

藻细胞不同生长阶段的海泡石凝聚除藻性能

陈灏¹, 潘纲^{1,2*}, 张明明¹

(1. 中国科学院生态环境研究中心环境水质学国家重点实验室, 北京 100085; 2. 青岛科技大学, 青岛 266042)

摘要:对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa* 469)的 4 个不同生长阶段:延迟末期,对数中期,对数末期和衰老初期的表面疏水性(疏水分配法)和表面电性(Zeta 电位)进行了测定,并利用 0.2 g/L 的海泡石进行了凝聚除藻性能实验.结果显示以上 4 个生长阶段的藻细胞表面疏水性平均为:64%, 48%, 58%和 70%,而凝聚沉降 60 min 后的藻细胞去除效率为:97%, 87%, 81%和 99%,表明藻细胞表面疏水性与粘土凝聚性能之间有较好的相关性($R = 0.7 \sim 0.8$),但与表面电性的关系不大. *M. A. 469* 各个生长阶段的表面疏水性和凝聚性能的强弱顺序可依次确定为:衰老期 > 延迟期 > 对数增长期.

关键词:蓝藻;生长期;疏水性;表面电性;凝聚性能

中图分类号:X171.5 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2004)06-0085-04

Effect of Growth Phase on the Flocculation of Algal Cells Using Clays

CHEN Hao¹, PAN Gang^{1,2*}, ZHANG Ming-ming¹

(1. State Key Laboratory of Environmental Aquatic Chemistry, Research Centre for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. Qingdao University of Science and Technology, Qingdao 266042, China)

Abstract:Four different growth phases, late lag phase, middle logarithmic phase, late logarithmic phase and early senescence phase of *Microcystis aeruginosa* 469 were studied for their surface hydrophobicity (xylene-water system) and surface charge (Zeta potential), followed by flocculation tests with sepiolite of 0.2 g/L. The results showed that the values of hydrophobicity were 64%, 48%, 58% and 70%, and the algal removal efficiencies after 60 min were 97%, 87%, 81% and 99% respectively, indicating a good relationship between surface hydrophobicity and removal efficiency ($R = 0.7 \sim 0.8$), but not the surface charge. Surface hydrophobicity and removal efficiency for the algal cells of *Microcystis aeruginosa* both varied with growth phase in a sequence of senescence phase > lag phase > logarithmic phase.

Key words: cyanobacterium; growth phase; hydrophobicity; surface charge; flocculation ability

目前我国天然水域富营养化问题日趋严重,有害藻华频繁暴发,有必要对各类综合除藻方法包括应急除藻方法进行研究.国内外学者已先后研究了多种应急除藻方法,其中,粘土凝聚沉降除藻的方法受到日益广泛的关注^[1,2].粘土的来源充足,天然无毒,使用方便,耗资少,尤其是当发生藻华的规模大到一定程度,各类基于人工“取出”的技术或者人工生态工程由于成本的原因无法实施时,粘土除藻更具优势.目前,粘土除藻的主要不足是对粘土-藻类凝聚机理缺乏基础性研究,限制了其实用性;另外,需要进一步研究开发新的配套技术解决沉降到底的藻类分解引起的“二次污染”问题.随着研究的深入,粘土除藻技术的改进和发展,这些不足都有可能得到改进,甚至转化为优势.因此在大面积藻华治理中,粘土除藻,特别是其改进技术被认为是很有前景的方法之一^[2-4].

粘土对藻类的凝聚动力学及其作用机理研究方面已有了一定的进展^[2],然而从藻类尤其是从藻类不同生长阶段的角度考察总体凝聚效果的研究还不够深入.因为藻细胞具有不同于无机颗粒物的物质

构成和形态,有着随不同生长阶段而变化的生理生命活动,所以藻细胞会表现出不同的吸附和凝聚性能^[5-7].藻类影响凝聚的因素很多,有涉及藻类内部生理特征的,如气囊等胞内结构,也有涉及其表面特性的,如细胞分泌物、表面电荷基团等.但就某一特定藻种及其特定生长阶段,其凝聚性能主要是由其外部整体性质决定的.研究藻类外部凝聚性能,疏水性是一个重要参数,它是细菌和藻类非特异性粘附到各种生物和非生物固体表面及界面的最重要动力之一^[8];又根据 DLVO 凝聚理论,相互凝聚颗粒间的电性作用在凝聚过程中也起着重要作用.因此,本文将采用藻细胞的疏水性和表面电性来表征和研究藻细胞整体的粘土凝聚性能.

1 材料与方法

1.1 藻及粘土

收稿日期:2003-12-08;修订日期:2003-12-25

基金项目:国家“十五”重大科技专项(2002AA601011);国家自然科学基金资助项目(20177029)

作者简介:陈灏(1964~),男,副研究员,研究方向为生物地球化学.

* 通讯联系人, E-mail: gpan@mail.rcees.ac.cn

铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa* 469)是常见于我国淡水湖泊水华的藻种之一,购自中科院武汉水生生物研究所国家淡水藻种库(FACHB),编号为FACHB-469.培养条件为:24℃±1℃,光强1000 lx左右,光暗比L:D=12:12,MA培养基.藻细胞的生物量用各个生长期的藻液在680nm波长处的光密度值(OD₆₈₀)表示.

粘土材料选用湖南株洲出产的海泡石(海泡石90%,滑石等10%),比重为2~2.5g/cm³.体积加权平均粒径22.0μm,表面积加权平均粒径5.2μm,中值粒径16.4μm.

1.2 表面疏水性及表面电性

细胞疏水性的测定和表征目前主要包括2类方法:一是接触角法,通过测量水滴和细胞的接触角,并用相应的角度值来表征疏水性;二是疏水分配法,通过测定细胞在水相和有机相中的分配值来表征;两者具有很好的相关性^[6,8].本研究采用疏水分配法以及比较适合于研究藻细胞表面疏水性的二甲苯-水两相体系.

将不同生长期的藻细胞离心(12000 r/min,10 min)收获,用Na₂HPO₄-NaH₂PO₄缓冲液(c=0.2 mol·L⁻¹,pH=7.0)稀释藻细胞,使细胞浓度(n)达到约4.78×10⁶ mL⁻¹.参照Rosenberg等^[5]介绍的方法,选用内径d=10 mm的圆底试管.于管内加入4.0 mL藻液后加入0.5 mL,0.8 mL(10%~20%)二甲苯,用玻璃塞封口.室温下(20℃±1℃)剧烈振荡2 min,静置15 min,使两相完全分离.

藻细胞在相分离过程中发生疏水分配.根据下相水溶液中藻细胞数量的减少,确定细胞的表面疏水性.用注射针头吸取下相水溶液,测定其在680nm波长处的光密度值OD₆₈₀(表示藻细胞数量).依公式计算疏水分配值,H(Hydrophobicity)=[OD₀₆₈₀-OD₁₆₈₀]/OD₀₆₈₀×100%.

对于表面电性的测定使用Zeta电位仪.用0.5% NaCl溶液配置粘土或藻颗粒悬浊液(接近凝聚体系中的浓度),并用HCl和NaOH的稀溶液将其调节至一定的pH.在Zeta电位仪上测定,重复3次,取平均值.

2 结果与讨论

2.1 藻的生长曲线

图1为铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa* 469)的生长曲线.从该曲线可以大致划分出*M. aeruginosa* 469的几个生长阶段(初始接种量为

OD₆₈₀=0.02):0~9 d为延迟期,9~27 d为对数生长期,27 d后则进入衰老期.选取9 d、14 d、22 d、27 d作为铜绿微囊藻典型生长阶段,分别属于延迟末期(或对数初期),对数中期,对数末期,衰老初期.

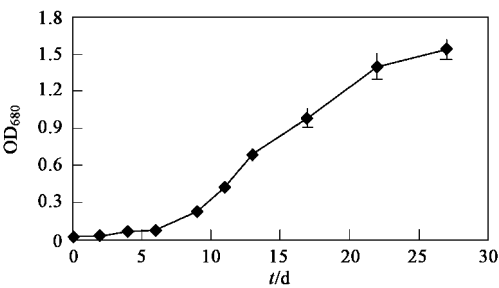


图1 *M. aeruginosa* 469 生长曲线
Fig.1 Growth curve of *M. aeruginosa* 469

2.2 疏水性

在*M. aeruginosa* 469的各个生长阶段,藻细胞的疏水性如表1所示,表1中分别列出了延迟末期,对数中期,对数末期和衰老初期在2种有机相(二甲苯,xylene)比例中的疏水性.藻细胞向有机相分配的比例越多,说明该时期的藻细胞的疏水性越强,即藻细胞的表面粘附性越强.由表1可见,在相同的有机相比例下,*M. aeruginosa* 469在衰老初期疏水性最强,延迟末期次之,而在对数期最差.随着有机相比例的增加,藻细胞向有机相分配的比例略有增大,但仍然保持着上述的变化规律.

表1 *M. aeruginosa* 469 藻细胞各生长阶段的疏水性/%
Table 1 Surface hydrophobicity of *M. aeruginosa* 469 in different growth phases/%

<i>M. aeruginosa</i> 469	4.0 mL	延迟末期	对数中期	对数末期	衰老初期
		(9 d)	(14 d)	(22 d)	(27 d)
二甲苯	0.5 mL	61	46	55	68
(Xylene)	0.8 mL	67	50	62	71

2.3 电性

M. aeruginosa 469在不同生长阶段的电动电位(Zeta电位)随pH值的变化曲线如图2所示.总体来说,9 d、14 d、22 d和27 d 4条电位曲线有随pH值升高而降低的趋势,27 d的电位始终保持最低.在凝聚体系的pH8.0附近,3个生长阶段(延迟末期,对数中期和对数末期)的藻细胞的电动电位均在-10.0 mV左右,而衰老初期的藻细胞则约为-15.0 mV.

2.4 藻细胞不同生长阶段对其凝聚性能的影响

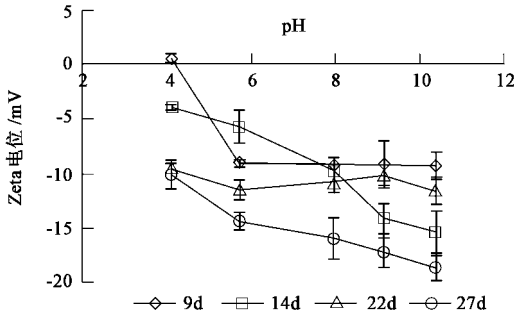


图2 *M. aeruginosa* 469 藻细胞各生长阶段的电性

Fig.2 Surface charge of *M. aeruginosa* 469 in different growth phases

凝聚性能试验所用絮凝剂为海泡石(180 目过筛),投加量为 0.2 g/L,凝聚搅拌条件为:400 r/min,1 min,然后 50 r/min,5 min;pH8.0.不同生长阶段铜绿微囊藻 *M. aeruginosa* 469 的凝聚性能试验结果如图 3 所示.图中 4 条曲线分别为 *M. aeruginosa* 469 生长 9 d、14 d、22 d 和 27 d 时的凝聚动力学曲线.

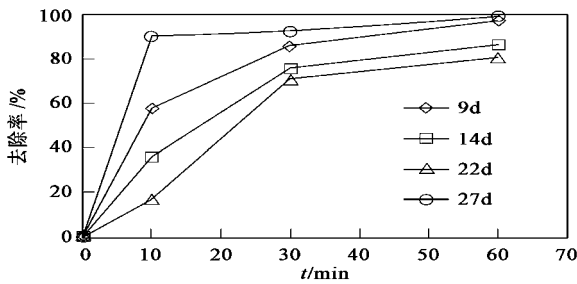


图3 *M. aeruginosa* 469 各生长阶段的藻细胞凝聚性能

Fig.3 Flocculation abilities of *M. aeruginosa* 469 in different growth phases

从图 3 可见,衰老初期(27d)的藻细胞显示了更快的凝聚速率和更高的除藻率,沉降 10 min 后就达到 90 %的藻细胞去除率(与此相比,9 d、14 d 和 22 d 的分别为 58 %、36 %和 17 %),沉降 60 min 后,去除效率更是达到了 99 %,而 9 d、14 d 和 22 d 的分别为 97 %、87 %和 81 %.

综合比较凝聚除藻速率和效率,各生长阶段 *M. aeruginosa* 469 藻细胞的凝聚性能排序为:衰老初期 > 延迟末期 > 对数期.这一结果与罗岳平等^[7]报道的小球藻(*Chlorella vulgaris*)在各个生长阶段的凝聚性能顺序(衰老期 > 稳定期 > 对数增长期)相近.

将 *M. aeruginosa* 469 的疏水性-生长期曲线和凝聚效率-生长期曲线进行比较,可得到如图 4 所示结果,其中 2 条虚线分别为二甲苯体积为 0.5 mL 和 0.8 mL 时的疏水性-生长期曲线,而另外 3 条实线分别为凝聚沉降时间为 10 min、30 min 和 60 min 时得到的凝聚效率-生长曲线.由图 4 可见,2 条疏水性-生长曲线和 3 条凝聚效率-生长曲线走向大致相同(相关性 $R = 0.7 \sim 0.8$),均向下凹陷,即在对数增长长期时,藻细胞的疏水性和凝聚性能均有所降低,而在延迟末期和衰老初期藻细胞均表现出较强的疏水性和凝聚性能.

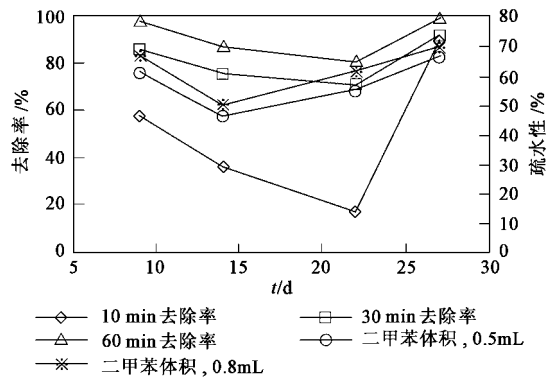


图4 藻细胞(*M. aeruginosa* 469)表面疏水性及其凝聚性能相关分析

Fig.4 Relativity analysis on surface hydrophobicity of *M. aeruginosa* 469 and their flocculation abilities in different growth phases

藻细胞的疏水性直接与其表面物质组成有关.研究认为,真核藻细胞的表面物质结构包括细胞壁、胶被及疏松结合在胶被外的胞外化合物等.其中,细胞壁的结构相对固定,疏水性受环境影响不大;而胶被及附着其上的胞外物质在细胞的生理和生活过程中不停地经历着合成、改变和脱落.蓝藻细胞膜外层及胞外物质主要由糖类、脂质、蛋白质类等构成,因此细胞表面存在着大量的羟基、氨基和酰基等极性基团,它们共同造成了藻细胞表面的电位,同时也使藻细胞表面具有一定的粘性.一方面,藻细胞因不同的生理活动,或处于不同的环境和营养条件,或处于不同的生长阶段,其表面性质会有所不同;另一方面,这些基团受周围环境条件(pH 和离子强度等)的影响而发生水解和离子化等作用,也会导致细胞表面电位的变化.

值得注意的是,海泡石在 pH8.0 附近的 Zeta 电

位为 -25 mV 左右^[2],与藻细胞同带负电,其间应当具有较强的静电排斥作用.但从图 3 可见,衰老末期的藻细胞虽然电位最低(-15 mV),但其凝聚性能仍然是最好的,可能是疏水性起了更为主导的作用.

3 结论

铜绿微囊藻(*M. aeruginosa* 469)在不同的生长阶段表现出了不同的疏水性和表面电位.藻细胞疏水性呈现出衰老初期 > 延迟末期 > 对数期的变化趋势,而藻细胞表面电位(Zeta 电位)则大致呈现出延迟末期 > 对数期 > 衰老初期的特征.使用海泡石进行的凝聚性能试验显示,不同生长阶段藻细胞的凝聚性能具有衰老初期 > 延迟末期 > 对数期的变化规律,与藻细胞疏水性的变化趋势基本一致,具有较高的相关性($R=0.7\sim 0.8$).

虽然细胞表面疏水性与表面电位在其产生的物质上具有一定的关联性,但对藻细胞凝聚性能的影响则以疏水性为主,表明藻细胞分泌物质随其生长阶段及环境而变化的复杂性.鉴于铜绿微囊藻衰老

期藻浓度高,对水质的破坏作用显著,其具有的较强凝聚性能的特点,有助于粘土凝聚除藻,治理水华,值得进一步研究.

参考文献:

- [1] Anderson D M. Turning back the harmful red tide [J]. Nature , 1997 , 388 : 513 ~ 514 .
- [2] 潘纲,张明明,闫海,邹华,陈灏. 粘土絮凝沉降铜绿微囊藻的动力学及其作用机理[J]. 环境科学, 2003 , 24(5) : 1 ~ 10 .
- [3] 邹华,潘纲,陈灏.壳聚糖改性粘土对水华优势藻铜绿微囊藻的絮凝去除[J].环境科学, 2004 , 25(6) : 40 ~ 43 .
- [4] 潘纲,邹华,陈灏. 用湖泊沉积物治理水华和底泥二次污染的技术[P]. 中国专利 : 200310113305 .5 .
- [5] Pieterse J H , Cloot A . Algal cells and coagulation , flocculation and sedimentation process [J]. Wat . Sci . Tech . , 1997 , 36 (4) : 111 ~ 118 .
- [6] Rosenberg M , Gutnick D , Rosenberg E . Adherence of bacteria to hydrocarbons : a simple method for measuring cell-surface hydrophobicity [J]. FEMS Microbiol Lett , 1980 , 9 : 29 ~ 33 .
- [7] 罗岳平,等. 小球藻表面疏水性的研究[J]. 应用与环境生物学报, 1999 , 5(5) : 491 ~ 495 .
- [8] Rosenbery M , Kjelleberg S . Hydrophobic interactions : role in bacterial adhesion [M]. In : Advances in Microbial Ecology , Marshall , K. C . , ed . , New York : Plenum Press , 1986 .