

普通小球藻对邻苯二甲酸二丁酯的富集与降解研究

刘 华, 沈新天, 孙丽娜, 陈锡剑

(天津市环境保护科学研究院, 天津 300191)

摘 要: 本实验选取一种典型的富营养化优势藻种普通小球藻(绿藻), 研究该藻对典型内分泌干扰物邻苯二甲酸二丁酯(DBP)的富集和降解过程。实验在 250 mL 锥形瓶中进行, 采用气相色谱分析样品中 DBP 浓度变化。结果表明, 普通小球藻对 DBP 有明显的富集, 但生物降解作用并不显著, 且降解符合一级反应动力学。(1) $T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$, DBP 初始浓度分别为 0.198 、 1.82 和 $4.85\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 藻相中 DBP 浓度分别在 12、1 和 1 h 达到最大, 最大值分别为 1.37 、 85.9 和 $238\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$; 生物浓缩系数(BCFs)分别在 12、1 和 1 h 达到最大, 最大值分别为 8.01×10^3 、 4.83×10^4 和 5.36×10^4 ; 生物降解速率常数(k_A)分别为 0.00 、 0.80×10^{-3} 和 $0.30\times 10^{-3}\text{ h}^{-1}$ 。这可能是由于 DBP 初始浓度过低导致藻细胞中 DBP 浓度很小, 从而藻对 DBP 的降解作用不明显; DBP 初始浓度较高, 对普通小球藻产生了毒性效应, 从而抑制了藻的生长和藻体中相关酶的活性, 导致降解程度较低。(2) DBP 初始浓度约为 $2.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 实验温度分别为 $13\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时, 藻相中 DBP 浓度和 BCFs 均在 1 h 达到最大, 最大值分别为 $24.0\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$ 及 1.23×10^4 和 $85.9\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$ 及 4.83×10^4 ; k_A 分别为 0.60×10^{-3} 和 $0.80\times 10^{-3}\text{ h}^{-1}$ 。这说明, 在普通小球藻适宜生长温度范围内, 温度升高有利于藻对 DBP 的生物降解。

关键词: 普通小球藻; 邻苯二甲酸二丁酯; 富集; 生物降解

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2008)06-2391-05

Accumulation and Biodegradation of Dibutyl Phthalate in *Chlorella vulgaris*

LIU Hua, SHEN Xin-tian, SUN Li-na, CHEN Xi-jian

(Tianjin Academy of Environmental Sciences, Tianjin 300191, China)

Abstract: Bioconcentration and biodegradation of dibutyl phthalate (DBP) in *Chlorella vulgaris* were investigated. DBP is a kind of typical endocrine-disrupting (ED) substances. *Chlorella vulgaris* is a sort of dominant algae in eutrophic waters. Experiments were performed in 250 mL flasks, DBP was analyzed with GC-FID. Experimental results showed that *Chlorella vulgaris* was able to accumulate DBP significantly, but biodegradation of DBP by the alga was lower. The decrease of DBP in algal solution was described satisfactorily by a first-order kinetic equation. (1) At $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, with the increase of initial DBP concentrations (0.198 , 1.82 , $4.85\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), DBP accumulation in alga reached the maxima of $1.37\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$ at 12 h, $85.9\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$ at 1 h, $238\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$ at 1 h, respectively. Bioconcentration factors (BCFs) reached the maxima of 8.01×10^3 at 12 h, 4.83×10^4 at 1 h, 5.36×10^4 at 1 h, respectively. And the biodegradation rate constants (k_A) were 0.00 , 0.80×10^{-3} , $0.30\times 10^{-3}\text{ h}^{-1}$, respectively. For $0.198\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ DBP, accumulation amount in algal cells was small, which might cause biodegradation to a small extent. For $4.85\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ DBP, it might be higher toxicity of DBP that inhibited algal growth and activity of enzyme. (2) At similar initial DBP concentration (about $2.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), accumulation amounts of DBP by algae and BCFs at $13\text{ }^{\circ}\text{C}$ and $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ both reached the maxima at 1 h. DBP accumulation in alga and BCFs reached the maxima of $24.0\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$ and 1.23×10^4 at $13\text{ }^{\circ}\text{C}$, $85.9\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$ and 4.83×10^4 at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectively. And k_A were 0.60×10^{-3} and $0.80\times 10^{-3}\text{ h}^{-1}$, respectively. Studies showed that temperature was one of affecting factors, higher temperature was in favor of biodegradation.

Keywords: *Chlorella vulgaris*; dibutyl phthalate; accumulation; biodegradation

邻苯二甲酸酯 (PAEs) 是一类重要的有机化合物。PAEs 主要用作塑料的增塑剂, 在聚氯乙烯中的添加量达 20%~30%, 有时在塑料中的含量可达高聚体

本身的 50%。PAEs 与聚烯烃类塑料分子之间由氢键或范德华力联接, 彼此保留各自相对独立的化学性质, 因此随着时间的推移, 可由塑料中迁移到外环境, 造成对空气、水和土壤的污染^[1]。美国国家环保局将 6 种 PAEs 列为优先控制的有毒污染物, DBP 就是其中之一。

藻类是水生生态系统的第一营养级, 通过各种途径进入水中的污染物首先作用于藻类, 藻富集污染物

收稿日期: 2008-03-11

基金项目: 国家自然科学基金 (20277026)

作者简介: 刘 华 (1979—), 女, 硕士, 工程师, 研究方向为污染生态学
与环境污染治理工程。E-mail: guagua792000@126.com

并通过食物链的传递影响整个水生生态系统;另外,藻对污染物的富集和降解作用也改变了污染物的环境行为和归趋。因此,研究 PAEs 与藻类的相互作用对于正确评价这类污染物在水生生态系统中的生态风险,对于有毒品的科学管理与控制提供了依据,因而具有重要的理论意义和实际意义。

目前,关于藻对有机物的富集与降解^[2-3]及微生物对 PAEs 的富集与降解^[4-5]研究较多,但是关于藻类降解 PAEs 的报道并不多。

1 材料与方法

1.1 实验材料

邻苯二甲酸二丁酯(AR),密度 1.045~1.047 g·mL⁻¹,纯度≥99.5%,(天津市化学试剂一厂);二氯甲烷(AR,用前重蒸);其余试剂均为分析纯。普通小球藻(购自中科院武汉水生生物研究所)。

1.2 藻的培养

储备液的配制:NaNO₃ (0.25 g·L⁻¹),NaCl(0.025 g·L⁻¹),CaCl₂·2H₂O(0.025 g·L⁻¹),KH₂PO₄(0.175 g·L⁻¹),K₂HPO₄(0.075 g·L⁻¹),MgSO₄·7H₂O(0.075 g·L⁻¹),EDTA·Na₂(0.064 g·L⁻¹),FeSO₄·7H₂O(0.005 g·L⁻¹),H₂SO₄(0.001 mL·L⁻¹),H₃BO₃ (0.011 g·L⁻¹),ZnSO₄·7H₂O(0.008 g·L⁻¹),CuSO₄·5H₂O(0.001 g·L⁻¹)。250 mL 锥形瓶,培养量为 60 mL,培养温度(25±1)℃,光照强度(4 000±100)lx。

1.3 研究方法

(1)毒性实验:在进行降解实验前,先采用标准实验方法^[6]测试 DBP 对藻类的毒性。通过毒性实验,测得 25℃时 DBP 对普通小球藻的 96h-IC₅₀ 为 7.78 mg·L⁻¹,13℃时 DBP 对普通小球藻的 96h-IC₅₀ 大于其水溶解度。

(2)富集与降解实验:250 mL 锥形瓶,培养量60 mL,光照强度(4 000±100)lx,24 h 光照,pH=7.0,平行样 3 个,且在各测试条件下用无藻溶液作为空白对照。

(3)DBP 的测定:取 40 mL 藻-DBP 溶液于 4 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,上清液分别用 3 mL 正己烷萃取 3 次,合并有机相,定容、GC 分析;离心后的藻细胞用 3 mL 蒸馏水转移到研磨管中,加入 4 mL 二氯甲烷,于 1 400 r·min⁻¹ 研磨 10 min,将混合液于 4 000 r·min⁻¹ 离心 5 min 后,吸出二氯甲烷,定容、GC 分析。

(4)气相色谱条件:Agilent 19091J-413 型气相色谱仪,FID 检测器,HP-5 型石英毛细管柱(30 m×3.2 mm i.d.)。进样口:250℃,检测口:250℃,N₂:50 mL·

min⁻¹,H₂:37 mL·min⁻¹,空气:550 mL·min⁻¹,进样量:2 μL。程序升温:120℃(2 min)→15℃·min⁻¹(8.7 min)→250℃(3 min)。

2 结果与讨论

见图 1,t=25℃时,藻在 6 d 中经历了延迟期和对数生长期。随 DBP 初始浓度的升高,藻的生长速率降低,即 DBP 对藻的抑制作用增强。t=13℃时,由于温度过低显著抑制了藻的生长,延迟期一直持续到实验结束。不同条件下藻生长速率(v)列于表 1 中。

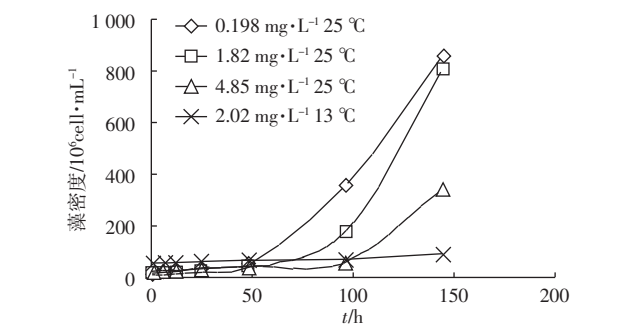


图 1 普通小球藻的生长曲线
Figure 1 Growth curves of *Chlorella vulgaris*

表 1 不同条件下普通小球藻生长速率(v)及藻对 DBP 一级降解速率常数(k_A)

Table 1 The average growth rates(v)of <i>Chlorella vulgaris</i> and biodegradation first-order rate constants(k _A) of DBP in <i>Chlorella vulgaris</i>				
t/℃	c/mg·L ⁻¹	v/h ⁻¹	k _A /×10 ⁻³ h ⁻¹	R ²
25	0.198	0.038	0.00	0.843 1
	1.82	0.036	0.80	0.902 5
	4.85	0.024	0.30	0.850 3
13	2.02	0.004	0.60	0.785 3

见图 2,藻液中 DBP 的减少包括光解、挥发、水解、藻对它的降解,经拟合,此降解过程符合一级反应动力学^[7-10],方程为:

dc/dt=-(k_P+k_E+k_H+k_A)·c (1)

式中:k_P、k_E、k_H、k_A 为光解、挥发、水解、藻降解速率常数,h⁻¹。

由于实验 pH=7.0,水解可忽略。对照实验中测得 DBP 在 6 d 中的非藻降解百分率为 4.01%~4.34%,由此可计算出 k_A,列于表 1 中。

从数据看出,在该实验条件下,普通小球藻对 DBP 的生物降解作用不明显。

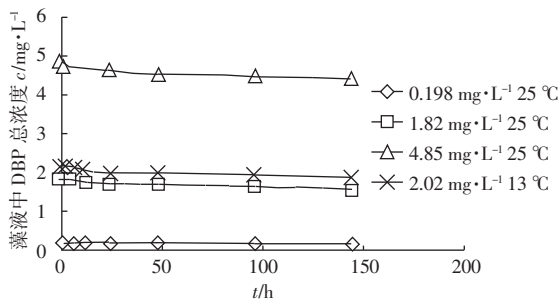


图 2 藻液中 DBP 的降解曲线

Figure 2 The declines of DBP in algal solutions

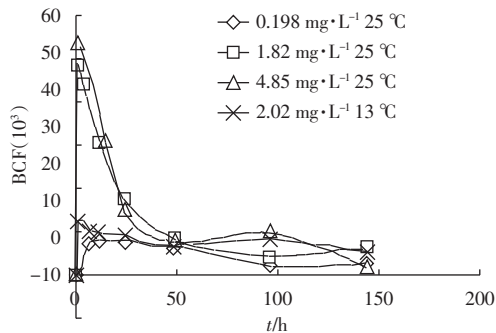


图 4 普通小球藻对 DBP 的 BCFs 变化曲线

Figure 4 BCF of DBP by *Chlorella vulgaris*

见图 3、图 4, 25 °C 时, 随 DBP 初始浓度的升高, 藻相中 DBP 浓度分别在 12、1 和 1 h 达到最大值, 最大值分别为 1.37、85.9 和 238 mg·g⁻¹DW。达到最大值后, 藻相中 DBP 浓度迅速降低, 48 h 后 (除 0.198 mg·L⁻¹ DBP 是于 96 h 后) 下降速度减慢。同样, 随 DBP 初始浓度的升高, BCFs 分别在 12、1 和 1 h 达到最大值, 最大值分别为 8.01×10^3 、 4.83×10^4 和 5.36×10^4 。BCFs 曲线的变化趋势和藻相中 DBP 浓度曲线相似。

根据实验结果, 可将普通小球藻和 DBP 之间的相互作用过程分为 3 个阶段。

(1) 从 0 h 到 BCFs 达最大值时。这时期藻密度

小, 藻生长慢, 藻相中 DBP 浓度和 BCFs 很快达到最大值 (≤ 12 h), 其原因主要为: ①有机物, 尤其是疏水性有机物 (HOCs), 其表面吸附与其他过程 (如生物作用或环境过程等) 相比快得多, 可认为是一个平衡过程^[11-14]。②这时期在显微镜下测得藻的平均直径约为 1.5 μm, 藻体积小, 藻细胞对 DBP 的生物累积过程符合一室模型^[15], 即吸附在藻细胞表面的 DBP 瞬时到达细胞内部。这时期, 普通小球藻初始接触到 DBP, 尚未适应 DBP 的存在, 导致藻对 DBP 的吸附速率大于降解速率。

(2) 从 BCFs 达最大值时到 48 h (0.198 mg·L⁻¹ DBP 是到 96 h), 藻相中 DBP 浓度和 BCFs 值迅速下降。小球藻属 (*Chlorella Beijerinck*) 属于无性生殖^[16], 母细胞破裂前比其破裂后游离出的一个似亲孢子的直径要大 5 倍之多。此阶段正值藻的生长延迟期, 分裂较慢, 主要处于细胞自身增长, 应看作两室模型^[11-14]:

$$c_p = c_m + c_s \quad (2)$$

式中: c_p 、 c_m 和 c_s 为细胞中、细胞基质中、细胞表面中 PAEs 的浓度 (mg·g⁻¹DW)。

两室模型中, HOCs 首先快速吸附于藻细胞表面, 随后逐渐进入到藻体基质中。Cheng 等^[15]研究表明, 藻对 HOCs 的表面吸附速率常数要远远大于基质吸附速率常数。藻的体积越大, HOCs 的吸附达到平衡所需的时间就越长。因此在本实验中, 随着普通小球藻体积的增长, 细胞基质随之增加, c_m 随之减少。另外, 此时藻已适应了 DBP 的存在, 藻的降解作用也会导致 c_m 的减少。

c_s 的减少是藻中 DBP 浓度和 BCFs 下降的另一个重要原因。表面吸附是一个平衡过程:

$$c_s = c_d \cdot K_{SW} \quad (3)$$

式中: c_d 为水相中溶解的 PAEs 浓度 (mg·L⁻¹); K_{SW} 为表面吸附分配系数, L·g⁻¹DW。

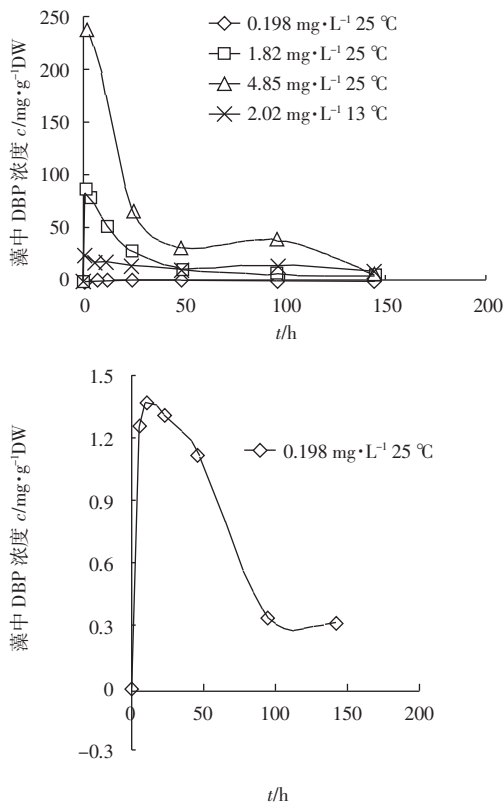


图 3 藻相中 DBP 的浓度曲线

Figure 3 DBP accumulation by *Chlorella vulgaris*

水相中 DBP 的减少包括光解和挥发, 且其符合一级反应动力学, 因而 DBP 在实验初期减少的较多, 即 c_d 减少, 使 DBP 在藻相和水相中进行热力学再分配, 导致 c_s 减少, 进而引起藻中 DBP 浓度和 BCFs 的显著降低。

(3) 从 48 h ($0.198 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ DBP 是从 96 h) 到实验结束时止, 藻相中 DBP 浓度和 BCFs 值均缓慢降低。这时期的藻正处于生命力旺盛的对数生长期, 生长速率快, 即分裂速度快, 与初始时相比跨越了约 2 个数量级。由于藻细胞的快速分裂繁殖, 藻相中的 DBP 出现生物稀释效应^[12-13], 导致普通小球藻中 DBP 浓度和 BCFs 值逐渐降低。

有研究表明, 溶解性有机碳 (DOC) 的存在增大了 HOCs 的水溶解度, 并减少了 HOCs 的生物可利用性^[17-19]。本实验中, 由于普通小球藻正处于对数生长期, 藻细胞的分泌物相应快速增多, 导致 DBP 的生物可利用性降低, 使藻中 DBP 浓度和 BCFs 降低。

由表 1 可见, 随 DBP 初始浓度的升高, k_A 分别为 0.00 、 0.80×10^{-3} 及 $0.30 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ 。低浓度下, DBP 的减少几乎全部是由于光解和挥发, 这可能是由于 DBP 的初始浓度过低, 藻细胞中 DBP 浓度很少 (如图 3), 导致藻对 DBP 的降解作用不明显。高浓度下, k_A 也较低, 这可能是由于 DBP 的初始浓度较高, 对普通小球藻产生了毒性效应, 因而抑制了藻的生长和藻体中相关酶的活性, 最终导致降解程度较低。

实验对不同温度、DBP 初始浓度相近的降解动力学做了比较, 即 $t=13 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $c_{\text{DBP}}=2.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $t=25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $c_{\text{DBP}}=1.82 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。随温度的升高, k_A 分别为 0.60×10^{-3} 和 $0.80 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ 。这可能是由于低温抑制了藻的生长和与生物降解相关酶的活性, 因而导致了藻对 DBP 降解能力的降低^[20]。随温度的升高, 藻相中 DBP 浓度和 BCFs 均在 1 h 达到最大值, 最大值分别为 $24.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}\text{DW}$ 及 1.23×10^4 、 $85.9 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}\text{DW}$ 及 4.83×10^4 , 且变化趋势相似。有报道说, 绿藻 *Scenedesmus* sp. 对氯苯的生物累积系数随着实验温度的升高 (从 $4.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 到 $27.6 \text{ }^{\circ}\text{C}$) 而升高^[21]。本实验的研究结果与报道的结果相符合。

3 结论

(1) 普通小球藻对 DBP 有明显的富集作用, 但生物降解作用并不显著, 且降解符合一级反应动力学。

(2) $t=25 \text{ }^{\circ}\text{C}$, DBP 初始浓度分别为 0.198 、 1.82 及 $4.85 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 藻相中 DBP 浓度分别在 12、1 及 1 h 达

到最大值, 最大值分别为 1.37 、 85.9 及 $238 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}\text{DW}$; BCFs 分别在 12、1 及 1 h 达到最大值, 最大值分别为 8.01×10^3 、 4.83×10^4 和 5.36×10^4 ; k_A 分别为 0.00 、 0.80×10^{-3} 和 $0.30 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ 。低浓度下, DBP 的减少几乎全部是由于光解和挥发, 这可能是由于初始浓度过低的 DBP 导致藻细胞中 DBP 浓度很少, 从而藻对 DBP 的降解作用不明显; 初始浓度较高的 DBP, 对普通小球藻产生了毒性效应, 从而抑制了藻的生长和藻体中相关酶的活性, 导致降解程度也较低。

(3) $t=13 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $c_{\text{DBP}}=2.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 及 $t=25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $c_{\text{DBP}}=1.82 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 藻相中 DBP 浓度和 BCFs 均在 1 h 达到最大值, 最大值分别为 $24.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}\text{DW}$ 及 1.23×10^4 、 $85.9 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}\text{DW}$ 及 4.83×10^4 ; k_A 分别为 0.60×10^{-3} 和 $0.80 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ 。这说明, 在普通小球藻适宜生长温度范围内, 温度升高有利于藻对 DBP 的生物降解。

参考文献:

- [1] Fay M, Donohue J M, De Rosa C. ATSD reevaluation of health effects of chemicals. VI. Di (2-ethylhexyl) phthalate[J]. *Toxicology and Industrial Health*, 1999, 15(8): 651-746.
- [2] 李 睿, 刘 玉, 谭凤仪, 等. 微小环藻对双酚 A 的富集与降解[J]. 环境科学学报, 2006, 26(7): 1101-1106.
LI Ri, LIU Yu, TAN Feng-yi, et al. Bioaccumulation and biodegradation of bisphenol a by cyclotella caspia[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2006, 26(7): 1101-1106.
- [3] 赵 丽, 刘征涛, 冯 流, 等. 单歧藻富集和降解烷基酚类化合物的动力学过程[J]. 环境科学研究, 2004, 17(2): 14-17.
ZHAO Li, LIU Zheng-tao, FENG Liu, et al. Kinetics of Alkyl phenols bioaccumulation and biodegradation by tolpothrix [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2004, 17(2): 14-17.
- [4] 徐冬英, 吕锡武, 吴 敏, 等. 微生物降解硝基苯、酞酸酯类有机物试验研究[J]. 净水技术, 2006, 25(1): 52-54.
XU Dong-ying, LU Xi-wu, WU Min, et al. The experiment research of degradation of nitrobenzene and phthalic acid esters by microorganism[J]. *Water Purification Technology*, 2006, 25(1): 52-54.
- [5] 李会茹, 曾 锋, 崔昆燕. *Pseudomonas fluorescens* Z1999 降解邻苯二甲酸酯的二级动力学特征[J]. 环境化学, 2005, 24(2): 189-192.
LI Hui-ru, ZENG Feng, CUI Kun-yan. The biodegradation characteristics of second-order kinetics of phthalate esters by pseudomonas fluorescens Z1999[J]. *Environmental Chemistry*, 2005, 24(2): 189-192.
- [6] American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollutin Control Federation. Standard methods for the examination of water and wastewater, 15th ed[M]. American Public Health Association, Boston, MA, 1980. 241-243.
- [7] 叶常明, 田 康. 邻苯二甲酸酯类化合物生物降解动力学[J]. 环境科学学报, 1989, 9(1): 37-41.
YE Chang-ming, TIAN Kang. Kinetics of biodegradation reaction of phthalate esters[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1989, 9(1): 37-41.

- [8] 李文兰, 杨玉楠, 季宇彬, 等. 驯化活性污泥对邻苯二甲酸丁基苯酯的降解[J]. 环境科学, 2005, 26(4): 156–159.
- LI Wen-lan, YANG Yu-nan, JI Yu-bin, et al. Biodegradation of butylbenzyl phthalate by acclimated activated sludge[J]. *Environmental Science*, 2005, 26(4): 156–159.
- [9] 王 琳, 罗启芳. 硅藻土吸附固定化微生物对邻苯二甲酸二丁酯的降解特性研究[J]. 卫生研究, 2006, 35(1): 23–25.
- WANG Lin, LUO Qi-fang. Biodegradation of dibutyl phthalate by diatomite adsorptive immobilized microorganism[J]. *Journal of Hygiene Research*, 2006, 35(1): 23–25.
- [10] 张付海, 岳永德, 花日茂, 等. 一株邻苯二甲酸酯降解菌降解特性研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(增刊): 79–83.
- ZHANG Fu-hai, YUE Yong-de, HUA Ri-mao, et al. Degradation characteristics of phthalate esters by a bacterial strain[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(supplement): 79–83.
- [11] Koelmans A A, Jimenez C S, Lijklema L. Sorption of chlorobenzenes to mineralizing phytoplankton[J]. *Environ Toxicol Chem*, 1993(12): 1425–1439.
- [12] Koelmans A A, Anzion S F, Lijklema L. Dynamics of organic micropollutant biosorption to cyanobacteria and detritus[J]. *Environ Sci Technol*, 1995(29): 933–940.
- [13] Skoglund R S, Stange K, Swackhamer D L. A kinetics model for predicting the accumulation of PCBs in phytoplankton[J]. *Environ Sci Technol*, 1996(30): 2113–2120.
- [14] Dachs J, Eisenreich S J, Baker J E, et al. Coupling of phytoplankton uptake and air–water exchange of persistent organic pollutants[J]. *Environ Sci Technol*, 1999(33): 3653–3660.
- [15] Cheng W F, Reinfelder J R. Phenanthrene accumulation kinetics in marine diatoms[J]. *Environ Sci Technol*, 2003(37): 3405–3412.
- [16] Chen F, Jiang Y. The biologic technology of microalgae[M]. Light Industry of China: Beijing, 1999. 22.
- [17] Twiss M R, Granier L, Lafrance P, et al. Bioaccumulation of 2, 2', 5, 5'-tetrachlorobiphenyl and pyrene by picoplankton (*Synechococcus leopoliensis*, cyanophyceae): Influence of variable humic acid concentrations and Ph[J]. *Environ Toxicol Chem*, 1999(18): 2063–2069.
- [18] Richer G, Peters R H. Determinants of the short-term dynamics of PCB uptake by plankton[J]. *Environ Toxicol Chem*, 1993(12): 207–218.
- [19] Sijm D T H M, Middelkoop J, Vrisekoop K. Algal density-dependent bioconcentration—factors of hydrophobic chemicals[J]. *Chemosphere*, 1995(31): 4001–4012.
- [20] Peijnenburg WJGM, van Ewijk MWA, de Haan JA, et al. Update of the exploratory report phthalates [R]. National Institute of Public Health and Environmental Protection, Bilthoven, Netherlands, 1991. RIVM Report #710401008.
- [21] Koelmans A A, Jimenez C S. Temperature dependency of chlorobenzene bioaccumulation in phytoplankton[J]. *Chemosphere*, 1994(28): 2041–2048.