

# 环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE



第36卷 第7期

Vol.36 No.7

**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

- 2013年12月中国中东部地区严重灰霾期间上海市颗粒物的输送途径及潜在源区贡献分析 ······ 李莉, 蔡鋆琳, 周敏(2327)  
长三角冬季一次霾过程气溶胶及其水溶性离子的区域分布特征 ······ 王曼婷, 朱彬, 王红磊, 薛国强, 何俊, 徐宏辉, 曹锦飞(2337)  
北京城区大气PM<sub>2.5</sub>主要化学组分构成研究 ······ 刘保献, 杨槿艳, 张大伟, 陈添, 赵红帅, 陈圆圆, 陆皓昀(2346)  
2014年春季山东省PM<sub>2.5</sub>跨界输送研究 ······ 贾海鹰, 程念亮, 何友江, 陈云波, 杜晓惠, 单晓丽(2353)  
燃煤电厂产生和排放的PM<sub>2.5</sub>中水溶性离子特征 ······ 马子軒, 李振, 蒋靖坤, 叶芝祥, 邓建国, 段雷(2361)  
南京夏季城市冠层大气CO<sub>2</sub>浓度时空分布规律的观测 ······ 高韵秋, 刘寿东, 胡凝, 王淑敏, 邓力琛, 于洲, 张圳, 李旭辉(2367)  
北京市机动车尾气排放因子研究 ······ 樊守彬, 田灵娣, 张东旭, 曲松(2374)  
北京不同污染地区园林植物对空气颗粒物的滞纳能力 ······ 张维康, 王兵, 牛香(2381)  
长三角地区火电行业主要大气污染物排放估算 ······ 丁青青, 魏伟, 沈群, 孙予罕(2389)  
基于区域氮循环模型IAP-N的安徽省农用地N<sub>2</sub>O排放量估算 ······ 韩云芳, 韩圣慧, 严平(2395)  
不同源汇信息提取方法对区域CO<sub>2</sub>源汇估算及其季节变化的影响评估 ······ 张芳, 周凌晞, 王玉诏(2405)  
实测/预测辽河铬(VI)水生生物基准与风险评估 ······ 王晓南, 闫振广, 刘征涛, 张聪, 王伟莉(2414)  
博尔塔拉河河水、表层底泥及河岸土壤重金属的污染和潜在危害评价 ······ 张兆永, 吉力力·阿不都外力, 姜逢清(2422)  
岩溶泉水化学性质及δ<sup>13</sup>C<sub>DIC</sub>影响因素 ······ 赵瑞一, 吕现福, 刘子琦, 吕春艳(2430)  
柳江流域柳州断面水化学特征及无机碳汇通量分析 ······ 原雅琼, 何师意, 于夷, 孙平安, 王艳雪, 武招云, 李新桂, 谢明鲜, 刘文, 李瑞, 张华生(2437)  
重庆市主城区次级河流总氮总磷污染特征分析及富营养化评价 ······ 庆旭瑶, 任玉芬, 吕志强, 王效科, 庞容, 邓睿, 孟龄, 马慧雅(2446)  
三峡库区消落带土壤邻苯二甲酸二丁酯静态释放特征 ······ 王法, 王强, 木志坚, 杨志丹, 宋娇艳(2453)  
干湿循环对三峡支流消落带沉积物中可转化态氮及其形态分布的影响 ······ 林俊杰, 张帅, 杨振宇, 何立平, 周依, 张倩茹(2459)  
天山天池夏季叶绿素a的分布及富营养化特征研究 ······ 王斌, 马健, 王银亚, 尹湘江(2465)  
西大海湖沉积物营养盐垂直分布特征变化分析 ······ 段木春, 肖海丰, 藏淑英(2472)  
草街水库蓄水后嘉陵江浮游植物群落特征及水质评价 ······ 杨敏, 张晟, 刘朔孺(2480)  
宁波三江口水域原核生物群落结构分析 ······ 胡安谊, 李姜维, 杨晓永, 王弘杰, 于昌平(2487)  
全氟化合物对表层沉积物中细菌群落结构的影响 ······ 孙雅君, 王铁宇, 彭霞薇, 王佩(2496)  
菹草腐解-金鱼藻生长耦合作用对水质及植物生长的影响 ······ 马月, 王国祥, 曹勋, 王小云, 马杰(2504)  
生物滞留设施对城市地表径流低浓度磷吸附基质研究 ······ 李立青, 龚燕芳, 颜子钦, 单保庆(2511)  
复合填料生物渗滤系统处理城市雨水径流的研究 ······ 王晓璐, 左剑恶, 千里里, 邢薇, 缪恒峰, 阮文权(2518)  
3种典型消毒副产物对细菌抗生素抗性的影响 ······ 吕露, 张梦露, 王春明, 林惠荣, 于鑫(2525)  
基于透射光法探讨水流流速对DNAPL运移分布的影响 ······ 高燕维, 郑菲, 施小清, 孙媛媛, 徐红霞, 吴吉春(2532)  
BDD和PbO<sub>2</sub>电极电化学氧化苯并三氮唑的对比研究 ······ 伍娟丽, 张佳维, 王婷, 倪晋仁(2540)  
开放系统下方解石对邻苯二甲酸的吸附 ······ 李振炫, 黄利东, 陈艳芳, 缪晔, 刘大刚, 许正文(2547)  
碳纳米管-羟磷灰石对铅的吸附特性研究 ······ 张金利, 李宇(2554)  
刚果红分子印迹聚合物纳米微球的合成及吸附性能 ······ 常自强, 陈复彬, 张玉, 时作龙, 杨春艳, 章竹君(2564)  
碱热-酸热法合成二氧化钛-钛酸纳米管复合纳米材料对Cd(II)和苯酚的同步去除 ······ 雷立, 晋银佳, 王婷, 赵枭, 晏友, 刘文(2573)  
固定化菌剂对污水和牛粪中雌二醇和己烯雌酚的去除作用 ······ 李欣, 凌婉婷, 刘静娴, 孙敏霞, 高彦征, 刘娟(2581)  
PN-ANAMMOX一体化反应器处理电子行业PCB废水 ······ 袁砚, 李祥, 周呈, 陈宗姬(2591)  
Fenton氧化深度处理石化废水厂二级出水研究 ······ 王翼, 吴昌永, 周岳溪, 张雪, 董波, 陈学民(2597)  
制革废水和印染废水的综合毒性评估及鉴别 ······ 黄利, 陈文艳, 万玉山, 郑国娟, 赵远, 蔡强(2604)  
不同溶解氧条件下A/O系统的除碳脱氮效果和细菌群落结构变化 ······ 陈燕, 刘国华, 范强, 汪俊妍, 齐鲁, 王洪臣(2610)  
利用主要缺氧段ORP作为连续流单污泥污水脱氮除磷系统调控参数 ······ 王晓玲, 宋铁红, 殷宝勇, 李静文, 李紫棋, 余勇(2617)  
连续流态下以实际低基质生活污水培养好氧颗粒污泥及其脱氮性能 ······ 姚力, 信欣, 鲁航, 朱辽东, 谢思建(2626)  
广东清远电子垃圾拆解区农田土壤重金属污染评价 ······ 张金莲, 丁疆峰, 卢桂宁, 党志, 易筱筠(2633)  
山东省临沂市土壤有机氯农药滴滴涕残留量与空间分布特征 ······ 喻超, 王增辉, 王红晋, 代杰瑞, 庞绪贵, 赵西强, 刘华峰(2641)  
金华市萤石矿区土壤氟污染评价 ······ 叶群峰, 周小玲(2648)  
土壤碳收支对秸秆与秸秆生物炭还田的响应及其机制 ······ 侯亚红, 王磊, 付小花, 乐毅全(2655)  
黄土区果园和刺槐林生态系统土壤有机碳变化及影响因素 ······ 李如剑, 王蕊, 李娜娜, 姜继韶, 张彦军, 王志齐, 刘庆芳, 吴得峰, 郭胜利(2662)  
缙云山土地利用方式对土壤轻组及颗粒态有机碳氮的影响 ······ 雷利国, 江长胜, 郝庆菊(2669)  
塔里木河上游典型绿洲土壤酶活性与环境因子相关分析 ······ 朱美玲, 贡璐, 张龙龙(2678)  
不同部位玉米秸秆对两种质地黑土CO<sub>2</sub>排放和微生物量的影响 ······ 刘四义, 梁爱珍, 杨学明, 张晓平, 贾淑霞, 陈学文, 张士秀, 孙冰洁, 陈升龙(2686)  
1株对叔丁基邻苯二酚降解菌的筛选鉴定及响应面法优化其降解 ······ 贺强礼, 刘文斌, 杨海君, 彭晓霞, 关向杰, 黄水娥(2695)  
耐高浓度沼液产油小球藻的分离鉴定与特征分析 ······ 杨闻, 王文国, 马丹炜, 汤晓玉, 胡启春(2707)  
水介质中C<sub>60</sub>纳米晶体颗粒与Cu<sup>2+</sup>对小鼠腹腔巨噬细胞的复合毒性研究 ······ 于叶, 卞为林, 张慧敏, 张波, 何义亮(2713)  
地表水体中同时分析18种糖皮质激素方法的建立 ······ 郭文景, 常红, 孙德智, 吴丰昌, 杨浩(2719)  
《环境科学》征订启事(2553) 《环境科学》征稿简则(2640) 信息(2546, 2609, 2616, 2647)

# 耐高浓度沼液产油小球藻的分离鉴定与特征分析

杨闯<sup>1,2</sup>, 王文国<sup>2,3\*</sup>, 马丹炜<sup>1\*</sup>, 汤晓玉<sup>2,3</sup>, 胡启春<sup>2,3</sup>

(1. 四川师范大学生命科学学院, 成都 610101; 2. 农业部沼气科学研究所, 成都 610041; 3. 农业部农村可再生能源开发利用重点实验室, 成都 610041)

**摘要:** 本研究从长期在空气中放置的沼液中分离得到1株可以耐受高浓度沼液的藻株, 经形态和分子生物学方法鉴定为小球藻属的一种, 命名为 *Chlorella* sp. BWY-1。本研究所用的沼液来自于以固液分离后的猪场废水为发酵原料的沼气工程, 与普通小球藻 *Chlorella regularis* (FACHB-729) 的对比研究表明, *Chlorella* sp. BWY-1 在 BG11 和不同浓度的沼液中都有相对较强的生长速率、生物量积累能力和氮磷等污染物去除能力。*Chlorella* sp. BWY-1 在 BG11 中有最高的生长速率和生物量生产力 ( $324.40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 以 dw 计), 但是其含油量和油脂生产力随着沼液浓度的增加而增加。在未稀释的沼液中 *Chlorella* sp. BWY-1 的含油量可达 44.43%, 油脂生产力达  $108.70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。分析结果表明该藻株在养殖废水处理和生物能源方面具有一定应用潜力, 可以结合固液分离、厌氧发酵等其他技术用于养殖场废水的处理和生物柴油的制取。

**关键词:** 养殖废水; 沼液; 小球藻; 废水处理; 生物柴油

中图分类号: X713 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2015)07-2707-06 DOI: 10.13227/j.hjx.2015.07.050

## Isolation, Identification and Characteristic Analysis of an Oil-producing *Chlorella* sp. Tolerant to High-strength Anaerobic Digestion Effluent

YANG Chuang<sup>1,2</sup>, WANG Wen-guo<sup>2,3\*</sup>, MA Dan-wei<sup>1\*</sup>, TANG Xiao-yu<sup>2,3</sup>, HU Qi-chun<sup>2,3</sup>

(1. College of Life Science, Sichuan Normal University, Chengdu 610101, China; 2. Biogas Institute, Ministry of Agriculture, Chengdu 610041, China; 3. Key Laboratory of Development and Application of Rural Renewable Energy, Ministry of Agriculture, Chengdu 610041, China)

**Abstract:** A *Chlorella* strain tolerant to high-strength anaerobic digestion effluent was isolated from the anaerobic digestion effluent with a long-term exposure to air. The strain was identified as a *Chlorella* by morphological and molecular biological methods, and named *Chlorella* sp. BWY-1. The anaerobic digestion effluent used in this study was from a biogas plant with the raw materials of swine wastewater after solid-liquid separation. The *Chlorella regularis* (FACHB-729) was used as the control strain. The comparative study showed that *Chlorella* sp. BWY-1 had relatively higher growth rate, biomass accumulation capacity and pollutants removal rate in BG11 and different concentrations of anaerobic digestion effluent. *Chlorella* sp. BWY-1 had the highest growth rate and biomass productivity ( $324.40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) in BG11, but its lipid productivity and lipid content increased with the increase of anaerobic digestion effluent concentration. In undiluted anaerobic digestion effluent, the lipid productivity and lipid content of *Chlorella* sp. BWY-1 were up to 44.43% and  $108.70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectively. Those results showed that the isolated algal strain had some potential applications in livestock wastewater treatment and bioenergy production, it could be combined with a solid-liquid separation, anaerobic fermentation and other techniques for processing livestock wastewater and producing biodiesel.

**Key words:** livestock wastewater; anaerobic digestion effluent; *Chlorella*; wastewater treatment; biodiesel

畜禽养殖业已经成为我国最大污染行业之一<sup>[1,2]</sup>。沼气工程是一些大中型养殖场进行废水、粪污处置、资源化再利用的主要手段<sup>[3]</sup>。但是厌氧消化过程主要削减有机物, 大量氮磷等物质仍存在于沼渣、沼液中, 对生态环境仍具有一定的威胁<sup>[4,5]</sup>。另一方面, 沼渣、沼液中含有大量的氮、磷、钾等植物生长所必须的物质, 可以作为肥料进行进一步利用, 尤其是沼液中含有大量的可溶性氮磷, 极易被植物吸收, 是良好的肥料<sup>[6]</sup>。但是由于沼液产生的连续性与作物施肥的间断性之间的矛盾, 一些养殖场周围的土地无法消纳持续产生的大量沼液<sup>[3,4]</sup>。其他如沼液的自然处理、工程化达标处理等技术都仍存在一定的

问题, 难以取得经济可行的效果, 沼液的处理仍是限制沼气技术发展的瓶颈之一<sup>[3]</sup>。

沼液中的氮磷等营养盐类也是微藻生长所必需的<sup>[7]</sup>。利用沼液培养能源微藻被认为是一种高附加值的沼液处理方式<sup>[8]</sup>。但是沼液中高浓度的氨氮和较低的透明度等因素不利于微藻的生长<sup>[9]</sup>。通常需要对沼液进行离心、稀释后才能用于微藻的培养, 这

收稿日期: 2014-12-21; 修订日期: 2015-01-27

基金项目: 国家自然科学基金项目(5110239); 四川省应用基础研究计划项目(2013JY0005)

作者简介: 杨闯(1989~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为细胞工程, E-mail: hyyangchuang@126.com

通讯联系人, E-mail: wangwengu@caas.cn; danweil0ma@163.com

会消耗大量的水资源并使微藻培养成本增加<sup>[8,10]</sup>. 获得可以耐受高浓度沼液的微藻藻株是解决这一问题的方法之一. Tale 等<sup>[11]</sup>从以餐厨垃圾为发酵原料的沼液中分离到 5 株耐受性较好的藻株用于餐厨垃圾的沼液处理. 但是目前用于以养殖废水为原料的沼液处理的藻株主要是从藻种库购买<sup>[8,10,12]</sup>或从其他地表水体中分离获得<sup>[13, 14]</sup>. 这些藻株一般对高浓度沼液较为敏感, 需要将沼液稀释到较低的浓度. 本研究直接从长期放置的沼液中分离到 1 株具有较高浓度沼液耐受性的小球藻, 并对其污染物去除能力、产油能力进行了分析, 以期为进一步在养殖废水处理和生物柴油中的应用奠定基础.

## 1 材料与方法

### 1.1 藻株的分离、纯化

用于藻株分离的水样是从装有沼液的长期放置在窗台中的广口瓶中获得的. 在无菌操作台中将 100  $\mu\text{L}$  水样被涂抹在灭过菌( $121^\circ\text{C}, 20 \text{ min}$ )的含有 1% 琼脂粉和未稀释的沼液的平板上. 将平板置于  $25^\circ\text{C}$ 、 $60 \mu\text{mol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s})^{-1}$  光照强度的培养箱中培养(上海一恒 MGC-300A, 光源为 10 根 36W 的白炽灯管), 光暗周期为 16 h 亮/8 h 暗. 5 d 后挑取单个的绿色斑点接种到在含有 100 mL 灭过菌的 BG11 培养液中<sup>[15]</sup>, 置于培养箱中扩大培养, 每天摇动 3 次.

实验所用的沼液均采自四川简阳一个以固液分离后猪场废水为发酵原料的沼气工程, 发酵工艺为连续搅拌完全混合式厌氧消化反应器(continuously stirred tank reactor, CSTR). 采回的沼液经离心( $4500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ , 15 min)后储存在  $4^\circ\text{C}$  的冰柜中备用. 经过离心后的沼液 pH 为 7.86, 化学需氧量(COD)为  $1021 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 总氮为  $286 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 氨氮为  $273 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 总磷为  $8.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ .

### 1.2 藻种的鉴定

分离得到的藻株在三角瓶中扩大培养 10 d 后取部分样品在光学显微镜下进行形态鉴定, 然后将培养液  $4^\circ\text{C}, 13000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 3 min, 用植物基因组 DNA 提取试剂盒(TIANGEN, DP337-N96)对所得藻体进行基因组 DNA 提取. 以 ITS-F: 5'-TTTCCGTA GGTGAACTGCGGAAG-3', ITS-R: 5'-TTAAGTTC AGCGGGTAGTCTTGCC-3' 为引物, 基因组 DNA 为模版进行 PCR 扩增, 以获得 ITS1(Internal Transcribed spacer I)序列. 扩增产物经电泳检测后回收, 构建到 pEASY-T1 (TransGene) 克隆载体上, 取阳性菌落送北京六合华大基因科技股份有限公司

测序. 利用 MEGA5.1 软件的 NJ(Neighbor-Jointin)法对获得的序列和 GenBank 中其他藻种的 ITS1 序列构建系统发育树, 重复 100 次计算 Bootstrap 值.

### 1.3 室外培养

以中国科学院淡水藻种库购买的普通小球藻(*Chlorella regularis* FACHB-729)为对照, 将在 BG11 培养的分离到藻株和 FACHB-729 作为种子液接种到装有 2 L 不同沼液的密封的玻璃瓶中, 起始细胞浓度是 680 nm 波长的吸光度值(D)为 0.1, 并设置不接种任何藻种的对照组(CK). 沼液组设置 25%、50% 和 100% 这 3 个浓度梯度. 以空气中的  $\text{CO}_2$  为碳源, 空气的流速为  $0.5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ . 实验于 2014 年 9 月在位于成都市的农业部沼气科学研究所楼顶进行, 每天利用分光光度计测定 680 nm 处的 D 值. 根据 D 值的变化情况选择收获的最佳时间, 通过离心( $4500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}, 10 \text{ min}$ )的方式收集藻体, 用 1% 的氯化钠溶液洗 3 次后在  $60^\circ\text{C}$  的烘箱中烘至恒重.

### 1.4 水质分析方法

水质的分析方法均参照文献[16]. 氨氮采用纳氏试剂分光光度法, 总氮采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法, 总磷的测定用钼酸铵分光光度法, COD 用重铬酸钾法测定, pH 值用 pH 计测定.

### 1.5 油脂提取与分析方法

从干藻粉中提取总油脂采用 Bligh 等的方法<sup>[17]</sup>, 并做适当修改过. 具体方法如下, 取 0.1 g 藻粉加入 2 mL 的氯仿和 1 mL 的甲醇, 充分混合 10 min 后依次加入 1 mL 甲醇混合 1 min, 1.8 mL 水混合 5 min 离心( $4500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ). 吸取氯仿层, 用 5% 的氯化钠溶液洗 2 次, 然后  $60^\circ\text{C}$  烘干至恒重, 称取离心管前后的重量, 即油脂重量.

### 1.6 统计方法

本研究每个处理设置 3 个重复, 采用 Excel 2007、Origin 8.0 软件进行数据方差分析和作图.

## 2 结果与分析

### 2.1 藻株的分离与鉴定

用于藻株分离的平板在光照培养箱中培养 5 d 后绿色的藻斑的直径达到 0.5~1 mm, 其中一个藻斑在 BG11 中扩大培养后经显微镜观察为直径约为 3~5  $\mu\text{m}$  的圆形的单细胞藻, 与小球藻属的形态相似<sup>[18]</sup>(图 1). 将其命名为 *Chlorella* sp. BWY-1. 以 ITS1 序列构建的进化树分析表明 BWY-1 与 *Chlorella variabilis*、*Chlorella chlorelloides* 聚类为一簇(图 1).

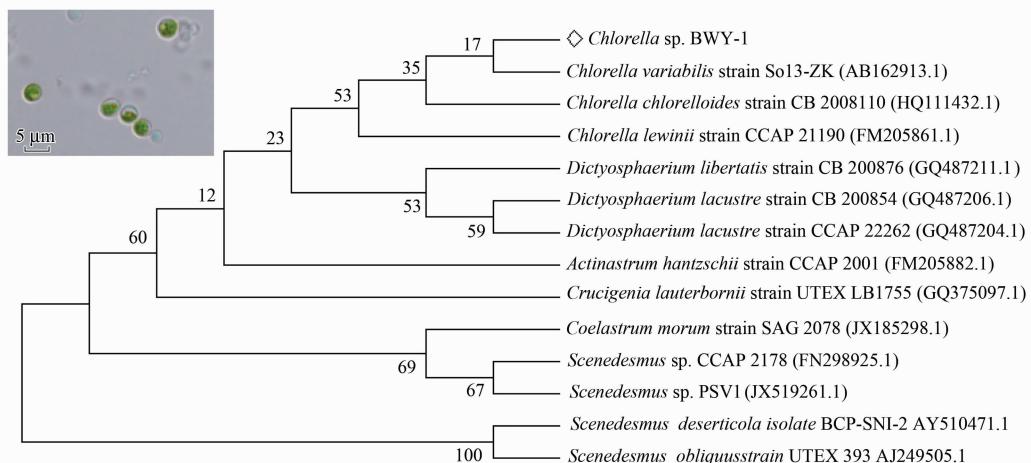


图 1 从沼液中分离的藻株 *Chlorella* sp. BWY-1 的形态特征和系统发育树

Fig. 1 Morphological characteristics and the phylogenetic tree of *Chlorella* sp. BWY-1 isolated from the anaerobic digestion effluent

## 2.2 生长特征分析

图 2 为 BWY-1 与 FACHB-729 在 BG11 和不同浓度沼液中的生长曲线。在经过 1 d 的延滞期后两株藻在 BG11 和低浓度的沼液中(25% 和 50%)进入对数生长期，在 7 d 后进入稳定期，FACHB-729 的生长速率均低于 BWY-1。而在高浓度的沼液中(100%)，尽管 BWY-1 仍在第 7 d 进入稳定期，但是其延滞期要达到 2 d。FACHB-729 在 100% 的沼液中几乎无法生长(图 3)。因此，本研究后续实验的收获期为第 7 d。两个藻株在 BG11 中的生长速率均高于在沼液中的生长速率。

## 2.3 污染物去除能力分析

图 4 为 BWY-1 与 FACHB-729 在 7 d 的培养时间内对不同浓度沼液中 COD、总氮、氨氮和总磷的去除情况。两个藻种对 COD 的去除效果差异较小，但是 BWY-1 对氮磷的去除效果明显好于 FACHB-729，而且在低沼液浓度下的去除效果明显高于高浓度。BWY-1 在 25% 的沼液中对总磷的去除效果最好，可达 85.25%。在未稀释的沼液中两个藻株对氮磷的去除效果较差，效果相对较好的 BWY-1 对总氮、氨氮和总磷的去除率分别为 30.3%、23.7% 和 52.8%。

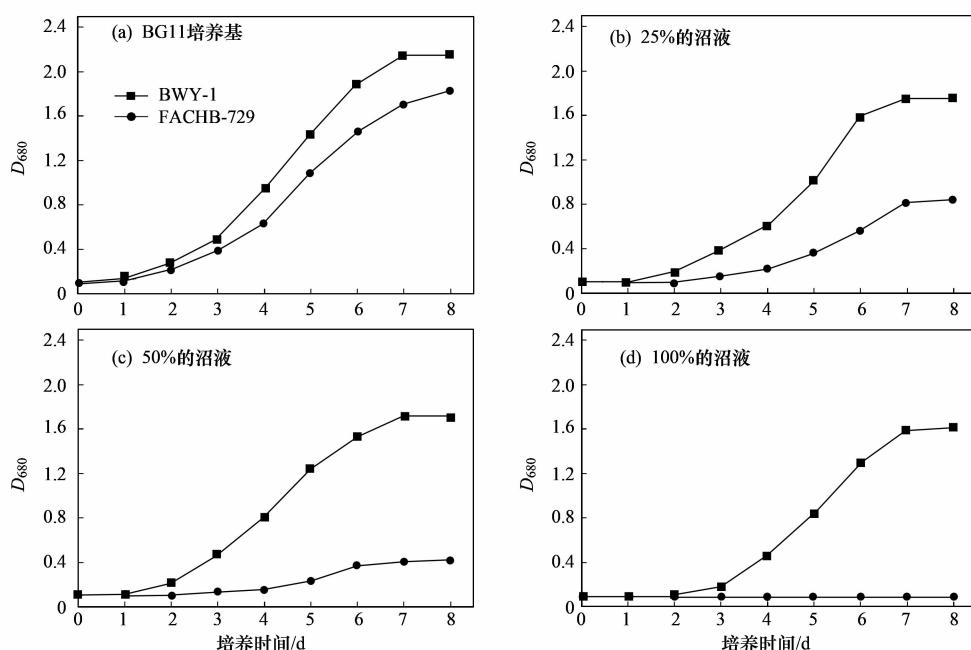


图 2 两个藻株在 BG11 和不同浓度沼液中的生长曲线

Fig. 2 Growth curves of the two algal strains in BG11 and different concentrations of anaerobic digestion effluent

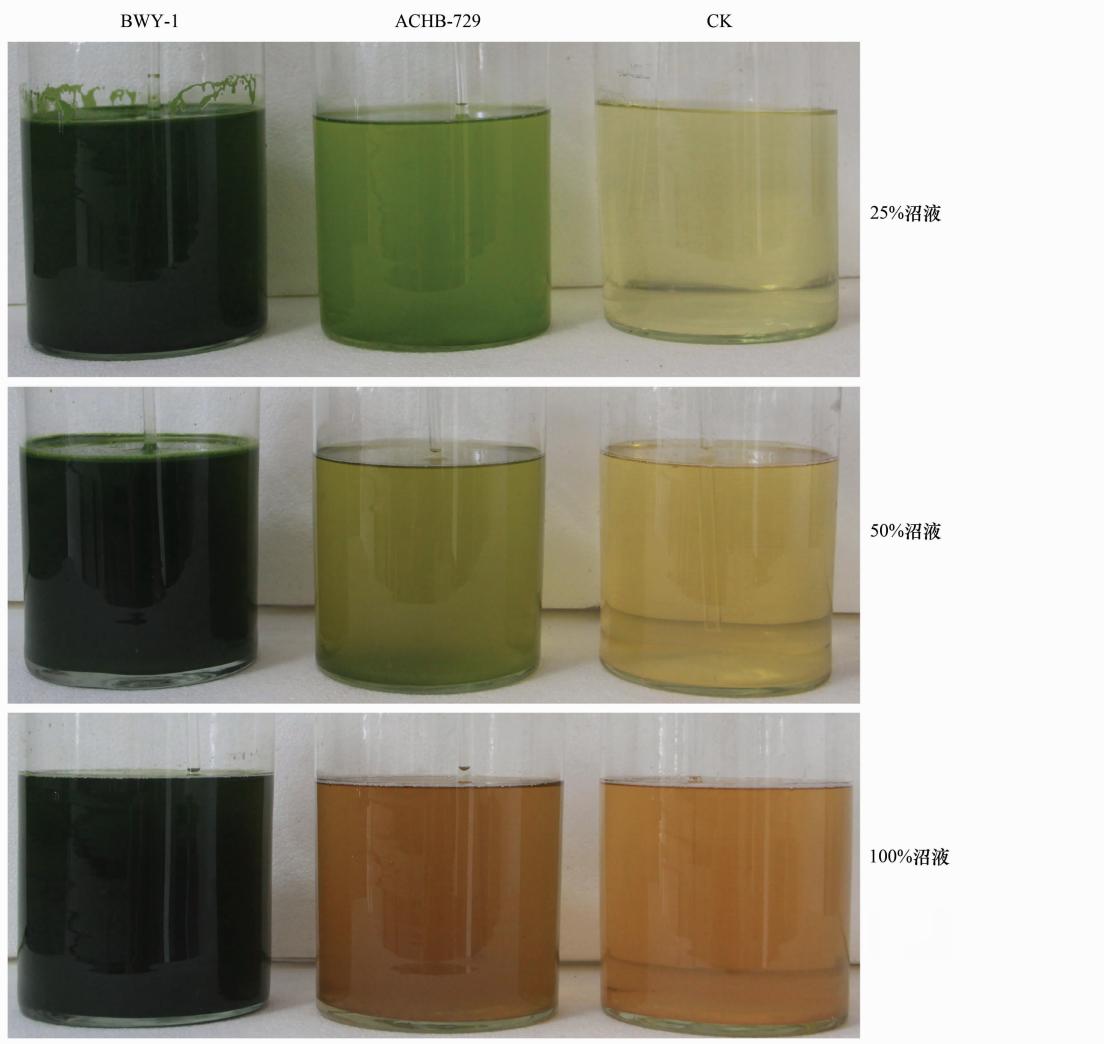


图3 两个藻株在不同浓度沼液中的生长状况

Fig. 3 Growth of the two algal strains in different concentrations of anaerobic digestion effluent

## 2.4 生物质积累和油脂含量分析

表1为培养7 d后BWY-1与FACHB-729在BG11和不同浓度的沼液中的生物量和油脂积累情况。在生物量积累方面,两个藻种均是在BG11中最高,BWY-1可达 $324.40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,高于FACHB-729的 $253.51 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;在沼液中的生物量积累随着沼液

浓度的增加而降低。在油脂积累方面,由于随着沼液浓度的增加两个藻株的含油量呈增加趋势,在100%的沼液中BWY-1的含油量可高达44.43%,BWY-1的油脂生产能力表现出随着沼液浓度递增的趋势;但是由于FACHB-729在沼液中的生长情况较差,油脂生产能力仍随着沼液浓度的递增而减少。

表1 两个藻株的生物质生产力、油脂含量和油脂生产力

Table 1 Biomass productivities, lipid contents and lipid productivities of the two algal strains

藻株	培养液	生物量积累(以dwt计) $/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	油脂积累 $/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	油脂含量 /%
<i>Chlorella regularis</i> (FACHB-729)	BG11	$253.51 \pm 8.65$	$43.55 \pm 2.00$	$17.21 \pm 1.36$
	25% 沼液	$129.87 \pm 5.51$	$34.47 \pm 1.40$	$26.55 \pm 0.19$
	50% 沼液	$60.10 \pm 4.83$	$16.61 \pm 1.17$	$27.85 \pm 1.14$
	100% 沼液	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$
<i>Chlorella</i> sp. BYW-1	BG11	$324.40 \pm 11.50$	$65.64 \pm 0.88$	$20.24 \pm 0.45$
	25% 沼液	$274.19 \pm 9.48$	$88.48 \pm 1.04$	$32.29 \pm 0.74$
	50% 沼液	$269.62 \pm 5.89$	$95.18 \pm 1.14$	$35.32 \pm 1.20$
	100% 沼液	$244.85 \pm 6.54$	$108.70 \pm 1.37$	$44.43 \pm 1.74$

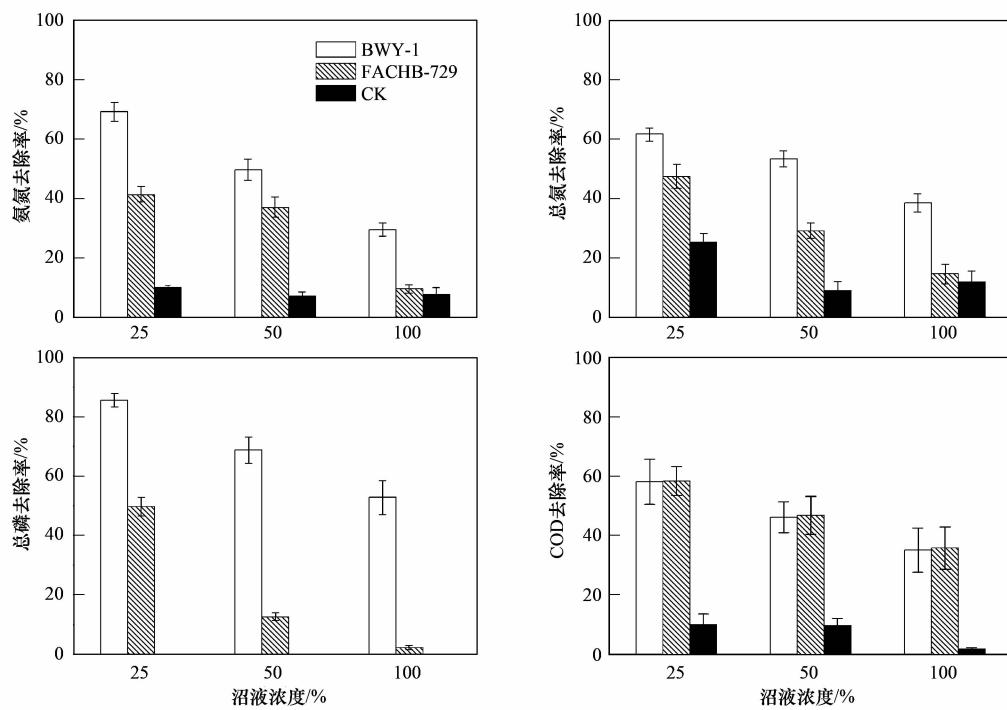


图4 两个藻株对不同沼液浓度的氨氮、总氮、总磷和 COD 的去除率

Fig. 4 Removal rate of ammonium nitrogen, total nitrogen, total phosphorus, and chemical oxygen demand from different concentrations of anaerobic digestion effluent by the two algal strains

### 3 讨论

利用分子生物学的方法对分离的藻株进行离鉴定已经是较为成熟的方法,通常方法是对 18S、ITS 等特征序列进行测序后构建进化树进行分析<sup>[19]</sup>。线粒体 DNA 的 ITS1 序列是真核生物进行同属的物种鉴定的常用序列<sup>[20]</sup>,也已经成功的用于小球藻属的鉴定<sup>[21,22]</sup>。本研究利用 ITS1 序列的分析,将分离得到的藻株归为小球藻属。

微藻处理沼液具有一定的优势,但是仍受一些条件的限制,沼液中过高氨氮含量就是其中因素之一<sup>[23]</sup>。以猪场废水为原料的沼液中的氨氮含量在  $100 \sim 2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  之间<sup>[5]</sup>,不利于微藻生长。固液分离技术作为一种常见的畜禽养殖场粪污的前处理技术可以有效的将一部分氮磷等物质分离到固体中<sup>[24]</sup>,使进入厌氧发酵罐的氮磷含量降低,从而使产生的沼液中的氨氮的物质的含量降低,有利于微藻的培养。本研究所用的沼液即为以固液分离后的养殖废水为原料的沼液,氨氮浓度虽然已经低于  $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,但是仍不利于一些普通微藻藻株的生长,FACHB-729 在未稀释的沼液中无法生长。而从沼液中分离的藻株 BWY-1 则在未稀释的沼液中表

现出良好的生长状态,说明 BWY-1 对高浓度的沼液具有一定的耐受性,可以结合固液分离、厌氧发酵工艺用于养殖废水的处理。另一方面,与在 BG11 培养基中相比,两个藻株在各个沼液浓度中的生长速率和生物量积累要低,说明沼液虽然可以满足微藻的生长要求,耐受型的藻株 BWY-1 可以在高浓度的沼液中较好的生长,但是由于沼液中成分复杂,无法使微藻的生长状态达到最佳。

小球藻 BWY-1 不仅在高浓度的沼液中表现出较好的生长能力,而且在高浓度的沼液中表现出较高的含油量。这可能与高浓度沼液对其产生的胁迫有关。研究表明由一些非生物胁迫诱导的氧化胁迫可以使微藻含油量增加<sup>[25]</sup>。废水中高浓度的氨氮也可以使浮萍等水生植物产生氧化胁迫<sup>[26]</sup>。BWY-1 和 FACHB-729 在高沼液浓度条件下表现出的高油脂含量增加可能与氧化胁迫相关。

在低浓度的沼液中,小球藻可以对氮、磷等物质进行良好的削减,但是在高浓度的沼液中 BWY-1 虽然仍有一定的污水净化能力,但是由于沼液中的污染物浓度较高,BWY-1 对沼液中氮磷的去除效果有限,可以采取多轮培养或者与其他处理手段结合的方式进行沼液处理。

## 4 结论

本研究从长期放置的沼液中筛选的小球藻 *Chlorella* sp. BWY-1 在高浓度的沼液中可以良好地生长，并表现出较高的油脂含量和一定的污染物去除能力。该藻株在养殖废水处理和生物能源方面具有一定的应用潜力，可以结合固液分离、厌氧发酵等其他技术用于养殖场废水的处理，收集的藻体可以用于生产生物柴油汽油的原料。

### 参考文献：

- [1] 仇焕广, 廖绍攀, 井月, 等. 我国畜禽粪便污染的区域差异与发展趋势分析[J]. 环境科学, 2013, **34**(7): 2766-2774.
- [2] 耿维, 胡林, 崔建宇, 等. 中国区域畜禽粪便能源潜力及总量控制研究[J]. 农业工程学报, 2013, **29**(1): 171-179.
- [3] 刘刈, 宋立, 邓良伟. 我国规模化养殖场粪便污水处理利用现状及对策[J]. 猪业科学, 2011, **28**(6): 30-33, 42.
- [4] 同园园, 李子富, 程世昆, 等. 养殖场厌氧发酵沼液处理研究进展[J]. 中国沼气, 2013, **31**(5): 48-52.
- [5] 卫丹, 万梅, 刘锐, 等. 嘉兴市规模化养猪场沼液水质调查研究[J]. 环境科学, 2014, **35**(7): 2650-2657.
- [6] 骆林平, 张妙仙, 单胜道. 沼液肥料及其利用研究现状[J]. 浙江农业科学, 2009, (5): 977-978.
- [7] Wang L, Li Y C, Chen P, et al. Anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oil-rich green microalgae *Chlorella* sp. [J]. Bioresource Technology, 2010, **101**(8): 2623-2628.
- [8] Park J, Jin H F, Lim B R, et al. Ammonia removal from anaerobic digestion effluent of livestock waste using green alga *Scenedesmus* sp. [J]. Bioresource Technology, 2010, **101**(22): 8649-8657.
- [9] Uggetti E, Sialve B, Latrille E, et al. Anaerobic digestate as substrate for microalgae culture: the role of ammonium concentration on the microalgae productivity [J]. Bioresource Technology, 2014, **152**, 437-443.
- [10] Kobayashi N, Noel E A, Barnes A, et al. Characterization of three *Chlorella sorokiniana* strains in anaerobic digested effluent from cattle manure [J]. Bioresource Technology, 2013, **150**: 377-386.
- [11] Tale M, Ghosh S, Kapadnis B, et al. Isolation and characterization of microalgae for biodiesel production from Nisargruna biogas plant effluent [J]. Bioresource Technology, 2014, **169**: 328-335.
- [12] Wang L, Wang Y K, Chen P, et al. Semi-continuous cultivation of *Chlorella vulgaris* for treating undigested and digested dairy manures [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2010, **162**(8): 2324-2332.
- [13] Ji F, Liu Y, Hao R, et al. Biomass production and nutrients removal by a new microalgae strain *Desmodesmus* sp. in anaerobic digestion wastewater [J]. Bioresource Technology, 2014, **161**: 200-207.
- [14] 赵凤敏, 梅帅, 曹有福, 等. 基于沼液的培养基及产油小球藻藻种选育[J]. 环境科学, 2014, **35**(6): 2300-2304.
- [15] Boussiba S, Vonshak A. Astaxanthin accumulation in the green alga *Haematococcus pluvialis* [J]. Plant and cell Physiology, 1991, **32**(7): 1077-1082.
- [16] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法 [M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002. 157-386.
- [17] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification [J]. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 1959, **37**(8): 911-917.
- [18] 朱浩然, 朱婉嘉, 李尧英. 中国淡水藻类志 [M]. (第二卷). 北京: 中国科学出版社, 1991. 121-365.
- [19] 甄毓, 于志刚, 米铁柱. 分子生物学在微藻分类研究中的应用[J]. 中国海洋大学学报, 2006, **36**(6): 875-878.
- [20] Coleman A W, Mai J C. Ribosomal DNA ITS-1 and ITS-2 sequence comparisons as a tool for predicting genetic relatedness [J]. Journal of Molecular Evolution, 1997, **45**(2): 168-177.
- [21] Cozzolino S, Campo I, Moretti M A, et al. The use of nuclear ribosomal ITS 1 DNA sequences for the identification of *Chlorella* strains [J]. Archiv für Hydrobiologie, 1999, **130**: 31-42.
- [22] Wu H L, Hsue R S, Lin L P. Identification of *Chlorella* spp. isolates using ribosomal DNA sequences [J]. Botanical Bulletin of Academia Sinica, 2001, **42**: 115-121.
- [23] 国青青, 刘锐, 罗金飞, 等. 沼液养殖钝顶螺旋藻的中试研究[J]. 环境科学, 2014, **35**(9): 3480-3486.
- [24] 常志州, 黄红英, 吴军伟, 等. 猪和奶牛粪便的粒径及养分分布对固液分离效率的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, **29**(2): 392-395.
- [25] Osundeko O, Davies H, Pittman J K. Oxidative stress-tolerant microalgae strains are highly efficient for biofuel feedstock production on wastewater [J]. Biomass and Bioenergy, 2013, **56**: 284-294.
- [26] Huang L, Lu Y Y, Gao X, et al. Ammonium-induced oxidative stress on plant growth and antioxidative response of duckweed (*Lemna minor* L.) [J]. Ecological Engineering, 2013, **58**: 355-362.

## CONTENTS

Potential Source Contribution Analysis of the Particulate Matters in Shanghai During the Heavy Haze Episode in Eastern and Middle China in December, 2013 .....	LI Li, CAI Jun-lin, ZHOU Min (2327)
Composition and Regional Characteristics of Atmosphere Aerosol and Its Water Soluble Ions over the Yangtze River Delta Region in a Winter Haze Period .....	WANG Man-ting, ZHU Bin, WANG Hong-lei, et al. (2337)
Chemical Species of PM <sub>2.5</sub> in the Urban Area of Beijing .....	LIU Bao-xian, YANG Dong-yan, ZHANG Da-wei, et al. (2346)
Numerical Study on the Characteristics of Regional Transport of PM <sub>2.5</sub> in Shandong Province During Spring in 2014 .....	JIA Hai-ying, CHENG Nian-liang, HE You-jiang, et al. (2353)
Characteristics of Water-Soluble Inorganic Ions in PM <sub>2.5</sub> Emitted from Coal-Fired Power Plants .....	MA Zi-zhen, LI Zhen, JIANG Jing-kun, et al. (2361)
Direct Observation on the Temporal and Spatial Patterns of the CO <sub>2</sub> Concentration in the Atmospheric of Nanjing Urban Canyon in Summer .....	GAO Yun-qiu, LIU Shou-dong, HU Ning, et al. (2367)
Emission Factors of Vehicle Exhaust in Beijing .....	FAN Shou-bin, TIAN Ling-di, ZHANG Dong-xu, et al. (2374)
Adsorption Capacity of the Air Particulate Matter in Urban Landscape Plants in Different Polluted Regions of Beijing .....	ZHANG Wei-kang, WANG Bing, NIU Xiang (2381)
Major Air Pollutant Emissions of Coal-Fired Power Plant in Yangtze River Delta .....	DING Qing-qing, WEI Wei, SHEN Qun, et al. (2389)
Estimation of N <sub>2</sub> O Emission from Anhui Croplands by Using a Regional Nitrogen Cycling Model IAP-N .....	HAN Yun-fang, HAN Sheng-hui, YAN Ping (2395)
Evaluation on the Impacts of Different Background Determination Methods on CO <sub>2</sub> Sources and Sinks Estimation and Seasonal Variations .....	ZHANG Fang, ZHOU Ling-xi, WANG Yu-zhao (2405)
Measured and Predicted Aquatic Life Criteria and Risk Assessment of Chromium (VI) in Liaohe River .....	WANG Xiao-nan, YAN Zhen-guang, LIU Zheng-tao, et al. (2414)
Pollution and Potential Ecology Risk Evaluation of Heavy Metals in River Water, Top Sediments on Bed and Soils Along Banks of Bortala River, Northwest China .....	ZHANG Zhao-yong, Jilili Abuduaili, JIANG Feng-qing (2422)
Influencing Factors for Hydrochemistry and $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ of Karst Springs .....	ZHAO Rui-yi, LÜ Xian-fu, LIU Zi-qi, et al. (2430)
Hydrochemical Characteristics and the Dissolved Inorganic Carbon Flux in Liuzhou Section of Liujiang Basin .....	YUAN Ya-qiong, HE Shi-ya, YU Shi, et al. (2437)
Characteristics of Total Nitrogen and Total Phosphorus Pollution and Eutrophication Assessment of Secondary River in Urban Chongqing .....	QING Xu-yao, REN Yu-fen, LÜ Zhi-qiang, et al. (2446)
Static Migration and Release of Dibutyl-Phthalate in the Fluctuating Zone of Three Gorges Reservoir .....	WANG Fa, WANG Qiang, MU Zhi-jian, et al. (2453)
Effect of Drought and Subsequent Re-wetting Cycles on Transferable Nitrogen and Its Form Distribution in the Sediment of Water Level Fluctuating Zone in the Tributary of Three Gorge Reservoir Areas .....	LIN Jun-jie, ZHANG Shuai, YANG Zhen-ya, et al. (2459)
Distribution of Chlorophyll-a and Eutrophication State in Tianchi Lake of Tianshan Mountains in Summer .....	WANG Bin, MA Jian, WANG Yin-ya, et al. (2465)
Vertical Distribution Characteristics and Analysis in Sediments of Xidaihai Lake .....	DUAN Mu-chun, XIAO Hai-feng, ZANG Shu-ying (2472)
Phytoplankton Community Structure and Water Quality Assessment in Jialing River After the Impoundment of Caofeidian Reservoir .....	YANG Min, ZHANG Sheng, LIU Shuo-ru (2480)
Analysis of Prokaryotic Community Structure in River Waters of the Ningbo Sanjiang Mouth .....	HU An-ji, LI Jiang-wei, YANG Xiao-yong, et al. (2487)
Effects of Perfluoroalkyl Substances on the Microbial Community Structure in Surface Sediments of Typical River, China .....	SUN Ya-jun, WANG Tie-ye, PENG Xia-wei, et al. (2496)
Coupling Effects of Decomposed <i>Potamogeton crispus</i> and Growing <i>Ceratophyllum demersum</i> on Water Quality and Plant Growth .....	MA Yue, WANG Guo-xiang, CAO Xun, et al. (2504)
Bioretention Media Screening for the Removal of Phosphorus in Urban Stormwater .....	LI Li-qing, GONG Yan-fang, YAN Zi-qin, et al. (2511)
Treatment of Urban Runoff Pollutants by a Multilayer Biofiltration System .....	WANG Xiao-lu, ZUO Jian-e, GAN Li-li, et al. (2518)
Effect of Three Typical Disinfection Byproducts on Bacterial Antibiotic Resistance .....	LÜ Lu, ZHANG Meng-lu, WANG Chun-ming, et al. (2525)
Laboratory Investigation of DNAPL Migration Behavior and Distribution at Varying Flow Velocities Based on Light Transmission Method .....	GAO Yan-wei, ZHENG Fei, SHI Xiao-qing, et al. (2532)
Comparative Study of Benzotriazole Electrochemical Oxidation at Boron-doped Diamond and PbO <sub>2</sub> Anodes .....	WU Juan-li, ZHANG Jia-wei, WANG Ting, et al. (2540)
Sorption of o-Phthalate onto Calcite in Open-System .....	LI Zhen-xuan, HUANG Li-dong, CHEN Yan-fang, et al. (2547)
Adsorption Behaviors of Lead on Multi-Walled Carbon Nanotube-Hydroxyapatite Composites .....	ZHANG Jin-li, LI Yu (2554)
Synthesis and Study on Adsorption Property of Congo Red Molecularly Imprinted Polymer Nanospheres .....	CHANG Zi-qiang, CHEN Fu-bin, ZHANG Yu, et al. (2564)
Simultaneous Removal of Cd(II) and Phenol by Titanium Dioxide-Titanate Nanotubes Composite Nanomaterial Synthesized Through Alkaline-Acid Hydrothermal Method .....	LEI Li, JIN Yin-jia, WANG Ting, et al. (2573)
Immobilization of Estrogen-degrading Bacteria to Remove the 17 $\beta$ -estradiol and Diethylstilbestrol from Polluted Water and Cow Dung .....	LI Xin, LING Wan-ting, LIU Jing-xian, et al. (2581)
Optoelectronic PCB Wastewater Treatment by Partial Nitrification-ANAMMOX Integrative Reactor .....	YUAN Yan, LI Xiang, ZHOU Cheng, et al. (2591)
Treatment of Petrochemical Treatment Plant Secondary Effluent by Fenton Oxidation .....	WANG Yi, WU Chang-yong, ZHOU Yue-xi, et al. (2597)
Comprehensive Toxicity Evaluation and Toxicity Identification Used in Tannery and Textile Wastewaters .....	HUANG Li, CHEN Wen-yan, WAN Yu-shan, et al. (2604)
Carbon/nitrogen Removal and Bacterial Community Structure Change in an A/O Activated Sludge System Under Different Dissolved Oxygen Conditions .....	CHEN Yan, LIU Guo-hua, FAN Qiang, et al. (2610)
ORP in the Main Anoxic Stage as the Control Parameter for Nitrogen and Phosphorus Removal in the Single Sludge System with a Continuous Flow .....	WANG Xiao-ling, SONG Tie-hong, YIN Bao-yong, et al. (2617)
Cultivation of Aerobic Granular Sludge with Real Low Concentration Domestic Wastewater and Its Denitrification Performances Under the Continuous Flow .....	YAO Li, XIN Xin, LU Hang, et al. (2626)
Heavy Metal Contamination in Farmland Soils at an E-waste Disassembling Site in Qingyuan, Guangdong, South China .....	ZHANG Jin-lian, DING Jiang-feng, LU Gui-ning, et al. (2633)
Residues and Spatial Distribution Characteristics of Organochlorine Pesticides DDTs in Soil of Linyi City, Shandong Province .....	YU Chao, WANG Zeng-hui, WANG Hong-jun, et al. (2641)
Assessment of Soil Fluorine Pollution in Jinhua Fluorite Ore Areas .....	YE Qun-feng, ZHOU Xiao-ling (2648)
Response of Straw and Straw Biochar Returning to Soil Carbon Budget and Its Mechanism .....	HOU Ya-hong, WANG Lei, FU Xiao-hua, et al. (2655)
Changes of Soil Organic Carbon and Its Influencing Factors of Apple Orchards and Black Locusts in the Small Watershed of Loess Plateau, China .....	LI Ru-jian, WANG Rui, LI Na-na, et al. (2662)
Impacts of Land Use Changes on Soil Light Fraction and Particulate Organic Carbon and Nitrogen in Jinyun Mountain .....	LEI Li-guo, JIANG Chang-sheng, HAO Qing-ju (2669)
Soil Enzyme Activities and Their Relationships to Environmental Factors in a Typical Oasis in the Upper Reaches of the Tarim River .....	ZHU Mei-ling, GONG Lu, ZHANG Long-long (2678)
Effects of Different Residue Part Inputs of Corn Straws on CO <sub>2</sub> Efflux and Microbial Biomass in Clay Loam and Sandy Loam Black Soils .....	LIU Si-yi, LIANG Ai-zhen, YANG Xue-ming, et al. (2686)
Isolation, Identification of a <i>p</i> -tert-Butylcatechol-Degradaing Strains and Optimization for Its Degradation by Response Surface Methodology .....	HE Qiang-li, LIU Wen-bin, YANG Hai-jun, et al. (2695)
Isolation, Identification and Characteristic Analysis of an Oil-producing <i>Chlorella</i> sp. Tolerant to High-strength Anaerobic Digestion Effluent .....	YANG Chuang, WANG Wen-guo, MA Dan-wei, et al. (2707)
Coupled Cytotoxicity of C <sub>60</sub> Nano-Crystal Particle with Cu <sup>2+</sup> to the Mouse Peritoneal Macrophage RAW 264.7 .....	YU Ye, BIAN Wei-lin, ZHANG Hui-min, et al. (2713)
Simultaneous Analysis of 18 Glucocorticoids in Surface Water .....	GUO Wen-jing, CHANG Hong, SUN De-zhi, et al. (2719)

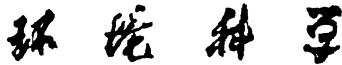
# 《环境科学》第6届编辑委员会

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 刘毅 汤鸿霄 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



ENVIRONMENTAL SCIENCE

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2015年7月15日 第36卷 第7期

(Monthly Started in 1976)

Vol. 36 No. 7 Jul. 15, 2015

主  
办  
协  
办  
主  
编  
编  
辑  
出  
版  
印  
刷  
装  
订  
发  
行  
订  
购  
处  
国  
外  
总  
发行

中国科学院  
中国科学院生态环境研究中心  
(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  
欧阳自远  
《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>

科学出版社  
北京东黄城根北街16号  
邮政编码:100717

北京北林印刷厂

科学出版社  
电话:010-64017032  
E-mail:journal@mail.sciencep.com

全国各地邮局

中国国际图书贸易总公司  
(北京399信箱)

Superintended by Chinese Academy of Sciences  
Sponsored by Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences  
Co-Sponsored by Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection  
Editor-in -Chief by OUYANG Zi-yuan  
Edited by The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE)  
Published by Science Press  
Printed by Beijing Bei Lin Printing House  
Distributed by Science Press  
Domestic by All Local Post Offices in China  
Foreign by 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