

高铁酸盐对藻类肝毒素的降解

苑宝玲¹, 曲久辉¹, 王敏² (1. 中国科学院生态环境研究中心环境水化学国家重点实验室, 北京 100085, E-mail: yuanbl@hotmail.com; 2. 北京林业大学资源与环境学院, 北京 100083)

摘要: 研究高铁酸盐对悦目颤藻 (*Oscillatoria amoena*) 肝毒素 (*Microcystin*-LR) 的降解效能及其与 pH 的关系。结果表明, 处理有机质含量很高的藻类肝毒素粗提液, 当高铁投加量增到 40 mg/L, pH 控制在 6~10, 肝毒素几乎被完全降解。同时高铁的还原产物 Fe^{3+} 、 $Fe(OH)_3$ 发挥其助凝、絮凝的作用, 对水体中有机质吸附沉降去除, TOC 去除率达到 50% 左右, 铁几乎无残留。高效液相色谱分析发现, 作用机制可能是高铁氧化或异构化 Adda 基团的共轭双键, 使 Adda 基团的结构发生变化, 从而降低其毒性。

关键词: 悦目颤藻; 藻类肝毒素; 高铁; 氧化絮凝

中图分类号: TU991.2 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2002)02-04-0096

Degradation of Cyanobacterial Peptide Hepatotoxins by Ferrate

Yuan Baoling¹, Qu Jiuhui¹, Wang Min² (1. SKLEAC, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085 China, E-mail: yuanbl@hotmail.com; 2. Resources and Environment college, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: In this study, the effect of ferrate oxidation on stability of *microcystins*-LR (MCLR) in freeze-dried *Oscillatoria amoena* was investigated. The toxin was easily decomposed by oxidation with ferrate, and the stability depended on the dosage of ferrate and pH. Simultaneously the product $Fe(OH)_3$ after ferrate oxidation could flocculate the organic compounds so that 50% TOC removal of the extract was reached. The low residual iron reflected the excellent results of coagulation and could meet the standard of drinking water. The results show that ferrate oxidation may be an effective and practical method for the removal of cyanobacterial peptide toxins from drinking water.

Key words: *Oscillatoria amoena*; *microcystin*-LR; ferrate; oxidation

常规水处理工艺絮凝、沉淀、过滤, 对藻类肝毒素的去除效果不佳^[1]; 粉末活性炭和粒状活性炭对藻毒素有吸附降解作用, 但造价比较昂贵^[2]; 生物降解虽然也可以有效的去除藻类肝毒素, 但微生物作用缓慢, 通常需要几天的时间^[3]; Nicholson 等^[4]证明通过氯氧化可以有效去除藻毒素, 但需投加高剂量且需较长的接触时间, 同时可能产生有害的毒素副产物如三卤甲烷等^[5]。

颤藻作为 β 中污水体、 α 中污水体和多污水体的指示种, 它在秋季大量繁殖, 一跃成为水体中第一优势种, 藻类死亡后, 大量肝毒素释放到水体中, 严重污染水体。本文以悦目颤藻为研究对象, 利用多功能高铁的强氧化性和助凝絮凝等作用, 研究其对藻类肝毒素的去除效能和机制。

1 实验部分

1.1 藻种

悦目颤藻 (*Oscillatoria amoena*) 藻种购买于中科院武汉水生生物研究所。

1.2 实验仪器

Yamato 冷冻干燥机 (美国); Beckman J2-HS 冷冻离心机 (美国); Retsch 超声波 (美国); VisiprepTM DL 多歧管固相萃取装置 (Supelco, 美国); Pyrex 过滤器 (Millipore, 美国); 高效液相色谱仪 LC-10A (Shimadzu, 日本); 3 ml Supelclean LC18 固相萃取柱 (Supelco, 美国); 5 μ m 250 \times 4.6 mm C-18 反相色谱柱 (Microsorb, 美国); JTZ1-6 混凝试验搅拌器 (Philip Bird,

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20077031); 中科院研究生科学与社会实践项目

作者简介: 苑宝玲 (1973~), 女, 在读博士生, 主要从事藻类和藻毒素污染方面的研究。

收稿日期: 2001-03-27; 修订日期: 2001-06-04

USA); Z-6100 原子吸收分光光度计 (Hitachi, 日本)。

1.3 主要药剂

(1) 高铁酸钾制备方法 在强碱条件下通氯气得到饱和的次氯酸钠溶液, 加入硝酸铁氧化成高铁, 反应结束后, 过滤去掉溶液中不溶的残渣。由于高铁酸钾的溶解度小于高铁酸钠的溶解度, 所以向溶液投加氢氧化钾至饱和, 在低温下使高铁酸钾沉淀下来, 抽滤得到高铁酸钾晶体, 使用异丙醇洗去残存在产物中的氢氧化钾, 真空干燥除去残留的水分和异丙醇, 最后分析纯度。本研究中, 采用的高铁酸钾为粉末状的固体, 纯度为 90% 以上。

使用方法: 把高铁酸钾固体配制成 1g/L 的浓溶液, 由于高铁酸钾中残留有微量碱固体, 配制好的溶液 pH 在 9~10 之间, 此溶液必须在 1 min 内使用, 否则视为失效。

(2) 色谱纯乙腈; 色谱纯甲醇; 亚沸蒸馏水。

1.4 实验方法

(1) 藻类样品的冷冻干燥 将培养数日后的藻类培养液在 4℃ 10 000r/min 冷冻离心 30 min 后, 收集上清液, 继续培养。离心后沉淀通过 Yamato 冷冻干燥机制成干藻粉, 置于干燥器中, 保存在 4℃ 条件下。

(2) 从干藻粉中释放藻类肝毒素 称取适量冷冻干燥后的干藻粉溶于 30 ml 蒸馏水中, 用超声波震荡此悬浮液 30 min, 然后在 4℃ 10 000r/min 离心 10 min, 取其上清液, 将沉淀超声波震荡 30 min, 在 4℃ 10 000r/min 离心 10 min, 离心后沉淀如未破碎完全, 重复上述步骤。合并多次离心后的上清液, 得藻毒素粗提液, 4℃ 下保存。

(3) 烧杯搅拌试验 在 JTZ1-6 混凝试验搅拌器上进行。将藻毒素粗提液转移至一系列 500 ml 的烧杯中, 依次投加不同量的高铁酸钾进行预氧化, 以 300r/min 的转速快搅 1 min, 然后以 60r/min 的转速慢搅 30 min, 静置沉淀 30 min。

(4) 藻类肝毒素的固相萃取 (SPE) 富集和

HPLC 分析 将离心得到的上清液通过 0.45 μm 膜过滤, 使用 Supelco C18 3 ml 的固相萃取 (SPE) 柱从水样中富集毒素。将待测物过 0.2 μm 膜后, 吸取 20 μl 注入分析柱, 用反相 C18 液相色谱柱, 光二极管检测器在 238 nm 波长处进行毒素分析。流动相为 32% 乙腈-0.01 mol/L pH 7.0 醋酸铵的缓冲液, 以 1 ml/min 流速流动。

2 结果与讨论

2.1 高铁酸盐氧化絮凝对藻类肝毒素和有机质的去除效能

通过投加不同量的高铁酸盐, 考察其对粗提液中藻毒素的降解效能, 结果如图 1。从图 1 可以看出, 藻类粗提液的有机质含量很高, TOC

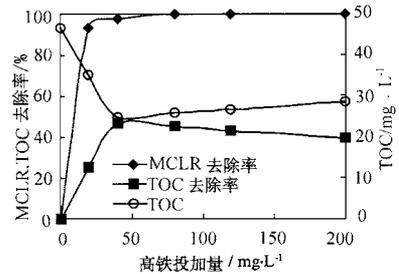


图 1 高铁酸盐对 MCLR 和 TOC 去除效能

Fig. 1 Effect of ferrate treatment on removing MCLR and TOC

值高达 46.8 mg/L, 投加高铁酸盐氧化絮凝, 随着高铁投加量的增加, 藻毒素去除率增高, 有机质含量逐渐降低。当高铁投加到 20 mg/L, 藻毒素去除率为 93%, TOC 去除率为 24.6%; 当高铁投加增至 40 mg/L 时, 藻毒素几乎被全部降解, TOC 值为 24.9 mg/L, 去除率为 46.8%。高铁的强氧化性使粗提液中的藻毒素和其它有机质降解, 高铁自身还原生成 Fe^{3+} 、 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 等还原产物。这些还原产物作为絮凝剂, 凝聚吸附和共沉降藻毒素及其它大分子有机质, 进一步去除藻毒素和有机质。再增加高铁的投加量, TOC 去除率不再增加, 说明高铁降解大分子有机质为中、小分子量的有机质, 它们很难再通过絮凝吸附除去。

2.2 不同反应 pH 对高铁去除藻类肝毒素和有机质的影响

高铁酸盐对藻毒素的氧化絮凝能力受反应 pH 的影响,结果如图 2 所示.在 pH 2,4,6,8,10 的条件下,高铁的氧化絮凝能力不同.当 pH = 2~4,高铁投加量 40 mg/L 时,高铁酸盐的氧化反应速度很快,表现在其紫红色的快速褪去,但产生的矾花很少,絮凝效果差.此时藻毒素的去除率分别为 49%和 72%,TOC 去除率分别为 26.7%和 29.7%.将 pH 调至 6,反应进行平稳,藻毒素去除效能和 TOC 去除率明显提高,分别为 92%和 42.9%.当反应 pH 在 8~10 时,藻毒素去除率增幅不大,说明藻毒素基本已被降解吸附完全;TOC 的去除率呈上升趋势,在 pH = 10 时,TOC 值为 21.9 mg/L,去除率达 53.2%,这说明在偏碱的条件下,更有利于高铁发挥其凝聚吸附作用,对有机质的去除更有效.

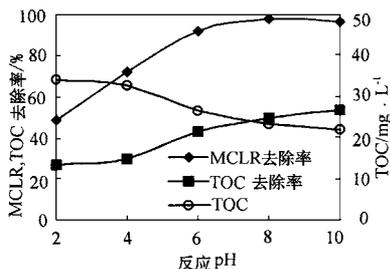


图 2 反应 pH 对高铁去除 MCLR 和 TOC 的影响

Fig.2 Effect of different pH on removing MCLR and TOC

2.3 去除藻类肝毒素过程中残铁量与高铁投加量、pH 的关系

投加高铁降解藻毒素,水中会有铁残留.通过调整高铁投加量和反应 pH,不但要达到降解藻毒素和去除有机质的目的,还要使铁残留量符合饮用水标准.投加不同量的高铁氧化藻毒素(如图 3),当高铁投加量达到 20 mg/L 时,反应后溶液 pH 为 8.6,藻毒素去除率为 92%,铁残留量达 2.87 mg/L,超过饮用水标准的 0.3 mg/L.增大高铁量到 40 mg/L,高铁自身分解氧化絮凝作用强,反应后溶液 pH 为 9.1,不但使藻毒素去除率提高到 98%,也使生成中间价态铁全部絮凝,基本上溶液中无铁残留,达到水质标准.控制适宜的反应 pH 到 6~10,投加 40 mg/L 高铁,反应后溶液 pH 均为 9.2,藻毒素去除效果在 92%以上,TOC 去除率在 42%以

上,铁几乎无残留,符合饮用水标准(如图 4).

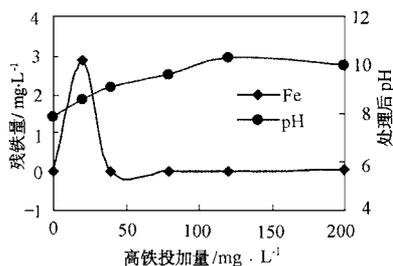


图 3 高铁处理后粗提液的残铁量和 pH 变化

Fig.3 The changes of residual iron and pH after ferrate treatment

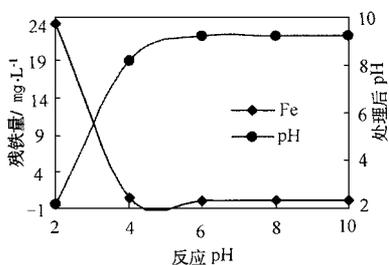


图 4 不同 pH 反应条件下粗提液残铁量和 pH 的变化

Fig.4 The changes of residual iron and pH under different pH

2.4 高铁降解肝毒素的机理探讨

Harada 等人^[6]研究表明,肝毒素的毒性主要是由 Adda 基团引起的,Adda 基团的微小变化将导致肝毒素毒性的降低.所以高铁氧化降解肝毒素,去除其毒性的关键是破坏 Adda 基团的结构.从藻类肝毒素的结构可以看出,Adda 基团主要是一个芳环加一个共轭的双键,它的最佳检测波长在 238nm.图 5 所示为投加高铁酸盐前后藻类肝毒素的色谱图结构变化.由图可以看出,未投加高铁酸盐,在保留时间

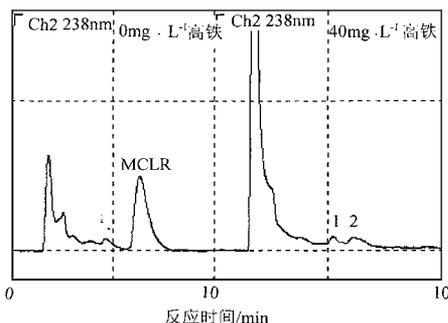


图 5 高铁降解藻类肝毒素 (MCLR) 的液相色谱图

Fig.5 Chromatograms of microcystin-LR

6.28 min 时,肝毒素出峰;投加高铁酸盐降解肝毒素后,保留时间为 6.28 min 的肝毒素峰消失,谱图上出现 2 个新的小峰,扫描其紫外光谱发现,这 2 个新峰的紫外最大吸收波长发生了蓝移,移动 10nm 左右.这说明肝毒素被破坏,Adda 基团结构发生变化.作用机制可能是高铁氧化或异构化 Adda 基团中的共轭双键,从而降低了肝毒素的毒性.

3 结论

本研究针对藻毒素污染问题,利用高铁酸盐的氧化絮凝作用降解藻类肝毒素.研究结果表明,在适宜的 pH 条件下,投加一定量的高铁酸盐,对藻类肝毒素的降解有很好的效果.同时对水体中的高含量有机质也有一定去除效能.从 HPLC 谱图结果分析可以推断,高铁酸盐降解肝毒素可能是通过氧化或异构化 Adda 基团中的共轭双键,使 Adda 基团结构发生变化,从而降低了肝毒素的毒性.因此,高铁是一

种非常有效的去除藻毒素的方法,而且高铁酸盐是无污染药剂,投加到水体中,快速分解对环境不造成二次污染.

参考文献:

- Keijola A M, Himberg K, Esala A L, Sivonen K Hiisvirta L. Removal of cyanobacterial toxins in water treatment processes: laboratory and pilot-scale experiments. Toxic. Assess., 1988, 3: 643 ~ 656.
- Timothy W L, Charles F B H, Steve E H. Adsorption of *Microcystin*-LR by activated carbon and removal in full scale water treatment. Wat. Res., 1996, 30: 1411 ~ 1422.
- Angeline K-Y L, Phillip M F, Ellie E P. Biotransformation of the cyanobacterial hepatotoxin *Microcystin*-LR, as determined by HPLC and protein phosphatase bioassay. Environ. Sci. Technol., 1995, 29: 242 ~ 246.
- Nicholson B C, Rositano J, Burch M D. Destruction of cyanobacterial peptide hepatotoxins by chlorine and chloramine. Water Res., 1994, 28: 1297 ~ 1303.
- Hoehn R C, Barnes D B, Thompson B C, Randall C W, Grizzard T J, Shaffer P T B. Algae as sources of trihalomethane precursors. Journal of American Water Works Association, 1980, 72: 344 ~ 350.
- Harada K-I, Ogawa K, Matsuura K, Murata H, Suzuki M. Structural determination of geometrical isomer of microcystins LR and RR from cyanobacteria by two dimensional NMR spectroscopic techniques. Chem. Res. Toxic., 1990, 3: 473 ~ 481.

中国科技期刊总被引频次前 50 名排序表(2000 年度)¹⁾

名次	期刊名称	总被引 频次	影响 因子	名次	期刊名称	总被引 频次	影响 因子
1	科学通报	2979	0.620	26	中国农业科学	976	0.681
2	世界华人消化杂志	2954	2.700	27	化学学报	964	0.530
3	分析化学	2268	0.909	28	环境科学	948	0.724
4	中华外科杂志	2084	0.642	29	昆虫学报	937	0.613
5	中华骨科杂志	2063	0.816	30	中华血液学杂志	934	0.428
6	高等学校化学学报	1987	0.704	31	理化检验化学分册	929	0.138
7	植物学报	1918	0.823	32	地质论评	907	1.337
8	中华放射学杂志	1865	1.037	33	中国药理学杂志	888	0.538
9	中华医学杂志	1652	0.553	34	作物学报	864	0.609
10	中华妇产科杂志	1526	1.008	35	中华消化杂志	855	1.086
11	中华内科杂志	1492	0.976	36	地球物理学报	852	0.693
12	WORLD J OF GASTROENTEROLOGY	1394	2.616	37	植物生理学报	848	0.774
13	中国中西医结合杂志	1384	0.598	38	电力系统自动化	839	0.722
14	中国实用外科杂志	1383	0.823	39	金属学报	832	0.508
15	中华儿科杂志	1378	0.937	40	生态学报	820	0.477
16	药学学报	1288	0.668	41	中华神经外科杂志	805	1.076
17	中草药	1250	0.463	42	中国超声医学杂志	802	0.535
18	中华心血管病杂志	1197	1.055	43	中华耳鼻咽喉科杂志	779	0.857
18	植物生理学通讯	1197	0.399	44	中国机械工程	778	0.562
20	中华结核和呼吸杂志	1192	0.872	45	电子学报	777	0.337
21	中华肿瘤杂志	1187	0.811	46	园艺学报	729	0.656
22	中华泌尿外科杂志	1157	0.556	47	中华眼科杂志	722	0.573
23	中国科学 B	1119	0.608	48	光学学报	721	0.350
24	物理学报	1056	0.603	49	化学通报	713	0.447
25	中国中药杂志	1003	0.472	50	中华病理学杂志	712	0.837

1) 中国科学技术信息研究所,中国科技期刊引证报告,2001-11.