



文章栏目：环境生物技术

DOI 10.12030/j.cjee.201909082

中图分类号 X703

文献标识码 A

易涛, 山鹰, 黄渤, 等. 藻菌共培养对小球藻生长及苯酚降解的影响[J]. 环境工程学报, 2020, 14(6): 1679-1687.

YI Tao, SHAN Ying, HUANG Bo, et al. Effect of algae-bacteria co-culture on *Chlorella* sp. growth and phenol degradation[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2020, 14(6): 1679-1687.

藻菌共培养对小球藻生长及苯酚降解的影响

易涛^{1,2}, 山鹰², 黄渤², 唐涛^{2,*}, 高旻天¹, 魏伟²

1. 上海大学生命科学学院, 上海 200444

2. 中国科学院上海高等研究院, 低碳转化科学与工程重点实验室, 上海 201210

第一作者: 易涛(1995—), 男, 硕士研究生。研究方向: 微藻废水处理。E-mail: yitao@sari.ac.cn

*通信作者: 唐涛(1984—), 男, 博士, 副研究员。研究方向: 微藻生物技术。E-mail: tangt@sari.ac.cn

摘要 工业苯酚废水无序排放会对环境造成极大危害, 构建既能去除苯酚又能积累微藻生物质的藻菌组合对实现苯酚废水净化及其资源化利用具有重要意义。首先, 研究了小球藻对苯酚的耐受性和降解性能; 然后, 构建了其与简单芽胞杆菌 *Bacillus simplex* 的共培养体系; 最后, 测试了藻菌比、藻菌接种浓度和苯酚浓度等对小球藻生长及苯酚降解的影响。结果表明: 小球藻能耐受 400 mg·L⁻¹ 的苯酚, 但其对 100~600 mg·L⁻¹ 苯酚的降解率仅为 1.21%~11.66%; 对于藻菌共培养体系, 在固定小球藻接种浓度为 0.2 g·L⁻¹、藻菌比为 1:4~4:1 条件下, 3~5 d 完全降解了 400 mg·L⁻¹ 的苯酚, 小球藻叶绿素(a+b)含量较单藻组增加了 0.14~2.21 倍, 且随着藻菌比降低, 苯酚降解效率及小球藻生物量逐步提高; 在固定藻菌比为 1:1、小球藻初始接种浓度为 0.05~0.4 g·L⁻¹ 条件下, 4~5 d 完全降解 400 mg·L⁻¹ 苯酚, 且在藻接种浓度为 0.2 g·L⁻¹ 条件下, 小球藻具有最高的比生长速率; 在藻菌接种浓度 0.2 g·L⁻¹、藻菌比 1:1 条件下, 6 d 内完全降解 500 mg·L⁻¹ 的苯酚, 且在各苯酚浓度(200~600 mg·L⁻¹)下, 小球藻叶绿素(a+b)含量较初始接种值增加了 1.54~4.71 倍。与简单芽胞杆菌共培养可以促进小球藻生长并提高其苯酚降解能力, 在苯酚废水净化及资源化利用领域展现了一定的应用潜力。

关键词 小球藻; 藻菌共培养; 苯酚降解; 高浓度苯酚废水; 微藻生物量

苯酚是一种对环境有污染的芳香族有机化合物, 广泛存在于石油炼制、木材防腐、焦化等行业的废水中^[1]。苯酚属于高毒物质, 可以通过皮肤、黏膜、口腔进入人体内, 低浓度苯酚可使细胞蛋白变性, 高浓度可使蛋白质沉淀^[2]。此外, 苯酚被证明有致癌、致突变、致畸性等危害, 被世界各国列为重点处理的有机污染物之一^[3]。含酚废水的处理方法可分为物化法和生物法。其中, 物化法具有成本高、容易造成二次污染等缺点。相比之下, 生物法具有环境友好、成本低、不产生二次污染等优点^[4-5]。微生物能利用酚类化合物作为碳源或能源, 并将其代谢转化, 因此, 细菌^[6]、真菌^[7]、藻类^[8]等去除酚类化合物得到了广泛研究。

苯酚降解细菌大多具有繁殖速度快、苯酚耐受性强和降解效率高等特点, 常用于苯酚废水处理, 并取得了良好的效果。但其在处理过程中存在一些限制, 如曝气成本高、产生 CO₂ 等温室气体及难处理的污泥等^[9]。藻菌共培养对废水中污染物的去除更加有效, 且具有以下优势: 微藻通过光合作用产生异养细菌降解有机物所需的 O₂, 较细菌处理技术节省了曝气成本并减少污染物的挥发; 微藻吸收利用细菌呼吸作用降解有机物时释放的 CO₂, 进而减少温室气体排放; 获得的微藻

生物质可进一步加工制备高附加值产品,提高经济效益^[10-13]。RYU等^[14]利用四尾栅藻和活性污泥处理焦化废水,发现藻菌共培养可于144 h内完全降解初始浓度为24~120 mg·L⁻¹的苯酚,而单藻体系在144 h时最高的降解率仅为27.3%(初始苯酚浓度24 mg·L⁻¹)。MAZA-MÁRQUEZ等^[15]利用斜生栅藻和小球藻与酚类物质降解菌*Raoultella terrigena*和*Pantoea agglomerans*,构建菌藻共生体系,可在48 h内去除99%以上的苯酚(50、100、150 mg·L⁻¹)。

尽管藻菌共培养处理苯酚废水较细菌具有一定优势,但目前处理的苯酚浓度仍然较低。高浓度苯酚会对微生物产生毒害作用、抑制其活性功能,从而影响了该技术的实际应用。同时,大多研究关注藻菌共培养对含酚废水的处理效果,而对处理过程中微藻生长的变化关注较少,但微藻生物质的获得对提高该技术的经济性具有重要作用。简单芽胞杆菌已被证明是一种高效苯酚降解菌。袁利娟等^[16]分离出1株高效苯酚降解菌JY01,其16S rDNA序列与*Bacillus simplex* (AM9216370)的相似性为99.01%,在苯酚浓度为1 100 mg·L⁻¹和1 300 mg·L⁻¹时,该菌株30 h内可分别降解99.16%和74.76%的苯酚。本研究旨在构建小球藻与简单芽胞杆菌的共培养体系用于高浓度苯酚废水处理,探索其处理高浓度苯酚废水和积累微藻生物质的潜力,研究藻菌比、藻菌接种浓度和苯酚浓度对共培养体系苯酚降解能力和微藻生长的影响,以期藻菌共培养处理苯酚废水同时积累微藻生物质的进一步研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

小球藻接种于灭菌(121 ℃, 30 min)的BG11培养基^[17]中,于柱形光生物反应器(高40 cm、直径4.5 cm、体积为350 mL)中持续光照培养至对数增长期,光量子通量密度为150 μmol·(m²·s)⁻¹,温度为(25±2) ℃,通入体积分数为1%的CO₂加快微藻生长。

简单芽胞杆菌*Bacillus simplex*(NO.13471)购于中国微生物菌种保藏中心。细菌接种于灭菌的营养肉汤培养基(蛋白胨10 g·L⁻¹、牛肉提取物3 g·L⁻¹、氯化钠5 g·L⁻¹、去离子水1 L),于250 mL锥形瓶内振荡培养至对数增长期,温度为(30±2) ℃、摇床转速为150 r·min⁻¹。

实验所用废水为含苯酚模拟废水,即在灭菌BG11培养基内添加一定浓度苯酚。接种方法:对数期的藻液和菌液分别经4 000 r·min⁻¹离心5 min和8 000 r·min⁻¹离心10 min,并弃上清液后获得藻泥和菌泥,用灭菌水清洗3次去除残余培养基后,接种于苯酚模拟废水中。

1.2 实验方法

为考察小球藻对苯酚的耐受性,设置了100、200、300、400、500、600 mg·L⁻¹的苯酚浓度梯度,并设置1组不添加苯酚的对照。小球藻接种于模拟苯酚废水,于250 mL锥形瓶(工作体积为100 mL)中振荡培养,藻初始接种浓度(以干质量计)为0.2 g·L⁻¹,光量子通量密度为110 μmol·(m²·s)⁻¹,温度为(25±2) ℃,转速为150 r·min⁻¹,每组实验3个重复。每日取样测定干质量浓度、叶绿素(a+b)含量、 F_v/F_m (F_v/F_m 表示PS II的最大光化学量子产量, F_v 为可变荧光, F_m 为最大荧光产量)、苯酚浓度。

在小球藻初始接种浓度和苯酚浓度分别为0.2 g·L⁻¹和400 mg·L⁻¹条件下,考察不同藻菌比对苯酚降解和小球藻生长的影响,设置藻菌比(干质量比)为4:1、2:1、1:1、1:2、1:4,并设置1组只接种小球藻不接种简单芽胞杆菌的处理组作为对照。

在初始藻菌比1:1、苯酚浓度400 mg·L⁻¹条件下,考察不同初始接种浓度对苯酚降解和小球藻生长的影响,设置小球藻和简单芽胞杆菌初始接种浓度为0.05、0.1、0.2、0.3、0.4 g·L⁻¹。

在初始藻菌比为1:1(0.2 g·L⁻¹:0.2 g·L⁻¹)条件下,考察不同苯酚浓度对苯酚降解和小球藻生长的影响,设置了200、300、400、500、600 mg·L⁻¹的苯酚浓度梯度。在实验中,藻、菌接种于250 mL

锥形瓶(体积为 100 mL)中振荡培养, 条件为 $110 \mu\text{mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$ 、 $(25\pm 2)^\circ\text{C}$ 、 $150 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 每日取样测定苯酚浓度和叶绿素(a+b)含量, 每组实验设3个重复。

1.3 分析方法

微藻干质量浓度采用重量法^[18]测定, 醋酸纤维微孔滤膜($\varphi=0.45 \mu\text{m}$), 烘箱温度 105°C ; F_v/F_m 值通过 FMS-2 便携脉冲调制式荧光仪^[19]测定; 藻液内叶绿素(a+b)含量采用分光光度法^[20]测定, 离心转速为 $13400 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 提取试剂为甲醇, 测定波长为 652、665、750 nm。在藻菌共培养体系内, 以叶绿素(a+b)含量变化评估微藻生长性能^[21], 并通过式(1)计算微藻比生长速率。

$$\mu = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{t} \quad (1)$$

式中: μ 为比生长速率, d^{-1} ; N_t 和 N_0 为培养时间为 t 和 0 时的叶绿素(a+b)含量, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

苯酚浓度的测定参照 4-氨基安替比林分光光度法^[22], 苯酚去除率用式(2)进行计算。

$$r = \frac{C_t - C_0}{C_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中: r 为苯酚去除率; C_t 和 C_0 分别为培养时间为 t 和 0 时的苯酚浓度, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2 结果与讨论

2.1 苯酚浓度对小球藻生长的影响

如图 1(a)所示, 在 100、200、300、400 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 苯酚浓度下, 小球藻在 3~4 d 时到达稳定期, 4 d 时小球藻浓度分别较对照组高 26.67%、22.22%、20.00%、13.33%。这说明小球藻不仅能耐受较低浓度($\leq 400 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)苯酚, 并且低浓度苯酚能够促进小球藻生长。但随着苯酚浓度继续增加到 500~600 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 小球藻生长较对照组慢, 小球藻浓度从 2~3 d 时开始下降, 4 d 时小球藻浓度分别较对照组低 35.56%、51.11%, 这说明高浓度苯酚抑制了小球藻的生长。任佳等^[23]发现, 低浓度苯酚($<100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)可以促进螺旋藻生长, 而苯酚浓度升高(200、300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)对螺旋藻生长有抑制作用。苯酚可能起到类似双酚 A 的毒物兴奋效应, 在低浓度下刺激小球藻生长, 在高浓度下抑制小球藻生长^[24]。

微藻叶绿素(a+b)的含量可以反映微藻的生长状况和细胞生存能力。如图 1(b)所示, 叶绿素(a+b)含量的变化趋势与小球藻浓度的变化趋势相一致。在 4 d 时, 100~400 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 苯酚浓度下, 叶绿素(a+b)含量较对照组高 16.96%~33.46%; 而在苯酚浓度为 500、600 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 叶绿素(a+b)含量分别较对照组低 30.14%、45.86%。RYU 等^[14]研究发现, 四尾栅藻在 60%、80%、100% 的焦化废水下生长时, 叶绿素 a 含量较 20%、40% 焦化废水下低, 与本研究结果类似。这可能是由于在高浓度

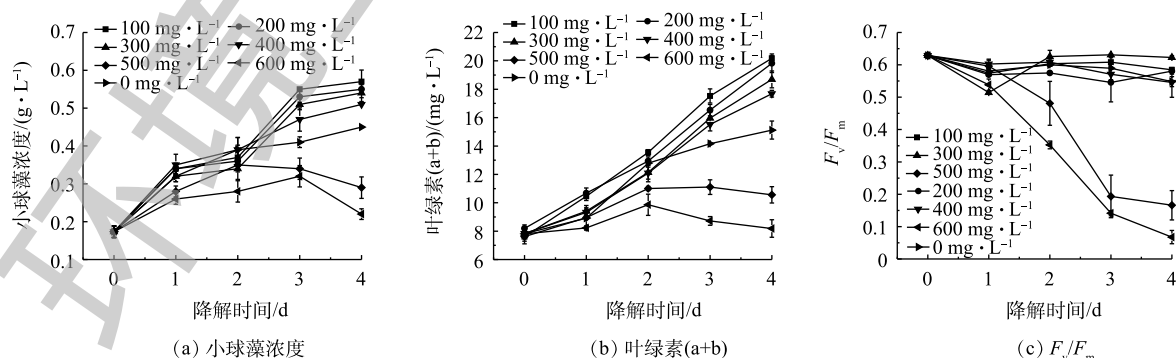


图 1 不同苯酚浓度下小球藻浓度、叶绿素(a+b)含量、 F_v/F_m 的变化

Fig. 1 Change of dry weight, chlorophyll(a+b) content, F_v/F_m at different phenol concentrations

的苯酚条件下, 会存在大量的活性氧, 活性氧会攻击叶绿素 a, 同时抑制光合作用, 对微藻的生长不利^[25]。

F_v/F_m 可以反映绿色植物潜在最大光合作用潜力。如图 1(c) 所示, 在较低的苯酚浓度下 ($\leq 400 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), F_v/F_m 在 0~1 d 有小幅度的下降 (4.21%~18.20%), 然后迅速恢复并维持较高水平。这可能是由于在初始阶段微藻生长处于迟滞期, 细胞光合活性较低; 500、600 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 苯酚浓度条件下, F_v/F_m 值在 1 d 后迅速降低, 在 4 d 时分别降至 0.17 ± 0.05 、 0.07 ± 0.02 , 较初始值分别下降了 73.61%、89.29%。这说明此条件下小球藻光合活性急剧降低, 高浓度苯酚对小球藻具有毒性效应。

2.2 小球藻的苯酚降解性能

不同苯酚浓度下苯酚降解率随时间的变化如图 2 所示。4 d 时, 100、200、300、400、500、600 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 苯酚条件下, 苯酚降解率分别为 11.66%、8.99%、8.17%、7.33%、2.03%、1.21%。这说明小球藻对各浓度苯酚的去除能力较低, 且随着苯酚浓度的增加, 降解率降低。据 SCRAGG 等^[26] 报道, *Chlorella* VT-1 在 14 d 内对 100~400 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 苯酚的降解率仅为 1%~10%, 这与本研究中小球藻降解苯酚的能力相当。

2.3 藻菌接种比例对小球藻生长和苯酚降解的影响

藻菌接种比例是影响藻菌体系的协同关系和污染物的去除率的关键因素之一^[27-28]。在不同藻菌比下, 苯酚浓度随时间的变化如图 3(a) 所示。可以看出, 对照组苯酚降解能力较低, 在 3、4、5 d 时, 苯酚仅降解了 6.63%、7.38%、8.62%。藻菌比为 1:4、1:2、1:1、2:1、4:1 时, 分别在 3、3、4、4、5 d 完全降解 400 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 苯酚。这表明, 接种简单芽胞杆菌明显提高了苯酚降解效率, 且随着细菌添加量的增加, 苯酚降解效率逐渐提高。由此可知, 在共培养体系中苯酚降解主要是细菌的贡献。

叶绿素 (a+b) 含量随时间的变化如图 3(b) 所示。在初始小球藻接种浓度相同的情况下, 藻菌比对小球藻叶绿素 (a+b) 含量的变化影响显著 ($P < 0.05$)。藻菌比为 1:4、1:2、1:1、2:1、4:1 时, 小球藻叶绿素 (a+b) 含量 (4 d) 分别较单藻组增加了 2.21、1.57、0.83、0.36、0.14 倍。可见, 随着细菌浓

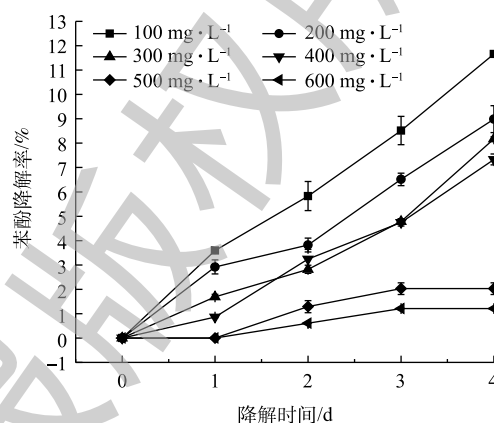
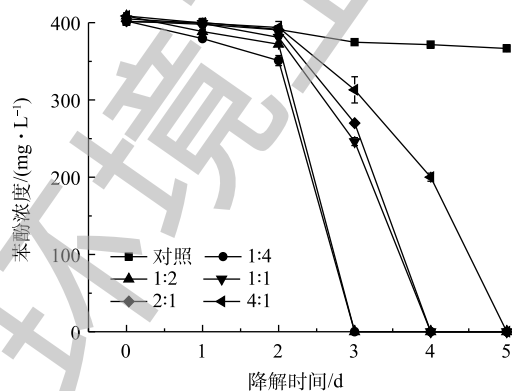
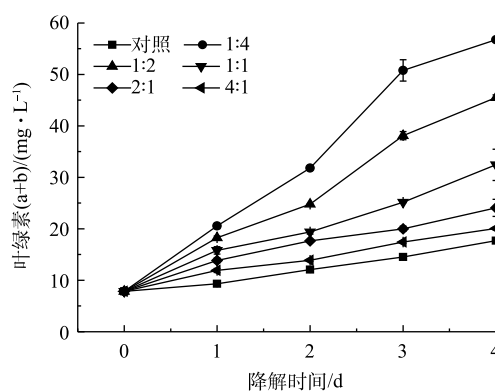


图 2 不同苯酚浓度下苯酚降解率的变化

Fig. 2 Change of phenol removal rate at different phenol concentrations



(a) 苯酚浓度



(b) 叶绿素(a+b)

图 3 不同藻菌比下苯酚浓度和叶绿素 (a+b) 含量的变化

Fig. 3 Change of phenol concentration and chlorophyll(a+b) content at different algal-bacteria inoculation ratios

度的增加,叶绿素(a+b)含量,即微藻生物量也随之增加。在藻菌共培养中,细菌促进微藻生长已有类似报道,如在20%和40%的焦化废水下,与活性污泥共培养的四尾栅藻叶绿素a含量分别较单藻高1.63倍和2倍^[14]。在本研究中,藻菌比为1:4、1:2、1:1时,藻菌组叶绿素(a+b)含量较单藻组可增加0.83~2.21倍。这说明此藻菌组合有收获微藻生物质的潜力。虽然高的菌藻接种比具有高的苯酚降解效率和微藻生物量,但高细菌浓度在实际应用中会增加细菌生产及后续处理成本,因此,本研究选择藻菌比1:1进一步考察。

2.4 藻菌初始接种浓度对小球藻生长和苯酚降解的影响

除藻菌接种比例外,微藻与细菌的初始接种浓度对苯酚降解也具有重要影响。在不同藻菌初始接种浓度下,苯酚浓度随时间的变化如图4(a)所示。可以看出,0.1~0.4 g·L⁻¹的初始接种浓度可在4 d内完全降解苯酚,而0.05 g·L⁻¹在5 d内完全降解苯酚。叶绿素(a+b)含量随时间的变化如图4(b)所示。可以看出,0.1、0.2、0.3、0.4 g·L⁻¹的藻菌组随着培养时间的增加,各组叶绿素(a+b)含量增加,而0.05 g·L⁻¹接种组内叶绿素(a+b)含量增加较少。4 d时,初始接种浓度为0.05、0.1、0.2、0.3、0.4 g·L⁻¹条件下,各接种浓度下微藻比生长速率分别为0.22、0.39、0.41、0.25、0.24 d⁻¹,初始接种浓度为0.2 g·L⁻¹时具有最高的比生长速率。综合微藻生长和苯酚降解效率,在微藻和细菌接种浓度分别为0.2 g·L⁻¹时具有最优效率。CHENG等^[29]报道,在小型黄丝藻初始接种浓度为3 g·L⁻¹、6 d时,模拟废水中250 mg·L⁻¹苯酚的降解率为94.6%。LEE等^[30]采用0.8 g·L⁻¹的螺旋藻在6 d内可将400 mg·L⁻¹苯酚降解97%左右。可见,本研究采用较低的微藻和细菌接种浓度,也可以达到较高的苯酚降解效率及微藻生物量。

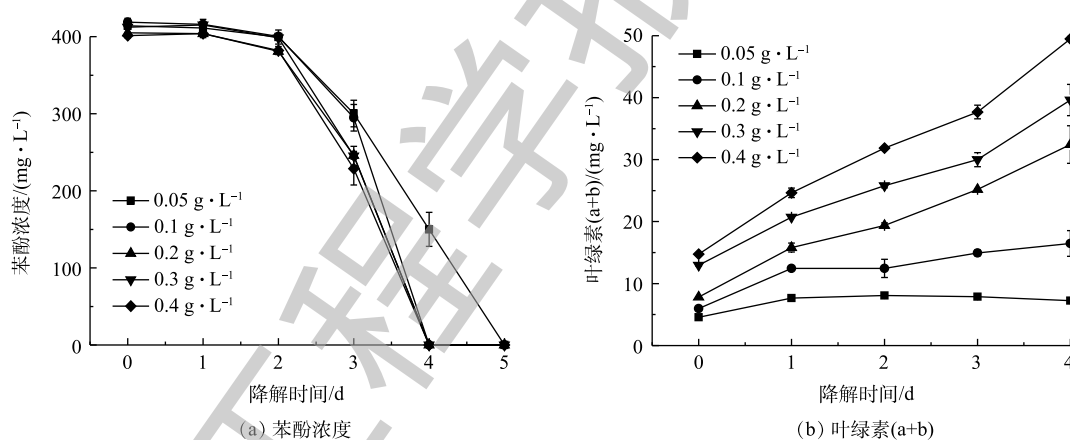


图4 不同藻菌初始接种浓度下苯酚浓度和叶绿素(a+b)含量的变化

Fig. 4. Change of phenol concentration and chlorophyll (a+b) content at different initial inoculation concentrations of algae/bacteria

2.5 初始苯酚浓度对小球藻生长和苯酚降解的影响

初始苯酚浓度对苯酚降解性能有重要影响,苯酚浓度越高,对微生物的毒性作用越大。选择藻菌比为1:1、接种浓度为0.2 g·L⁻¹作为苯酚降解体系,不同苯酚浓度对该体系苯酚降解性能的影响如图5(a)所示。可以看出,200、300、400、500 mg·L⁻¹浓度的苯酚分别在3、3、4、5 d内被完全降解,600 mg·L⁻¹的苯酚6 d被降解了29.8%。随着苯酚浓度的升高,苯酚完全降解时间增加。相比于单藻体系仅能耐受400 mg·L⁻¹,其4 d苯酚降解率仅为7.33%,藻菌体系可完全降解400和500 mg·L⁻¹苯酚,表现出较高的苯酚降解性能。不同苯酚浓度下叶绿素(a+b)含量的变化趋势如图5(b)所示。可以看出,在各苯酚浓度(200~600 mg·L⁻¹)下,小球藻叶绿素(a+b)含量较初始接种值增加了1.54~4.71倍,这可能是由于细菌高的苯酚降解性能降低了苯酚对微藻的胁迫;同时,细菌降

解苯酚产生 CO_2 ，为微藻生长提供碳源，提高微藻生物量，实现苯酚降解的同时积累微藻生物质^[14-15]。近年来，部分微藻和藻菌共培养处理苯酚废水的研究结果如表1所示。可以看出，本研究在较低的藻菌接种浓度下，取得了较高的苯酚降解效率，并实现微藻生物质的多倍增长，这展现了藻菌共培养应用于处理苯酚废水同时积累微藻生物质的潜在优势。

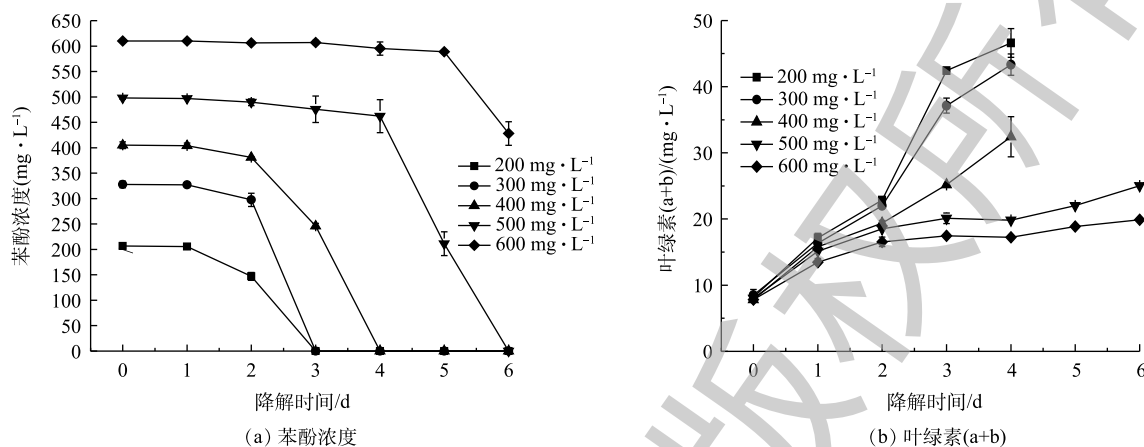


图5 不同初始苯酚浓度下苯酚浓度和叶绿素(a+b)含量的变化

Fig. 5 Change of phenol concentration and chlorophyll(a+b) content at different initial phenol concentrations

表1 微藻和藻菌共培养处理苯酚废水的培养条件和研究结果的对比

Table 1 Comparison of culture conditions and research results on phenol wastewater treatment by microalgae alone and co-culture with bacteria

微生物	培养条件	结果	来源
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	添加苯酚(25~200 mg·L ⁻¹)为唯一碳源的Fog's培养基; 在实际炼化废水(23.33 mg·L ⁻¹ 苯酚)中培养	模拟废水中, 6 d内完全降解苯酚; 实际炼化废水中, 7 d内降解了38.32%的苯酚	[31]
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	煤气化排放废水(酚类化合物: 1.475 g·L ⁻¹), 微藻接种量4 g·L ⁻¹ , 添加与未添加营养物(K、尿素)进行比较	添加营养物时, 7 d内降解了95%的苯酚; 未添加营养物时, 7 d内降解了46%的苯酚	[32]
<i>Chlorella</i> sp.	小球藻(0.6 g·L ⁻¹)经过驯化, TAP培养基中添加苯酚至1 000 mg·L ⁻¹ , 分批培养	苯酚浓度为500 mg·L ⁻¹ 时, 7 d内完全降解苯酚; 700 mg·L ⁻¹ 时, 8 d内降解了86%的苯酚	[33]
<i>Scenedesmus</i> sp.	BG11培养基中添加体积分数为9%的未灭菌橄榄油废水(苯酚浓度为440 mg·L ⁻¹), 分批培养	苯酚浓度为440 mg·L ⁻¹ , 11 d内降解了22%的苯酚	[34]
<i>Scenedesmus quadricauda</i> 与活性污泥共培养	5个稀释度(20%~100%)的焦化废水(苯酚浓度, 24~120 mg·L ⁻¹), 分批培养	苯酚浓度≤96 mg·L ⁻¹ 时, 94 h内苯酚完全降解; 120 mg·L ⁻¹ 时, 144 h内完全降解苯酚	[14]
<i>Scenedesmus obliquus</i> 、 <i>Chlorella vulgaris</i> 、 <i>Raoultella terrigena</i> 、 <i>Pantoea agglomerans</i>	以苯酚(50、100、150 mg·L ⁻¹)为唯一碳源的模拟橄榄油废水, 藻菌(10 ¹² cell·mL ⁻¹ /10 ³ CFU·mL ⁻¹)	苯酚浓度为50、100、150 mg·L ⁻¹ 时, 48 h内降解了99%的苯酚	[15]
<i>Chlorella</i> sp.、 <i>Bacillus simplex</i>	以苯酚为唯一碳源的BG11培养基, 初始藻菌比为1:1(0.2 g·L ⁻¹ :0.2 g·L ⁻¹), 苯酚浓度200~600 mg·L ⁻¹	苯酚浓度为400 mg·L ⁻¹ 时, 4 d内苯酚完全降解; 500 mg·L ⁻¹ 时, 6 d内苯酚完全降解	本研究

3 结论

1) 本研究构建了小球藻与简单芽胞杆菌的共培养体系用于高浓度苯酚废水处理, 该体系在处理高浓度苯酚废水同时达到了积累微藻生物质的目的。

2) 小球藻能耐受 400 mg·L⁻¹ 苯酚, 但对 100~600 mg·L⁻¹ 的苯酚降解率仅为 1.21%~11.66%。在考察藻菌比、藻菌初始接种浓度基础上获得藻菌共培养体系的最优藻菌接种浓度(0.2 g·L⁻¹ 和

0.2 g·L⁻¹)。在此条件下,藻菌体系6 d内完全降解500 mg·L⁻¹的苯酚,且在各苯酚浓度(200~600 mg·L⁻¹)下,小球藻叶绿素(a+b)含量较初始接种值增加了1.54~4.71倍。

3) 小球藻和简单芽胞杆菌共培养可以提高苯酚降解能力并促进小球藻生长,在苯酚废水净化及资源化利用领域展现了一定的应用潜力。

参 考 文 献

- [1] ARORA P K, BAE H. Bacterial degradation of chlorophenols and their derivatives[J]. *Microbial Cell Factories*, 2014, 13(1): 1-17.
- [2] RUCKÁ L, NEŠVERA J, PÁTEK M, et al. Biodegradation of phenol and its derivatives by engineered bacteria: current knowledge and perspectives[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2017, 33(9): 1-8.
- [3] KUMAR A, KUMAR S, KUMAR S. Biodegradation kinetics of phenol and catechol using *Pseudomonas putida* MTCC 1194[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2005, 22(2): 151-159.
- [4] HONG J, YING F, YAO F, et al. Studies on the extraction of phenol in wastewater[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2003, 101(2): 179-190.
- [5] AZUBUIKE C C, CHIKERE C B, OKPOKWASILI G C. Bioremediation techniques-classification based on site of application: Principles, advantages, limitations and prospects[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2016, 32(11): 1-18.
- [6] 于彩虹, 陈飞, 胡琳娜, 等. 一株苯酚降解菌的筛选及降解动力学特性[J]. *环境工程学报*, 2014, 8(3): 1215-1220.
- [7] ARANDA E. Promising approaches towards biotransformation of polycyclic aromatic hydrocarbons with *Ascomycota* fungi[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2016, 38: 1-8.
- [8] GAO Q T, WONG Y S, TAM N F Y. Removal and biodegradation of nonylphenol by different *Chlorella* species[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2011, 63(5): 445-451.
- [9] PARMAR A, SINGH N K, PANDEY A, et al. Cyanobacteria and microalgae: A positive prospect for biofuels[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(22): 10163-10172.
- [10] 郭雪白, 杜志敏. 沼液中土著菌对斜生栅藻去除污染物效果的影响[J]. *环境工程学报*, 2016, 10(7): 3943-3948.
- [11] SUBASHCHANDRABOSE S R, RAMAKRISHNAN B, MEGHARAJ M, et al. Mixotrophic cyanobacteria and microalgae as distinctive biological agents for organic pollutant degradation[J]. *Environment International*, 2013, 51: 59-72.
- [12] MUÑOZ R, JACINTO M, GUIEYSSE B, et al. Combined carbon and nitrogen removal from acetonitrile using algal-bacterial bioreactors[J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2005, 67(5): 699-707.
- [13] 刘玉环, 史晓洁, 巫小丹, 等. 螺旋藻和菌-藻共生系统处理啤酒废水[J]. *环境工程学报*, 2014, 8(1): 82-86.
- [14] RYU B G, KIM J, HAN J I, et al. Feasibility of using a microalgal-bacterial consortium for treatment of toxic coke wastewater with concomitant production of microbial lipids[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 225: 58-66.
- [15] MAZA-MÁRQUEZ P, MARTÍNEZ-TOLEDO M V, GONZÁLEZ-LÓPEZ J, et al. Biodegradation of olive washing

- wastewater pollutants by highly efficient phenol-degrading strains selected from adapted bacterial community[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2013, 82: 192-198.
- [16] 袁利娟, 姜立春, 彭正松, 等. 一株高效苯酚降解菌的选育及降酚性能研究[J]. *微生物学通报*, 2009, 36(4): 587-592.
- [17] STANIER R Y. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order *Chroococcales*)[J]. *Bacteriological Reviews*, 1971, 35(2): 171-205.
- [18] WANG L, LIU J L, ZHAO Q Y, et al. Comparative study of wastewater treatment and nutrient recycle via activated sludge, microalgae and combination systems[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 211: 1-5.
- [19] GARCÍA-CAÑEDO J C, CRISTIANI-URBINA E, FLORES-ORTIZ C M, et al. Batch and fed-batch culture of *Scenedesmus incrassatulus*: Effect over biomass, carotenoid profile and concentration, photosynthetic efficiency and non-photochemical quenching[J]. *Algal Research*, 2016, 13: 41-52.
- [20] PRUVOS J, VOOREN G V, GOUIC B L, et al. Systematic investigation of biomass and lipid productivity by microalgae in photobioreactors for biodiesel application[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(1): 150-158.
- [21] DASH A, BANERJEE R. Enhanced biodiesel production through phyco-mycro co-cultivation of *Chlorella minutissima* and *Aspergillus awamori*: An integrated approach[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 238: 502-509.
- [22] 中华人民共和国环境保护部. 水质挥发酚的测定4-氨基安替比林分光光度法: HJ 503-2009[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2009.
- [23] 任佳, 麻晓霞, 马玉龙, 等. 三种微藻与苯酚的相互作用研究[J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(20): 10560-10562.
- [24] DUAN L Y, CHEN Q, DUAN S S. Transcriptional analysis of *Chlorella pyrenoidosa* exposed to bisphenol A[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2019, 16(8): 1-12.
- [25] CARDOZO K H M, OLIVEIRA M A L, TAVARES M F M, et al. Daily oscillation of fatty acids and malondialdehyde in the dinoflagellate *lingulodinium polyedrum*[J]. *Biological Rhythm Research*, 2002, 33(4): 371-382.
- [26] SCRAGG A H. The effect of phenol on the growth of *Chlorella vulgaris* and *Chlorella* VT-1[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2006, 39(4): 796-799.
- [27] GUIEYSSE B, BORDE X, MUNOZ R, et al. Influence of the initial composition of algal-bacterial microcosms on the degradation of salicylate in a fed-batch culture[J]. *Biotechnology Letters*, 2002, 24(7): 531-538.
- [28] SU Y, MENNERICH A, URBAN B. Synergistic cooperation between wastewater-born algae and activated sludge for wastewater treatment: Influence of algae and sludge inoculation ratios[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 105: 67-73.
- [29] CHENG T Y, ZHANG W, ZHANG W L, et al. An oleaginous filamentous microalgae *Tribonema minus* exhibits high removing potential of industrial phenol contaminants[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 238: 749-754.
- [30] LEE H C, LEE M S, DEN W. *Spirulina maxima* for phenol removal: Study on its tolerance, biodegradability and phenol-carbon assimilability[J]. *Water, Air and Soil Pollution*, 2015, 226(12): 1-11.

- [31] DAS B, MANDAL T K, PATRA S. A comprehensive study on *Chlorella pyrenoidosa* for phenol degradation and its potential applicability as biodiesel feedstock and animal feed[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2015, 176(5): 1382-1401.
- [32] STEPHEN D P, AYALUR B K. Effect of nutrients on *Chlorella pyrenoidosa* for treatment of phenolic effluent of coal gasification plant[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 24(15): 13594-13603.
- [33] WANG L B, XUE C Z, WANG L, et al. Strain improvement of *Chlorella* sp. for phenol biodegradation by adaptive laboratory evolution[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 205: 264-268.
- [34] DICAPRIO F, ALTIMARI P, PAGNANELLI F. Integrated biomass production and biodegradation of olive mill wastewater by cultivation of *Scenedesmus* sp.[J]. *Algal Research*, 2015, 9: 306-311.

(本文编辑: 金曙光, 郑晓梅, 张利田)

Effect of algae-bacteria co-culture on *Chlorella* sp. growth and phenol degradation

YI Tao^{1,2}, SHAN Ying², HUANG Bo², TANG Tao^{2,*}, GAO Mintian¹, WEI Wei²

1. School of Life Sciences, Shanghai University, Shanghai 200444, China

2. Key Laboratory of Low-Carbon Conversion Science and Engineering, Shanghai Advanced Research Institute, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201210, China

*Corresponding author, E-mail: tangt@sari.ac.cn

Abstract The discharge of industrial phenol wastewater has caused great harm to the environment. This study aims to construct one microalgae-bacteria consortium for simultaneous phenol removal and microalgae biomass accumulation, which has great significance for purification and resource utilization of phenol wastewater. Firstly, the tolerance and degradation performance of *Chlorella* sp. to phenol were investigated. Secondly, one consortium was constructed using *Chlorella* sp. and *Bacillus simplex*, and then the effects of microalgae to bacteria ratio, microalgae and bacteria inoculation concentrations and initial phenol concentration on phenol degradation and microalgae growth were investigated. The results showed that *Chlorella* sp. could tolerate 400 mg·L⁻¹ phenol, while it only had degradation rates of 1.21%~11.66% for 100~600 mg·L⁻¹ phenol. For the consortium with *Chlorella* sp. (0.2 g·L⁻¹) to *B. simplex* ratios ranging from 1:4 to 4:1, 400 mg·L⁻¹ phenol was completely degraded within 3~5 d, and the contents of chlorophyll (a+b) increased by 0.14~2.21 times compared to *Chlorella* sp. Monoculture. The phenol degradation efficiency and microalgae biomass gradually increased with the decrease of *Chlorella* sp. to *B. simplex* ratio. For the consortium with fixed *Chlorella* sp. and *B. simplex* ratio of 1:1, and *Chlorella* sp. inoculation concentrations of 0.05~0.4 g·L⁻¹, 400 mg·L⁻¹ phenol was completely degraded within 4~5 d, and the specific growth rate of *Chlorella* sp. was highest at the inoculation concentration of 0.2 g·L⁻¹. For the consortium with fixed *Chlorella* sp. and *B. simplex* ratio of 1:1, and *Chlorella* sp. inoculation concentrations of 0.2 g·L⁻¹, 500 mg·L⁻¹ phenol was completely degraded within 6 d. The content of chlorophyll (a+b) increased by 1.54 to 4.71 times compared to initial inoculation value at phenol concentrations of 200~600 mg·L⁻¹. The above results show that the consortium could significantly improve phenol degradation efficiency and *Chlorella* sp. growth, and has a certain application potential in the field of phenol wastewater purification and resource utilization.

Keywords *Chlorella* sp.; algae-bacteria co-culture; phenol degradation; high concentration phenol wastewater; microalgae biomass