.15 | 21.84 ± 0.92 |
| 1 | 50 | 50 | 0 | 110.63 ± 3.15 | 7.26 ± 0.21 | 106.27 ± 4.14 |
| 2 | 0 | 100 | 0 | 49.65 ± 1.91 | 11.17 ± 0.89 | 196.66 ± 1.69 |
| 3 | 50 | 0 | 50 | 98.67 ± 2.35 | 2.87 ± 0.30 | 20.74 ± 1.08 |
| 4 | 0 | 0 | 100 | 26.80 ± 0.66 | 1.96 ± 0.20 | 25.60 ± 0.59 |

表 2 试验过程中分析测定方法

Table 2 Analytical methods in the experiment

| 项目 | 测定指标 | 测定方法 | 主要仪器 |
|------|-------|----------------------------|---------|
| 生长指标 | 细胞密度 | 血球计数 | 光学显微镜 |
| | 叶绿素 a | 分光光度法 ^[16,17] | 分光光度计 |
| | CAT | 试剂盒 | 分光光度计 |
| | SOD | 试剂盒 | 分光光度计 |
| | 油脂 | 尼罗红染色法 ^[18,19] | 荧光分光光度计 |
| 水相指标 | TN | 碱性过硫酸钾消解法紫外分光光度法 | 紫外分光光度计 |
| | TP | 钼酸盐分光光度法 | 分光光度计 |
| | TOC | 非色散红外线吸收法 | TOC 测定仪 |
| | 毒性 | T3 明亮发光杆菌法 ^[20] | 生物毒性测试仪 |

1.3 主要药品与设备仪器

普通小球藻(*Chlorella vulgaris*, FACHB-31), 购自中国科学院武汉水生生物研究所; T3 明亮发光杆菌购自中科院南京土壤研究所, CAT、SOD 试剂盒购自南京建成生物工程研究所(南京建成生物有限公司); 尼罗红购自阿拉丁试剂有限公司, 其他试剂均购自国药集团化学试剂有限公司。

斯必克公司博迅光照培养箱 SPX-250B-G, 麦克迪奥(厦门)公司 MOTIC 光学显微镜 BA200, 天美(中国)科学仪器有限公司 Techcomp 分光光度计 UV1102, 中科院南京土壤研究所 DXY-2 型生物毒性测试仪, 德国 SRK 公司 TOC 测定仪 GO-TOC 1000, 美国 VARIAN 公司 Cary Eclipse 型荧光分光光度计, 上海颖和超声设备有限公司 NA1860 超声清洗机控制器。

1.4 试验方法

试验设置 5 组, 每组 3 个平行样。将普通小球藻接种到表 1 所示培养基中(取培养 5 d 时处于对数生长期的藻液接种, 初始接种浓度为培养基总体积的 10%, 细胞密度约 1.5×10^6 个·mL⁻¹)。光照培养箱温度 25℃, 光暗比 14:10, 光照度 2 000 lx, 培养 10 d。第 0、2、5、8、10 d 各取样一次, 测定藻细胞数目、叶绿素 a, 细胞酶活性, 中性油脂、液相 TN、TP、TOC、毒性的变化趋势。

由公式(1)计算 TN, TP, TOC 的去除率

$$r = \frac{(c_0 - c_t)}{c_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中, r 表示去除率, c_0 、 c_t 分别为起始浓度和培养 t 时间(d)后的浓度(mg·L⁻¹)。

由公式(2)计算液相毒性相对抑制率

$$t = \frac{(D_0 - D_t)}{D_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中, t 表示毒性相对抑制率, D_0 表示空白水样发光菌的亮度, D_t 表示对照组水样发光菌亮度。

试验中所提到的单位藻细胞内叶绿素 a 和 SOD 酶的含量均用其总含量除以对应时刻的藻细胞数目。

2 结果与讨论

2.1 液相营养物质及毒性的去除

根据相关试验数据, 作出 TN、TP、TOC 含量随时间的变化趋势图, 如图 2 所示。用 T3 明亮发光杆菌测试各组离心后液相的毒性, 以其亮度表征其毒性情况, 再以 BG-11 组作为参比, 用试验组的毒性

相对抑制率/BG-11 空白组的毒性相对抑制率来表征毒性, 反映试验各组液相的毒性变化情况, 结果如图 3 所示。

由图 2(a)可以看出, 污泥提取液和上清液中的 TN 含量少于 BG-11 空白组。各组 TN 在前 4 d 内去除率较大, 第 5 d 后小球藻对 TN 的吸收速率下降, TN 水平趋于稳定; 此阶段, 各组 TN 去除率分别达到 59.28%、48.27%、56.50%、42.47%、100%, 均达到了 40% 以上, 说明小球藻对污泥提取液和上清液中的 TN 均有一定的去除能力。该结果与吕福荣等^[21]研究提出的“随着时间的延长, 小球藻对氮的吸收逐渐稳定”相一致, 但本研究中小球藻对 TN 的吸收在 4~5 d 后才趋于稳定, 与文献^[21]所述“小球藻对氮的吸收 2 d 内可以达到较大值”有显著差异。这主要是因为吕福荣的试验中初始接种量为 20%, 并且氮源的形态比较单一(氨氮); 而本试验中的接种量为 10%, 氮的形式因 BG-11 中主要为硝酸盐氮, 污泥提取液与上清液中氮的形态多样^[22](以有机氮为主, 其次是氨氮, 微量无机氮), 邢丽贞^[23]的研究中也提出小球藻对不同氮源吸收能力不同, 其吸收的顺序为: 氨氮 > 简单有机氮 > 硝态氮和亚硝态氮, 综上分析认为是接种量与氮的形态不同导致了这样的差异。

由图 2(b)可以看出, 污泥提取液中的 TP 含量高, 而上清液中的 TP 含量较低。与图 2(a)所不同的是, 小球藻对 TP 的吸收是持续进行的, 并未在某个时间点后趋于稳定。培养后试验各组 TP 减少的绝对量分别为 4.64、6.89、11.16、2.33 和 1.77 mg·L⁻¹, 小球藻对于 TP 的吸收并无“饱和”值, 并且初始磷含量越多, 小球藻对其去除的绝对量越大。经过 10 d 培养, 各试验组的 TP 含量均低于 0.5 mg·L⁻¹, 可达到国家城镇污水厂一级 A 类排放标准(GB 18918-2002)。

小球藻既能进行光合自养生长又可利用有机碳进行异养生长^[24]。由图 2(c)可以看出, 在试验 1、2 组中, 小球藻在 2 d 内迅速利用了培养基中的有机质, 随着时间的推移对 TOC 的降解速率开始下降。培养结束后, 试验 1、2 组的 TOC 去除率分别为 72.14% 和 61.75%, 去除效果较好。空白组和提取液组的 TOC 没有明显的变化并且有时出现反复, 张国治等^[25]的研究中也有类似结论, TOC 含量越高, 其去除率越高, TOC 较低时, 去除效果不明显。

结合图 3 可看出, 在未接种藻液前, 各组的毒性均大于 BG-11 空白组, 接种藻液后的第 2 d, 各组的

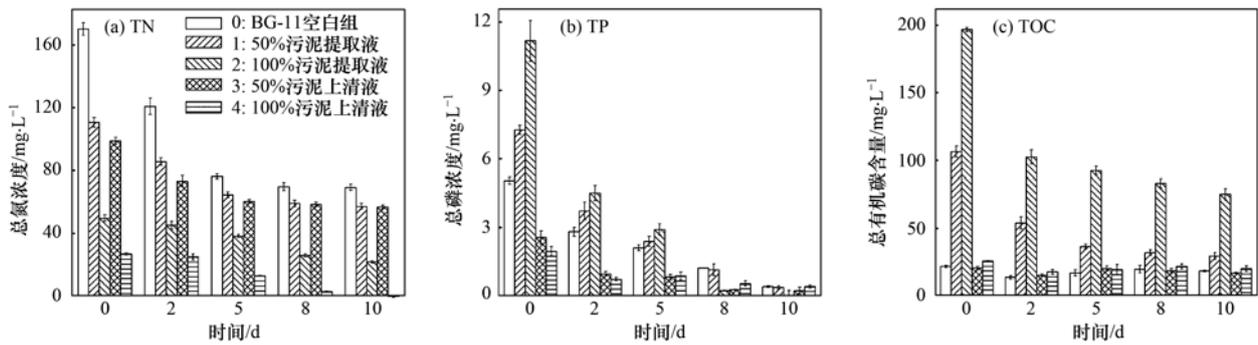


图2 培养基中 TP、TN、TOC 变化趋势

Fig. 2 Variation trend of the TP, TN and TOC

毒性都有了明显的下降,第 5 d 时,各组毒性则明显小于 BG-11 空白组,说明藻细胞对培养基中的毒性物质有显著的去除效能, Lin 等^[26] 研究亦证明垃圾渗滤液对植物的毒性随藻类的生长而降低. 第 8 d 和第 10 d 的液相毒性有所增高,可能是因为随着培养时间的延长,液相积累了小球藻的胞外分泌物,对发光杆菌具有一定的抑制.

综合来看,小球藻对污泥提取液和上清液中的 TN、TP 的去除率分别达到了 40% 和 90% 以上. 对于含污泥提取液的试验组,小球藻也可以异养生长有效去除 TOC,这说明利用小球藻去除污泥中的营养物质是可行的;另外小球藻可有效消除污泥提取液和上清液的毒性,为有毒剩余污泥上清液或提取液的合理处理和资源化利用提供了新的思路.

2.2 小球藻的生长特性

以藻细胞密度和单位藻细胞内的叶绿素 a 含量表征小球藻的生长情况,做出试验各组小球藻生长特性随时间的变化,如图 4 所示.

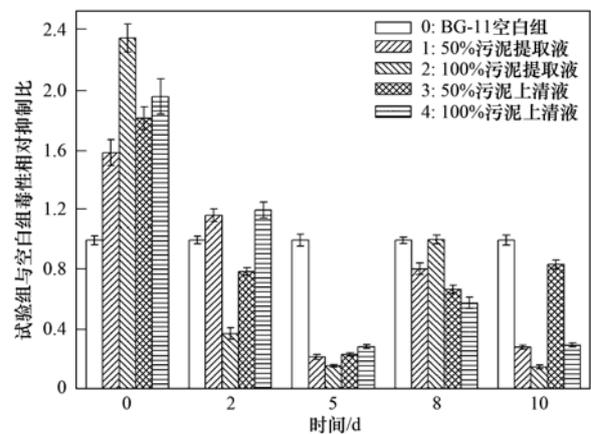


图3 试验组相对空白组的毒性变化

Fig. 3 Variation of toxicity of experimental groups compared with the blank group

由图 4 (a) 可以看出,添加 50% 污泥提取液的试验组中小球藻长势最好,藻细胞密度始终高于 BG-11 组,最终达到 $(35.29 \pm 3.74) \times 10^6$ 个 \cdot mL⁻¹; 其次是纯污泥提取液的试验组,但从第 5 d 起,该组

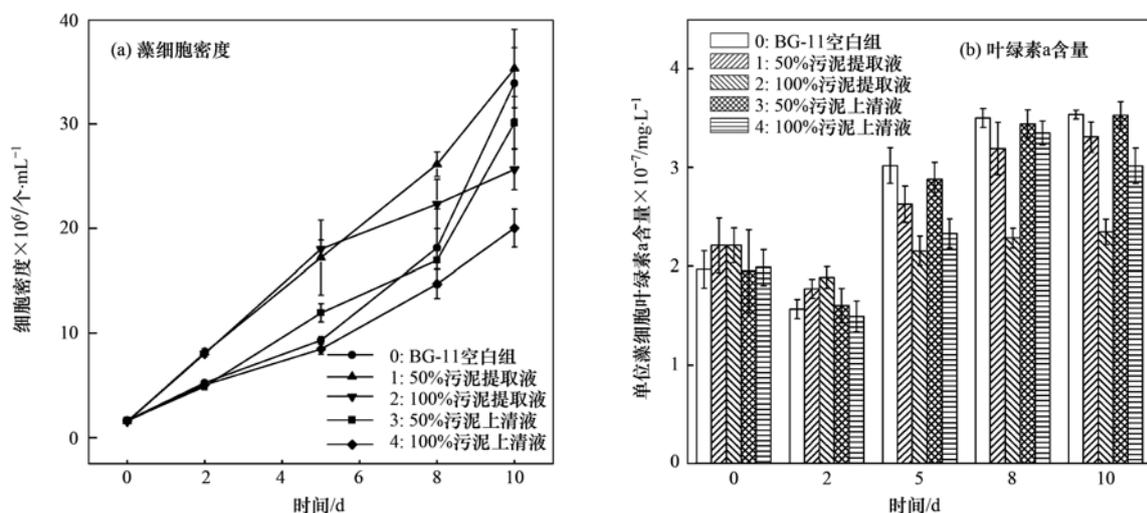


图4 藻细胞密度与单位藻细胞内叶绿素 a 的变化

Fig. 4 Variation of the density of *Chlorella vulgaris* and the content of Chlorophyll per cell

小球藻增长速率开始下降,分析认为是提取液组缺少了 BG-11 所提供的某些微藻生长所需微量物质,导致对微藻生长产生抑制. 添加 50% 上清液组的小球藻增长趋势与 BG-11 组基本一致;纯上清液组小球藻的长势始终较 BG-11 组差.

图 4(b)反映了单位藻细胞的叶绿素 a 含量变化. 从图 4(b)可知,单位藻细胞的叶绿素 a 含量基本呈先降后升的趋势. 接种藻细胞之时,每组单位藻细胞的叶绿素 a 含量基本一致,第 2 d 则普遍下降,而此时藻密度仍在增加,这说明小球藻内叶绿素 a 含量的增长速率滞后于藻细胞数目的增长速率. 由图 4(b)可以看出,从第 5 d 开始,纯污泥提取液与上清液组的单位藻细胞的叶绿素 a 含量均明显小于 BG-11 空白组;50% 污泥提取液组的单位藻细胞的叶绿素 a 含量高于其对应的纯污泥提取液组;而 50% 污泥上清液组的单位藻细胞的叶绿素 a 含量不仅高于其所对应的纯污泥上清液组,而且与 BG-11 空白组的值比较接近. 这表明,添加一定比例的 BG-11 培养基分别与污泥提取液和上清液混合作为培养基有利于藻细胞内叶绿素 a 的积累. 分析认为,污泥提取液和上清液中的氮源不利于叶绿素 a 的生成;BG-11 中添加的氮源为硝态氮,而硝态氮是除尿素外最利于小球藻内叶绿素 a 积累的氮源^[27].

取离心后的小球藻研磨,用缓冲溶液稀释,用 SOD 试剂盒测试,做出各组 SOD 酶随时间的变化趋势,以观察小球藻胞内物质对外界环境的响应情况. 取离心后的小球藻加入尼罗红染色,测定其相对荧光强度,以观察小球藻内油脂的积累情况.

如图 5 所示,接种小球藻的第 0 d,各试验组单位细胞内的 SOD 值均较高,这说明小球藻接种到一个新环境,新环境的物质对小球藻造成了抑制-响应;相对于 BG-11 空白组 $[(5.68 \pm 0.29) \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}]$ 来说,纯污泥提取液组 $[(6.35 \pm 0.10) \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}]$ 和纯污泥上清液组 $[(5.88 \pm 0.14) \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}]$ 的单位藻细胞内 SOD 值较高,说明污泥提取液和上清液中所含的毒性物质对藻细胞抑制较强,藻细胞通过分泌更多的应激酶以自我调节. 接种第 2 d,各试验组的单位藻细胞内 SOD 值均出现明显下降,之后均保持在较低水平. 这说明,小球藻已经适应了污泥提取液和上清液中的毒性物质,即小球藻可以通过胞内物质的作用有效地降低水相毒性.

如图 6 所示,各试验组的油脂积累都经历了先降后升再降的过程,均在第 5 d 达到了最大油脂积

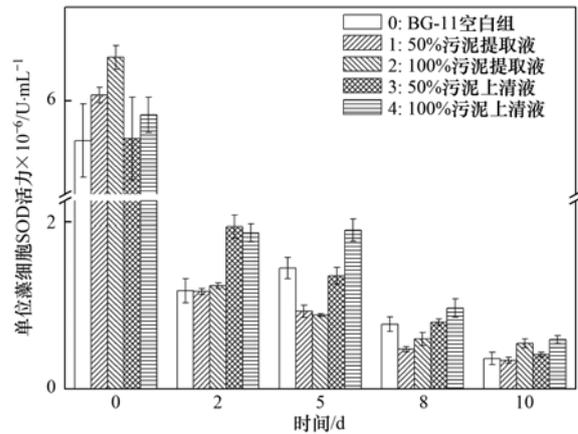


图 5 试验各组单位藻细胞内的 SOD 随时间的变化

Fig. 5 Variation of the SOD in per cell of each group

累量,其中添加 50% 上清液组的油脂积累量与 BG-11 空白组持平(相对荧光强度分别为 364.64 ± 14.73 和 361.04 ± 17.31),纯上清液试验组的油脂积累量略低(相对荧光强度为 337.64 ± 10.07),纯污泥提取液组的油脂积累量最低(相对荧光强度为 297.67 ± 17.31). 这说明,污泥上清液养藻对其油脂积累影响较小,而以污泥提取液养藻时,油脂积累效果略差. 但结合经济指标分析,上清液和提取液养藻皆具有一定的可行性. 以污泥上清液养藻时,以油脂积累衡量最优的培养时间是 5~8 d;而以污泥提取液作为培养基养藻时,油脂积累最优的培养时间为 5 d.

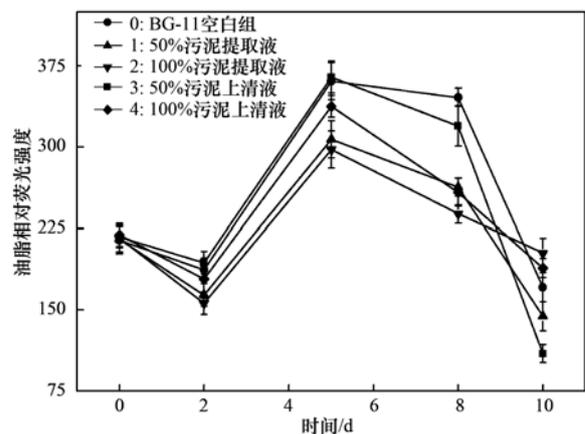


图 6 试验各组油脂相对荧光强度随时间的变化

Fig. 6 Variation of neutral oil of each group

3 结论

(1) 小球藻可有效地去除污泥提取液和上清液中的氮、磷、有机碳等物质,也可有效消减液相毒性,有望解决工业废水生物处理后剩余污泥提取液和上清液的安全处理问题.

(2) 小球藻利用剩余污泥中的营养物质完成了自身的增殖, 并积累了油脂, 可提供低成本养藻途径, 可解决目前自来水养藻成本高, 投入高的问题, 也为小球藻与剩余污泥提取液和上清液的共资源化处理和利用提供了新方法。

(3) 综合来看, 利用剩余污泥培养小球藻的过程中, 第 5 d 不仅可以达到对剩余污泥中营养物质和毒性的有效去除, 而且可获得油脂的最大积累, 是二者共资源化利用的最佳时段。

参考文献:

- [1] 卫东锋. 对常见工业污水处理方法的探讨[J]. 低碳世界, 2014, (3): 10-12.
- [2] 陈有志. 工业废水处理技术发展的现状及其应用[J]. 中国科技博览, 2012, (22): 143-144.
- [3] 鲁智礼, 庞朝辉, 王海燕, 等. 污泥减量化技术研究进展[J]. 化工环保, 2011, 31(6): 506-510.
- [4] 魏昆生, 徐品虎, 丁大勇, 等. 工业废水处理剩余污泥的燃烧试验[J]. 工业用水与废水, 2003, 34(5): 47-50.
- [5] 何忠, 杨绍贵, 孙成. 微波辅助 Bi2W06 光催化降解四氯酚研究[J]. 环境科学与技术, 2009, 32(11): 40-43.
- [6] 李建华, 戴友芝, 杨大森. 几种氯酚的生物降解性及其对厌氧产甲烷毒性的试验研究[J]. 湖南工程学院学报(自然科学版), 2006, 16(3): 83-87.
- [7] 李轶, 胡洪营. 固定在活性炭聚砜中空纤维膜中的 *Pseudomonas putida* 菌对四氯苯酚的共代谢降解[J]. 环境科学, 2007, 28(9): 2112-2116.
- [8] 李亚界, 吴绵斌, 林建平, 等. 5-氨基乙酰丙酸对小球藻生长及油脂积累的影响[J]. 浙江大学学报(工学版), 2014, (3): 535-540.
- [9] 陈颖, 李文彬, 孙勇如. 小球藻生物技术研究应用现状及展望[J]. 生物工程进展, 1998, 18(6): 12-16.
- [10] Hammouda O, Gaber A, Abdel-Raouf N. Microalgae and wastewater treatment [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 1995, 31(3): 205-210.
- [11] Abdel-Raouf N, Al-Homaidan A A, Ibraheem I B M. Microalgae and wastewater treatment [J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2012, 19(3): 257-275.
- [12] 邱华玲, 方桂友, 冯玉兰. 小球藻在污水处理上的研究进展[J]. 福建畜牧兽医, 2007, 29(6): 73-75.
- [13] Šoštarič M, Klinar D, Bricelj M, et al. Growth, lipid extraction and thermal degradation of the microalga *Chlorella vulgaris* [J]. New Biotechnology, 2012, 29(3): 325-331.
- [14] Ahmad A L, Yasin N H M, Derek C J C, et al. Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: A review [J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2011, 15(1): 584-593.
- [15] 司建伟, 何少华, 周雪飞, 等. 小球藻处理污泥提取液的试验研究[J]. 山东化工, 2010, 39(2): 12-14.
- [16] 吴俊森, 万修志, 马永山. 小球藻中叶绿素 a 提取方法研究[J]. 山东师范大学学报(自然科学版), 2011, 26(2): 79-81.
- [17] Dere S, Günes T, Sivaci R. Spectrophotometric determination of chlorophyll-A, B and total carotenoid contents of some algae species using different solvents [J]. Turkish Journal of Botany, 1998, 22: 13-17.
- [18] 梁文艳, 张元春, 曹敬灿, 等. 采用尼罗红荧光探针针对微藻中油脂的定量测定[J]. 环境化学, 2013, 32(8): 1491-1495.
- [19] 王海英, 符茹, 黄宝祥. 基于尼罗红荧光染色的小球藻脂质快速检测方法研究[J]. 中国油脂, 2012, 37(3): 78-81.
- [20] 杜丽娜, 杨帆, 穆玉峰, 等. 某制药废水对发光细菌急性毒性的评价研究[J]. 环境科学, 2014, 35(1): 286-291.
- [21] 吕福荣, 杨海波, 李英敏, 等. 自养条件下小球藻净化氮磷能力的研究[J]. 生物技术, 2003, 13(6): 46-47.
- [22] 王晓霞, 邱兆富, 范吉, 等. 超声波处理剩余污泥有机物、氮和磷的释放特性研究[J]. 环境污染与防治, 2009, 31(3): 66-69.
- [23] 邢丽贞. 固定化藻类去除污水中氮磷及其机理的研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2005.
- [24] 马宇翔, 李建宏, 浩云涛. 自养与异养条件下小球藻对氮、磷的利用[J]. 南京师大学报, 2002, 25(2): 37-41.
- [25] 张志国, 姚爱莉. 藻类对猪粪厌氧废液的净化作用[J]. 西南农业学报, 2000, 13(S1): 105-112.
- [26] Lin L, Chan G Y S, Jiang B L, et al. Use of ammoniacal nitrogen tolerant microalgae in landfill leachate treatment [J]. Waste Management, 2007, 27(10): 1376-1382.
- [27] 赵华, 董晓宇, 夏媛媛, 等. 氮源对小球藻光合作用和色素积累的影响[J]. 现代食品科技, 2012, 28(4): 367-370.

CONTENTS

| | | |
|--|--|--------|
| Comparative Analysis and Inspiration of Air Quality Index Between China and America | GAO Qing-xian, LIU Jun-rong, LI Wen-tao, <i>et al.</i> | (1141) |
| Regional Source Apportionment of PM _{2.5} in Beijing in January 2013 | LI Xuan, NIE Teng, QI Jun, <i>et al.</i> | (1148) |
| Formation Mechanism of a Serious Pollution Event in January 2013 in Beijing | CHENG Nian-liang, LI Yun-ting, ZHANG Da-wei, <i>et al.</i> | (1154) |
| Soluble of Metals within TSP in Shanghai | CHANG Yan, FENG Chong, QU Jian-guo, <i>et al.</i> | (1164) |
| Analysis of Component Spectral Characteristics of PM ₁₀ -Bound PAHs and the Influence of Weather Conditions During Spring in Xiamen | ZHANG Jian, FAN Shu-xian, SUN Yu, <i>et al.</i> | (1173) |
| Tracing Sources of Sulfate Aerosol in Nanjing Northern Suburb Using Sulfur and Oxygen Isotopes | WEI Ying, GUO Zhao-bing, GE Xin, <i>et al.</i> | (1182) |
| Analysis of an Air Pollution Process Using LiDAR in Nanjing, Spring of 2014 | BAO Qing, HE Jun-liang, ZHA Yong, <i>et al.</i> | (1187) |
| Characteristics of Water-soluble Inorganic Ions in PM _{2.5} and PM _{2.5-10} in Mountain Background Region of East China in Spring | SU Bin-bin, ZHANG Zhi-sheng, TAO Jun, <i>et al.</i> | (1195) |
| Emission of Particulate Matter, Organic and Elemental Carbon from Burning of Fallen Leaves | YANG Wei-zong, LIU Gang, LI Jiu-hai, <i>et al.</i> | (1202) |
| Emission Inventory of Crop Residues Field Burning and Its Temporal and Spatial Distribution in Sichuan Province | HE Min, WANG Xing-rui, HAN Li, <i>et al.</i> | (1208) |
| Marine Emission Inventory and Its Temporal and Spatial Characteristics in the City of Shenzhen | YANG Jing, YIN Pei-ling, YE Si-qi, <i>et al.</i> | (1217) |
| Characteristic of Ultrafine Particles Transferring Through Building Envelopes | SUN Zai, CHEN Qiu-fang, CAI Zhi-liang, <i>et al.</i> | (1227) |
| Airborne Fungal Aerosol Concentration and Distribution Characteristics in Air-Conditioned Wards | ZHANG Hua-ling, FENG He-hua, FANG Zi-liang, <i>et al.</i> | (1234) |
| Effect of Below-cloud Secondary Evaporation in Precipitations over the Loess Plateau Based on the Stable Isotopes of Hydrogen and Oxygen | JIN Xiao-gang, ZHANG Ming-jun, WANG Sheng-jie, <i>et al.</i> | (1241) |
| Effect of the Runoff-sediment Control of the Xiaolangdi Reservoir on DOC Transport | ZHANG Yong-ling, WANG Ming-shi, DONG Yu-long | (1249) |
| Effects of Long-term Implementation of the Flow-Sediment Regulation Scheme on Grain and Clay Compositions of Inshore Sediments in the Yellow River Estuary | WANG Miao-miao, SUN Zhi-gao, LU Xiao-ning, <i>et al.</i> | (1256) |
| Influences of Biological Processes on Geochemical Characteristics: An Example of a Mountain Karst Pool in Spring Season | YU Zheng-liang, YANG Ping-heng, ZHAO Rui-yi, <i>et al.</i> | (1263) |
| Variation Characteristics and Sources of Heavy Metals in an Urban Karst Groundwater System during Rainfall Event | REN Kun, YANG Ping-heng, JIANG Ze-li, <i>et al.</i> | (1270) |
| Risk Assessment of Trihalomethane Production Using the Beijiang River and the Pearl River, Guangzhou as Drinking Water Sources | ZHONG Hui-zhou, WEI Chao-hai | (1277) |
| Spatial Variability Characteristics of Water Quality and Its Driving Forces in Honghu Lake During High Water-level Period | LI Kun, WANG Ling, LI Zhao-hua, <i>et al.</i> | (1285) |
| Nutrient Exchange Between Meixi River and Yangtze River Due to the Typical Interaction Process of the Three Gorges Reservoir and Its Tributary | CAO Man, FU Jia-nan, ZHOU Zi-ran, <i>et al.</i> | (1293) |
| Effects of Nutrient Inputs on Changes of Phosphorus Forms and Phytoplankton Growth in Taihu Lake | WANG Rui-zhe, WANG Pei-fang, REN Ling-xiao, <i>et al.</i> | (1301) |
| Community Dynamics of Phytoplankton and Related Affecting Factors in a Eutrophicated Small Pond | YANG Wen, ZHU Jin-yong, ZHANG Ke-xin, <i>et al.</i> | (1309) |
| Yearly Changes of Phytoplankton Community in the Ecology-monitoring Area of Changli, Hebei in Summer | LIANG Xiao-lin, YANG Yang, WANG Yu-liang, <i>et al.</i> | (1317) |
| Improvement of River Water Quality by Aeration: WASP Model Study | ZHU Wen-bo, WANG Hong-xiu, LIU Cui, <i>et al.</i> | (1326) |
| Radiolytic Decomposition of Ciprofloxacin Hydrochloride in Aqueous Solution Using γ Irradiation | ZHU Sheng-nan, GUO Zhao-bing, ZHAO Yong-fu, <i>et al.</i> | (1332) |
| Removal of Antimony in Wastewater by Electrochemical Hydride Generation and the Recovery of Antimony | CHEN Jing-jing, ZHANG Guo-ping, LI Hai-xia, <i>et al.</i> | (1338) |
| Degradation of <i>m</i> -Cresol with Fe-MCM-41 in Catalytic Ozonation | SUN Wen-jing, WANG Ya-min, WEI Huang-zhao, <i>et al.</i> | (1345) |
| Bioanode and Inversion of Bioanode to Biocathode for the Degradation of Antibiotic Chloramphenicol | KONG De-yong, LIANG Bin, YUN Hui, <i>et al.</i> | (1352) |
| Photolysis of Gaseous HNO ₃ on the α -Fe ₂ O ₃ Films Under 308 nm UV Light | LU Jun, SUN Yun-dong, XIE Jing-jing, <i>et al.</i> | (1359) |
| Simultaneous Determination of Hydroquinone and Catechol Based on L-Histidine-Erythrosine Composite Film Modified Glassy Carbon Electrode | HE Jia-hong, XU Qiang, DING Wu-quan, <i>et al.</i> | (1365) |
| Preparation and Characterization of Quinone Functional Polymer Biocarrier (PET-AQS) for Bionitrification Catalysis | XU Qing, HOU Zheng-hao, TIAN Xiu-lei, <i>et al.</i> | (1374) |
| Kinetic Characteristics of Degradation of Geosmin and 2-Methylisoborneol by <i>Bacillus subtilis</i> | MA Nian-nian, LUO Guo-zhi, TAN Hong-xin, <i>et al.</i> | (1379) |
| Screening of a Highly Efficient Quinoline-degrading Strain and Its Enhanced Biotreatment on Coking Waste Water | LI Jing, LI Wen-ying | (1385) |
| Effect of Ferric Iron on Nitrogen Immigration and Transformation and Nitrous Oxide Emission During Simultaneous Nitrification Denitrification Process | LI Hao, YAN Yu-jie, XIE Hui-jun, <i>et al.</i> | (1392) |
| Running Condition and Bacterial Community Associated with the Partial Nitritation System | ZHAO Zhi-rui, JIAO Hai-hua, CUI Bing-jian, <i>et al.</i> | (1399) |
| Using Excess Activated Sludge Treated 4-Chlorophenol Contained Waste Water to Cultivate <i>Chlorella vulgaris</i> | WANG Lu, CHEN Xiu-rong, YAN Long, <i>et al.</i> | (1406) |
| Effects of Total Nitrogen and BOD ₅ /TN on Anaerobic Ammonium Oxidation-Denitrification Synergistic Interaction of Mature Landfill Leachate in Aged Refuse Bioreactor | YANG Ying-ying, CHEN Yi, LI Ming-jie, <i>et al.</i> | (1412) |
| Altitudinal Gradient Distribution and Source Analysis of PAHs Content of Topsoil in Jinfo Mountain, Chongqing | SHI Yang, SUN Yu-chuan, LIANG Zuo-bing, <i>et al.</i> | (1417) |
| Characteristics and Inputs of Cd Contamination in Paddy Soils in Typical Mining and Industrial Areas in Youxian County, Hunan Province | ZHANG Min, WANG Mei-e, CHEN Wei-ping, <i>et al.</i> | (1425) |
| Effects of Canalization on the Iron Deposition in Sanjiang Plain | SU Wen-hui, YU Xiao-fei, WANG Guo-ping, <i>et al.</i> | (1431) |
| Effects of Phosphate and Zeolite on the Transformation of Cd Speciation in Soil | WANG Xiu-li, LIANG Cheng-hua, MA Zi-hui, <i>et al.</i> | (1437) |
| Leaching Remediation of Copper and Lead Contaminated Lou Soil by Saponin Under Different Conditions | DENG Hong-xia, YANG Ya-li, LI Zhen, <i>et al.</i> | (1445) |
| Accumulation Characteristics and Evaluation of Heavy Metals in Soil-Crop System Affected by Wastewater Irrigation Around a Chemical Factory in Shenmu County | QI Yan-bing, CHU Wan-lin, PU Jie, <i>et al.</i> | (1453) |
| Effects of Organic and Inorganic Slow-Release Compound Fertilizer on Different Soils Microbial Community Structure | WANG Fei, YUAN Ting, GU Shou-kuan, <i>et al.</i> | (1461) |
| Response of Maize to Lead Stress and Relevant Chemical Forms of Lead | CHENG Hai-kuan, ZHANG Biao, JING Xin-xin, <i>et al.</i> | (1468) |
| Effect of Boron-antimony Interaction on the Uptake and Accumulation of Antimony and Boron by Rice Seedling | XIANG Meng, HUANG Yi-zong, CAI Li-qun, <i>et al.</i> | (1474) |
| Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on the Growth of Reeds in Wetland Soils with Different Salt Content | GUO Jiang-yuan, GUO Wei, BI Na, <i>et al.</i> | (1481) |
| A Contrastive Study on Salt-alkaline Resistance and Removal Efficiency of Nitrogen and Phosphorus by <i>Phragmites australis</i> and <i>Typha angustifolia</i> in Coastal Estuary Area | CHEN You-yuan, SUN Ping, CHEN Guang-lin, <i>et al.</i> | (1489) |
| Soil Microbial Respiration Under Different Soil Temperature Conditions and Its Relationship to Soil Dissolved Organic Carbon and Invertase | WU Jing, CHEN Shu-tao, HU Zheng-hua, <i>et al.</i> | (1497) |
| Comparison Analysis of Economic and Engineering Control of Industrial VOCs | WANG Yu-fei, LIU Chang-xin, CHENG Jie, <i>et al.</i> | (1507) |

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 欧阳自远

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 汤鸿霄 陈吉宁 孟 伟 周宗灿 林金明
欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2015年4月15日 第36卷 第4期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 36 No. 4 Apr. 15, 2015

| | | | | |
|---------|--|------------------|----|---|
| 主 管 | 中国科学院 | Superintended | by | Chinese Academy of Sciences |
| 主 办 | 中国科学院生态环境研究中心 | Sponsored | by | Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences |
| 协 办 | (以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院 | Co-Sponsored | by | Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University |
| 主 编 | 欧阳自远 | Editor-in -Chief | | OUYANG Zi-yuan |
| 编 辑 | 《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn | Edited | by | The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn |
| 出 版 | 科 学 出 版 社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717 | Published | by | Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China |
| 印 刷 装 订 | 北京北林印刷厂 | Printed | by | Beijing Bei Lin Printing House |
| 发 行 | 科 学 出 版 社 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com | Distributed | by | Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com |
| 订 购 处 | 全国各地邮电局 | Domestic | | All Local Post Offices in China |
| 国外总发行 | 中国国际图书贸易总公司 (北京399信箱) | Foreign | | China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China |

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 120.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行