

# 螺旋藻对铅的耐受力初步研究

温军杰, 陈 艳, 胡勤海, 陈 红

(浙江大学环境工程系, 浙江 杭州 310029)

**摘要** :初步研究了螺旋藻对水溶液中  $Pb^{2+}$  的耐受性。实验结果表明 : $Pb^{2+}$  对螺旋藻的生长具有抑制作用,随着  $Pb^{2+}$  浓度的增加,螺旋藻生长受到的抑制作用也越强。螺旋藻对  $Pb^{2+}$  具有一定的耐受性, $Pb^{2+}$  对螺旋藻的 72 h  $EC_{50}$  为 11.46 mg/L,同时发现螺旋藻藻液 pH 值随着培养时间的增长而增大。

**关键词** :螺旋藻, 铅离子, 耐受性, 生物吸附

**中图分类号** :X131.2      **文献标识码** :A      **文章编号** :1004-693X(2005)02-0024-03

## Preliminary study on the tolerance of spirulina to $Pb^{2+}$

WEN Jun-jie, CHEN Yan, HU Qin-hai, CHEN Hong

(Department of Environmental Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

**Abstract** :The tolerance of spirulina to  $Pb^{2+}$  in water is studied. Experiments show that  $Pb^{2+}$  acts as an inhibitor on the growth of spirulina, as the growth of the spirulina decreases with the increasing of the concentration of  $Pb^{2+}$ . Spirulina has tolerance to  $Pb^{2+}$ , and the 72h  $EC_{50}$  is 11.46mg/L. It also indicates that pH of the spirulina solution increases with the culture time.

**Key words** :spirulina ;  $Pb^{2+}$  ; tolerance ; biosorption

螺旋藻是一种丝状蓝藻,可用作保健食品、珍贵水产品的饵料以及提取多糖、藻胆蛋白等多种生物活性物质。同时,一些研究表明,螺旋藻对很多元素有较强的富集作用<sup>[1~3]</sup>。利用螺旋藻处理污水既可减少环境污染,又可获得有用的藻体。

本文初步考察了溶液中  $Pb^{2+}$  对螺旋藻的毒害作用,为进一步研究螺旋藻吸附富集金属离子的机理<sup>[4]</sup>,最大限度地利用它的生物吸附富集能力,开发新型生物吸附剂以及在水处理中的应用做准备。

## 1 实验材料及方法

### 1.1 实验材料

实验用藻采用普通钝顶螺旋藻,螺旋藻藻种由浙江大学生物系提供。实验前藻液预培养,藻种经离心分离后,接入三角瓶内的新鲜培养液中,室温(20~26℃左右)下 40W 白炽灯作为光照,每天将藻液摇匀 2~3 次,培养期 7 d。培养基成分:EDTA

0.08 g/L,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  0.04 g/L, NaCl 1.00 g/L,  $NaNO_3$  2.50 g/L,  $NaHCO_3$  16.8 g/L,  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  0.01 g/L,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.20 g/L,  $K_2SO_4$  1.00 g/L,  $K_2HPO_4$  0.50 g/L<sup>[5]</sup>。

各试剂均为分析纯试剂,水为去离子水。所用到的试剂有:氯仿( $\rho = 1.42$  g/mL),硝酸( $\rho = 1.4$  g/mL),盐酸(0.5 mol/L 溶液,  $\rho = 1.18$  g/mL),氨水( $\rho = 0.90$  g/mL),柠檬酸氢二铵、氰化钾、亚硫酸钠、盐酸羟胺、硝酸铅、双硫腙、氢氧化钠。

铅标准贮备溶液的配制。将 0.1599 g 硝酸铅 [ $Pb(NO_3)_2$ ] (纯度  $\geq 99.5\%$ )溶解在约 200 mL 水中,加入 10 mL 硝酸( $\rho = 1.4$  g/mL)后用水稀释到 1000 mL 标线,此溶液每毫升含 100  $\mu$ g 铅。

铅标准工作溶液的配制。取 20 mL 铅标准贮备溶液置于 1000 mL 容量瓶中,用水稀释到瓶中标线,摇匀,此溶液每毫升含 2.00  $\mu$ g 铅。

### 1.2 实验过程

将藻接种到新鲜的培养基中,在每个锥形瓶中

各加入 50 mL 藻液, 然后分别在每个瓶子中加入铅溶液, 使其溶液中铅浓度各不相同。放入恒温振荡器振荡, 转速为 166 r/min, 温度 25℃, 每隔 24 h 测其叶绿素浓度  $\alpha$ 。由螺旋藻在不同铅浓度培养液中的生长状况, 得到藻密度的生长影响曲线, 从而得到  $Pb^{2+}$  对螺旋藻相对生长速率影响曲线, 由此可以得到  $Pb^{2+}$  对螺旋藻的半数效应浓度 (Median Effect Concentration,  $EC_{50}$ )。半数效应浓度是指能引起 50% 受试生物的某种效应变化的浓度。

同时, 测其 560nm 处的 OD 值 (藻液光密度), pH 值。

将处于对数生长期的藻液经转速离心收集 (4000 r/min), 接入新鲜的培养基中, 加入不同浓度的重金属溶液, 每天定时取样, 测定其 OD 值和叶绿素浓度  $\alpha$ 。

### 1.3 藻类生长情况分析

叶绿素  $\alpha$  的分析用可见分光光度法<sup>[6]</sup>。将处于正常生长条件下的螺旋藻摇匀, 使藻液呈均匀分布的绿色。采用分光光度计在最佳吸收波长处直接测定其吸光度  $A$  值。

最佳吸收波长的测定: 将藻液摇匀, 用 721 型分光光度计, 以培养液为参比, 用 1 cm 比色皿在不同波长处测定其  $A$  值, 并作吸收曲线如图 1 所示, 便得到最佳吸收波长 ( $A = 680 \text{ nm}$ )。藻液  $A$  值 ( $x$ ) 与叶绿素  $\alpha$  含量 ( $y$ ) 间的线性关系为:

$$y = -45.53 + 4356x \quad (1)$$

相关度

$$r = 0.9991$$

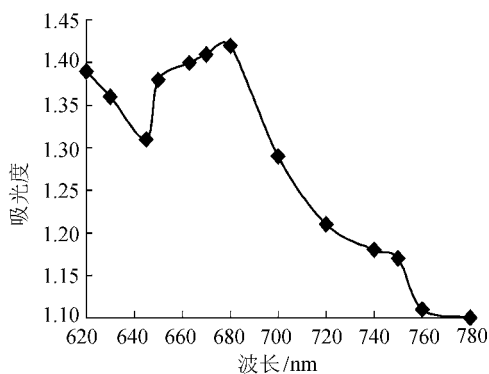


图 1 波长与吸光度的关系曲线

藻细胞密度的分析同样利用可见分光光度法。测定时, 将待测藻液摇匀, 使藻液呈均匀分布的绿色。采用分光光度计, 用 1 cm 比色皿, 以培养液为参比, 在最佳吸收波长处 (即 680 nm) 直接测定其吸光度  $A$  值, 根据吸光度计算藻细胞密度。

藻液  $A$  值 ( $x$ ) 与细胞密度 ( $y$ ) 间的线性关系为<sup>[6]</sup>:

$$y = -1.076 \times 10^5 + 8.081 \times 10^6 x \quad (2)$$

相关度

$$r = 0.9997$$

藻类的生长通过在 721 型分光光度计上测定其在波长  $A = 560 \text{ nm}$  处的光密度 (OD) 来监测, 每天测一次 OD 值。

### 1.4 铅浓度的分析

本实验对铅量分析采用 GB 5750—85《生活饮用水标准检验法》水质分析中的双硫脲分光光度法。水样经酸消解处理后, 测得水样中的总铅量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 $Pb^{2+}$ 对螺旋藻的 72 h $EC_{50}$

不同铅浓度下, 螺旋藻细胞密度的变化如图 2 所示。

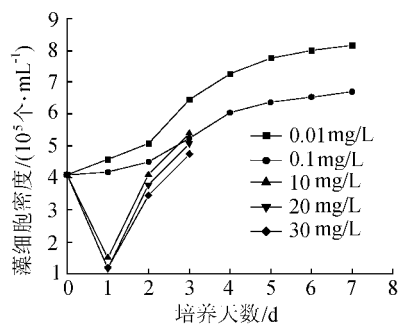


图 2 铅对螺旋藻的生长影响曲线

由图 2 可以看出, 铅对螺旋藻具有毒性。随着铅浓度的增加, 其对螺旋藻的抑制作用也相应增加; 铅浓度增加到一定的程度, 可以导致螺旋藻个体的大量死亡。根据公式<sup>[7]</sup>可以算出不同浓度  $Pb^{2+}$  作用下螺旋藻的相对生长速率  $\mu$ 。

$$\mu = (\lg N_t - \lg N_0) / t \quad (3)$$

式中:  $\mu$  为相对生长速率;  $N_0$  为初始单位体积中的细胞数;  $N_t$  为  $t$  天后单位体积中的细胞数;  $t$  为培养时间  $d$ 。

图 3 给出了  $Pb^{2+}$  的  $\mu$ - $Pb^{2+}$  曲线 ( $Pb^{2+}$  以相应的  $Pb^{2+}$  浓度 (mol/L) 的负对数表示)。生长影响曲线则基本上呈 S 形, 高台区为对藻无影响的范围; 半高台值所对应的铅浓度为铅对螺旋藻的 72 h  $EC_{50}$ ; 拐点则对应于螺旋藻的无生长点。

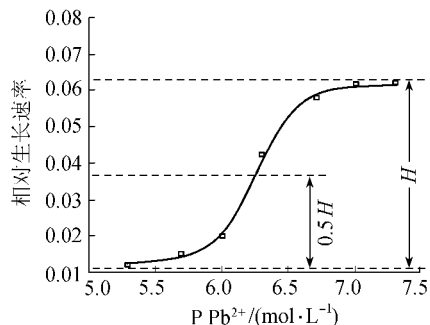


图 3 铅对螺旋藻生长速率的影响曲线

图 3 中的高台区  $H$  为  $Pb^{2+}$  对螺旋藻无影响的范围 (0.0627); 半高台值 (6.257) 所对应的为  $Pb^{2+}$  对螺旋藻的 72 h  $EC_{50}$  (11.46 mg/L), 此时相对生长速率  $\mu$  为 0.036。

## 2.2 铅对螺旋藻生长的影响

测不同铅浓度下螺旋藻藻液的 OD 值 ( $A = 560 \text{ nm}$ ), 得到螺旋藻的生长曲线。如图 4 所示。

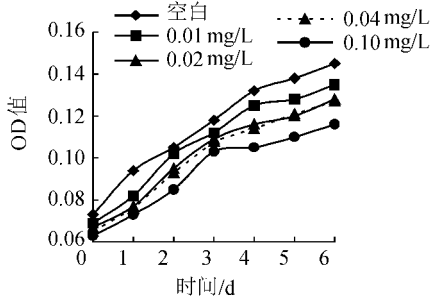


图 4 不同铅浓度下螺旋藻的生长曲线

从螺旋藻的生长曲线可以看出: 存在  $Pb^{2+}$  的藻液 OD 值低于无  $Pb^{2+}$  的藻液, 并且随  $Pb^{2+}$  浓度增加, OD 值降低。不同元素对藻类的生长具有不同的影响, 有些能促进螺旋藻的生长。例如, 质量浓度为 0 ~ 150 mg/L 的碘离子 ( $I^-$ ) 能促进螺旋藻的生长, [ $I^-$ ] < 5000 mg/L 的范围内, 螺旋藻生长都不受抑制<sup>[8]</sup>; 低浓度的硒对螺旋藻的生长有促进作用, 质量浓度大于 60 mg/L 时才出现抑制作用; 铁离子 ( $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ) 可通过与卵磷脂 (PC) 形成络合物, 提高藻胆蛋白的化学稳定性, 防止高温下藻蓝蛋白的变性, 从而对螺旋藻的生长产生促进作用; 等等。图 3 显示 [ $Pb^{2+}$ ] = 0.01 mg/L 时, 相比较无  $Pb^{2+}$  状态, OD 值降低已经比较明显,  $Pb^{2+}$  在低浓度时便已经对藻类的生长产生抑制作用。同样 0.01 mg/L 和 0.02 mg/L, 0.02 mg/L 和 0.1 mg/L 之间 OD 值相差也比较明显, 因此得出,  $Pb^{2+}$  对螺旋藻具有明显的毒害作用; 并且  $Pb^{2+}$  质量浓度越高, 越不利于螺旋藻的生长。

但是 0.02 mg/L 和 0.04 mg/L 之间 OD 值基本接近, 这说明在 0.02 ~ 0.04 mg/L 之间时,  $Pb^{2+}$  质量浓度的增加对螺旋藻的生长可认为影响很小。

总的来说, 虽然螺旋藻的生长出现抑制, 但是 0 ~ 0.1 mg/L 的  $Pb^{2+}$  质量浓度对螺旋藻来说并不致死, 整条曲线总的趋势仍然是上升的, 而且, 后面部分的曲线斜率大体相同。也就是说, 前面大量的藻细胞个体在  $Pb^{2+}$  的作用下死亡后, 剩下的活的藻细胞没有丧失活性, 能继续正常生长繁殖。

## 2.3 培养期间藻液 pH 值的变化

接上一试验, 测得培养期间螺旋藻藻液 pH 值的变化情况如图 5 所示。

螺旋藻是嗜碱性微生物, 起源于高 pH 值环境,

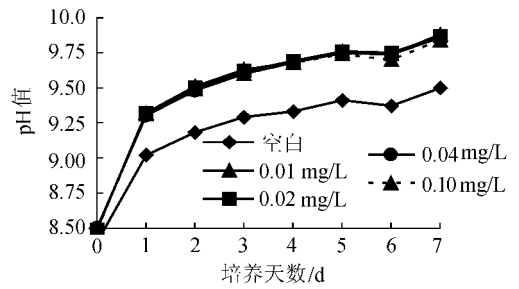
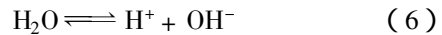
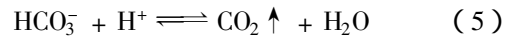


图 5 螺旋藻在不同质量浓度铅溶液下 pH 值的变化并需要一定量的盐度以维持其正常生长。在 pH 值等于 11.5 时抑制生长, 一般在 pH 值等于 5.5 ~ 10 之间都能维持生长, 其细胞稳定生长最佳 pH 值为 7 ~ 9<sup>[9]</sup>。

由图 5 可以看出加入  $Pb^{2+}$  后, 藻液 pH 值高于在无铅环境中。曲线呈不断上升的走势, 即随着培养时间的增加, 藻液 pH 值增大。这是因为, 随着培养时间的增加, 螺旋藻不断生长, 其细胞个数相应增加, 在螺旋藻生长的过程中, 由于强烈的光合作用, 吸收  $CO_2$  放出  $O_2$ , 使  $CO_2-HCO_3^-CO_3^{2-}$  平衡系统发生变化, 如下所示:



由于  $CO_2$  的消耗, 式(5)中离子平衡向右( $CO_2$  生成)方向移动, 消耗  $HCO_3^-$ , 从而使式(4)的平衡也向右移动。式(4)(5)离子平衡的这种变化, 直接导致水溶液中  $H^+$  的消耗, 从而  $OH^-$  增加, 使 pH 值上升。这是溶液中最主要的一个离子平衡变化。

藻细胞的生长同时还消耗掉溶液中的其他一些离子作为自身的营养物质, 比如  $HPO_4^{2-}$ ,  $NH_4^+$  等, 藻细胞对这些离子的利用是复杂的生物过程; 其间各溶解平衡认为也可能导致溶液的 pH 值增大。同时, 作为嗜碱微生物, 螺旋藻自身的一些生物特性分子可能呈碱性。螺旋藻在生长过程中使藻液 pH 值增大。

## 3 结 论

a. 铅对螺旋藻具有毒性。随着铅浓度的增加, 其对螺旋藻的抑制作用也相应增加。

b. 0 ~ 0.1 mg/L 的  $Pb^{2+}$  质量浓度对螺旋藻来说并不致死, 铅浓度增加到一定的程度, 可以导致螺旋藻个体的大量死亡。  $Pb^{2+}$  作用下依然存活的藻细胞能正常地生长繁殖。

c. 螺旋藻在生长过程中能使藻液 pH 值增大。

(下转第 49 页)

表 3 南湖水体中藻类数量与水质监测结果

年份	月份	藻类数量 ( $10^6$ 个·L <sup>-1</sup> )	$\rho(TN)$ (mg·L <sup>-1</sup> )	$\rho(TP)$ (mg·L <sup>-1</sup> )	$\rho(N)/\rho(P)$	pH 值	温度/℃	$\rho(chla)$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	$\rho(SD)$ /m
2000			2.27	0.055	41.2727				
2001			3.18	0.068	46.7647				
	5	1.74	3.50	0.09	38.8889	7.52	20.3	2.594	0.70
	6	8.00	3.67	0.15	24.4667	8.82	31.3	3.072	0.98
	7	12.05	3.20	0.16	20	7.86	34.0	3.344	0.38
2002	8	9.95	3.08	0.15	20.5333	7.91	26.0	3.004	0.70
	10	6.40	2.99	0.12	24.9167	7.88	24.0	2.321	0.73
	11	5.39	3.62	0.12	30.1667	8.42	18.3	1.775	0.88
	12	0.64	4.16	0.07	59.4286	8.02	11.0		1.45
2003	2	0.77	5.80	0.08	72.5	7.87	10.0	1.979	1.23
	3	0.72	5.08	0.07	72.5714	7.64	9.0	2.323	1.95

注： $\rho(TN)$ 、 $\rho(TP)$ 、pH 值由岳阳市环境监测中心站提供，2000 年、2001 年的水质指标值为平均值。

### 3 结 论

a. 南湖浮游植物有 5 个门 59 属 101 种，优势种类是绿藻门，共 38 属 64 种，占总数的 63.6%；其次是蓝藻门，共 15 属 29 种，占总数的 28.7%。

b. 南湖营养状态指数值一年四季均大于 54，说明南湖已经处于富营养化状态。

c. 南湖富营养化生物学评价结果与 1999 年南湖水质评价结果<sup>[1]</sup>一致，表明南湖水质富营养化状态仍没有改变。

#### 参考文献：

[1] 葛大兵, 廖柏寒, 程育芝, 等. 岳阳南湖水环境现状评价及对策[J]. 湖南农业大学学报, 2001(2):128~129.  
 [2] 葛大兵, 廖柏寒, 程育芝, 等. 岳阳南湖水环境容量研究[J]. 湖南农业大学学报, 2001(4):321~323.  
 [3] 刘建康. 东湖生态学研究[M]. 北京: 科学出版社, 1990. 106~128.  
 [4] 朱根海, 宁修仁. 杭州西湖初步治理后的浮游植物现状[J]. 水生生物学报, 1991, 15(2):136~144.  
 [5] 陈菊芳, 王朝晖, 江天久, 等. 广东肇庆星湖浮游生物及其水质的关系[J]. 中国环境科学, 2000, 20(3):258~262.  
 [6] 游江涛, 林秋奇, 胡韧, 等. 飞来峡水库蓄水初期营养状态

及浮游生物分布特征[J]. 生态科学, 2002, 21(1):21~24.  
 [7] 李春艳, 华德尊. 二龙山水库水体富营养化的研究[J]. 环境科学研究, 2002, 15(3):1~5.  
 [8] 陈丽芬, 林秋奇, 胡韧, 等. 亚热带大型水库——新丰江水库的浮游生物群落特征[J]. 生态科学, 2002, 21(2):104~107.  
 [9] 陈丽芬, 胡韧, 林秋奇, 等. 广东沿海与粤北山区中小型水库浮游生物群落比较分析[J]. 生态科学, 2002, 21(1):16~20.  
 [10] 龙思思, 胡韧, 林秋奇, 等. 粤东三个中型水库富营养化特征分析[J]. 生态科学, 2002, 21(2):126~130.  
 [11] 董丽华, 胡韧, 林秋奇, 等. 广东典型小型供水水库——契爷石水库浮游生物与富营养化特征分析[J]. 生态科学, 2002, 21(2):147~151.  
 [12] 魏鹏, 林秋奇, 胡韧, 等. 高州水库水质与浮游生物动态分析[J]. 应用与环境生物学报, 2002, 8(2):165~170.  
 [13] 林桂花, 韩博平. 鹤地水库浮游生物与富营养化特征分析[J]. 生态科学, 2002, 21(3):208~212.  
 [14] 胡韧, 林秋奇, 段舜山, 等. 热带亚热带水库浮游植物叶绿素与磷分布的特征[J]. 生态科学, 2002, 21(4):310~315.  
 [15] 赵帅营, 林秋奇, 胡韧, 等. 汤溪水库的富营养化现状研究[J]. 生态科学, 2002, 21(4):316~319.

(收稿日期: 2004-11-03 编辑: 高渭文)

(上接第 26 页)

#### 参考文献：

[1] Holan Z R, Volesky B. Biosorption of lead and nickel by biomass of marine algae[J]. Biotechnol bioeng, 1994, 43:1001~1009.  
 [2] Fehrmann C, Pohl P. Cadmium adsorption by the non-living biomass of microalgae grown in axenic mass culture[J]. J Appl Phycol, 1993, 5:555~562.  
 [3] Trujillo E M. Mathematically modeling the removal of heavy metals from a wastewater using immobilized biomass[J]. Environ Sci Technol, 1991, 25:1559~1565.

[4] 潘进芬, 林荣根. 海洋微藻吸附重金属的机理研究[J]. 海洋科学, 2000, 24(2):31~34.  
 [5] Zarrouk C. Photosynthesis de Spirulina maxima[M]. Paris: Thesis University of Paris, 1966.  
 [6] 胡先文, 董元彦, 张新萍, 等. 可见分光光度法测定水华鱼腥藻[J]. 华中农业大学学报, 2002, 21(3):295~297.  
 [7] 徐明德, 杜春梅. 有机锡对金藻的毒性效应[J]. 黄渤海海洋, 2001, 19(1):66~69.  
 [8] 杨心宁, 高亚辉, 王大志, 等. 利用螺旋藻富集碘的实验[J]. 台湾海峡, 2002, 21(1):26~32.  
 [9] 周光正. 螺旋藻的物理-化学因素和营养物对其生长的影响[J]. 海洋科学, 1994(6):67~68.

(收稿日期: 2003-12-16 编辑: 高渭文)