

海洋赤潮生物原甲藻对重金属的富集机理

赵玲¹, 尹平河¹, Qiming Yu², 齐雨藻¹ (1. 暨南大学生命科学技术学院, 广州 510632, E-mail: tyinph@jnu.edu.cn; 2. School of Environmental Engineering, Griffith University, QLD 4111, Australia)

摘要:为了探讨海洋赤潮生物原甲藻及其藻壁多糖的重金属富集机理,用赤潮生物海洋原甲藻 *Prorocentrum micans* 活藻体和甲醛杀死的藻体分别进行重金属离子 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ag^{+} 、 Cd^{2+} 的生物吸附实验. 重金属生物吸附动力学研究表明,吸附过程可在 30 min 内完成, pH 对吸附的影响较大,适宜范围是 5.0 以上. 用热水法提取的藻体多糖对上述 6 种离子的混合液吸附量约为藻体的 5 倍,比较藻体与多糖对 6 种离子的吸附结果可知,藻体对金属离子的吸附主要是藻壁多糖的作用,红外研究表明, $-\text{OH}$ 和 $-\text{CONH}_2$ 基是吸附的活性中心. 机理研究对于利用赤潮生物进行重金属废水处理、赤潮的化学治理以及研究海水中重金属离子的迁移转化规律有重要的意义.

关键词:海洋原甲藻; 赤潮生物; 重金属离子; 生物吸附; 海藻多糖

中图分类号: X55 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2001)04-04-0042

Bioaccumulation Mechanism of Red Tide Alga *Prorocentrum micans* for Heavy Metal Ions

Zhao Ling¹, Yin Pinghe¹, Qiming Yu², Qi Yuzao¹ (1. College of Life Science & Technology, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 2. School of Environmental Engineering, Griffith University QLD 4111, Australia)

Abstract: Pollution of heavy metal from industrial wastewater is a worldwide environmental problem. Biosorption is an effective technology for the treatment of low concentration industrial wastewater. The purpose of this study was to evaluate the heavy metal uptake capacities of the biomass of marine red tide *Prorocentrum micans*. All red tide biomass used in this study were obtained from cultivation in our lab. Batch experimental results showed that living and non-living biomass of *P. micans* killed by CH_2O were similar setting property for Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ag^{+} and Cd^{2+} . This study indicated that biomass of *P. micans* has a high capacities for above six heavy metal and the kinetics under the conditions studied were relatively fast. About 90 % of the biosorption occurred within 10 min and an equilibrium was reached in 30 min. The Biosorption capacities for heavy metal ions were strongly dependent on pH of the solution, and higher capacities were obtained at pH around 5 and higher. Bonding and FIR of *P. micans* polysaccharide obtained by the hot water method for Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ag^{+} and Cd^{2+} was also studied. The study indicated that $-\text{OH}$ and $-\text{CONH}_2$ groups were active center of biosorption.

Key words: biosorption; heavy metal ions; polysaccharide of *Prorocentrum micans*

藻类对环境中的重金属有强的吸附和富集作用^[1~6], 并且可在较短时间内达到吸附平衡. 赤潮藻对重金属的吸附和富集及其机理研究鲜见报道. 本文对海洋原甲藻及其藻多糖对重金属离子的吸附作用进行了研究, 探讨海洋赤潮生物原甲藻及其藻壁多糖的重金属累积机理, 以期研究赤潮生物对重金属元素在海水中的迁移和赤潮生物的环境影响提供科学依据.

1 实验材料和方法

1.1 赤潮藻的培养

海洋赤潮原甲藻藻种(*Prorocentrum mi-*

基金项目: 广东省自然科学基金重大资助项目(000727)

作者简介: 赵玲(1965~), 女, 硕士, 讲师, 主要研究方向为化学污染与防治.

收稿日期: 2000-09-17

cans) 由暨南大学生命科学技术学院水生生物研究所提供,培养基是自然海水改良培养液经过高温高压灭菌.实验前 2 周将藻种转移到 500 ml 三角瓶进行扩大培养和驯化培养,4d 移种 1 次,在通风的光照培养箱中培养,控制温度 21℃,光照强度为 3000 lx,光暗比 L:D 为 12:12.

1.2 藻多糖的提取和纯化^[7]

用热水提取法直接提取细胞壁多糖^[8],粗提取液用氯仿脱蛋白后,用乙醇沉淀出粗多糖.粗多糖用 2cm × 10 cm DEAE-纤维素 D-23 柱纯化,用蒸馏水平衡,上样后用 0.05 ~ 0.50 mol·L⁻¹ NaCl 梯度洗脱,用硫酸-苯酚法检测多糖,收集多糖洗脱液.然后用水透析除去 NaCl,于 80℃ 水浴加热浓缩后,进一步用 2cm × 60cm Sephadex G-200 柱纯化.样品用 0.1 mol/L NaCl 透析至平衡,上样后用 0.10 mol/L NaCl 洗脱,收集多糖洗脱液,用水透析除去 NaCl 后,冷冻保存备用,此时糖浓度为 533 mg/L,经柱层析纯化后的多糖分别用纸层析和聚丙烯酰胺电泳法测定纯度.

1.3 吸附动力学特性

取浓度为 0.50 mmol·L⁻¹ 的单一金属离子溶液 100 ml,调 pH = 6.0,然后加入一定量的鲜藻体,室温(25℃)振荡器中振荡,定时在 5、10、20、30、40、50、60 min 用 0.45 μm 针头式过滤器取样,测定残留在溶液中的金属离子浓度.

1.4 溶液 pH 对吸附的影响

根据实验 1.3 中吸附动力学特性可知,赤潮生物对重金属离子的吸附速度较快,一般在 30 min 内即可达到平衡,考虑溶液 pH 不同,吸附速度会有所变化,达到平衡所需时间也将发生变化,因此选定吸附时间为 60 min 来研究 pH 对平衡吸附量的影响.取 0.50 mmol·L⁻¹ 单一金属离子溶液 100 ml,在 pH 计上用 1% NaOH 或 1% HNO₃ 调节 pH 到所需值(为了避免金属离子沉淀对吸附的影响,pH 大于 8.0 以上未研究),加入一定量的鲜藻体,振荡 60 min,然后用 0.45 μm 滤膜滤取清液,原子吸收测定金属离子浓度.

1.5 藻体和多糖对金属离子的吸附测定

按 GB7475-87 配制 200 mg·L⁻¹ 的 Cu²⁺、Pb²⁺、Ni²⁺、Zn²⁺、Ag⁺、Cd²⁺ 离子的标准储备液,然后配制成 20.0 mg·L⁻¹ 的金属离子混合使用液(pH = 6.0).另取对数增长期的藻液 2 份,其中一份加入 4% 甲醛(CH₂O)溶液用以杀死藻体.滤纸滤出藻体,用蒸馏水洗涤干净.从 2 份滤出的藻体中各取样 2.0 g,分别放入 2 只盛有 50 ml 金属离子混合使用液的烧杯中,25℃ 下搅拌 60 min,然后用 0.45 μm 针头式过滤器取清液,用原子吸收(HITACHI 180-80)测定残留金属离子浓度.称 3 份 2.0 g 新鲜藻体用烘干法测定平均含水率,然后计算出干重藻体对金属离子的吸附量和富集系数.取 10 ml 透析过的多糖溶液置于干净的透析袋中,将此透析袋放入 100 ml Cu²⁺、Pb²⁺、Ni²⁺、Zn²⁺、Ag⁺、Cd²⁺ 混合离子使用液中,在 21℃ 放置 24h 后,测定各金属离子浓度和多糖浓度,计算多糖对各金属离子的吸附量和富集系数.用 10 ml 蒸馏水代替上述多糖溶液进行对照实验.

2 实验结果及讨论

2.1 海洋原甲藻对 Cu²⁺、Pb²⁺、Ni²⁺、Zn²⁺、Ag⁺、Cd²⁺ 的吸附

实验结果表明,经海洋原甲藻吸附 60 min 后,金属离子混合使用液中各金属离子的浓度显著地下降.藻体对 Pb²⁺ 的富集系数最大,Zn²⁺ 和 Cd²⁺ 的富集相对较小.藻体被甲醛杀死后仍具有相似的吸附能力,实验结果见表 1.

藻类吸附重金属离子的过程由 2 个阶段组成,第一阶段是吸附,第二阶段是转移.前一阶段是简单的物理吸附,与代谢无关.研究表明,藻类能通过多种途径将重金属吸附在其细胞的表面,重金属能与藻细胞表面的负电荷反应点结合而吸附,通过与细胞壁上的多糖进行离子交换相结合.吸附效率取决于细胞壁上多糖的种类和电荷.藻类对重金属离子的吸收具有较强的选择性^[2],实验结果显示,赤潮藻细胞对研究的几种金属离子均有明显的吸附作用,藻细胞被杀死后,吸附能力依然存在,这表明藻细

胞的这种吸附作用与细胞的生理活动无关.表1的实验结果表明,活体藻细胞和死亡藻细胞的吸附容量基本相同,说明赤潮藻细胞对重金属离子的吸附主要是物理吸附.实验也表明(未表示),生物富集量与水中重金属离子浓度呈正相关,浓度越高,富集量越大,这与大型海藻对重金属离子的吸附具有相似的性质^[2].

表 1 原甲藻吸附前后混合溶液中
金属离子浓度的变化/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

Table 1 Concentration change of metal ions in the
mixed solution after adsorbed by living and dead
red tide alga, *Prorocentrum mican*

离子	吸附前	吸附后		吸附量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$		富集系数	
		活藻	死藻	活藻	死藻	活藻	死藻
Pb^{2+}	20.0	0.093	0.062	5.35	5.36	267.5	268.0
Ni^{2+}	20.0	1.66	1.52	4.93	4.97	246.5	248.5
Cu^{2+}	20.0	0.10	0.08	5.35	5.35	267.5	267.5
Zn^{2+}	20.0	3.52	4.60	4.43	4.14	221.5	207.0
Cd^{2+}	20.0	4.21	4.18	4.24	4.25	212.0	212.5
Ag^{+}	20.0	0.20	0.27	5.32	5.30	266.0	265.0

2.2 吸附动力学

对浓度为 $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 为 6.0 的 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ag^{+} 、 Cd^{2+} 溶液分别进行动力学研究,结果见图1.图1结果表明,赤潮藻细胞对重金属离子的吸附速度相当快,在藻类与重金属离子接触的很短时间就会发生,大约仅需要 5 ~ 10 min.被吸附的重金属离子与溶液中的重金属离子很快在 30 min 内即可达到吸附平衡.其它文献也有类似报道^[9].

2.3 溶液 pH 对吸附的影响

选定吸附时间为 60 min 来研究 pH 对 $0.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 单一金属离子 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ag^{+} 、 Cd^{2+} 平衡吸附量的影响.考虑 pH 较高时金属离子沉淀会对吸附产生影响,pH 值 8.0 以上未研究,实验结果见图2.

从图2看出,pH 低于 2.0 时吸附微弱,并且,被海洋原甲藻吸附的 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 和 Zn^{2+} 离子出现选择性溶出.在 pH3.0 ~ 5.0, 赤潮生物对上述金属离子的吸附量随溶液 pH 升高而迅速增大.pH 大于 5.0,最大吸附容量达到稳定.最适 pH 为 5.5 ~ 7.0.海洋原甲藻对 Pb^{2+}

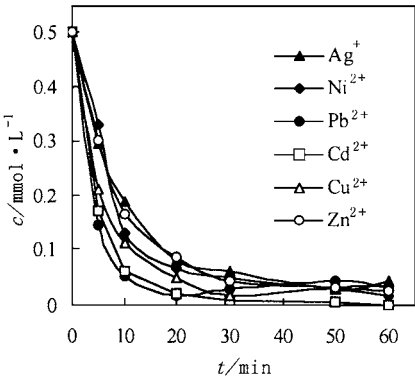


图 1 不同金属离子的吸附动力学
Fig.1 Kinetics of the adsorption
of various metal ions

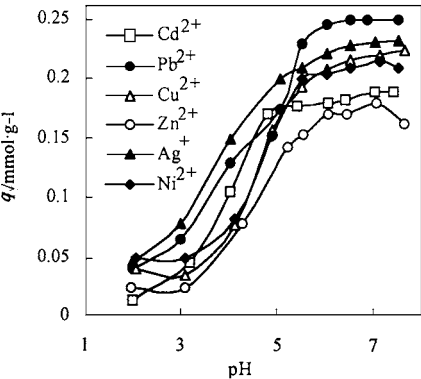


图 2 溶液 pH 对不同的金属离子吸附的影响
Fig.2 Effects of solution pH on adsorption
of various metal ions

的吸附量最大.产生上述现象的主要原因是 pH 在 4 以下时,溶液中 H^{+} 与重金属离子竞争地与藻细胞官能团结合,使得藻细胞对金属离子的吸附减小.

2.4 海洋原甲藻多糖对金属离子的吸附

多糖是藻细胞外壁的主要成分,也是藻与水体直接相接触的部分,因此赤潮藻细胞多糖也可与溶液中的金属离子发生直接作用.藻细胞对金属离子的第二阶段是与生理活动代谢相关的主动吸附,这个过程是金属离子进入细胞内转移的一个主动过程,需要代谢提供能量.从海洋原甲藻中分离纯化出细胞多糖,电泳和纸层析结果显示都为均一相组分.用这种多糖对金属离子进行 24h 吸附实验的结果可知,多糖

对 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ag^{+} 、 Cd^{2+} 均有较强的吸附,结果见表 2。

表 2 海洋原甲藻多糖对 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ag^{+} 、 Cd^{2+} 的吸附和富集

Table 2 Biosorption of Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ag^{+} 、 Cd^{2+} by polysaccharide of <i>P. micans</i>				
重金属离子	吸附前 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	吸附后 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	吸附量 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	富集系数
Pb^{2+}	20.0	0.22	29.3	1465
Ni^{2+}	20.0	1.36	26.8	1340
Cu^{2+}	20.0	0.65	26.7	1335
Zn^{2+}	20.0	5.62	24.6	1230
Ag^{+}	20.0	0.53	27.6	1380
Cd^{2+}	20.0	4.3	25.6	1280

在海洋原甲藻中分离出的多糖含量为 16.8 % (约为干重藻体的 1/6),比较藻体与多糖对 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ag^{+} 、 Cd^{2+} 的吸附量可见,多糖的吸附量约为藻体的 5 倍,从这一结果可以推断,海洋原甲藻对 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ag^{+} 和 Cd^{2+} 的吸附主要是海洋原甲藻中海藻多糖的吸附。

2.5 藻体、藻多糖和金属-藻多糖的红外光谱

海洋原甲藻的 IR 光谱如图 3(1) 所示,由它提取的藻壁多糖有相似的 IR 光谱图 3(2),

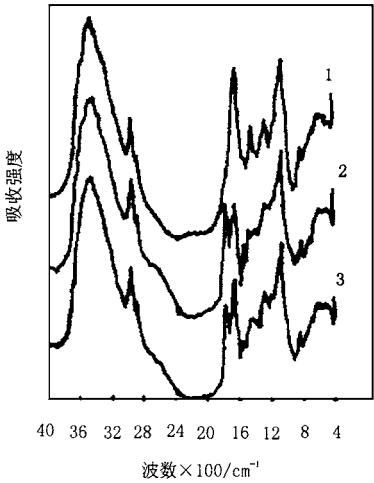


图 3 赤潮藻 藻壁多糖和金属化合物的红外光谱

Fig.3 Typical FTIR spectra (4000 ~ 400 cm^{-1}) of algal biomass, algal cell polysaccharide and metal ion solution treated biomass

原甲藻多糖和吸附铜离子后峰强度增加,并发生红移,见图 3(3)。图 3 中 3400 cm^{-1} 附近是 $-\text{OH}$ 和 $-\text{NH}_2$ 共同作用形成的宽带吸收峰,不同的金属离子 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ag^{+} 、 Cd^{2+} 对红外谱图的影响不是很明显,所以图中没有全部表示。结果表明, Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ag^{+} 、 Cd^{2+} 与多糖结合后,红外光谱无明显的变化,只是 1620 cm^{-1} (酰氨基) 和 1230 cm^{-1} (羟基) 附近的吸收峰产生 $2 \sim 5 \text{ cm}^{-1}$ 的红移,说明 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ag^{+} 、 Cd^{2+} 对海洋原甲藻多糖的酰氨基和羟基发生了较强的络合作用,类似于壳聚糖分子中氨基和羟基与金属离子的螯合作用。^[10]

3 结论

研究表明,海洋原甲藻的死体和活体对 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ag^{+} 、 Cd^{2+} 具有相似的吸附能力,吸附速度较快,一般可在 30 min 内达到平衡。溶液 pH 对吸附有较大的影响,吸附的适宜 pH 范围是 5.0 以上。藻细胞对金属离子的吸附,主要是多糖的吸附作用。多糖与金属离子的结合主要是通过多糖的 $-\text{OH}$ 和 $-\text{CONH}_2$ 与金属离子进行络合作用的。

参考文献:

- 1 Yin Pinghe et al. Biosorption removal of cadmium from aqueous solution by using pretreated fungal biomass cultured from starch waste water. Wat. Res., 1999, 33(8):1960 ~ 1963.
- 2 Yu Qiming et al. Heavy metal uptake capacities of common marine macro algal biomass. Wat. Res., 1999, 33(6): 1534 ~ 1537.
- 3 尹平等. 海藻生物材料吸附废水中铅、铜和镉的研究. 海洋环境科学, 2000, 19(3):11 ~ 15.
- 4 Fisher N S et al. Accumulation and toxicity of Cd, Zn, Ag and Hg in four marine phytoplankters. Mar Ecol Prog Ser., 1984, 18:201 ~ 203.
- 5 Auderson D M. Turning Back the Harmful Red Tide. Nature, 1999, 388:513 ~ 514.
- 6 尹平等. 缓释铜离子法去除海洋原甲藻赤潮生物的研究. 环境科学, 2000, 21(5):12 ~ 16.
- 7 李建宏等. 极大螺旋藻富集重金属机理的研究. 海洋与湖沼, 1998, 29(3):274 ~ 278.
- 8 Mehta V B et al. Cellular and extracellular polysaccharides of the blue green algae Nostoc. J Expt Bot., 1978, 29:1423 ~ 1430.
- 9 Kratochvil D et al. Biosorption of Cu from ferruginous wastewater by algal biomass. Wat. Res., 1998, 32(9): 2760 ~ 2767.
- 10 汪玉庭等. 交联壳聚糖对重金属离子的吸附性能研究. 环境污染与防治, 1998, 20(1):1 ~ 3.