

椭圆小球藻 (*Chlorella ellipsoidea*) 对 4 种 重金属的耐受性及富集^{*}

浩云涛 李建宏 潘欣 马宇翔 王雪峰

(南京师范大学生命科学学院, 南京 210097)

提 要 分离筛选获得了一株高重金属抗性的椭圆小球藻 (*Chlorella ellipsoidea*), 并研究了不同浓度的重金属铜、锌、镍、镉对该藻生长和叶绿素 a 含量的影响及其对重金属离子的吸收富集作用。结果显示, 该藻对 Zn^{2+} 和 Cd^{2+} 具有很高的耐受性, 对四种重金属的耐受能力依次为锌 > 镉 > 镍 > 铜。其叶绿素 a 含量与重金属离子浓度呈明显负相关。该藻对重金属具有很好的去除效果, 经 $15\mu\text{mol/L}$ Cu^{2+} 、 $300\mu\text{mol/L}$ Zn^{2+} 、 $100\mu\text{mol/L}$ Ni^{2+} 、 $30\mu\text{mol/L}$ Cd^{2+} 浓度 72h 处理, 去除率分别达到 40.93%、98.33%、97.62%、86.88%, 可应用于含重金属废水的处理。

关键词 椭圆小球藻 重金属 耐受性 富集

分类号 Q949.2106/X75

重金属对水环境的危害是人们日益关注的问题。随着工业生产的发展, 重金属污染物向环境的排放量日趋增加, 造成水体受到不同程度的污染。过量的重金属离子如铜、锌、镉等对生物体具有毒性, 它们可以通过食物链进入人体而引起多种疾病^[1]。

传统的金属废水处理有沉淀法、电解化学法、离子交换法等, 但是这些方法成本高, 有的处理后仍具有相当的浓度。藻类是一类光合自养生物, 在氧化塘法及生物膜法处理污水的系统中起着重要作用。利用藻类去除废水中的氮、磷等, 已做了大量的研究工作。而藻类对许多金属也有良好的生物富集能力, 可广泛应用于改造已经被重金属污染、其他生物难以生存的水域, 利用藻类作为生物反应器在工业污水排放之前进行处理, 或用于回收贵金属离子, 既节约资源, 又避免了环境污染^[2-4]。Arthur L. 等报道了利用藻类对含重金属废水进行处理具有良好的效果^[5]。应用于含重金属废水处理的藻类应具备两个特点: 既要重金属有较高的耐受性, 又必须对重金属要有较强的富集能力。

本研究经过筛选, 从电镀废水中分离获得了一株对重金属有较强耐受性的小球藻, 及其对重金属铜、锌、镍、镉的耐受性和去除能力进行了研究, 旨在为进一步利用藻类净化重金属污染提供依据。

1 材料与方 法

1.1 试验藻种与培养条件

椭圆小球藻 (*Chlorella ellipsoidea*) 藻种由本实验室自电镀厂附近水塘中分离纯化而得。

^{*} 江苏省教委基金资助项目 (98KJD180002)。

收稿日期: 2000-08-30; 收到修改稿日期: 2000-12-12。浩云涛, 男, 1976年生, 硕士研究生。

小球藻培养采用 BG-11 培养基. 培养器皿是 250mL 的硬质三角瓶, 实验前均用 1% HCl 浸泡 24h, 再用重蒸馏水充分洗涤, 之后用相应浓度的重金属离子溶液预平衡 24h. 每瓶培养量 100mL, 由两支 40-W 日光灯提供光照, 在连续光照与室温下静置培养, 每天定时摇动.

1.2 试验方法

将处于对数期生长的藻液经 4000rpm 离心收集, 接入新鲜的 BG-11 培养基中, 加入不同浓度的重金属. 每天定时取样, 测定其生长状况; 分别测定第 24、28、72h 去藻培养液中重金属含量; 培养 3d 后测量叶绿素 a 含量.

1.3 测定方法

藻的生长测定: 每天定时取样, 用 722 型光栅分光光度计在波长 560nm 处测定 OD 值.

叶绿素 a 含量的测定: 用 80% 丙酮提取测定^[6].

重金属离子的测定: 分别取 10mL 左右加入不同浓度重金属离子培养的藻液, 4000rpm 离心 10min, 用原子吸收分光光度计(澳大利亚 GBC932AA)测定上清液中重金属离子的浓度.

2 结果与讨论

2.1 不同浓度铜、锌、镍、镉对椭圆小球藻生长的影响

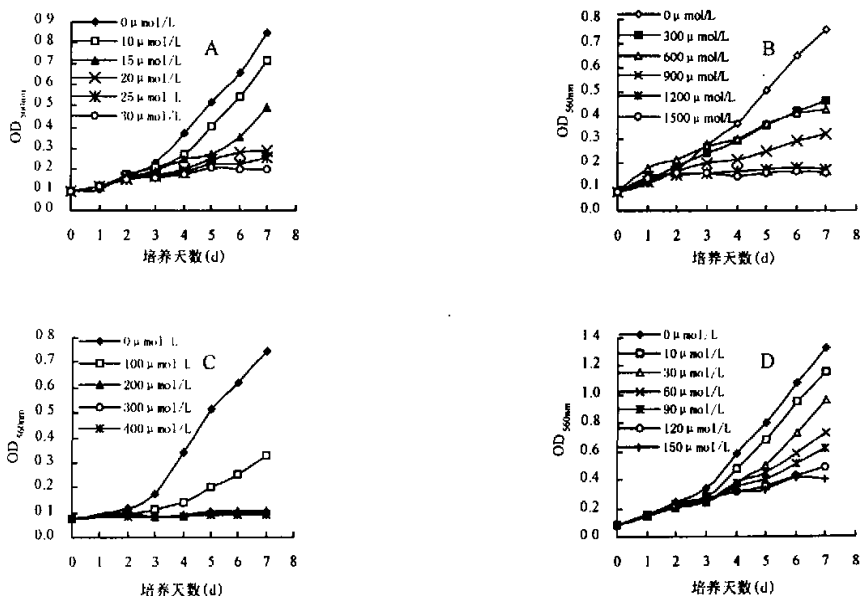


图1 不同浓度重金属对小球藻生长的影响

A: Cu²⁺ B: Zn²⁺ C: Ni²⁺ D: Cd²⁺

Fig. 1 Effect of various heavy metal concentration on *C. ellipsoidea* growth

图 1 分别为铜、锌、镍、镉 4 种重金属离子不同浓度下椭圆小球藻生长的变化情况. 从图中结果分别可见, 重金属离子浓度越高, 对小球藻生长抑制越强. 椭圆小球藻对四种重金属离子的耐受性存在明显差异, 对锌的耐受力最强, 当 Zn^{2+} 达到 $900\mu\text{mol/L}$ 时, 藻细胞仍能维持一定的生长, 而对铜最敏感, 当 Cu^{2+} 达到 $25\mu\text{mol/L}$ 时, 生长几乎停止. 经过概率统计法^[7]进一步计算得 4 种重金属离子对小球藻的 72h 半数效应浓度 (EC_{50}) 分别为 $22.68\mu\text{mol/L}$ (Cu^{2+})、 $953.66\mu\text{mol/L}$ (Zn^{2+})、 $117.09\mu\text{mol/L}$ (Ni^{2+}) 和 $93.86\mu\text{mol/L}$ (Cd^{2+}).

2.2 不同浓度铜、锌、镍、镉对椭圆小球藻叶绿素 a 含量的影响

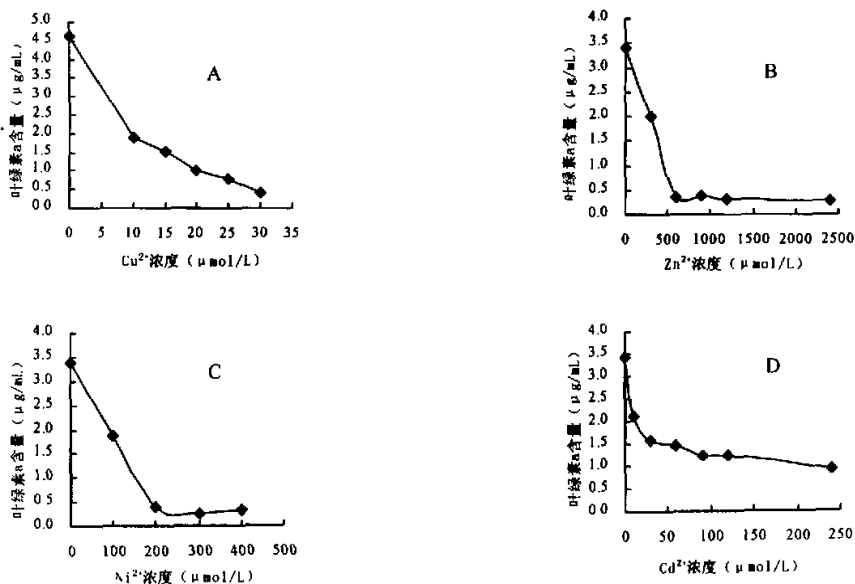


图 2 不同浓度重金属对小球藻叶绿素 a 含量的影响

A: Cu^{2+} B: Zn^{2+} C: Ni^{2+} D: Cd^{2+}

Fig.2 Effect of various heavy metal concentration on Chl. a content

由图 2 可见, 培养 72h 后, 椭圆小球藻的叶绿素 a 含量随重金属离子的浓度的增加而降低, 两者间呈显著的负相关. 低浓度重金属离子对椭圆小球藻叶绿素 a 含量的影响尤为明显, 当铜、锌、镍、镉浓度分别低于 $10\mu\text{mol/L}$ 、 $600\mu\text{mol/L}$ 、 $200\mu\text{mol/L}$ 、 $60\mu\text{mol/L}$ 时, 随重金属离子浓度增加, 其叶绿素 a 含量下降幅度较大. 这是由于过量的重金属破坏了藻体的叶绿体, 抑制其叶绿素的合成, 从而导致其叶绿素 a 含量明显下降, 同时细胞生长也受到重金属的抑制.

根据不同重金属对椭圆小球藻生长和叶绿素 a 含量影响的试验结果, 该藻对 4 种重金属的耐受能力依次为 锌 > 镉 > 镍 > 铜. 关于小球藻对重金属的耐受能力, 况琪军报道在 $310\mu\text{mol/L}$ Zn^{2+} 和 $89\mu\text{mol/L}$ Cd^{2+} 浓度下, 小球藻的生长完全停止^[8], 而本研究获得的这株椭圆小球藻在 $900\mu\text{mol/L}$ Zn^{2+} 和 $120\mu\text{mol/L}$ Cd^{2+} 浓度下, 仍能维持一定的生长, 表明该藻株对

重金属具有较高的耐受性.

2.3 椭圆小球藻对重金属的富集作用

在培养液中分别加入 $15\mu\text{mol/L}$ Cu^{2+} 、 $300\mu\text{mol/L}$ Zn^{2+} 、 $100\mu\text{mol/L}$ Ni^{2+} 和 $30\mu\text{mol/L}$ Cd^{2+} , 测定小球藻对4种重金属的去除能力(表1). 表1表明, 椭圆小球藻对重金属铜、锌、镍、镉均有一定的吸收富集能力, 对锌和镍去除率极高, 最终去除率分别达到 98.33%、97.62%. 对镉的去除率也较高, 达到 86.88%, 对铜的去除相对较低, 只有 40.9%.

表1 小球藻对重金属的去除(培养72h)

Tab.1 Heavy metals removal by *Chlorella ellipsoidea* (72h Treatment)

重金属	初始重金属离子浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	24h 后	48h 后	72h 后	最终去除率 (%)
Cu	15	10.50	8.82	8.86	40.93
Zn	300	10.00	8.50	5.00	98.33
Ni	100	4.73	4.51	2.38	97.62
Cd	30	4.87	4.51	3.94	86.88

从培养时间和溶液中重金属离子去除的效果来看, 培养时间越长, 溶液中残留的重金属离子浓度越低, 但从数值变化来看, 培养液中重金属离子减少主要发生在 24h 以前. 经过 24h 处理后, 椭圆小球藻对铜、锌、镍、镉的去除率分别为 30.02%、96.67%、95.27%、83.78%, 除铜之外, 与经过 72h 处理的去除率相差不大. 因此, 从短时、高效的角度来看, 24h 处理即可达到较为理想的效果. 若要达到更高的去除率, 需延长培养时间. 藻类对重金属去除动力学过程一般可分为两个阶段, 首先是重金属在藻类表面的被动吸附, 这一过程可在很短的时间内完成, 随后藻类表面吸附的重金属被主动转移至藻细胞内^[9]. 本文的实验结果也显示了这一过程的发生.

藻类对不同重金属的去除率不完全相同, 表明其对重金属富集存在特异性, 可能与细胞内产生不同的重金属结合体有关. 已有研究报道了镉、铜、锌等重金属元素可以诱导藻类金属结合体的形成, 这些金属结合体可能在藻类对重金属的抗性机制中发挥着重要作用^[10]. 关于该小球藻富集重金属的机理以及如何提高其对重金属的耐受性和富集能力尚需进一步深入研究.

3 结语

本文研究结果表明, 椭圆小球藻对重金属具有很高的耐受性和良好的去除效率, 可应用于对含重金属工业废水的处理. 藻细胞对重金属的富集能力强, 吸附时间短, 进一步深入研究, 有望作为一种新型生物吸附剂具有实际的应用价值.

参 考 文 献

- 1 Bake M D, *et al*, Toxicity for pH, heavy metal and bisulfite to a freshwater green algae. *Chemosphere*, 1983, 12(1):35-44
- 2 Gonzalez S E, *et al*, Binding of metals in solution by *Chlorella vulgaris*. *Annali di Chimica*, 1999, 89(3-4):323-326
- 3 Peter R, *et al*, Metal distributions in complexes with *Chlorella vulgaris* in seawater and wastewater. *Wat Environ Res*, 1999, 71(6):1165-1170
- 4 Travieso L, *et al*, Heavy metal removal by microalgae. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1999, 62(2):144-151

- 5 Lau Arthur, *et al*, Metal removal by laboratory scale immobilized microalgal reactor. *J Environ Sci*, 1998, 10(4):474 - 478
- 6 Amon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polypheno oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol*, 1949, 24:1 - 15
- 7 张毓琪,陈叙龙编著.环境生物毒理学.天津:天津大学出版社,1993.243 - 244
- 8 况琪军,夏直争,惠 阳.重金属对藻类的致毒效应.水生生物学报,1996,20(3):277 - 283
- 9 严国安,谭智群.藻类净化污水及其进展.环境科学进展,1995,3(3):45 - 54
- 10 黄玉山,陈建敏,谭凤仪.植物重金属结合体的研究现状.植物学报,1992,34(2):146 - 158

Tolerance of *Chlorella ellipsoidea* and Its Removal of Heavy Metals

HAO Yuntao LI Jianhong PAN Xin MA Yuxiang WANG Xuefeng

(Department of Biology, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, P. R. China)

Abstract

A strain of *Chlorella ellipsoidea* with high tolerance to heavy metals was isolated. Growth and heavy metals removal were studied on this alga exposed to different heavy metal concentrations. The effect of heavy metal on growth indicated that cells can live in higher Zn^{2+} and Cd^{2+} concentrations. The tolerant sequence to 4 kinds of metals for *C. ellipsoidea* was $Zn^{2+} > Cd^{2+} > Ni^{2+} > Cu^{2+}$. The content of chlorophyll a decreased with the increase of heavy metal concentrations. In this experiment, *C. ellipsoidea* also showed its rather strong ability to remove heavy metals from the medium. After 72 - hour treatment, the removal rates of metals were 40.93%, 98.33%, 97.62% and 86.88% respectively, for 15 $\mu\text{mol/L}$ Cu^{2+} , 300 $\mu\text{mol/L}$ Zn^{2+} , 100 $\mu\text{mol/L}$ Ni^{2+} and 30 $\mu\text{mol/L}$ Cd^{2+} . These results suggested that the *C. ellipsoidea* strain could be applied to the treatment of heavy metal wastewater.

Key Words *Chlorella ellipsoidea*, heavy metal, tolerance, removal