

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第35卷 第6期

Vol.35 No.6

2014

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

北京地区冬夏季持续性雾-霾发生的环境气象条件对比分析·····	廖晓农, 张小玲, 王迎春, 刘伟东, 杜佳, 赵玲慧 (2031)
阜康大气气溶胶中水溶性无机离子粒径分布特征研究·····	苗红妍, 温天雪, 王跃思, 刘子锐, 王丽, 兰中东 (2045)
上海地铁站台大气颗粒物中过渡金属研究·····	包良满, 雷前涛, 谈明光, 李晓林, 张桂林, 刘卫, 李燕 (2052)
七一冰川地区苔藓中重金属元素含量研究·····	马娟娟, 李真 (2060)
冬季东海、南黄海中 DMS 和 DMSP 浓度分布及影响因素研究·····	宋以柱, 张洪海, 杨桂朋 (2067)
大亚湾石化排污海域重金属污染及生态风险评价·····	徐姗姗, 李纯厚, 徐娇娇, 肖雅元, 林琳, 黄小平 (2075)
深圳水库群表层水中全氟化合物的分布特征·····	王鑫璇, 张鸿, 何龙, 沈金灿, 柴之芳, 杨波, 王艳萍 (2085)
表层岩溶泉水中多环芳烃污染特征及来源解析·····	孙玉川, 沈立成, 袁道先 (2091)
桂江主要离子及溶解无机碳的生物地球化学过程·····	唐文魁, 陶贞, 高全洲, 毛海若, 姜光辉, 焦树林, 郑雄波, 张乾柱, 马赞文 (2099)
汾河源区不同景观带水文过程研究·····	杨永刚, 李彩梅, 秦作栋, 邹松兵 (2108)
北京市通州区地下水分层质量评价及水化学特征·····	郭高轩, 琚宜文, 翟航, 许亮, 沈媛媛, 纪轶群 (2114)
光透法定量两相流中流体饱和度的模型及其应用·····	章艳红, 叶淑君, 吴吉春 (2120)
紫色土坡耕地氮淋溶过程及其环境健康效应·····	陈维梁, 高扬, 林勇明, 朱波, 徐亚娟, 于贵瑞, 吴承祯 (2129)
基于非点源溶解态氮负荷估算的率水流域土地利用结构优化研究·····	陆宇超, 毕孟飞, 李泽利, 沙健, 王玉秋, 钱丽萍 (2139)
镇江老城区古运河沉积物氮及有机质垂向分布及污染评价·····	周晓红, 李义敏, 周艺, 卫安平, 周广顺, 肖思思 (2148)
两种沉水植物对上覆水和间隙水中可溶性无机氮的影响·····	杨文斌, 李阳, 孙共献 (2156)
湖泊沉积物短时间反复扰动下悬浮物上生物有效磷的动态变化·····	武晓飞, 李大鹏 (2164)
不同扰动强度下城市重污染河道底泥对磷吸收和固定的影响·····	王尚, 李大鹏 (2171)
池塘残饵对底泥氮、磷释放影响的模拟研究·····	吕元蛟, 李瑞娇, 张念, 赵峰, 谢从新, 张敏 (2178)
再悬浮过程中河流底泥 PAHs 的迁移与释放·····	王晓慧, 毕春娟, 韩景超 (2185)
低分子有机酸对汞氧化还原反应的影响·····	赵士波, 孙荣国, 王定勇, 王小文, 张成 (2193)
活性炭催化过氧化氢去除荧光增白剂·····	刘海龙, 张忠民, 赵霞, 焦茹媛 (2201)
准分子灯光照降解水中烷基酚的动力学·····	刘玉海, 叶招莲, 文颖频, 毕承路 (2209)
AF + BAF 用于处理树脂化工集中区废水厂尾水的研究·····	涂勇, 刘伟京, 张耀辉, 徐军, 唐敏, 陈勇, 白永刚 (2216)
镉(II)-8-羟基喹啉分子印迹聚合物微球的合成及吸附性能研究·····	杨春艳, 陈复彬, 赵慧, 常自强, 章竹君 (2223)
微气泡曝气生物膜反应器同步硝化反硝化研究·····	刘春, 年永嘉, 张静, 张明, 张磊, 龚鹏飞, 肖太民, 李星 (2230)
聚乳酸/淀粉固体缓释碳源生物反硝化研究·····	唐丹琦, 王娟, 郑天龙, 刘建国, 汪群慧 (2236)
丝状菌膨胀对无纺布生物反应器处理效果及膜污染特征的影响·····	侍宽, 薛罡, 高品, 吴凡 (2241)
聚合氯化铝去除污泥水中磷的工艺优化·····	周振, 胡大龙, 乔卫敏, 陈冠翰, 蒋玲燕, 李震, 麦穗海 (2249)
鄱阳湖持久性有机污染物 (POPs) 长距离传输潜力模拟·····	弓晓峰, 向洪锐, 陈春丽, 周文斌, 王佳佳, 刘春英, 曾艳 (2256)
基于不确定性分析的垃圾焚烧烟气中重金属的土壤沉积及生态风险评估·····	廖志恒, 孙家仁, 吴兑, 范绍佳, 任明忠, 吕家扬 (2264)
农药企业场地土壤中苯系物污染风险及管理对策·····	谭冰, 王铁宇, 李奇峰, 张海燕, 庞博, 朱朝云, 王道涵, 吕永龙 (2272)
渤海湾海域 10 种鱼类中二噁英类及指示性多氯联苯的污染特征研究及风险评价·····	王莎莎, 高丽荣, 田益玲, 朱帅, 张芹 (2281)
基于荧光传感器 Frex 的特性检测水质环境中生物毒性物质·····	赵巍, 汪钊, 蔡强, 欧文斌, 孟凡国 (2287)
对苯二酚抑制铜绿微囊藻生长下藻毒素的产生与释放·····	张元春, 梁文艳, 赵远, 李飞贞, 曹敬灿, 胡绍杰 (2294)
基于沼液的培养基及产油小球藻藻种选育·····	赵凤敏, 梅帅, 曹有福, 丁进锋, 徐嘉杰, 李树君 (2300)
酸性矿山废水库周边土壤微生物多样性及氨氧化菌群落研究·····	刘莹, 王丽华, 郝春博, 李璐, 李思远, 冯传平 (2305)
河蚬 (<i>Corbicula fluminea</i>) 扰动对表层沉积物中氨氧化菌群落结构和丰度的影响·····	王雪, 赵大勇, 曾巾, 余多慰, 吴庆龙 (2314)
海洋油气田沉积物产甲烷活性及微生物生态·····	田琪, 王佳, 范晓蕾, 罗生军, 郭荣波, 邱艳玲 (2322)
DGGE 及 T-RFLP 分析光照下电位对细菌群落的影响·····	吴义诚, 邓欢, 肖勇, 赵峰 (2328)
重金属抗性解磷细菌的磷溶解特性研究·····	田江, 彭霞薇, 李霞, 孙雅君, 冯红梅, 江泽平 (2334)
1 株耐冷兼性嗜碱好氧反硝化菌的分离鉴定及反硝化特性·····	王兆阳, 陈国耀, 姜珂, 许培雅 (2341)
黑麦草-丛枝菌根对不同番茄品种抗氧化酶活性、镉积累及化学形态的影响·····	江玲, 杨芸, 徐卫红, 王崇力, 陈蓉, 熊仕娟, 谢文文, 张进忠, 熊治庭, 王正银, 谢德体 (2349)
黄河三角洲区土壤活性氮对盐分含量的响应·····	李玲, 仇少君, 陈印平, 赵西梅, 刘京涛, 陆兆华 (2358)
宁南山区不同草地土壤原位矿化过程中氮素的变化特征·····	蒋跃利, 赵彤, 闫浩, 黄懿梅 (2365)
长期施用四环素残留猪粪对土壤中耐药菌及抗性基因形成的影响·····	张俊, 杨晓洪, 葛峰, 王娜, 焦少俊, 叶波平 (2374)
长期不同耕作方式对紫色水稻土重金属含量及有效性的影响·····	常同举, 崔孝强, 阮震, 赵秀兰 (2381)
伊犁河流域土壤重金属环境地球化学基线研究及污染评价·····	赵新儒, 特拉津·那斯尔, 程永毅, 詹江渝, 杨剑虹 (2392)
江苏如东互花米草盐沼湿地重金属分布及其污染评价·····	张龙辉, 杜永芬, 王丹丹, 高抒, 高文华 (2401)
小流域农业面源氮污染时空特征及与土壤呼吸硝化关系分析·····	欧阳威, 蔡冠清, 黄浩波, 耿晓君 (2411)
保护性耕作下小麦田土壤呼吸及碳平衡研究·····	张赛, 王龙昌, 黄召存, 贾会娟, 冉春燕 (2419)
米楮天然林和人工林土壤呼吸的比较研究·····	吴君君, 杨智杰, 翁发进, 刘小飞, 陈朝琪, 林伟盛, 王小红, 陈坦 (2426)
水力停留时间对复合式厌氧折流板反应器乙醇型发酵制氢系统的影响·····	刘晓桦, 张洪, 李永峰 (2433)
《环境科学》征订启事 (2208)	
《环境科学》征稿简则 (2400)	
信息 (2084, 2200, 2229, 2391)	

对苯二酚抑制铜绿微囊藻生长下藻毒素的产生与释放

张元春, 梁文艳*, 赵远, 李飞贞, 曹敬灿, 胡绍杰

(北京林业大学环境科学与工程学院, 北京 100083)

摘要: 选用对苯二酚, 根据其抑藻的剂量效应关系, 研究了铜绿微囊藻在不同抑制条件下, 即投加剂量为 EC_{20} 、 EC_{50} 、 EC_{70} 、 EC_{90} 、 EC_{99} 时, 藻毒素 Microcystin-LR (MCLR) 的产生与释放, 并通过测定总有机碳和三维荧光光谱, 研究了细胞内有机物的释放状况。结果表明, EC_{20} 作用下, 藻毒素的产生受到抑制, 总 MCLR 约为对照样的 72.4% ~ 83.0%; 在 EC_{50} ~ EC_{99} 作用下, 藻细胞受到刺激, 毒素产量明显增加, 总 MCLR 可升至对照样的 1.77 ~ 3.13 倍, 且在 EC_{70} ~ EC_{99} 作用下, 胞内毒素大部分释放于胞外。细胞释放的其它有机物主要是类腐殖酸和类富里酸, 但并不稳定, 6 d 后, 发生了明显的降解与转化。

关键词: 对苯二酚; 藻毒素; 胞内有机物; 产生; 释放

中图分类号: X52 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2014)06-2294-06 DOI: 10.13227/j.hjks.2014.06.035

Generation and Release of Microcystin-LR by *Microcystis aeruginosa* Under Hydroquinone Inhibition

ZHANG Yuan-chun, LIANG Wen-yan, ZHAO Yuan, LI Fei-zhen, CAO Jing-can, HU Shao-jie

(College of Environmental Science and Engineering, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: The generation and release of algal toxin Microcystin-LR (MCLR), as well as the intracellular organic chemicals were studied during the inhibition processes of *Microcystis aeruginosa* using hydroquinone as the inhibitor. According to the dose-effect relationship, the corresponding dosages of EC_{20} , EC_{50} , EC_{70} , EC_{90} , EC_{99} were added to the algae suspension. The TOC was determined by the total organic carbon analyzer, and the three-dimensional fluorescence spectrum was obtained by the fluorescence spectrophotometer. The results showed that the generation of MCLR was inhibited at EC_{20} and the total MCLR was 72.4% ~ 83.0% of the control samples. Whereas the cells were stimulated to produce higher amount of MCLR, and the total MCLR was 1.77 ~ 3.13 times as high as that of the control samples at EC_{50} ~ EC_{99} . The intracellular MCLR was largely released to the water at EC_{70} ~ EC_{99} . The release of other intracellular organic chemicals mainly referred to humic-like and fulvic-like substances, which were unstable and had an obvious degradation and transformation after 6 days of cultivation.

Key words: hydroquinone; Microcystin-LR; intracellular organic chemicals; generation; release

植物多酚是植物体内的复杂酚类次生代谢物^[1], 研究发现穗花狐尾藻^[2]、芦苇^[3]、大麦秸秆^[4]以及水稻秸秆^[5,6]的提取物或浸出液中所含有的植物多酚类物质具有显著的抑制藻类生长的效应, 例如对苯二酚^[7,8]、阿魏酸和香豆素^[9]等。很多水华蓝藻能分泌影响人类健康的藻毒素, 而研究显示在抑藻类物质作用下藻毒素的产生与释放会发生变化, 如铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 在浮萍分泌的化感物质^[10]作用下, 胞内产生的藻毒素和释放到胞外的藻毒素均高于对照样; 不同浓度对苯二酚、焦赈酸^[11]、壬基酚^[12]作用于铜绿微囊藻时, 细胞内毒素和细胞外毒素随投加浓度不同而不同, 如 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 壬基酚作用时, 胞内毒素高于对照样, 胞外毒素低于对照样, 但在 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 壬基酚作用下, 胞内胞外毒素均低于对照样。因此在使用抑藻类物质抑藻时, 藻毒素的产生与释放直接关系到抑藻类物质应用的安全性^[13]。

上述研究表明化感类物质会对藻毒素的产生与

释放产生影响, 但是对藻细胞在不同生长抑制状态下藻毒素的产生与释放不是很清楚, 即对由不同投加剂量产生的不同抑藻效应中藻毒素的产生与释放规律缺乏研究。因此, 本研究选用了植物多酚中抑制铜绿微囊藻效果比较好的对苯二酚^[7], 根据其作用于铜绿微囊藻的剂量效应关系, 确定了不同的投加剂量, 分析了藻细胞在不同生长抑制状态下, 藻毒素 Microcystin-LR (MCLR) 的产生与释放, 并通过测定总有机碳 TOC 和三维荧光光谱研究了此过程中胞内有机物的释放情况。

1 材料与方法

1.1 藻的培养

收稿日期: 2013-10-10; 修订日期: 2013-12-22

基金项目: 国家水体污染控制与治理技术重大专项 (2012ZX07307-001-006, 2013ZX07209-001-003)

作者简介: 张元春 (1990 ~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水污染控制, E-mail: zhangyc2368@126.com

* 通讯联系人, E-mail: lwybjfu@126.com

铜绿微囊藻 (FACHB 905) 购自于中国科学院水生生物研究所, 接种于 BG11 培养基中, 在 30℃、2 000 lx、14 h/10 h 光暗比条件下培养. 待进入对数期后开始实验.

1.2 分析方法

1.2.1 MCLR 提取、分离与测定

取 15 mL 含藻样品, 于 4 800 r·min⁻¹、4℃ 下离心 20 min, 藻细胞沉渣用于胞内 MCLR 的测定, 上清液用于胞外 MCLR 的测定. 藻细胞沉渣经反复冻融 3 次后, 用 80% 甲醇 (Fisher, 美国, 色谱纯) 振荡提取 2 次, 每次 5 h, 合并振荡提取液, 离心去藻渣后, 于 60℃ 水浴中去除甲醇, 浓缩至 0.3 mL, 过 0.45 μm 滤膜, 待测. 上清液过 0.45 μm 滤膜后经固相萃取 (SPE) 富集分离富集 MCLR, 洗脱液于 60℃ 水浴中浓缩至 0.3 mL, SPE 操作和 HPLC 测定方法参见文献 [14]. 高效液相色谱仪 (Waters 2695/2998, 美国) 的 MCLR 检测限是 4.2 μg·L⁻¹, 色谱柱为 Agilent TC-C18 (2) (5 μm, 4.6 mm × 250 mm), MCLR 标样 (10 mg·L⁻¹) 购自于中国科学院水生生物研究所.

1.2.2 中性红染色率测定

取 500 mg·L⁻¹ 中性红溶液 3 mL, 加入铜绿微囊藻液 0.1 mL, 混匀, 避光染色 15 min, 于显微镜 (BX51TF, 日本 Olympus 公司) 观测细胞染色情况并计数, 染色率为染色细胞与总细胞数的比值 [15].

1.2.3 TOC 测定

取含藻样品离心后的上清液, 过 0.45 μm 滤膜后, 采用总碳分析仪 (TOC-V CSN, 日本岛津) 测定 TOC 值.

1.2.4 三维荧光光谱测定

取含藻样品离心后的上清液, 采用 Hitachi F-7000 型荧光光谱仪测定溶解性有机物的三维荧光光谱. 激发波长 $E_x = 1$ nm, 发射波长 $E_m = 5$ nm; 扫描波长范围: E_x 为 200 ~ 450 nm, E_m 为 250 ~ 550 nm.

1.3 实验方法

1.3.1 剂量效应关系

取细胞密度约为 3×10^{10} 个·L⁻¹ 的藻液 10 mL, 加入 1 000 mg·L⁻¹ 对苯二酚水溶液, 使其终浓度为 1.0、2.0、2.5、3.0、5.0、8.0 mg·L⁻¹, 于光照培养箱中培养. 96 h 后, 取藻液测定中性红染色率, 用概率单位法得到剂量效应关系.

1.3.2 MCLR 产生与释放

向细胞密度约为 3×10^{10} 个·L⁻¹ 的 300 mL 藻液

中加入 1 000 mg·L⁻¹ 对苯二酚水溶液, 使其终浓度为 EC₂₀、EC₅₀、EC₇₀、EC₉₀、EC₉₉, 即使藻细胞死亡 20%、50%、70%、90%、99% 所对应的对苯二酚浓度, 在第 0、1、2、4、6 d 取样, 其中取 15 mL 测胞内、胞外 MCLR, 取 25 mL 测 TOC 和三维荧光. 实验共进行 2 组平行.

2 结果与讨论

2.1 剂量效应关系

在用常规计数藻细胞密度的方式确定剂量效应关系时, 有可能会把已死却还未溶解的藻细胞作为活细胞, 而用中性红染色法时, 死细胞会被染成红色, 而活细胞仍为绿色, 所以本研究采用中性红染色法来判别细胞的活性, 所测定的中性红染色率代表了细胞的死亡率 [15, 16]. 结果显示, 对苯二酚抑藻的剂量效应关系为: $y = 3.98x + 3.55$, 式中 x 是对苯二酚浓度的对数值, y 是死亡率百分比对应的概率值, 拟合度 R^2 为 0.98. 由该式可以得到 EC₂₀、EC₅₀、EC₇₀、EC₉₀ 和 EC₉₉ 对应的对苯二酚浓度分别为 1.42、2.32、3.14、4.86 和 10 mg·L⁻¹, 该结果即作为以下实验的投加剂量.

2.2 MCLR 的产生与释放

2.2.1 胞内 MCLR

微囊藻毒素是由淡水蓝绿藻产生的一类肝毒素缩氨酸, 其中 LR 型微囊藻毒素 (MCLR) 最为常见, 且已知毒性较强、急性危害较大, 它在细胞内产生, 是细胞内毒素 [17, 18]. 如图 1 所示, 在对苯二酚 EC₉₉ 和 EC₉₀ 剂量作用下, 胞内 MCLR 相较于对照样先上升后迅速下降, 在 4 h 时达到最大值 390.7 μg·L⁻¹ 和 379.6 μg·L⁻¹, 分别为对照样的 1.33 倍和 1.29 倍, 可以看出, 在高剂量对苯二酚作用下, 铜绿微囊藻受到外界强烈刺激, 细胞在短时间内产生了过量的藻毒素. 一般认为藻细胞内的能量主要用于自身生长的营养物质合成以及用于抵抗环境的胁迫 [13]. 高剂量对苯二酚作为一种环境胁迫, 使藻细胞将能量更多地用于藻毒素的合成来抵御外界环境的变化. 不过, 在随后的第 1 d, 胞内 MCLR 浓度又降至 6.23 μg·L⁻¹ 和 6.11 μg·L⁻¹, 只相当于对照样的 1.7%, 说明藻细胞死亡后胞内藻毒素释放出去. 在 EC₇₀ 和 EC₅₀ 剂量作用下, 胞内 MCLR 相比于对照样在逐渐下降, 第 1 d 分别降为对照样的 82.4% 和 86.0%, 第 6 d 降至对照样的 3.7% 和 10.1%. 在 EC₂₀ 剂量作用下, 胞内 MCLR 则一直约为对照样的 60.1% ~ 70.4%. 可以发现, 对苯二酚浓度越高, 即

外界刺激越大,藻细胞死亡得越快,由此而导致的胞内 MCLR 也下降得越快,即胞内 MCLR 更快地被释放出来。

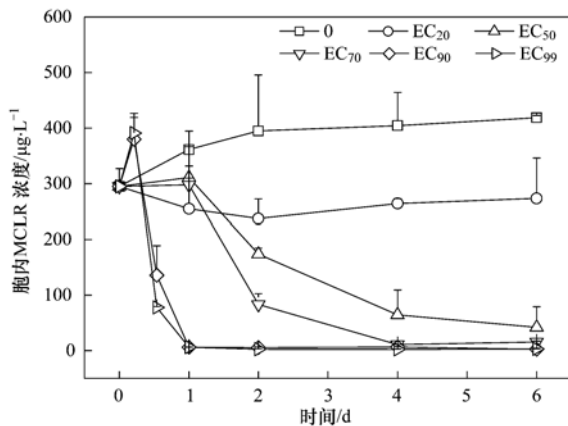


图1 胞内 MCLR 浓度随时间的变化

Fig. 1 Variation of intracellular MCLR during the cultivation

2.2.2 胞外 MCLR

藻细胞死亡破裂后 MCLR 会被释放到水体中,而 MCLR 易溶于水^[19],本研究将释放溶解到水中的 MCLR 称为胞外 MCLR。如图 2 所示,除了 EC₂₀,其它剂量作用下的胞外 MCLR 均是先上升后逐渐下降,EC₉₉ 在 13 h 达到最大值 879.8 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,约为对照样的 79.2 倍; EC₉₀ 在第 1 d 达最大值 831.6 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,约为对照样的 66.6 倍; EC₇₀ 和 EC₅₀ 则在第 2 d 达到最大值,分别为对照样的 38.2 倍和 27.1 倍。结果显示,对苯二酚浓度越高,胞外 MCLR 升高的越多,即胞内 MCLR 向外释放的越多。至第 6 d,不同剂量条件下的胞外 MCLR 与其最大值相比,均减少了约 200 ~ 300 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.2.3 总 MCLR

总 MCLR 为胞内 MCLR 和胞外 MCLR 的总和,

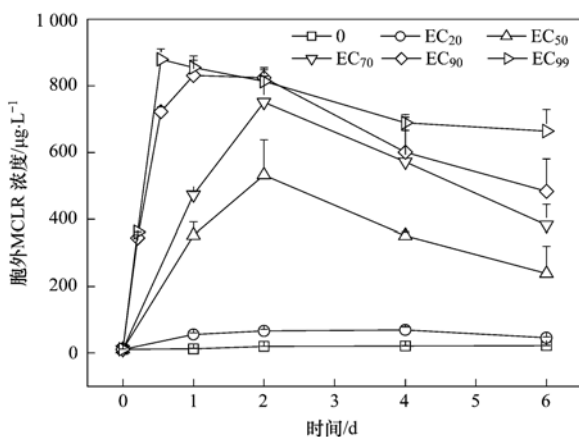


图2 胞外 MCLR 浓度随时间的变化

Fig. 2 Variation of extracellular MCLR during the cultivation

反映了 MCLR 总量的变化,以及 MCLR 产生与释放的变化规律。如图 3 所示,在 EC₂₀ 剂量作用下,总 MCLR 约为对照样的 72.4% ~ 83.0%,且藻细胞生长过程中一直低于对照样,表明藻细胞生长受到一定程度抑制的同时,MCLR 的合成也受到了抑制,但是胞外 MCLR 浓度却高于对照样(图 2),约为对照样的 2.03 ~ 4.48 倍。虽然胞内藻毒素产生量偏低,但仍有 14.4% ~ 21.8% 的 MCLR 释放至胞外,说明即使在低剂量对苯二酚作用下,藻细胞仍向环境水体释放 MCLR。在 EC₅₀ ~ EC₉₉ 剂量作用下,总 MCLR 先上升后下降,最大值达到对照样的 1.77 ~ 3.13 倍,至第 6 d 又减少了约 300 ~ 400 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,EC₅₀ 和 EC₇₀ 降为对照样的 63.6%、90.3%,均已小于对照样,而 EC₉₀ 和 EC₉₉ 则降为对照样的 1.1 倍和 1.51 倍,仍高于对照样。Jang 等^[10]研究发现在浮萍通过释放化感物质作用于铜绿微囊藻的 12 d 里,胞内胞外藻毒素及其总量均高于对照样,这和本研究中高剂量对苯二酚作用下的结果类似,可见一些抑藻剂的投加会刺激藻细胞产生并释放更多的藻毒素。结果表明在 EC₅₀ ~ EC₉₉ 作用下,虽然藻细胞的生长受到较强的抑制,但是多数细胞的死亡,导致细胞内原有的藻毒素以及对苯二酚刺激下产生的藻毒素释放进水体,不过随着时间的推移,藻毒素浓度出现了下降趋势。相比之下,对照样的藻毒素总量随着细胞的生长而逐渐升高,所以,如果不对藻细胞的生长进行抑制,当这些细胞死亡时,仍将释放出大量的毒素。藻毒素的产生和释放除了与抑藻剂投加剂量有关外,还与藻种有关,研究显示在同一浓度壬基酚的作用下,2 种不同的铜绿微囊藻胞内藻毒素的产生量不同、释放量也不同^[12]。

MCLR 的物理化学性质很稳定,但是在本研究

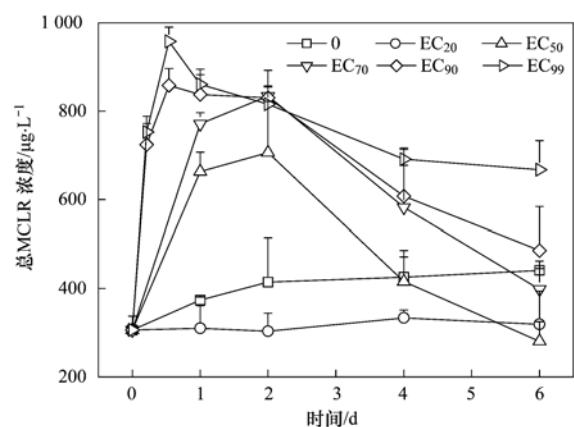


图3 总 MCLR 浓度随时间的变化

Fig. 3 Variation of total MCLR during the cultivation

中,胞外 MCLR 出现了逐渐下降的现象,这是由于实验是在无菌条件下进行的,所以不存在微生物的降解作用. 研究显示,蓝藻中的色素^[20]、叶绿素^[21]以及腐殖质^[22]等可以作为光敏剂,使藻毒素在日光照射下发生降解,因此,在培养箱的光照条件下,藻毒素 MCLR 发生了一定程度的降解去除.

2.3 胞内有机物的释放

三维荧光光谱可以有效分析溶解性有机物的化学组成^[23],本研究通过对藻液离心后上清液的荧光光谱分析细胞内有机物在对苯二酚作用下的释放情况. 图 4 为对照样的三维荧光光谱图,共检测出 3 组荧光峰,峰 A 在 $E_x/E_m = (275 \sim 280) \text{ nm}/(331 \sim 342) \text{ nm}$ 范围内,主要是类蛋白质物质,即类溶解性微生物代谢产物,如类色氨酸、类酪氨酸及其残基;峰 B 在 $E_x/E_m = (344 \sim 375) \text{ nm}/(424 \sim 462) \text{ nm}$ 范围内,是类腐殖酸物质;峰 C 在 $E_x/E_m = (260 \sim 275) \text{ nm}/(421 \sim 464) \text{ nm}$ 范围内,是紫外区的类富里酸物质^[1,24].

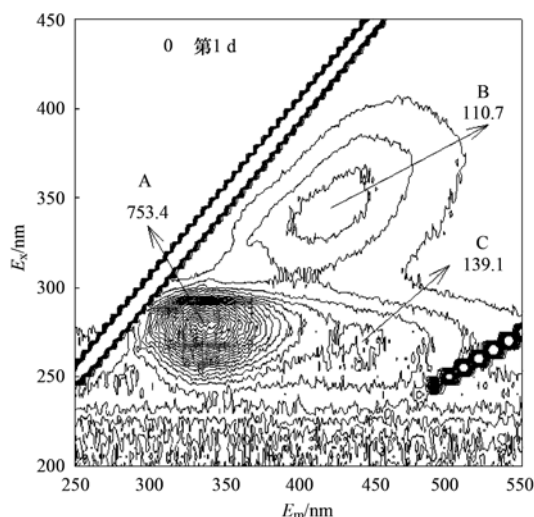


图 4 对照样第 1 d 的三维荧光光谱图

Fig. 4 Three-dimensional fluorescence spectrum of the control sample on the 1st day

不同剂量条件下峰 A、峰 B 和峰 C 相对荧光强度随时间的变化如图 5 所示. 可以看出,不管对苯二酚的剂量是多少,相比对照样,峰 B 和峰 C 强度在第 1 d 都有所升高. 但是对苯二酚空白样品的三维荧光光谱图中却没有检测出峰 B 和峰 C,表明在对苯二酚作用下,藻细胞释放了更多的类腐殖酸和类富里酸物质,且对苯二酚浓度越高,类腐殖酸和类富里酸升高得越多,即释放得越多. 第 1 d 后峰 B 和峰 C 强度开始明显下降,到第 6 d 已接近对照样品.

峰 A 的变化规律与峰 B、峰 C 完全不同,根据

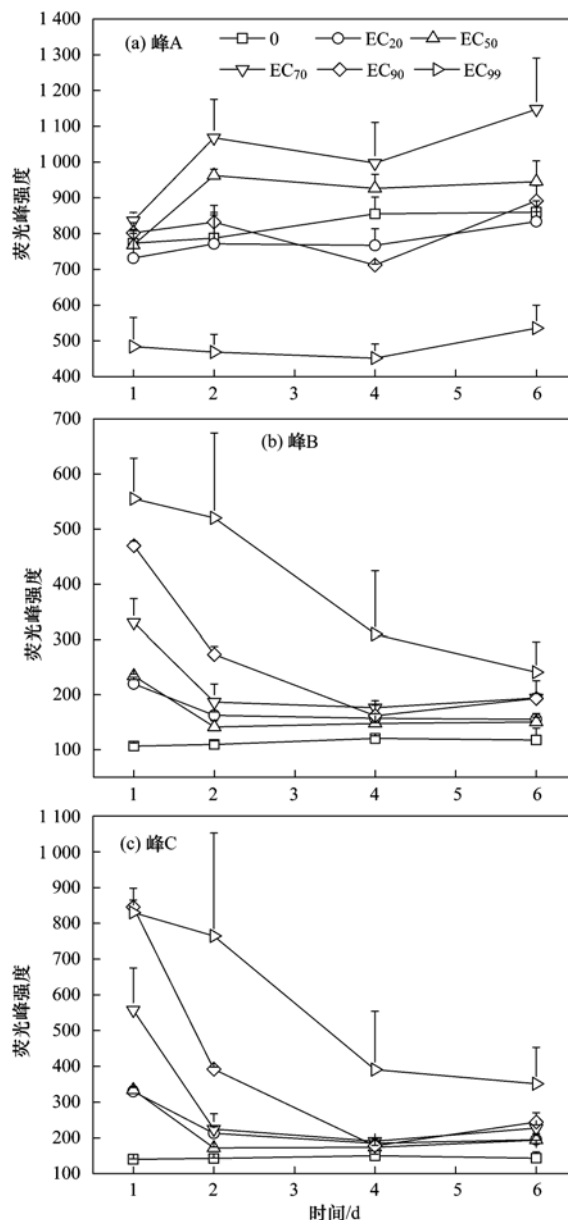


图 5 对苯二酚作用下各荧光峰强度随时间的变化

Fig. 5 Variation of fluorescence intensity during the cultivation under the inhibition of hydroquinone

对苯二酚空白样品的三维荧光光谱检测,可以发现它在峰 A 处具有很强的荧光特性,EC₂₀ ~ EC₉₉所对应的相对荧光强度约为 1 300 ~ 7 900. 但是当藻液中加入对苯二酚后,峰 A 的强度反而出现了显著下降,均低于 1 300,说明藻细胞对对苯二酚产生了强烈的吸收,对苯二酚进入细胞体内,导致溶液中峰 A 强度的下降,这也是对苯二酚能够抑制藻细胞生长的原因. 除了 EC₉₉外,在其它剂量作用下,峰 A 强度与对照样相近或略高,而 EC₉₉的峰 A 强度只有对照样的 52.8% ~ 62.6%,这可能是部分类蛋白质被死亡的藻细胞所吸附. 研究显示,微囊藻细胞

碎屑能够吸附氨氮,并在 30 min 内即达平衡,吸附过程符合 Henry 吸附模式^[25];死亡的蓝藻细胞还能吸附重金属 Cu^{2+} , Freundlich 模型能很好地描述这个生物吸附过程^[26]. 因此,在 EC_{99} 作用下,大量死亡的细胞反过来吸附了所释放的类蛋白有机物.

图 6 是不同生长抑制状态下,胞外 TOC 浓度随时间的变化. 从中可知,在对苯二酚作用下,第 1 d 的 TOC 值均高于对对照,由于对苯二酚被藻细胞所吸收,所以溶液中 TOC 的升高应该是由细胞分泌物质所带来的. 类腐殖酸、类富里酸以及其它有机物质的释放均对 TOC 值的升高起到了一定作用. 可以发现,虽然在 EC_{50} 和 EC_{70} 作用下,类腐殖酸、类富里酸浓度后来都有明显降低,但是 TOC 的变化却不是很大,这可能是因为类腐殖酸和类富里酸逐渐被降解为不具备荧光特性的小分子溶解性有机物,因此 TOC 能够检测出来,但是三维荧光光谱却检测不出来. 与 EC_{50} 和 EC_{70} 不同,在 EC_{90} 和 EC_{99} 剂量作用下,TOC 浓度从第 2 d 开始下降,与第 1 d 相比,第 6 d 的 TOC 浓度分别降低了 38.3% 和 33.2%,这可能仍然源于死亡藻细胞所产生的吸附效应. 从高剂量对苯二酚作用下三维荧光光谱和 TOC 的结果不难看出,藻细胞死亡后极有可能作为生物吸附剂,对溶液中的部分物质产生了吸附效应.

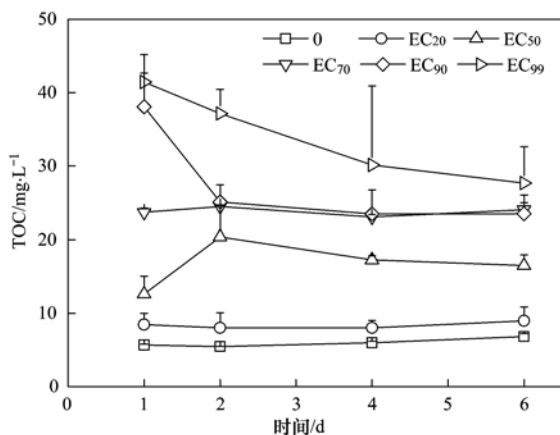


图 6 TOC 浓度随时间的变化

Fig. 6 Variation of TOC during the cultivation

3 结论

不同对苯二酚投加剂量使铜绿微囊藻处于不同生长抑制状态,藻毒素的产生与释放规律不同. 在 EC_{20} 作用下,藻毒素合成受到抑制;在 $\text{EC}_{50} \sim \text{EC}_{99}$ 作用下,藻细胞受到刺激,产生了更多的藻毒素,且大部分释放至胞外,在光照以及其它物质的作用下,胞外毒素可以被降解. 对苯二酚投加后,能够被藻

细胞迅速吸收进入细胞体内,在其作用下,铜绿微囊藻向胞外释放的有机物主要是类腐殖酸和类富里酸物质,类蛋白物质释放则不明显.

参考文献:

- [1] 汪丽, 梁文艳, 阮铃铃, 等. 儿茶酚抑制藻细胞活性过程中 IOM 的三维荧光特性[J]. 环境科学与技术, 2012, **35**(8): 1-5.
- [2] Nakai S, Inoue Y, Hosomi M, et al. Myriophyllum spicatum-released allelopathic polyphenols inhibiting growth of blue-green algae *Microcystis aeruginosa* [J]. Water Research, 2000, **34**(11): 3026-3032.
- [3] Nakai S, Zhou S, Hosomi M, et al. Allelopathic growth inhibition of cyanobacteria by reed [J]. Allelopathy Journal, 2006, **18**(2): 277-285.
- [4] 刘涛, 杨文杰, 王茹静. 作物秸秆对铜绿微囊藻的抑制作用[J]. 环境工程学报, 2012, **6**(4): 1154-1159.
- [5] 苏文, 孔繁翔, 于洋, 等. 水稻秸秆浸泡液对铜绿微囊藻生理特性的影响[J]. 环境科学, 2013, **34**(1): 150-155.
- [6] Park M H, Chung I M, Ahmad A, et al. Growth inhibition of unicellular and colonial *Microcystis* strains (*Cyanophyceae*) by compounds isolated from rice (*Oryza sativa*) hulls [J]. Aquatic Botany, 2009, **90**(4): 309-314.
- [7] Nakai S, Inoue Y, Hosomi M. Algal growth inhibition effects and inducement modes by plant-producing phenols [J]. Water Research, 2001, **35**(7): 1855-1859.
- [8] 丁惠君, 张维昊, 周伟斌, 等. 两种酚酸类化感物质对铜绿微囊藻生长的影响[J]. 环境科学与技术, 2007, **30**(7): 1-4.
- [9] 郭亚丽, 傅海燕, 黄国和, 等. 阿魏酸和香豆素对铜绿微囊藻的化感作用[J]. 环境科学, 2013, **34**(4): 1492-1497.
- [10] Jang M H, Ha K, Takamura N. Reciprocal allelopathic responses between toxic cyanobacteria (*Microcystis aeruginosa*) and duckweed (*Lemna japonica*) [J]. Toxicon, 2007, **49**(5): 727-733.
- [11] Dziga D, Suda M, Bialczyk J, et al. The alteration of *Microcystis aeruginosa* biomass and dissolved microcystin-LR concentration following exposure to plant-producing phenols [J]. Environmental Toxicology, 2007, **22**(4): 341-346.
- [12] Wang J X, Xie P, Guo N C. Effects of nonylphenol on the growth and microcystin production of *Microcystis* strains [J]. Environmental Research, 2007, **103**(1): 70-78.
- [13] 门玉洁, 胡洪营. 芦苇化感物质 EMA 对铜绿微囊藻生长及藻毒素产生和释放的影响[J]. 环境科学, 2007, **28**(9): 2058-2062.
- [14] 王金丽, 梁文艳, 马炎炎, 等. Ti/RuO_2 电氧化法降解藻毒素 MCLR 影响因素的研究[J]. 中国环境科学, 2008, **28**(8): 709-713.
- [15] 梁文艳, 王珂, 阮铃铃, 等. 电氧化杀藻过程中藻细胞活性变化的研究[J]. 环境科学, 2010, **31**(6): 1464-1469.
- [16] 阮铃铃. 植物多酚抑藻效能与其作用下藻细胞生理特征的研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2011.
- [17] 钱芸, 戴树桂, 刘广良. 富营养化淡水水体中微囊藻毒素的

- 研究进展[J]. 环境污染治理技术与设备, 2002, **3**(8): 13-17.
- [18] 张维昊, 徐小清, 丘昌强. 水环境中微囊藻毒素研究进展[J]. 环境科学研究, 2001, **14**(2): 57-61.
- [19] 闫海, 潘纲, 张明明. 微囊藻毒素研究进展[J]. 生态学报, 2002, **22**(11): 1968-1975.
- [20] 张维昊, 方涛, 徐小清. 滇池水华蓝藻中藻毒素光降解的研究[J]. 中国环境科学, 2001, **21**(1): 1-3.
- [21] 程子波, 邹华, 向丽, 等. 叶绿素作用下微囊藻毒素-LR 的光降解[J]. 环境化学, 2009, **28**(5): 683-685.
- [22] Welker M, Steinberg C. Indirect photolysis of cyanotoxins; one possible mechanism for their low persistence [J]. Water Research, 1999, **33**(5): 1159-1164.
- [23] 齐飞, 刘晓媛, 徐冰冰, 等. 营养盐水平对念珠藻胞外有机物产生的影响[J]. 环境科学, 2012, **33**(5): 1556-1563.
- [24] 张润宇, 吴丰昌, 王立英, 等. 太湖北部沉积物不同形态磷提取液中有机质的特征[J]. 环境科学, 2009, **30**(3): 733-742.
- [25] 史红星, 刘会娟, 曲久辉, 等. 富营养化水体中微囊藻细胞碎屑对氨氮的吸附特性[J]. 环境化学, 2005, **24**(3): 241-244.
- [26] 王坎, 李政, 熊晶, 等. 水华蓝藻生物质对 Cu^{2+} 的吸附动力学及吸附平衡研究[J]. 环境科学与技术, 2011, **34**(12): 47-50.

CONTENTS

Comparative Analysis on Meteorological Condition for Persistent Haze Cases in Summer and Winter in Beijing	LIAO Xiao-nong, ZHANG Xiao-ling, WANG Ying-chun, <i>et al.</i> (2031)
Size Distributions of Water-Soluble Inorganic Ions in Atmospheric Aerosols in Fukang	MIAO Hong-yan, WEN Tian-xue, WANG Yue-si, <i>et al.</i> (2045)
Study on Transition Metals in Airborne Particulate Matter in Shanghai City's Subway	BAO Liang-man, LEI Qian-tao, TAN Ming-guang, <i>et al.</i> (2052)
Heavy Metal Concentrations in Mosses from Qiye Glacier Region	MA Juan-juan, LI Zhen (2060)
Distributions of Dimethylsulfide and Dimethylsulfoniopropionate and Influencing Factors in the East China Sea and the Southern Yellow Sea During the Winter	SONG Yi-zhu, ZHANG Hong-hai, YANG Gui-peng (2067)
Pollution by Heavy Metals in the Petrochemical Sewage Waters of the Sea Area of Daya Bay and Assessment on Potential Ecological Risks	XU Shan-nan, LI Chun-hou, XU Jiao-jiao, <i>et al.</i> (2075)
Distribution of Perfluorinated Compounds in Surface Water of Shenzhen Reservoir Groups	WANG Xin-xuan, ZHANG Hong, HE Long, <i>et al.</i> (2085)
Contamination and Source of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Epikarst Spring Water	SUN Yu-chuan, SHEN Li-cheng, YUAN Dao-xian (2091)
Biogeochemical Processes of the Major Ions and Dissolved Inorganic Carbon in the Guijiang River	TANG Wen-kui, TAO Zhen, GAO Quan-zhou, <i>et al.</i> (2099)
Hydrologic Processes of the Different Landscape Zones in Fenhe River Headwater Catchment	YANG Yong-gang, LI Cai-mei, QIN Zuo-dong, <i>et al.</i> (2108)
Assessment of Groundwater Quality of Different Aquifers in Tongzhou Area in Beijing Plain and Its Chemical Characteristics Analysis	GUO Gao-xuan, JU Yi-wen, ZHAI Hang, <i>et al.</i> (2114)
Models for Quantification of Fluid Saturation in Two-Phase Flow System by Light Transmission Method and Its Application	ZHANG Yan-hong, YE Shu-jun, WU Ji-chun (2120)
Nitrogen Leaching and Associated Environmental Health Effect in Sloping Cropland of Purple Soil	CHEN Wei-liang, GAO Yang, LIN Yong-ming, <i>et al.</i> (2129)
Research on Land Use Structure Optimization Based on Nonpoint Source Dissolved Nitrogen Load Estimation in Shuashui Watershed	LU Yu-chao, BI Meng-fei, LI Ze-li, <i>et al.</i> (2139)
Nitrogen and Organic Matter Vertical Distribution Characteristics and Evaluation in Ancient Canal Sediments of Zhenjiang Old Town	ZHOU Xiao-hong, LI Yi-min, ZHOU Yi, <i>et al.</i> (2148)
Effects of Two Submerged Macrophytes on Dissolved Inorganic Nitrogen in Overlying Water and Interstitial Water	YANG Wen-bin, LI Yang, SUN Gong-xian (2156)
Bioavailable Phosphorus on Suspended Solids of Lake Under Short-term and Repeated Sediment Disturbance	WU Xiao-fei, LI Da-peng (2164)
Influence of Different Disturbance Intensity on the Phosphorus Adsorption and Immobilization by the Sediments from an Inner City Heavily Polluted Canal	WANG Shang, LI Da-peng (2171)
Effect of Feed Residues on the Release of Nitrogen and Phosphorus of Pond Sediment	LÜ Yuan-jiao, LI Rui-jiao, ZHANG Nian, <i>et al.</i> (2178)
Delivery and Release of Sediment PAHs During Resuspension	WANG Xiao-hui, BI Chun-juan, HAN Jing-chao (2185)
Effects of Low Molecular Weight Organic Acids on Redox Reactions of Mercury	ZHAO Shi-bo, SUN Rong-guo, WANG Ding-yong, <i>et al.</i> (2193)
Removal of Fluorescent Whitening Agent by Hydrogen Peroxide Oxidation Catalyzed by Activated Carbon	LIU Hai-long, ZHANG Zhong-min, ZHAO Xia, <i>et al.</i> (2201)
Kinetics of Alkylphenols Degradation in Aqueous Phase with Excilamp Irradiation	LIU Yu-hai, YE Zhao-lian, WEN Ying-pin, <i>et al.</i> (2209)
AF + BAF for Treating Effluent in the Sewage Plant of the Resin and Chemical Industry Park	TU Yong, LIU Wei-jing, ZHANG Yao-hui, <i>et al.</i> (2216)
Synthesis and Adsorption Property of Cd(II)-8-hydroxyquinoline Molecularly Imprinted Polymer Microspheres	YANG Chun-yan, CHEN Fu-bin, ZHAO Hui, <i>et al.</i> (2223)
Simultaneous Nitrification and Denitrification in a Microbubble-aerated Biofilm Reactor	LIU Chun, NIAN Yong-jia, ZHANG Jing, <i>et al.</i> (2230)
Effect of PLA/Starch Slow-Release Carbon Source on Biological Denitrification	TANG Dan-qi, WANG Juan, ZHENG Tian-long, <i>et al.</i> (2236)
Impacts of Filamentous Bulking on Treatment Effect and Fouling Characteristics of Nonwoven Bioreactor	SHI Kuan, XUE Gang, GAO Pin, <i>et al.</i> (2241)
Optimization for Phosphorous Removal in Thickening and Dewatering Sludge Water by Polyaluminum Chloride	ZHOU Zhen, HU Da-long, QIAO Wei-min, <i>et al.</i> (2249)
Simulation of Long-Range Transport Potential of POPs in Poyang Lake	GONG Xiao-feng, XIANG Hong-rui, CHEN Chun-li, <i>et al.</i> (2256)
Uncertainty Analysis of Ecological Risk Assessment Caused by Heavy-metals Deposition from MSWI Emission	LIAO Zhi-heng, SUN Jia-ren, WU Dui, <i>et al.</i> (2264)
Risk Assessment and Countermeasures of BTEX Contamination in Soils of Typical Pesticide Factory	TAN Bing, WANG Tie-yu, LI Qi-feng, <i>et al.</i> (2272)
Levels Distribution and Risk Assessment of the Indicator and Dioxin-Like Polychlorinated Biphenyls in Ten Different Species of Marine Fish of Bohai Bay, China	WANG Sha-sha, GAO Li-rong, TIAN Yi-ling, <i>et al.</i> (2281)
Detection of Biohazardous Materials in Water upon the Characteristics of Fluorescent Sensor Frex	ZHAO Wei, WANG Zhao, CAI Qiang, <i>et al.</i> (2287)
Generation and Release of Microcystin-LR by <i>Microcystis aeruginosa</i> Under Hydroquinone Inhibition	ZHANG Yuan-chun, LIANG Wen-yan, ZHAO Yuan, <i>et al.</i> (2294)
Culture Medium Based on Biogas Slurry and Breeding of Oil Chlorella	ZHAO Feng-min, MEI Shuai, CAO You-fu, <i>et al.</i> (2300)
Microbial Diversity and Ammonia-Oxidizing Microorganism of a Soil Sample Near an Acid Mine Drainage Lake	LIU Ying, WANG Li-hua, HAO Chun-bo, <i>et al.</i> (2305)
Effects of <i>Corbicula fluminea</i> Bioturbation on the Community Composition and Abundance of Ammonia-Oxidizing Archaea and Bacteria in Surface Sediments	WANG Xue, ZHAO Da-yong, ZENG Jin, <i>et al.</i> (2314)
Methanogenic Activity and Methanogen Diversity in Marine Gas Field Sediments	TIAN Qi, WANG Jia, FAN Xiao-lei, <i>et al.</i> (2322)
Effect of the Potential on Bacterial Community Under Illumination by DGGE and T-RFLP	WU Yi-cheng, DENG Huan, XIAO Yong, <i>et al.</i> (2328)
Isolation and Characterization of Two Bacteria with Heavy Metal Resistance and Phosphate Solubilizing Capability	TIAN Jiang, PENG Xia-wei, LI Xia, <i>et al.</i> (2334)
Identification and Denitrification Characteristics of a Psychrotolerant Facultative Basophilic Aerobic Denitrifier	WANG Zhao-yang, CHEN Guo-yao, JIANG Ke, <i>et al.</i> (2341)
Effects of Ryegrass and Arbuscular Mycorrhiza on Activities of Antioxidant Enzymes, Accumulation and Chemical Forms of Cadmium in Different Varieties of Tomato	JIANG Ling, YANG Yun, XU Wei-hong, <i>et al.</i> (2349)
Response of Active Nitrogen to Salinity in a Soil from the Yellow River Delta	LI Ling, QIU Shao-jun, CHEN Yin-ping, <i>et al.</i> (2358)
Variation of Soil Nitrogen During <i>in situ</i> Mineralization Process Under Different Grasslands in the Mountainous Area of Southern Ningxia, Northwest China	JIANG Yue-li, ZHAO Tong, YAN Hao, <i>et al.</i> (2365)
Effects of Long-Term Application of Pig Manure Containing Residual Tetracycline on the Formation of Drug-Resistant Bacteria and Resistance Genes	ZHANG Jun, YANG Xiao-hong, GE Feng, <i>et al.</i> (2374)
Long-Term Effects of Tillage Methods on Heavy Metal Accumulation and Availability in Purple Paddy Soil	CHANG Tong-ju, CUI Xiao-qiang, RUAN Zhen, <i>et al.</i> (2381)
Environmental Geochemical Baseline of Heavy Metals in Soils of the Ili River Basin and Pollution Evaluation	ZHAO Xin-ru, Telajin Nasier, CHENG Yong-yi, <i>et al.</i> (2392)
Distribution Patterns and Pollution Assessments of Heavy Metals in the <i>Spartina alterniflora</i> Salt-Marsh Wetland of Rudong, Jiangsu Province	ZHANG Long-hui, DU Yong-fen, WANG Dan-dan, <i>et al.</i> (2401)
Temporal-Spatial Distribution of Agricultural Diffuse Nitrogen Pollution and Relationship with Soil Respiration and Nitrification	OUYANG Wei, CAI Guan-qing, HUANG Hao-bo, <i>et al.</i> (2411)
Soil Respiration and Carbon Balance in Wheat Field Under Conservation Tillage	ZHANG Sai, WANG Long-chang, HUANG Zhao-cun, <i>et al.</i> (2419)
Comparison of Soil Respiration in Natural <i>Castanopsis carlesii</i> Forest and Plantation Forest	WU Jun-jun, YANG Zhi-jie, WENG Fa-jin, <i>et al.</i> (2426)
Influences of Hydraulic Retention Time on the Ethanol Type Fermentation Hydrogen Production System in a Hybrid Anaerobic Baffled Reactor	LIU Xiao-ye, ZHANG Hong, LI Yong-feng (2433)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 欧阳自远

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 汤鸿霄 陈吉宁 孟 伟 周宗灿 林金明
欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2014年6月15日 第35卷 第6期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 35 No. 6 Jun. 15, 2014

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧阳自远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科 学 出 版 社 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 90.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行