

薛晓红,张芝涛,白敏冬,等. 2013. 船舶压载水中海洋微生物的羟基自由基致死特性研究[J]. 环境科学学报, 33(3): 749-753

Xue X H, Zhang Z T, Bai M D, et al. 2013. Treatment characteristics of marine microalgae hydroxyl radicals in ship's ballast water[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 33(3): 749-753

# 船舶压载水中海洋微生物的羟基自由基致死特性研究

薛晓红<sup>1</sup>, 张芝涛<sup>1,\*</sup>, 白敏冬<sup>2</sup>, 张拿慧<sup>1</sup>, 田一平<sup>1</sup>

1. 大连海事大学高气压强电场电离放电辽宁省重点实验室, 大连 116026

2. 厦门大学环境与生态学院, 厦门 361005

收稿日期: 2012-05-10 修回日期: 2012-07-04 录用日期: 2012-07-14

**摘要:** 鉴于当前尚无一种有效治理压载水中外来有害生物入侵的方法,为解决这一难题,本文采用高级氧化技术,即生成高浓度羟基溶液的方法治理船舶压载水中的海洋微生物. 研究主要是利用介质阻挡强电离放电的方法,将空气中的 O<sub>2</sub> 和海水中 H<sub>2</sub>O 电离分解成 ·OH 等氧化自由基,溶于海水中形成高浓度羟基溶液. 同时,实验以羟基致死压载水中的湛江等鞭金藻、牟氏角毛藻和大肠杆菌为例进行了研究. 结果表明:羟基致死微生物的阈值为 0.6 mg·L<sup>-1</sup>,主要是破坏了藻类体内的叶绿素,进而导致藻类的死亡.

**关键词:** 强电离放电; 羟基; 压载水; 入侵性生物

文章编号: 0253-2468(2013)03-749-05

中图分类号: X131

文献标识码: A

## Treatment characteristics of marine microalgae hydroxyl radicals in ship's ballast water

XUE Xiaohong<sup>1</sup>, ZHANG Zhitao<sup>1,\*</sup>, BAI Mindong<sup>2</sup>, ZHANG Nahui<sup>1</sup>, TIAN Yiping<sup>1</sup>

1. Liaoning Key Laboratory of Strong Electric Field Ionization Discharge, Dalian Maritime University, Dalian 116026

2. College of the Environment and Ecology, Xiamen University, Xiamen 361005

Received 10 May 2012;

received in revised form 4 July 2012;

accepted 14 July 2012

**Abstract:** Currently, there is no effective method to treat the introduced algae and bacteria in the ship's ballast water. To solve this problem, the method of advanced oxidation technology producing high-concentration hydroxyl radical solution was used to treat marine microorganisms. With strong ionization discharge, O<sub>2</sub> in air and H<sub>2</sub>O in seawater could be ionized and dissociated into a number of activate particles such as hydroxyl radicals (·OH), which can dissolve into seawater (a part of ballast water) to form the high concentration ·OH solution. With the high reaction rate and broad-spectrum lethal characteristic, ·OH radicals could kill the introduced microorganisms through dissociative radical reactions in the course of both discharging and inputting the ballast water, without the pollution by medicament. In this study, *Isochrysis zhanjiangensis*, *Chaetoceros muelleri* and *Escherichia coli* in ballast water were killed by ·OH radicals. Results indicated that the threshold lethal concentration of ·OH radicals for microorganisms in ballast water was 0.6 mg·L<sup>-1</sup>. A-chlorophyll was damaged by ·OH radicals during the treatment, which resulted in the death of algae.

**Keywords:** strong ionization discharge; hydroxyl radicals; ballast water; introduced microorganisms

### 1 引言( Introduction)

外来生物入侵性传播是海洋生态环境面临的威胁之一(全球压载水管理项目中国国家项目实施小组 2001). 海洋外来生物在新的适宜生存的环境

中繁殖,会给近岸海域的生态系统带来灾难性破坏,甚至导致土著物种灭绝,进而严重威胁海洋生态系统的安全. 船舶压载水的给排过程是造成地理性隔离水体间海洋生物传播的最主要途径,每年全球船舶携带的压载水约有 35 亿 t( Endresen *et al.* ,

基金项目: 国家自然科学基金项目( No. 50877005); 国家杰出青年科学基金项目( No. 61025001); 国际科技合作项目( No. 2010DFA61470); 国家高技术研究发展( 863) 计划( No. 2012AA062609); 中央高校基本科研业务费( No. 2011QN63 2012QN067)

**Supported by** the National Natural Science Foundation of China( No. 50877005), the National Science Fund for Distinguished Young Scholars( No. 61025001), the International Science and Technology Cooperation Project( No. 2010DFA61470), the National High-tech R&D Program( No. 2012AA062609) and the Central University Basic Scientific Research Operation Cost( No. 2011QN63 2012QN067)

作者简介: 薛晓红( 1979—) 女, E-mail: xiaohong-xue@163.com; \* 通讯作者( 责任作者), E-mail: newzhangzhitao@163.com

**Biography:** XUE Xiaohong( 1979—), female, E-mail: xiaohong-xue@163.com; \* **Corresponding author** E-mail: newzhangzhitao@163.com

2004) ,每天随船舶压载水周游世界的生物约有 7000 多种 (David *et al.* , 2004) , 并已确认有 500 多种海洋生物是由船舶压载水传播的 (Ruiz *et al.* , 2000; Gross , 1999) 给全球经济造成的损失以每年近百亿美元的速度递增. 2004 年 2 月 13 日 ,国际海事组织 (IMO) 通过了《国际船舶压载水和沉积物管理与控制公约》,制定了严格的 D-2 排放标准 (Global Ballast Water Management Program , 2008. <http://globallast.imo.org>) ,并规定 2012 年后强制执行. 国务院颁布的《国家中长期科学和技术发展规划纲要》也将“海洋生态与环境保护”列入环境重点领域中的优先主题 ,因此 ,如何安全有效治理船舶压载水是目前国际海洋环境研究中的难点和热点之一.

国际海事组织 (IMO) 认定在《国际公约》生效之前 ,采用在航深海更换压载水的方法作为压载水治理方法 (Rigby *et al.* , 2002) ,即在公海将压载水打入 500 m 以下 ,更换相当于 3 倍船容量的压载水 ,但实际只能更换掉 95% ,且更换过程中会产生剪切弯矩使船体强度降低 ,造成船体结构损坏;同时 ,存在消耗能量过高 ,操作、运行时间过长 (一艘 30 万 t 油轮需 36 h) 等问题 ,运行成本较高 ,且还是无法达到 D-2 排放标准. 另外 ,国际上众多企业和学者进行了化学药剂法 (氯法、臭氧法、过氧化氢  $H_2O_2$  等)、紫外照射 (UV)、生化法、过滤法及加热和电解相结合的方法治理船舶压载水研究 (Debra *et al.* , 2004; Zhang *et al.* , 2003; Rigby *et al.* , 1997; Cooper , 2002; Oemcke *et al.* , 2005; Matheickal *et al.* , 2001; Mario *et al.* , 2001) ,但存在的主要问题是生化反应速率低、杀灭微生物时间长、设备庞大、处理费用高 ,残留药剂会严重腐蚀压载水舱、危害海洋生态安全. 海上环境保护委员会 (MEPC) 及全球压载水管理项目小组 (Global Ballast Water Management Program , 2008. <http://globallast.imo.org>) 认为当前尚无一种成熟有效的治理压载水方法.

采用高级氧化技术 (AOP 或 AOT) 治理压载水 ,能从源头上解决治理过程中的环境污染问题 ,且对水环境不会造成二次污染. 为此 ,采用“绿色”强氧化剂羟基自由基 ( $\cdot OH$ ) 是首选的方法 , $\cdot OH$  ( $E_0 = 2.80 V$ ) 与氟的氧化能力相当 ,是进攻性最强的化学物质之一 ,它几乎能与所有的生物大分子、有机物和无机物发生不同类型的化学反应. 反应最终降

解为  $CO_2$ 、 $H_2O$  和微量无机盐 ,剩余的  $\cdot OH$  会分解成无公害的  $H_2O$ 、 $O_2$ . 课题组前期在高气压下 ( $P \geq 0.1 MPa$ ) 在极窄的放电间隙中 (0.47 mm) 获得了电场强度  $E \geq 100 kV \cdot cm^{-1}$ 、电子平均能量  $\geq 10 eV$ 、电子密度  $\geq 10^{14}$  个  $\cdot cm^{-3}$ 、电离占空比  $\geq 2\%$  的强电场电离放电 ,将  $O_2$ 、 $H_2O$  电离分解成  $O_2^+$ 、 $H_2O^+$ 、 $H_2O^*$  等活性粒子 ,再以高传质效率溶于海水中 (从压载水中取出的一部分) ,制备出  $\cdot OH$  溶液 (Bai *et al.* , 2005; Zhang *et al.* , 2004). 研究发现 , $\cdot OH$  致死海洋入侵生物的时间是常规化学法 (氯法) 的 1/400 ,致死浓度是氯法的 1/140 ,每 t 水的处理费用是国际通用方法 (在航更换压载水法) 的 1/30 (Dang *et al.* , 2003) .

2002 年 ,实验室的研究人员成功地完成了  $\cdot OH$  快速致死船舶压载水海洋入侵生物的中试试验 (处理量  $20 t \cdot h^{-1}$ ) ,以及快速致死赤潮生物海上 (山东龙口海域) 围隔中宇宙试验 (Bai *et al.* , 2005). 基于此 ,本文在  $50 t \cdot h^{-1}$  的船舶压载水处理试验系统中 ,进行  $\cdot OH$  致死海洋微藻、细菌实验 ,并研究湛江等鞭金藻 (*Isochrysis zhanjiangensis*)、牟氏角毛藻 (*Chaetoceros muelleri*) 的  $\cdot OH$  致死特性. 以期在船上输送压载水过程中快速致死海洋有害生物提供一种“绿色”新方法.

## 2 材料与方 法 (Materials and methods)

### 2.1 实验材料

实验海水为辽宁省水产研究所提供的大连市星海湾的过滤海水 ,取水时间为 2008 年 2 月 25 日 ,水温  $6^\circ C$ . 微小生物采用大小为  $10 \sim 50 \mu m$  的湛江等鞭金藻 (*Isochrysis zhanjiangensis*)、牟氏角毛藻 (*Chaetoceros muelleri*) 及大肠杆菌 (*Escherichia coli*) ,其中牟氏角毛藻是常见的赤潮藻.

藻种使用前经分离、纯化后 ,在光照培养箱中进行培养. 培养液采用 f/2 营养盐配方 ,在培养温度 ( $20 \pm 1$ )  $^\circ C$ 、盐度 35‰、光照强度 8000 lx、光暗比 = 10 h : 14 h 的条件下进行藻类培养 ,把湛江等鞭金藻、牟氏角毛藻富集到  $10^6$  cells  $\cdot mL^{-1}$ .

大肠杆菌 (*Escherichia coli* 编号 8099) 由中国普通微生物菌种保藏管理中心和中国工业微生物菌种保藏管理中心提供 ,采用牛肉膏蛋白胨培养基进行培养. 分别在 3 个 50 mL 的牛肉膏蛋白胨培养基中接种大肠杆菌 , $37^\circ C$  于振荡数显培养箱中培养 18 ~ 24 h. 采用平板计数 ,其菌数大约在每 mL  $10^9$

个,置于 4 °C 冰箱中保存备用。

## 2.2 实验系统

船舶压载水  $\cdot\text{OH}$  处理试验系统如图 1 所示,外排的船舶压载水被泵打到主管路中,机械过滤器滤掉  $\geq 50 \mu\text{m}$  的浮游生物,其流速为  $1.5 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ 。一部分压载水通入到自制的羟基产生设备中,制备高浓度的  $\cdot\text{OH}$  溶液,设备的处理量为  $50 \text{ t}\cdot\text{h}^{-1}$ , $\cdot\text{OH}$  溶液浓度  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。 $\cdot\text{OH}$  溶液注入到液液溶解器,充分混溶稀释,在主管路中得到分布均匀的试验所需的  $\cdot\text{OH}$  浓度。在 5 个取样点中可准确地获得不同时间的浮游生物的杀灭效果。采用该方法剩余的  $\cdot\text{OH}$  又分解成  $\text{H}_2\text{O}$  和  $\text{O}_2$ ,对海洋环境无负面环境效应,符合高级氧化技术(AOT)原则。

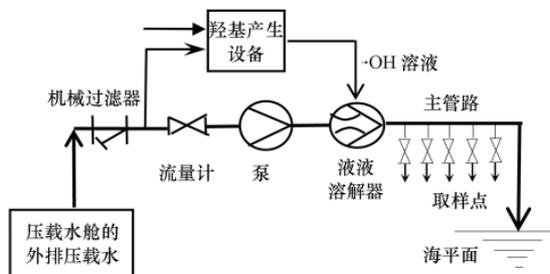


图1 船舶压载水  $\cdot\text{OH}$  处理中试试验系统

Fig.1 Ships' ballast water of  $\cdot\text{OH}$  processing in a pilot system

## 2.3 检测方法

**藻类及细菌检测:** 在外排压载水的主管路中,将羟基自由基浓度准确地调控在  $0.3 \sim 0.6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  之间,对于个体大小在  $10 \sim 50 \mu\text{m}$  的藻类,实验中采取 5 个藻液浓度梯度,分别为  $1 \times 10^3$ 、 $5 \times 10^3$ 、 $1 \times 10^4$ 、 $5 \times 10^4$  和  $9 \times 10^4 \text{ cells}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,用碘液固定后,在显微镜下用血球计数板直接计数。细菌总数用海洋 2216E 培养基平板菌落计数。

**光合色素的检测:** 根据各种光合色素在有机溶剂中的溶解特性,可将它们从细胞中提取出来,并根据它们在有机溶剂中的最大吸收波长不同,进行分光光度法测定。以丙酮溶液提取浮游植物色素,依次在 664、647、630 nm 下测定吸光度,按 Jeffrey-Humphrey 的方程式计算(国家质量技术监督局,1998),可以得出叶绿素 a 的含量。

**$\cdot\text{OH}$  浓度检测:** 用电化学方法检测,并用苯甲酸荧光法校准。 $\cdot\text{OH}$  溶于水的等离子体化学反应过程是极其复杂的连锁反应,系统以产生  $\cdot\text{OH}$  为主,还存有  $\text{HO}_2^-$ 、 $\text{HO}_2^+$ 、 $\text{HO}_3^-$ 、 $\text{OH}^-$ 、 $\text{O}_3$ 、 $\text{OH}^+$ 、 $\text{O}_2^-$ 、

$\text{O}_3^-$ 、 $\text{O}_3$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$  等活性粒子,其浓度根据它们的氧化力折算成  $\cdot\text{OH}$  的比值浓度。

## 3 结果(Results)

### 3.1 杀灭海洋微藻实验

在初始藻液浓度为  $1 \times 10^4$  和  $9 \times 10^4 \text{ cells}\cdot\text{mL}^{-1}$  的条件下考察了  $\cdot\text{OH}$  浓度变化与藻类致死率之间的关系,结果如图 2 所示。从图 2 可以看出,随着  $\cdot\text{OH}$  浓度的不断升高,两种藻类的致死率也随之升高。对于同一种藻类,在相同的  $\cdot\text{OH}$  浓度下,藻类的初始浓度越高致死率越低,即越难杀灭。当湛江等鞭金藻和牟氏角毛藻的初始浓度相同时,在相同的  $\cdot\text{OH}$  浓度下,总是牟氏角毛藻的致死率较低,说明牟氏角毛藻较难杀灭。

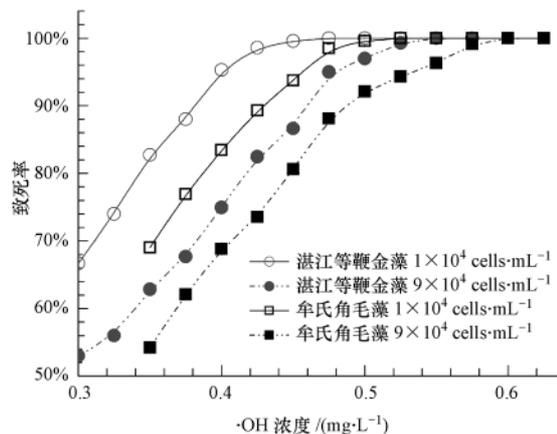


图2  $\cdot\text{OH}$  浓度与海洋微藻致死率的关系曲线

Fig.2 Relation between  $\cdot\text{OH}$  concentration and killing efficiency of algae

对于处理后致死率达到 100% 的藻液,稀释 1 倍后,经 48 h 培养没有发现再生现象。对于两种藻类 5 种不同初始浓度的藻液,在致死率 100% 的条件下,使其完全致死所需的  $\cdot\text{OH}$  浓度变化如图 3 所示。可以看出,同一种藻类随着藻液初始浓度的升高,所需要的羟基致死浓度也随之升高。对于湛江等鞭金藻和牟氏角毛藻来说,在任一相同的初始浓度下,湛江等鞭金藻所需的羟基致死浓度都低于牟氏角毛藻。 $\cdot\text{OH}$  对藻类致死阈值浓度的变化说明在相同条件下, $\cdot\text{OH}$  对湛江等鞭金藻的致死效果好于牟氏角毛藻。在实验的藻类浓度数量范围内,试验中两种藻类的最高致死阈值浓度分别为  $0.55 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $0.6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

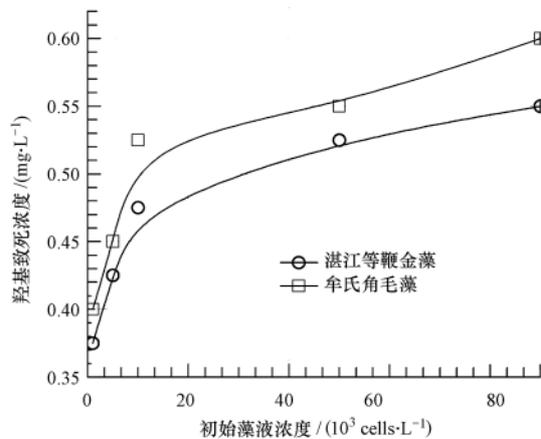


图3 各藻种初始浓度下的 $\cdot\text{OH}$ 致死浓度比较曲线

Fig.3 Relation between algae content and  $\cdot\text{OH}$  concentration

### 3.2 显微镜下藻类细胞形态

本文在显微镜下对羟基处理前后藻类细胞的形态进行了观察,结果如图4所示。 $\cdot\text{OH}$ 处理前,各类藻细胞通体圆润,细胞壁光滑完好,胞内细胞物质均匀分布,绿色素鲜亮稠密(图4a,4c)。 $\cdot\text{OH}$ 处理后,藻细胞胞体全都变形、破裂,大量内容物溢出,不能观察到完整细胞(图4b,4d);细胞壁和细胞膜破损,可能发生氨基酸氧化和磷脂过氧化反应,细胞有明显的破裂、缺失、击碎的现象,这些损伤对藻类来说都是致命的。显微镜下的照片证实了 $\cdot\text{OH}$ 药剂能够破坏、分解、杀死藻细胞。

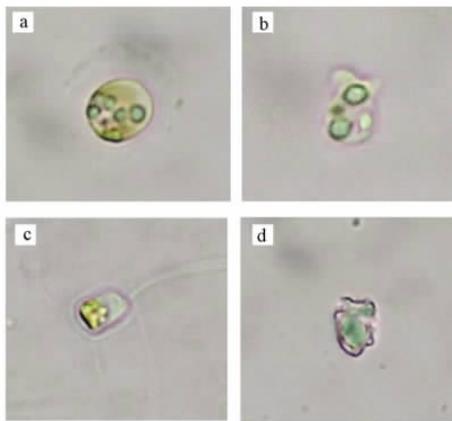


图4  $\cdot\text{OH}$ 处理前后湛江等鞭金藻(a,b)和牟氏角毛藻(c,d)的照片

Fig.4 Photos of *Isochrysis zhanjiangensis* (a,b) and *Chaetoceros muelleri* (c,d) before and after treatment by  $\cdot\text{OH}$

$\cdot\text{OH}$ 致死阈值浓度与藻种及它们的各自形态结构有关。牟氏角毛藻细胞大小为 $(4.0 \sim 4.9) \mu\text{m} \times (5.5 \sim 8.4) \mu\text{m}$ (环面观),细胞不仅具有硅质细

胞壁,还有圆弧形的角刺,因此,细胞受外界干扰更少,较难杀死。而湛江等鞭金藻大小为 $(6 \sim 7) \mu\text{m} \times (5 \sim 6) \mu\text{m}$ ,属于金藻,不具有细胞壁,细胞处于裸露状态,更易受外界毒物影响,因此,完全致死所需的 $\cdot\text{OH}$ 浓度较低。

### 3.3 杀灭海洋细菌实验

羟基致死海水中细菌实验结果如图5所示,实验结果表明,随 $\cdot\text{OH}$ 溶液浓度的上升,大肠杆菌菌落数( $C$ )明显下降。 $\cdot\text{OH}$ 浓度提高到 $0.32 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,所有培养基上无菌落长出,灭菌率达到100%。可见与单细胞藻类相比,大肠杆菌对外界毒物的防护能力更差。

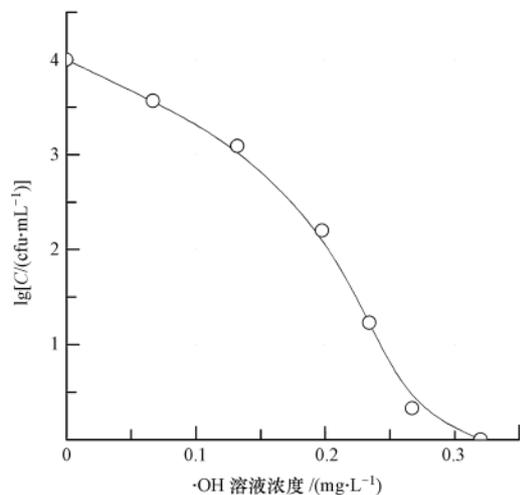


图5  $\cdot\text{OH}$ 浓度与细菌菌落数的关系

Fig.5 Relation between  $\cdot\text{OH}$  concentration and kill efficiency of bacteria

### 3.4 羟基对叶绿素的作用

仅仅测定细胞的存活还不能全面说明羟基药剂对海洋微藻的杀灭效果,为此改进实验方法,在实验中测定了羟基作用后30 min,受试混合藻类的叶绿素a变化,结果如图6所示。由图6可知,随着 $\cdot\text{OH}$ 溶液浓度的增加,藻液中的叶绿素含量都呈减小的趋势;在 $\cdot\text{OH}$ 浓度为 $0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的条件下,经过30 min作用,水样中的叶绿素a含量很低,近似于0。说明 $\cdot\text{OH}$ 的作用效果很明显,这与活体计数法的实验结果是一致的。分析其原因是由于叶绿素a是由单、双键交替的不饱和结构组成的,极易与 $\cdot\text{OH}$ 反应,发生氧化、断裂、变构和分解等生化反应。随着 $\cdot\text{OH}$ 溶液浓度的不断增加,不断氧化使细胞膜破裂,叶绿素流出,叶绿素在 $\cdot\text{OH}$ 溶液的作用下含量不断减少。叶绿素是藻细胞光合作用的重要

组成部分,本实验说明 $\cdot\text{OH}$ 可以氧化分解叶绿素,破坏其光合作用,导致生物细胞体的死亡.

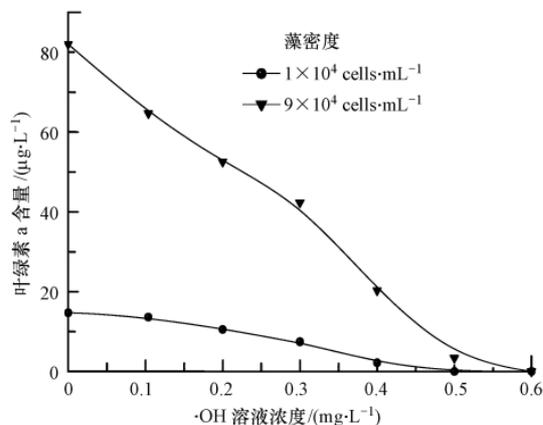


图 6  $\cdot\text{OH}$ 浓度与藻类叶绿素 a 含量的关系曲线

Fig. 6 Relation between  $\cdot\text{OH}$  concentration and content of algae chlorophyll-a

#### 4 结论 (Conclusions)

1) 在实验的藻类浓度范围内,湛江等鞭金藻和牟氏角毛藻的最高致死阈值浓度分别为  $0.55 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $0.6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,杀灭海洋微生物的浓度为  $0.6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

2) 通过显微镜观察,在羟基的作用下,藻类细胞有明显的破裂、缺失、击碎的现象,从而证明了羟基具有杀灭微生物的特性.

3) 羟基对大肠杆菌的致死阈值浓度为  $0.32 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,且羟基可氧化分解藻类的叶绿素,从而杀灭藻类.

责任作者简介:张芝涛(1965—),男,教授,博导,主要研究方向是等离子体技术及应用,目前在相关领域发表论文 50 余篇.

#### 参考文献 (References):

- Bai M D, Bai X Y, Zhang Z T, *et al.* 2005. Treatment of red tide in ocean using non-thermal plasmas based advanced oxidation technology [J]. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 25(5): 530-538
- Bai X Y, Zhang Z T, Bai M D *et al.* 2005. Killing of invasive species of ship's ballast water in 20t/h system using hydroxyl radicals [J]. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 25(1): 15-22

- Cooper W J. 2002. Ozone seawater and aquatic nonindigenous species: Testing a full-scale ozone ballast water treatment system on an American oil tanker [A]. 11th International Conference on Aquatic Invasive Species. Alexandria [C]
- 党坤,王真茂. 2003. 船舶压载水不同处理方法的经济性分析 [J]. *世界海运*, 26(3): 46-48
- David M, Perkovic M. 2004. Ballast water sampling as a critical component of biological invasions risk management [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 49: 313-318
- Debra M W, Chris O, Mike D S *et al.* 2004. Eradication success down under: heat treatment of a sunken trawler to kill the invasive seaweed *Undaria pinnatifida* [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 49: 844-849
- Endresen Á, Lee Behrens H, Brynstad S, *et al.* 2004. Challenges in global ballast water management [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 49: 313-318
- Geoff R. 2000. From ballast to bouillabaisse [J]. *Science*, 289: 241-241
- 国家质量技术监督局. 1998. 海洋监测规范 GB 17378. 7—1998 [S]. 北京: 中国标准出版社
- Gross M. 1999. Alien invaders [J]. *New Scientist*, 162: 18-19
- Mario N T, Kerstin W, Masayasu M. 2002. Ballast water deoxygenation can prevent aquatic introductions while reducing ship corrosion [J]. *Biological Conservation*, 103: 331-341
- Matheickal J T, Waite T D, Mylvaganan S T. 2001. Ballast water treatment by filtration [C]. 1st. International Ballast Water Treatment R + D Symposium, IMO. London
- Oemcke D J, Leeuwen J V. 2005. Ozonation of the marine dinoflagellate alga *Amphidinium* sp. -implications for ballast water disinfection [J]. *Water Research*, 39: 5119-5125
- 全球压载水管理项目中国国家项目实施小组. 2001. 全球更换压载水管理项目 [J]. *交通环保*, 22(1): 1-4
- Rigby G R, Hallegraeff G M. 1997. Ballast Water Exchange Trials and Marine Plankton Distribution on the MV "Iron Whyalla" [M]. Canberra: Australian Government Publishing Service
- Rigby G R, Hallegraeff G M. 2002. On the nature of ballast tank sediments and their role in ship's transport of harmful marine microorganisms [J]. *Marine Environ*, 7: 528-536
- Ruiz G M, Rawlings T K, Dobbs F C, *et al.* 2000. Global spread of microorganisms by ships [J]. *Nature*, 408: 49-50
- Zhang S, Chen X, Yang D. *et al.* 2003. Effects of the chlorination treatment for ballast water [C]. 2nd International Ballast Water Treatment R&D Symposium IMO. London. 21-23
- Zhang Z T, Bai M D, Bai X Y, *et al.* 2004. Studies of the effect of hydroxyl radicals on photosynthesis pigments of phytoplankton in ship's ballast water [J]. *Journal of Advanced Oxidation Technologies*, 7(2): 178-183