Hg²⁺对固定化小球藻污水净化及生理特征的影响*

严国安 李益健

(武汉大学环境科学系,武汉 430072)

摘要 利用褐藻酸钙凝胶包埋固定普通小球藻,对人工配制的含汞污水进行静态净化实验。研究了不同浓度 Hg²⁺ 对固定化小球藻净化污水中氨氮、正磷酸盐的效率及其 4 个生理指标(叶绿素 a、光合强度、生长和过氧化物酶)的 影响,并与悬浮藻对照比较。结果表明:由于小球藻的固定化增加了对 Hg²⁺毒性的抗性,0.2×10⁻⁶浓度的 Hg²⁺对 其净化效率无多大影响,而悬浮藻的净化效率明显下降。随着 Hg²⁺浓度的增加,;固定藻的净化效率逐渐下降,但其 净化效率仍高于不含 Hg²⁺污水中悬浮藻的净化效率。且固定藻的生长、叶绿素 a 含量、光合强度和过氧化物酶活性 与悬浮藻一样随 Hg²⁺浓度的增加而降低,但较悬浮藻高。

关键词 汞,固定化小球藻,污水净化,生理特征。

在污水处理过程中,藻类通过对污染物的 吸收及光合放氧供微生物进行好氧代谢以达到 净化目的。研究藻类对污水的净化及污水中污染 物成分,特别是重金属(如 Hg²⁺)对藻类的毒性 和净化效率影响的报道很多^[1 4]。国外利用固定 藻类净化污水的研究起步不久,研究内容包括对 氦、磷的去除^[5,6],对烃类化合物的净化^[7]和对重 金属汞的吸收富集^[8]。亦有利用固定化藻类进行 毒性试验的研究^[9]。国内仅有采用吸附法固定藻 类净化污水的研究报道较少。本文研究了固定 化小球藻对污水中氨氮、正磷酸盐的净化效率及 不同浓度的 Hg²⁺对其净化效率和生理特征的影 响,为进一步深入研究及应用打下基础。

1 材料与方法

• 6 •

1.1 实验材料

普通小球藻(Chlorella vulagaris)由中国科学院 水生生物研究所淡水藻种库提供。用 Knop 液体 培养基培养 10d 后,均分为 2 份,1 份进行包埋 固定,1 份保持悬浮状态。

1.2 固定化方法

将藻种离心浓缩,弃去上清液后与4%的褐 藻酸钠(分析纯)混合均匀,用滴管吸取滴在0.1 mol/L预冷的 CaCl₂ 溶液中即成褐藻酸钙藻珠, 静置 2h 后取出,用生理盐水及培养液洗涤。藻珠 直径约为 4mm,每个藻珠中含藻细胞 10⁶ 个。 1.3 污水

人工配制:Ca(NO₃)₂ • 4H₂O 0.8g;MgSO₄ • 7H₂O 0.2g;K₂HPO₄ 0.2g;KNO₃ 0.1g;NH₄Cl 0.1 g;FeCl₃ 痕量;水 3000ml_opH 为7 左右。再根据实 验要求加入 Hg(NO₃)₂,配制成含 0、0.2×10⁻⁶、 0.8×10⁻⁶、1.4×10⁻⁶ Hg²⁺浓度的污水。

1.4 实验方法

将固定后的藻珠均分为4小份,分别放入含 有0、0.2×10⁻⁶、0.8×10⁻⁶、1.4×10⁻⁶汞浓度污 水的4个锥形瓶中;将保持悬浮状态的藻亦均分 为4小份,分别倒入另4个装有相同汞浓度梯度 污水的锥形瓶中。每瓶盛污水400ml。然后将锥 形瓶置于光照培养箱中,12W日光灯每天24h 连续光照,控制温度为24±2℃。白天每隔2—4h 轻轻摇动一次。每天定时测定污水中NH⁺-N、 PO³⁻-P和Hg²⁺浓度及藻类的生长、叶绿素a含 量、光合强度和过氧化物酶活性。其中,NH⁺-N 的测定采用纳氏比色法,PO³⁻-P采用钼-锑-铳 分光光度法,Hg²⁺采用双硫腙法^[11]。用分光光度 法测定培养物在660nm波长下的光密度OD₆₆₀

 国家自然科学基金资助项目 收稿日期 1993-12-05 表示藻类生长。通过碘量法测定溶解氧计算光合 强度及用分光光度法测定叶绿素 a 含量和过氧 化物酶活性^[12]。

固定化藻生理指标的测定需先对藻珠进行 脱固定。脱固定方法为将藻珠放入三角瓶中,加 入适量 1.5%的柠檬酸钠后摇动直到藻珠完全 溶解。

2 结果与讨论

2.1 对污水中 NH⁺-N、PO⁺-P 净化效果比较

由表 1、表 2 可知,固定藻对 NH⁺-N、PO⁺-P 的净化效率明显高于悬浮藻,即使在 1.4×10⁻⁶ Hg²⁺条件下,固定藻的净化效率仍高于无 Hg²⁺ 污水中悬浮藻的净化效率。在静态停留 5d 条件 下,无 Hg²⁺污水中固定藻对 NH⁺-N 和 PO⁺-P 的去除率分别达 94.8%和 100%,而悬浮藻仅为 51.9%和 89.7%;0.2×10⁻⁶ Hg²⁺浓度污水中固 定藻的净化效率与无 Hg²⁺污水中的净化效率基 本相同,说明 0.2×10⁻⁶浓度的 Hg²⁺对固定藻的 净化效率无明显的影响,而悬浮藻的净化效率明

表 1 小球藻对 NH⁺-N 的去除比较(mg/L)¹)

时间 (d)	固定藻 Hg ²⁺ (10-6)				悬浮藻 Hg ²⁺ (10 ⁻⁶)			
	0	0.2	0.8	1.4	0	0.2	0.8 1	. 4
0	28.7	28.7	28.7	28.7	28.7	28.7	28.7	28.7
1	22.4	22.4	23.0	24.2	26.0	28.7	28.7	28.7
2	15.1	15.7	20.7	21.0	22.4	23.5	23.8	24.3
3	8.1	10.1	15.8	16.7	17.5	24.9	26.1	26.1
5	1.5	3.0	5.1	10.5	13.8	19.9	25.1	25.3
去除率	94.8	89. 5	82.2	63.4	51.9	30.7	12.5	11.8

1) 去除率单位为%。

表 2	小球藻对	PO ₄ ³⁻ - P	的去除	比较
-----	------	---	-----	----

时间	固定藻 Hg ²⁺ (10 ⁻⁶)				悬浮藻 Hg ²⁺ (10 ⁻⁶)			
(d)	0	0.2	0.8	1.4	0	0.2	0.8	1.4
0	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8
1	4.5	3.3	3.9	4.9	3.8	5.6	5.9	5.9
2	2.9	3.9	3.3	4.6	1.6	5.7	6.1	6.0
3	0.9	2.8	3.6	4.0	0.9	4.7	5.8	5.8
5	0	0	0.6	0.7	0.8	2.2	4.4	4.6
去除率	100	100	92.3	91.0	89.7	71.8	43.6	41.0

1) 同表1注。

显下降;Hg²⁺浓度为 0.8×10⁻⁶、1.4×10⁻⁶的污 水,随着 Hg²⁺浓度增加,固定藻的净化效率平缓 下降,但悬浮藻的急剧下降,即 Hg²⁺对悬浮藻的 毒性影响较固定藻显著。这是由于小球藻通过固 定化后提高了对汞毒性的抗性,载体凝胶保护藻 细胞免受汞毒性的伤害^[13]。因此,固定化小球藻 不仅极大提高了净化效率,而且更适于净化含有 对藻类有致死效应毒物的污水。

 2.2 对污水中 Hg²⁺的净化效果比较 净化结果见表 3。

表 3 小球藻对汞的去除比较"

时间 (d)	固定	藥 Hg ²⁺ (10-6)	悬浮	0-6)	
	0.2	0.8	1.4	0.2	0.8	1.4
1	0.075	0.185	0.150	0.125	0. 220	0. 297
2	0.029	0.092	0.140	0.082	0.196	0.340
3	0.019	0.064	0.085	0.068	0.140	0.330
5	0.0106	0.044	0.035	0.043	0.095	0.324
去除率	94.7	94.5	97.5	79.7	88.1	76.9

1) 同表1注。

由表 3 可见,固定藻对 Hg²⁺的去除明显高 于悬浮藻,污水中 Hg²⁺浓度大小对藻的去除效 果有一定的影响,表现为随着 Hg²⁺浓度负荷增 加,去除效率有所提高。Wilkinson 等^[8]认为固定 化小球藻对汞的去除效率中,藻体的去除作用占 70%,藻类代谢活动引起汞的挥发约占 20%(最 高可达 40%),载体凝胶吸附占 10%。固定藻和 悬浮藻对汞的去除与 Ting 等^[3]报道的悬浮藻对 汞的去除规律一致。小球藻对 Hg²⁺的去除主要 集中在开始的 1-2d 内,由于藻细胞表面的吸附 作用, 起初 2d 的去除速度很快, 其后藻细胞表面 -的 Hg²⁺通过细胞膜向细胞内转运富集,Hg²⁺的 去除速度降低。可见,固定藻对 Hg²⁺的去除也是 -被动吸附起主要作用。Pore^[7]也发现死亡细胞及 细胞壁亦具有这种吸附作用。正是因为藻类对汞 的这一去除规律及去除机制,虽然 1.4×10-6浓 度的 Hg²⁺ 对悬浮藻有致死效应,悬浮藻对 Hg²⁺ 的去除效率较 0.2×10-6、0.8×10-6浓度下的为 ⁻ 低,但仍可达到 76.9%。对 NH⁺-N 和 PO³⁻-P 的 去除亦是如此。

2 -

15卷5期

 2.3 对小球藻生长、叶绿素a含量、光合强度和 过氧化物酶活性的影响

从图 1、图 2 可知,静态净化实验的第 1d 在 0 和 0.2×10⁻⁶Hg²⁺条件下,固定藻生长 OD 值 和叶绿素 a 含量略低于悬浮藻,说明固定藻的初 期由于藻细胞微环境发生改变,具有一个适应期 或伤害期。适应期后固定藻生长 OD 值及叶绿素 a 含量高于悬浮藻。在 0.8×10⁻⁶和 1.4×10⁻⁶ Hg²⁺条件下,固定藻虽有一适应期,但此两浓度 的 Hg²⁺对悬浮藻的毒性较大,使得固定藻的生 长 OD 值及叶绿素 a 含量始终高于悬浮藻。 Chevalier 等^[5]和 Bailliez 等^[14]都认为固定化藻类 细胞叶绿素含量高于悬浮藻细胞可能是由于自 我遮暗和固定状态下入射光减少而促进光合色 素的合成。在 1.4×10⁻⁶Hg²⁺条件下,悬浮藻第 1 天就致死,其叶绿素在第 2 天即全部分解消失。



图 1 小球藥在不同 Hg²⁺浓度下的生长曲线 a、b、e、f 为 0、0.2×10⁻⁶、0.8×10⁻⁶、1.4×10⁻⁶ Hg²⁺浓度下的 固定藥,c、d、g 为 0、0.2×10⁻⁶、0.8×10⁻⁶ Hg²⁺浓度下悬浮藻



图 2 不同 Hg²⁺浓度对小球藻叶绿素 a 含量的影响 b、a、e、f 为 0、0.2×10⁻⁶、0.8×10⁻⁶、1.4×10⁻⁶ Hg²⁺ 浓度下的固定藻,d、c、g、h 为同条件下的悬浮藻

1 这与韩宏英[4]的报道一致。



图 3 不同 Hg²⁺浓度对小球藻光合强度的影响 a、b、e、f 为 0、0. 2×10^{-6} 、0. 8×10^{-6} 、1. 4×10^{-6} Hg²⁺ 浓度下 的固定藥,d、c、g 为 0、0. 2×10^{-6} 、0. 8×10^{-6} Hg²⁺浓度下悬浮藥



浓度下的固定藻,f、d、g、h 为同条件下的悬浮藻

在 0.2×10^{-6} Hg²⁺条件下,固定藻和悬浮藻 的叶绿素 a 含量较无 Hg²⁺条件下的高,可见,0. 2×10^{-6} 浓度的 Hg²⁺ 对固定或悬浮的小球藻有 一定的刺激作用,可促进叶绿素 a 的形成。除此 之外,在 Hg²⁺浓度从 0 到 1.4×10^{-6} 范围内,随 着 Hg²⁺浓度的增加,固定藻和悬浮藻的生长及 叶绿素 a 含量下降。

由图 3、图 4 可见,Hg²⁺浓度在 0—1.4× 10⁻⁶时,随着 Hg²⁺浓度的增加,固定藻和悬浮藻 的光合强度及过氧化物酶活性也随之下降。由于 固定化凝胶对小球藻细胞的保护作用,同一 Hg²⁺浓度条件下,固定藻的光合强度及过氧化物 酶活性总是高于悬浮藻,甚至在 0.8×10⁻⁶和 1. 4×10^{-6} Hg²⁺浓度下,固定藻的光合强度和过 氧化物酶活性仍较 0 和 0. 2×10^{-6} Hg²⁺浓度下 的悬浮藻高。Bailliez 等^[14]曾报道固定化丛粒藻 (*Botryococcus braunii*)细胞光合作用释放的氧是悬 浮藻的 3 倍。由于 1. 4×10^{-6} Hg²⁺使悬浮藻迅速 致死,光合作用停止,其过氧化物酶活性亦很快 完全失活。

将图 1—4 与小球藻对 NH⁺-N 和 PO³⁻-P 的 去除效果相比较发现,小球藻在不同 Hg²⁺浓度 下的净化效率变化与过氧化物酶活性的变化相 当一致。过氧化物酶是一种对逆境胁迫起抗性作 用的酶。可以这样认为,固定化凝胶对藻细胞起 保护作用,特别是保护过氧化物酶等酶系统免受 或少受 Hg²⁺毒性影响,使其仍保持较高的活性, 藻类光合作用等生理代谢得以增强或受抑制程 度较弱。

3 结论

一定浓度的 Hg²⁺对固定化小球藻净化污水 中 NH⁺-N、PO²⁻-P 的效率及其生理特征有明显 影响。0.2×10⁻⁶Hg²⁺对固定藻无影响,而悬浮藻 开始受抑制。0.8×10⁻⁶、1.4×10⁻⁶Hg²⁺随着浓 度增加,固定藻的净化效率逐渐下降,受影响程 度大大低于悬浮藻,其净化效率仍高于无汞污水 中的悬浮藻。

固定化小球藻对 Hg²⁺的去除亦高于悬浮

环境信息。

藻,污水中Hg²⁺浓度负荷增加,固定藻对Hg²⁺的 去除有微弱的提高,其对Hg²⁺的去除过程规律 与悬浮藻相似,去除效果主要表现在开始的第 1、2天。

有关固定化藻类提高污水的净化效率及对 毒物的抗性增强尚需进一步深入研究,特别是固 定化后,藻细胞内在的生理生化机制,如光合磷 酸化、放氧复合物蛋白质组分,酶促防御系统等 等。同时,尚需广泛开展利用固定化藻类在监测、 毒理方面的研究。

致谢 参加工作的还有王志坚、胡玉波、张 忠新等,一并感谢。

参考文献

- 1 Wong P K et al. . Environ. Pollut. . 1991, 72: 127
- 2 Darnall D W et al. . Environ. Sci. Technol. . 1986, 20: 206
- 3 Ting Y P et al. . Biotech. Bioeng. . 1991, 37(5): 445
- 4 韩宏英.环境科学学报.1984,4(2):157
- 5 Chevalier P et al. Biotech. Letters. 1985,7(6):395
- 6 Robinson P K et al. Enzyme Microb. Technol. . 1989, 11:590
- 7 Pore R S, Drug Chem. Tox. . 1984, 7:57
- 8 Wilkinson S C et al. . Biotech. Letters. 1989, 11(12):861
- 9 Bozeman J et al. . Aquat. Tox. . 1989, 14: 345
- 10 陈耀璋等.环境科学.1984,5(4):4
- 11 国家环保局.水和废水监测分析方法(第三版).北京:中国 环境科学出版社,1989
- 12 章骏德等.植物生理实验法.江西:江西人民出版社,1986
- 13 Dainty A L et al. . Biotech. Bioeng. . 1986, 28:210
- 14 Bailliez C et al. . Appl. Microb. Biotech. . 1986, 23:361

美国赫德森河流域大约 20%的水生物种为外来种

据康奈尔大学 Edward Mills 在今年 3 月"国际斑马纹 贻贝大会"上称,赫德森河流域大约 20%的水生物种,是 由美国之外的地区引入的外来种。这一数字是通过对该 地区为期两年的研究得出的。Mills 说:"自 1840 年以来, 每年大约有一个外来种在大湖和赫德森河流域定居。这 两个生态系统的差异是,过去 20 年内,大湖地区的引种 速率已增加,而赫德森河的这一速率则下降。"外来物种 通过与土著物种竞争以及改变生态系统,对生物多样性 构成了危险。例如在纽约州的奥奈达湖,自 1991 年斑马 纹贻贝进入这一水域以来,50%的土著蛤类已死亡。赫德 森河的很多外来物种可能是通过船舶压舱物引入的。 1900年以前,多数船舶靠泥土和石头来压舱,这为植物 提供了媒体。自那时以来,水已成为人们更为喜欢的压舱 物,这可能是这一地区外来物种引入减少的原因。据估 计,美国全国的外来物种比率为 2%-8%。

小康译自 ES&T, 1994, 28(6): 254A

Abstracts

Chinese Journal of Environmental Science

Performance of Modified Polyacrylonitrile-based Activated Carbon Fibers for SO_2 Adsorption. Liu Zhongzheng, Cuan Yaquan et al. (Dept. of Environ. Sci., Chengdu University of Science and Technology, Chengdu 610065); Chin. J. Environ. Sci., 15(5), 1994, pp. 1–5

Polyacrylonitrile-based activated carbon fiber (ACF-PAN) made by the authors in laboratory was modified by adding different active components in order to improve its performance for adsorbing SO_2 . Then ACF-PAN and the differently modified ACF-PANs were studied on their performances for SO₂ adsorption. It was found that the modified ACF-PANs had an equilibrium adsorption capacity which was more than 2 times that of ACF-PAN and about 10 times that of activated carbon (ACF-PAN, 62.9mg/g ACF; ACF- PAN (I)₁₋₄, 113.6-143.7mg/g ACF; AC, 14.9mg/g AC), and an adsorption rate which was more than that of ACF-PAN, so that such a modification made the capacity of adsorbing SO₂ to be largely increased.

Key words: modification, activated carbon fiber, sulfur dioxide, adsorption, polyacrylonitrile.

Effects of Mercury on Sewage Purification and Physiological Characteristics of Immobilized Chlorella. Yan Guo' an, Li Yijian (Dept. of Environ. Sci., Wuhan University 430072); Chin. J. Environ. Sci., 15(5), 1994, pp. 6–9

Chlorella vulgaris entrapped in an alginate gel was used to remove NH_4^+ - N and PO_4^{-3} - P from wastewaters containing different levels of mercury (Hg²⁺) in laboratory, and the effects of mercury on the removals of nutrient salts and on the physiological features such as chlorophyll- a, photosynthetical intensity, growth and peroxidase activity of the immobilized algae were examined and compared with those of free algae (control). It was found that the immobilized algae had an increased resistance to the toxicity of mercury so that a concentration of 0.2×10^{-6} Hg²⁺ or less did not significantly affect its efficiency in removing the nutrients while allowing the free algae to have a significantly reduced efficiency in removing the nutrients. As the Hg^{2+} concentration increased, the immobilized algae had a gradually decreasing removal of nutrients which was still higher than that of free algae in a wastewater without Hg^{2+} . Similarly, the growth, chlorophyll-a content, photosynthetical intensity and peroxidase activity of the immobilized algae decreased with increasing the Hg²⁺ concentration but were still higher than those of free algae.

Key words: mercury, immobilized *Chlorella*, sewage purification, physiological characteristics.

Study on the Optimized Conditions for Entrapping

Anaerobic Activated Sludge in PVA. Min Hang et al. (Dept. of Environ. Sci., Zhejiang University of Agricultrue, Hangzhou 310029); Chin. J. Environ. Sci., 15(5), 1994, pp. 10-14

The optimized conditions under which anaerobic activated sludge was immobilized with a mixed carrier process using polyvinyl alcohol (PVA) as major entrapping material were studied. The mixed carrier consisted of PVA, 0.15% sodium alginated, 2% Fe (iron powder), 0. 3% CaCO₃, and 4% silica gel. It was found that the optimum conditions were the concentration of 8% PVA and the initial concentration of 20% sludge. The pH value of boric acid solution had an effect on the immobilization and the use of sodium carbonate as pH adjusting agent allowed the boric acid in gel solution to have a pH of 6.7 which increased the strength of immobile phase and its activity of producing methane. This mixed carrier process effectively solved the problems that cell technology immobilized applied in the wastewater treatment faced, such as difficulty in forming spherical particles, ease of the particles to be broken, loss of the activity in producing methane, and floatation of the particles upon producing methane.

Key words: PVA, anaerobic aludge, wastewater treatment, conditions for immobilization.

Study on the Transportation and Transformation of Phenol in Saturated Silt Loam. Zhu Wanpeng et al. (Dept. of Environ. Eng., Tsinghua University, Beijing 100084): Chin. J. Environ. Sci., 15(5), 1994, pp. 15-18

The transportation and transformation of phenol in saturated silt loam were studied by means of batch adsorption, batch biodegradation and dynamic soil experiments. column Longitudinal dispersion coefficient (D), adsorption coefficient (K_d) and biodegradation coefficient (K) were obtained through curve fitting and parameter estimation: K_d = 0. $112 \text{cm}^3/\text{g}$, $K = 0.55 \text{d}^{-1}$. The results indicate that phenol was hard to be adsorbed by the silt loam, readily biodegraded in the soil under an aerobic condition, but less biodegraded under an anaerobic condition. The presences of N and P speeded up biodegradation of phenol. Batch tests usually overestimate the K_d values because of the "Solids Effect".

Key words: phenol, silt loam, transportation and transformation.

Relationship of the Contents of Available Trace Elements in Soil to Topographical Units: A Case Study in the Weihui City and Huixian City of the Xinxiang Prefecture, Henan Province. Liu Xiudi and Li Jiyun (Research Center for Eco-Environ. Sci.,